

## La respuesta a darbepoetina-*alfa* está modulada por el binomio nutrición inflamación en pacientes en hemodiálisis

Mar Ruperto López<sup>1\*</sup>, Guillermina Barril Cuadrado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición Humana y Dietética. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Alfonso X el Sabio. 28691-Villanueva de la Cañada, Madrid, España. <sup>2</sup>Servicio de Nefrología. Hospital Universitario La Princesa. Madrid, España  
e-mail: marruperto@yahoo.com

Recibido el 28 de junio de 2014

An. Real Acad. Farm. Vol. 80, Nº 3 (2014), pag. 540-554

Premio "Juan Abelló" en el Concurso Científico 2013 de la Real Academia Nacional de Farmacia.

### RESUMEN

La anemia es un desorden multifactorial que aumenta la mortalidad en pacientes en hemodiálisis (HD). El objetivo del estudio fue investigar la relación entre el índice de resistencia a la eritropoyesis (IRE) con marcadores nutricionales-inflamatorios, y analizar si estos factores modulaban la respuesta a darbepoetina-*alfa* en 60 pacientes en HD. La muestra fue clasificada en terciles (T<sub>n</sub>) de IRE: respondedores (T<sub>1</sub>), respondedores intermedios (T<sub>2</sub>), e hiporrespondedores (T<sub>3</sub>). La hiporrespuesta a darbepoetina-*alfa* se relacionó con depleción de la masa muscular, hipoalbuminemia y síndrome de malnutrición-inflamación. La proteína C-reactiva, escala de malnutrición-inflamación y la prealbúmina sérica (P<0,05) fueron predictores independientes del IRE. La respuesta a darbepoetina-*alfa* está modulada, entre otros factores, por el binomio nutrición-inflamación elevando considerablemente el coste sanitario en pacientes en HD.

**Palabras clave:** Índice de resistencia darbepoetina-*alfa*; malnutrición-inflamación; síndrome de malnutrición-inflamación; hemodiálisis.

**ABSTRACT*****Darbepoetin-alpha responsiveness is modulated by malnutrition-inflammation binomial in hemodialysis patients***

Anemia is a multifactorial disorder which increases mortality in hemodialysis patients (HD). The aim of the study was to investigate the relationship between the erythropoiesis responsiveness index (ERI) with nutritional and inflammatory markers, and to analyze whether those factors modulating the response to darbepoetin-*alpha* in 60 HD patients. The sample was classified into ERI tertiles ( $T_n$ ): responsiveness ( $T_1$ ), mild responsiveness ( $T_2$ ), hyporesponsiveness ( $T_3$ ). Hyporesponsiveness to darbepoetin-*alpha* was significantly associated with muscle wasting, lower serum albumin levels and malnutrition-inflammation. C-reactive protein, malnutrition-inflammation score, and serum prealbumin were independent predictors of the ERI ( $P < 0,05$ ). Responsiveness to darbepoetin-*alpha* is modulated by malnutrition-inflammation binomial which raises the cost-health in HD patients.

**Keywords:** Responsiveness index to darbepoetin-*alpha*; malnutrition-inflammation; malnutrition-inflammation hemodialysis.

**Abreviaturas:** ACT, agua corporal total; AEC, agua extracelular; AEE, agentes estimulantes de la eritropoyesis; CMB, circunferencia muscular del brazo; CV, cardiovascular; ERC, enfermedad renal crónica; EPOrHu, eritropoyetina recombinante humana; Hb, hemoglobina; HD, hemodiálisis; IMC, índice de masa corporal; IF- $\gamma$ , interferón *gamma*; IL, interleucina; IRE, índice de resistencia a la eritropoyesis; *Kt/V urea (sp)*, modelo cinético de la urea compartimental; MIS, escala de malnutrición-inflamación; MM, masa muscular; PCR, Proteína C-reactiva; PCT, pliegue cutáneo tricípital;  $T_n$ , terciles; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral-*alfa*.

**1. INTRODUCCIÓN**

La anemia es un desorden multifactorial que aumenta considerablemente la morbi-mortalidad en los pacientes en hemodiálisis (HD) (1,2). La deficiencia absoluta funcional de hierro y la síntesis endógena de eritropoyetina constituyen, entre otros factores, las principales causas de anemia. La monitorización de la anemia en la enfermedad renal crónica (ERC) requiere combinar el tratamiento farmacológico con los suplementos de hierro y los agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE), para alcanzar niveles de hemoglobina (Hb) de 11-12 g/dL (3).

Darbepoetina-*alfa* es una glucoproteína eritropoyética de nueva generación con moléculas de ácido siálico adicionales que confiere una semivida terminal aproximadamente tres veces más larga que la eritropoyetina recombinante humana (EPOrHu). Estudios previos (4-6) mostraron que darbepoetina-*alfa* mantenía los niveles de Hb en pacientes en tratamiento previo con EPOrHu

semanal, sin un aumento significativo de la dosis. Aunque una gran proporción de enfermos responden adecuadamente a los AEE, alrededor del 10% desarrollan resistencia al tratamiento (7). Las guías clínicas para la monitorización de anemia en ERC (3,8) definieron la hiporrespuesta a los AEE si reúne al menos una de las tres siguientes condiciones: a) niveles bajos de Hb con una dosis constante de AEE, b) aumento significativo de la dosis de AEE para mantener los niveles de Hb, y c) fracaso terapéutico para alcanzar niveles de Hb > 11 g/dL.

Ensayos clínicos randomizados (CHOIR, TREAT, CREATE) (9-11), estudiaron la respuesta a los AEE con la mortalidad en la ERC. La corrección total de la anemia con los AEE aumentó el riesgo de eventos cardiovasculares (CV), concluyendo que la normalización de Hb en la ERC no confiere beneficios adicionales en términos de supervivencia. Además, el análisis secundario del estudio TREAT (9) mostró que la hiporrespuesta a darbepoetina-*alfa* estaba asociada con aumento del riesgo CV y todas las causas de mortalidad. Varios factores causales de hiporrespuesta incluyendo inflamación sistémica, infección, hiperparatiroidismo secundario, hemólisis e inadecuación de la dosis de diálisis, han sido identificados como potencialmente modificables en la monitorización de la anemia.

El síndrome de malnutrición-inflamación es una situación prevalente en pacientes en HD que condiciona la respuesta a los AEE. Varios estudios epidemiológicos (12,13) mostraron asociación entre el índice de resistencia a los AEE (IRE) y los marcadores nutricionales e inflamatorios en pacientes en diálisis. Rattanasompattikul y col. (12) encontraron que la hipoalbuminemia y la inflamación estaban significativamente relacionadas con los requerimientos de AEE. Estudios *in vitro* o *in vivo* (14,15) sugirieron aumento de la expresión de parámetros inflamatorios como de la proteína C-reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferón gamma (INF- $\gamma$ ) en pacientes hiporrespondedores. IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , e INF- $\gamma$  antagonizaban el efecto eritropoyético en la médula ósea (16). La inflamación podría tener un papel clave en la patogénesis de la anemia y en el desarrollo de malnutrición en pacientes hiporrespondedores. Por tanto, el binomio nutrición-inflamación puede ser un predictor independiente de la respuesta a los AEE en pacientes en HD periódica. La posible interacción entre los marcadores nutricionales e inflamatorios y la respuesta a darbepoetina-*alfa* como posible factor de riesgo modificable en HD permanece sin aclarar.

## **2. OBJETIVO**

El objetivo del estudio fue evaluar la relación del IRE con marcadores nutricionales e inflamatorios, y analizar si estos factores aislada o conjuntamente modulaban la respuesta a darbepoetina-*alfa* en pacientes en HD.

### 3. PACIENTES Y MÉTODO

#### *Diseño del estudio*

Estudio observacional transversal en 60 pacientes en HD periódica, realizado en el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de la Princesa de Madrid. Con carácter previo a la realización del estudio, fue obtenido el consentimiento informado de cada paciente. Se diseñaron formularios específicos para registrar los datos demográficos, clínicos, y los parámetros de laboratorio. La etiología de la ERC, comorbilidades, tipo de acceso vascular, dosis de diálisis (Kt/V *urea*) y el tiempo en HD en meses fueron obtenidos de la historia clínica de cada paciente.

Los criterios de inclusión para participar en el estudio fueron: adultos estables prevalentes en HD (tiempo en HD  $\geq 3$  meses) en tratamiento con darbepoetina-*alfa* (vía de administración, *sc.*) durante al menos los tres meses precedentes del inicio del estudio (fase de mantenimiento). Los pacientes con hemoglobinopatías, anemia falciforme,  $\beta$ -talasemia, neoplasias activas (baja expectativa de vida <6 meses), infección, trombosis del acceso vascular, infarto agudo de miocardio o enfermos sometidos a cirugía mayor o transfusiones sanguíneas en los últimos 3 meses fueron excluidos del estudio. El trabajo fue realizado según la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética del centro.

La adecuación en diálisis fue calculada por el modelo cinético monocompartimental de la urea (Kt/V *urea*  $\geq 1,2$ ). La frecuencia y duración de la sesión de HD fue de 4 horas/3 veces por semana con agua ultrapura, siguiendo los criterios de calidad establecidos por las guías de calidad del agua en HD (17). En las sesiones de HD se utilizaron membranas biocompatibles sintéticas de alta permeabilidad (coeficiente de ultrafiltración: KuF > 20mL/min). Para valorar la severidad de las comorbilidades se utilizó el índice de comorbilidad de Charlson (18).

#### *Tratamiento con darbepoetina-alfa e índice de resistencia a la eritropoyesis*

La dosis de darbepoetina-*alfa* se expresó en  $\mu\text{g}/\text{semana}$ . El índice de resistencia a AEE (IRE) se calculó individualmente dividiendo el número de unidades de darbepoetina entre el peso post-diálisis en kg ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) por los niveles de Hb (g/dL) según la fórmula de Gunnell y col. (19). La corrección de la anemia se estableció en niveles de Hb entre 11-12 g/dL y/o hematocrito de 33-36% (3;8). Se consideró hiporrespuesta a los AEE cuando no se alcanzaban los niveles de Hb (11-12 g/dL) con dosis de darbepoetina-*alfa* >1,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  ( $\sim 100 \mu\text{g}/\text{semana}$ ) o aumento progresivo de los requerimientos para alcanzar el objetivo (8). Para examinar la respuesta de los AEE con marcadores clínicos, nutricionales e

inflamatorios se estratificó la muestra del IRE en terciles ( $T_n$ ):  $T_1$ , respondedores,  $T_2$ , respondedores intermedios, y  $T_3$  hiporrespondedores.

### ***Valoración nutricional***

La escala de malnutrición-inflamación (MIS) (20) fue utilizada como método de cribaje nutricional validado para valorar el binomio nutrición-inflamación en pacientes en HD (21). El MIS está basado en 7 componentes subjetivos (cambios en el peso post-diálisis, ingesta alimentaria, síntomas gastrointestinales, capacidad funcional, comorbilidades asociadas, signos de pérdida de tejido adiposo y muscular), y 3 componentes objetivos adicionales (IMC, albúmina sérica y capacidad total de unión al hierro). La suma de los 10 componentes del MIS (puntuación 0-30) denota la severidad del trastorno (20). En varios estudios, el MIS demostró asociación significativa con la enfermedad coronaria (22), la calidad de vida (23), la falta de apetito o anorexia (24), la hiporrespuesta a EPOrHu (25,26) y la mortalidad (21) en pacientes en diálisis. Según estudios previos (23,27), el riesgo de malnutrición-inflamación fue definido con una puntuación de MIS  $\geq 5$  puntos en combinación de marcadores nutricionales e inflamatorios.

### ***Valoración antropométrica***

En la valoración antropométrica se calculó el índice de masa corporal (IMC), la circunferencia muscular braquial (CMB) y el pliegue cutáneo tricipital (PCT). La medición de los parámetros antropométricos se realizó en el brazo no dominante o libre de acceso vascular. Para minimizar los coeficientes de variación inter-observador, la antropometría fue realizada por un solo investigador utilizando una cinta métrica inextensible y un lipocalibre Holtain Ltd®. La masa muscular braquial fue calculada según la siguiente fórmula:  $CMB (\%) = (CB - 0,314 \times PCT) \times 100$  donde CB era la circunferencia braquial y PCT era el pliegue cutáneo tricipital. Los resultados fueron comparados con los valores de referencia del percentil 50 para la población española según el sexo, edad y talla (28).

### ***Análisis de composición corporal***

La composición corporal se analizó mediante bioimpedancia vectorial (BIVA) monofrecuencia (BIVA-101®) (Akern-RJL Systems, Florence, Italy) como método previamente validado en pacientes en HD (29). El análisis fue realizado aplicando la técnica tetrapolar con electrodos desechables (Biatrodes™ 100'S. Akern), hasta los treinta minutos posteriores de haber finalizado la sesión de HD. La técnica permite conocer el patrón de hidratación (ACT, agua corporal total; AEC, agua extracelular) y la composición corporal (MM, masa muscular), entre otros componentes.

### **Parámetros de laboratorio**

La extracción de las muestras de sangre pre-diálisis y post-diálisis fueron obtenidas a mitad de semana (día intermedio), previa a la administración de heparina en la línea de diálisis. La albúmina sérica fue analizada por el método verde de bromocresol. La PCR (*no ultrasensible*) y la prealbúmina sérica fueron medidas por inmunoturbidimetría (Roche/Hitachi 904<sup>®</sup>/Model P: ACN 218, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). El límite superior de los valores normales de PCR estaba fijado por el laboratorio en 1 mg/dL, y niveles por debajo de este límite se consideraron normales. Los niveles de Hb, el porcentaje de hematocrito y el perfil férrico sérico (hierro, transferrina, índice de saturación de transferrina y ferritina) fueron analizados en el laboratorio del centro por métodos rutinarios automatizados (Abbot, Aeroset<sup>®</sup>, Diamond Diagnosis, Holliston, MA).

### **Análisis estadístico**

Los resultados están expresados como media  $\pm$  DE o en proporciones según el tipo de variable analizada. Las variables categóricas fueron calculadas utilizando la prueba Chi-cuadrado o Mann-Whitney según la distribución de la variable. El análisis de la varianza (ANOVA) se utilizó para comparar la diferencia de las medias aritméticas entre los terciles ( $T_n$ ) del IRE. Para investigar las interacciones entre el  $T_1$  vs.  $T_3$  del IRE, se utilizó el modelo general multivariante (MANOVA), y el test *a posteriori* de Bonferroni. El coeficiente de correlación de Spearman fue utilizado para evaluar las asociaciones significativas entre las variables continuas. Para explorar las variables predictoras del IRE se construyó un modelo de regresión lineal empleando el análisis por pasos sucesivos. El análisis de los coeficientes de regresión lineal permitió establecer el valor de B (coeficientes de regresión *beta* no estandarizados), coeficiente tipificado  $\beta$  (beta), y los intervalos de confianza al 95% (IC95%). Se aplicó la prueba de Durbin-Watson para testar la independencia entre las variables. El análisis estadístico de los datos fue calculado mediante el software SPSS versión 19.0 para Windows (SPSS<sup>®</sup>, Inc. Chicago, IL). *P-valor*  $\leq 0,05$  era considerado estadísticamente significativo.

## **4. RESULTADOS**

### **Características clínicas, nutricionales y farmacológicas en la muestra global**

En la Tabla 1 se exponen las características clínico-nutricionales de la muestra. Se estudiaron sesenta pacientes en HD, 41 hombres (68%), media de edad  $68,1 \pm 14,7$  años, y tiempo medio de tratamiento en HD de  $40,2 \pm 37,8$  meses. Dosis de diálisis (Kt/V *urea*) de  $1,38 \pm 0,2$ . El 46,7% de los pacientes se dializaba con catéter. La dosis de darbepoetina-alfa y del IRE fueron  $90,2 \pm 80,6$   $\mu\text{g/sem}$  y  $0,13 \pm 0,14$   $\mu\text{g/g/kg}$ , respectivamente. El 68,3% de los pacientes presentaban según la puntuación del MIS criterios de malnutrición-inflamación.

Tabla 1.- Características clínico-nutricionales globales en 60 pacientes en hemodiálisis<sup>a</sup>.

VARIABLES	Total
Sexo (H/M) n (%)	41/19 (68,3/31,6)
Edad (años)	68,1 ± 14,7
DM n (%)	11 (18,3)
Acceso Vascular (Catéter) n, (%)	32 (46,7)
Tiempo tratamiento en HD (meses)	40,2 ± 37,8
Peso seco (kg)	65,2 ± 13,5
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,2 ± 4,1
PCT (%)	114,3 ± 54,4
CMB (%)	93,4 ± 11
Agua corporal total (%)	55,6 ± 6,8
Agua extracelular (%)	54,4 ± 7,4
Masa muscular (kg)	22,7 ± 6,5
Colesterol total (mg/dL)	156,4 ± 42,2
Creatinina sérica (mg/dL)	6,9 ± 2
Albúmina sérica (g/dL)	3,7 ± 0,5
Prealbúmina sérica (mg/dL)	25,9 ± 8,5
Hierro sérico (µg/dL)	66,6 ± 39,6
Transferrina (mg/dL)	171,5 ± 41,4
IST (%)	30,1 ± 17,3
Ferritina (ng/mL)	509,6 ± 432,2
Hemoglobina (g/dL)	12 ± 1,4
Hematocrito (%)	37,7 ± 5,1
Darbepoetina-alfa (µg/semana)	90,2 ± 80,6
Darbepoetina-alfa (µg/kg)	1,5 ± 1,4
IRE (µg/g/kg/)	0,13 ± 0,14
PCR (mg/dL)	2,02 ± 1,3
Escala de malnutrición-inflamación (MIS)	9,1 ± 4,8
Kt/V urea (sp)	1,38 ± 0,2

<sup>a</sup>P-valor basado en ANOVA (Media ± DE) o Chi-Cuadrado (%). H/M, hombre/mujer; DM, diabetes mellitus; CMB, circunferencia muscular del brazo; IMC, índice de masa corporal; IRE, índice de resistencia a la eritropoyesis (darbepoetina-alfa); IST, índice de saturación de transferrina; PCR, proteína C-reactiva; PCT, pliegue cutáneo tricipital; MIS, escala de malnutrición-inflamación. #Síndrome malnutrición-inflamación (MIS ≥ 5 puntos).

### Correlaciones

La Tabla 2 muestra los coeficientes de correlación de las 13 variables analizadas. El IRE tenía correlación directa con el MIS ( $r = 0,41$ ;  $P < 0,01$ ), y la PCR ( $r = 0,32$ ;  $P < 0,01$ ), mientras que estaba inversamente asociado con la prealbúmina sérica ( $r = -0,60$ ;  $P < 0,001$ ), y la CMB ( $r = -0,37$ ;  $P < 0,01$ ). La PCR mostró correlación directa significativa con MIS ( $r = 0,5$ ;  $P < 0,001$ ) e inversa con la albúmina ( $r = -0,5$ ;  $P < 0,001$ ), y la prealbúmina sérica ( $r = -0,54$ ;  $P < 0,001$ ).

### Terciles del índice de resistencia a la eritropoyesis

Los parámetros nutricionales, antropométricos y las pruebas de laboratorio fueron analizados según la categorización del IRE en terciles ( $T_n$ ) (IRE:  $T_1, < 0,0433$ ;  $T_2, 0,0434 - 0,1271$ ;  $T_3, > 0,1271$ ) (Tabla 3). No se observaron diferencias significativas con el sexo, edad y diabetes mellitus como etiología primaria de ERC (18,3%) entre los 3 grupos. El IMC, PCT, CMB, y el patrón de hidratación (ACT, AEC) descendía gradualmente entre los terciles del IRE. Los pacientes

hiporrespondedores ( $T_3$ ) tenían mayor proporción de síndrome de malnutrición-inflamación (90%), así como aumento significativo  $\sim 9$  veces de los requerimientos de darbepoetina-alfa ( $T_1$ :  $0,35 \pm 0,1$ ;  $T_2$ :  $0,95 \pm 0,3$ ;  $T_3$ :  $3,2 \pm 1,4$ ;  $P < 0,001$ ) comparados con el grupo de normorrespondedores y respondedores intermedios. Las concentraciones de albúmina y prealbúmina sérica tendían a ser significativamente menores en los pacientes hiporrespondedores. Aunque los niveles de PCR eran más altos en el grupo de hiporrespondedores, no se observaron diferencias significativas entre los grupos.

**Tabla 2.-** Coeficientes de correlación de Spearman en 13 variables analizadas.

	Edad	Tiempo HD	Peso (kg)	IMC	PCT (%)	CMB (%)	ACT (%)	MIS	Transferrina (mg/dL)	Albúmina (g/dL)	Prealbúmina (mg/dL)	PCR (mg/dL)
Edad												
Tiempo en HD (meses)	-0,02											
Peso (kg)	0,04	0,13										
IMC	0,06	0,19	0,78 <sup>a</sup>									
PCT (%)	0,09	0,22	0,53 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>								
CMB (%)	-0,16	0,12	0,66 <sup>a</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,42 <sup>b</sup>							
ACT (%)	-0,03	-0,23	0,56 <sup>a</sup>	-0,41 <sup>b</sup>	-0,53 <sup>a</sup>	-0,22						
MIS	0,11	-0,02	-0,40 <sup>b</sup>	-0,38 <sup>b</sup>	-0,47 <sup>a</sup>	-0,52 <sup>a</sup>	0,14					
Transferrina (mg/dL)	-0,01	-0,03	0,08	-0,008	0,03	0,16	0,25 <sup>c</sup>	-0,38 <sup>b</sup>				
Albúmina (g/dL)	-0,22	0,22	0,30 <sup>c</sup>	0,32 <sup>c</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,45 <sup>a</sup>	-0,17	0,70 <sup>a</sup>	0,22			
Prealbúmina (g/dL)	-0,12	0,12	0,41 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	0,52 <sup>a</sup>	-0,10	0,69 <sup>a</sup>	0,44 <sup>b</sup>	0,60 <sup>a</sup>		
PCR (mg/dL)	0,02	-0,01	-0,10	-0,07	-0,28 <sup>c</sup>	-0,30 <sup>c</sup>	0,11	0,50 <sup>a</sup>	-0,46 <sup>a</sup>	-0,50 <sup>a</sup>	-0,54 <sup>a</sup>	
IRE ( $\mu\text{g/g/kg}$ )	-0,01	-0,27 <sup>c</sup>	-0,40 <sup>b</sup>	-0,36 <sup>b</sup>	-0,45 <sup>a</sup>	-0,37 <sup>b</sup>	0,13	0,41 <sup>b</sup>	-0,39 <sup>b</sup>	-0,38 <sup>b</sup>	-0,60 <sup>a</sup>	0,32 <sup>b</sup>

ACT, agua corporal total; CMB, circunferencia muscular del brazo; HD, hemodiálisis; IMC, índice de masa corporal; IRE, índice de resistencia a la eritropoyesis (darbepoetina-alfa); MIS, escala de malnutrición-inflamación; PCR, proteína-C reactiva; PCT, pliegue cutáneo tricípital; a $P < 0,001$ , b $P < 0,01$  y c $P < 0,05$ .

Analizando la interacción entre los terciles ( $T_1$  vs.  $T_3$ ), observamos un aumento significativo de los requerimientos de darbepoetina-alfa expresados tanto en  $\mu\text{g/kg}$  como en  $\mu\text{g/semana}$ , así como mayor IRE en el  $T_3$ . La hiporrespuesta a AEE ( $T_3$ ) estaba asociada significativamente a depleción de masa muscular, hipoalbuminemia e inflamación comparada con los pacientes normorrespondedores ( $T_1$ ).

### **Marcadores nutricionales-inflamatorios como predictores del índice de resistencia a darbepoetina-alfa**

En la Tabla 4 se exponen los factores predictores del IRE. En el modelo de regresión lineal utilizando como variable dependiente el IRE se incluyeron PCR, MIS, prealbúmina, edad y tiempo de tratamiento en HD. PCR ( $\beta = 0,2$ ) y MIS ( $\beta = 0,24$ ) estaban directamente relacionados con el IRE. Adicionalmente, prealbúmina sérica ( $\beta = -0,4$ ), edad ( $\beta = -0,20$ ) y el tiempo de tratamiento en HD ( $\beta = -0,23$ ) fueron también predictores independientes negativos de la respuesta a



**Tabla 3.-** Características clínico-nutricionales en 60 pacientes en hemodiálisis según los terciles del índice de resistencia a la eritropoyesis<sup>a</sup>

Variables	T <sub>1</sub> : respondedores (n = 20)	T <sub>2</sub> : respondedores intermedios (n = 20)	T <sub>3</sub> : hiporrespondedores (n = 20)	P-valor	*Interacción T <sub>1</sub> vs. T <sub>3</sub>
Sexo (H/M) n (%)	15/5 (75/25)	12/8 (60/40)	14/6 (70/30)	0,58	>0,05
Edad (años)	70,2 ± 13,6	64,7 ± 14,9	69,3 ± 15,7	0,46	>0,05
DM n(%)	5 (45,6)	3 (27,2)	3 (27,2)	0,73	0,9
Acceso Vascular (Catéter) n, (%)	12 (37,5)	8 (25)	12 (37,5)	0,37	0,37
Tiempo tratamiento en HD (meses)	44,9 ± 38,6	43,1 ± 41	32,7 ± 40,2	0,55	0,94
Peso seco (kg)	74 ± 17,4	63,3 ± 7,2	58,2 ± 8,3	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,5 ± 5,2	23,7 ± 3	22,3 ± 2,7	0,004 <sup>b</sup>	0,003 <sup>b</sup>
PCT (%)	152,3 ± 59,5	101,7 ± 41	89 ± 40,1	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>
CMB (%)	97,7 ± 11,4	95,5 ± 9,1	86,9 ± 9,6	0,003 <sup>a</sup>	0,004 <sup>b</sup>
Agua corporal total (%)	55,2 ± 7,4	55,1 ± 7,3	56,5 ± 5,9	0,83	0,84
Agua extracelular (%)	52,9 ± 8,5	53,7 ± 7,3	56,6 ± 6,6	0,38	0,51
Masa muscular (kg)	24,6 ± 7,3	23,7 ± 6,4	19,6 ± 4,4	0,03 <sup>c</sup>	0,04 <sup>c</sup>
Colesterol total (mg/dL)	181,6 ± 45,1	149,1 ± 31,4	138,4 ± 37,9	0,002 <sup>b</sup>	0,002
Creatinina sérica (mg/dL)	6,6 ± 2,1	8 ± 2,3	6,4 ± 1,5	0,02 <sup>c</sup>	<0,05 <sup>b</sup>
Albúmina sérica (g/dL)	3,9 ± 0,4	3,7 ± 0,5	3,5 ± 0,3	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
Prealbúmina sérica (mg/dL)	29,6 ± 5,9	27,7 ± 10,2	20,4 ± 6,1	<0,001 <sup>a</sup>	0,001 <sup>a</sup>
Hierro sérico (µg/dL)	76,1 ± 55,7	63,5 ± 26,7	60,4 ± 31,1	0,45	0,72
Transferrina (mg/dL)	187,3 ± 33,3	176,8 ± 35,7	152,1 ± 46,7	0,02 <sup>c</sup>	0,02 <sup>c</sup>
IST (%)	31,8 ± 19	26,1 ± 11,1	32 ± 19,7	0,22	0,5
Ferritina (ng/mL)	456,3 ± 413,6	440,1 ± 410,8	636,4 ± 465,9	0,30	0,6
Hemoglobina (g/dL)	12,2 ± 1,2	12,2 ± 1,2	11,7 ± 1,7	0,39	0,84
Hematocrito (%)	38 ± 5	38 ± 1	36,7 ± 6,1	0,79	0,4
Darbepoetina-alfa (µg/semana)	26,2 ± 12	60,5 ± 22,7	184 ± 70,8	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001
Darbepoetina-alfa (µg/kg)	0,35 ± 0,1	0,95 ± 0,3	3,2 ± 1,4	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001
IRE (µg/g/kg/)	0,028 ± 0,009	0,078 ± 0,025	0,28 ± 0,15	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001
PCR (mg/dL)	1,7 ± 1,1	1,8 ± 1,4	2,5 ± 1,7	0,12	0,15
Escala de malnutrición- inflamación (MIS)	7,4 ± 3,7	8,1 ± 5,6	11,8 ± 3,9	0,007 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>
Kt/V urea (sp)	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,3	0,53	>0,05
Índice de comorbilidad de Charlson	7,9 ± 2,8	8,1 ± 3,6	9,4 ± 3,4	0,31	0,47
Síndrome malnutrición- inflamación n (%) <sup>#</sup>	13 (65)	10 (50)	18 (90)	0,3	0,36

<sup>a</sup>P-valor basado en ANOVA (Media ± DE) o Chi-Cuadrado (%). \*Comparación post-hoc (Bonferroni). T<sub>1</sub>, normorrespondedores; T<sub>2</sub>, respondedores intermedios; T<sub>3</sub>, hiporrespondedores. H/M, hombre/ mujer; DM, diabetes mellitus; CMB, circunferencia muscular del brazo; IMC, índice de masa corporal; IRE, índice de resistencia a la eritropoyesis (darbepoetina-alfa); IST, índice de saturación de transferrina; PCR, proteína C-reactiva; PCT, pliegue cutáneo tricipital; MIS, escala de malnutrición-inflamación. <sup>#</sup>Síndrome malnutrición-inflamación (MIS ≥ 5 puntos).

darbepoetina-*alfa* en el modelo de regresión lineal. El valor del test de Durbin-Watson fue 1,50. El poder predictivo del coeficiente de regresión (R), explicó el 76% de la varianza con las variables incluidas en el modelo de regresión lineal. R<sup>2</sup> y R<sup>2</sup> corregida fueron 0,58 y 0,53, respectivamente.

**Tabla 4.-** Predictores del índice de resistencia a la eritropoyesis relacionados con el binomio malnutrición-inflamación en 60 pacientes en hemodiálisis<sup>a</sup>

Predictores	B	$\beta$	ET	IC95%		P-valor
				Inferior	Superior	
Edad (años)	-0,002	-0,11	0,001	-0,004	0,000	0,050
Tiempo en HD (meses)	-0,001	-0,23	0,000	-0,002	0,000	0,015
Prealbúmina (mg/dL)	-0,007	-0,40	0,002	-0,011	-0,003	0,001
Proteína-C reactiva (mg/dL)	0,012	0,20	0,006	0,000	0,023	0,040
Escala de malnutrición-inflamación (MIS)	0,008	0,24	0,004	0,000	0,016	0,040
Constante	0,53		0,105	0,32	0,74	0,00

<sup>a</sup>Índice de Resistencia a la eritropoyesis ( $\mu\text{g/g/kg}$ ) calculado según la fórmula: [número de unidades de darbepoetina-*alfa* (semana)/hemoglobina (g/dL)]/ Peso (kg). B, coeficientes de regresión *beta* no estandarizados;  $\beta$ , coeficiente tipificado *beta*; ET, error típico; IC95%, intervalo de confianza 95%. R = 0,76; R<sup>2</sup> = 0,58; R<sup>2</sup> corregida = 0,53. Durbin-Watson = 1,50.

## 5. DISCUSIÓN

En el presente estudio en 60 pacientes en HD la combinación de los marcadores nutricionales e inflamatorios eran predictores independientes de la respuesta a darbepoetina-*alfa*. Considerando que la monitorización del binomio nutrición-inflamación en pacientes en HD, puede condicionar y/o modular la respuesta a los AEE, estos hallazgos pueden tener relevancia clínica para optimizar la eficacia terapéutica en la corrección de la anemia.

Nuestros resultados indican que el IRE se correlacionaba directa y significativamente con el MIS y la PCR, sugiriendo que ambos parámetros participaban en la respuesta a darbepoetina-*alfa*. Kilpatrick y col. (30) concluyeron que el IRE es un factor pronóstico de mortalidad. Kalantar-Zadeh y col. (26) observaron que por cada aumento de 5 unidades en el MIS, el riesgo de hiporrespuesta a EPOrHu era del 64%. En los pacientes hiporrespondedores valores de MIS > 5 puntos estaban significativamente asociados con catabolismo muscular e inflamación. El impacto de la malnutrición-inflamación en la eritropoyesis parece depender, entre otros factores, de los depósitos de hierro, y del balance de las diferentes citocinas en el medio urémico, más que de los niveles de un solo marcador y/o tratamiento aislado; concentraciones elevadas de IL-1 y TNF- $\alpha$  inhiben la producción de eritropoyetina *in vitro* (31), y los niveles altos de IL-6, PCR y TNF- $\alpha$  tienen un efecto supresor en la proliferación y maduración de las células precursoras eritrocitarias, bloqueando el metabolismo del hierro. En

nuestro estudio los pacientes con alta concentración de PCR requerían mayores dosis de darbepoetina-*alfa* para alcanzar niveles de Hb entre 11-12 g/dL. El 50% de los pacientes hiporrespondedores tenían niveles de Hb < 11g/dL, aunque necesitaran hasta 7 veces más unidades de darbepoetina-*alfa* por semana comparado los normorrespondedores (datos no mostrados). Barany y col. (13) observaron que la dosis semanal de Epo fue 80% mayor en pacientes con PCR  $\geq$  20 mg/dL. Goicoechea y col. (32) obtuvieron correlación significativa entre IL-6 y TNF- $\alpha$  y la dosis de EPOrHu en 34 pacientes en HD. Gunnell y col. (19) encontraron en 92 pacientes en HD que la PCR y la ferritina sérica eran predictores de resistencia a EPOrHu. En el estudio RISCAVID (33) mostraron que la IL-6 era un predictor independiente del IRE, aunque no observaron el mismo efecto con la PCR. En nuestro estudio la PCR tenía correlación inversa con la transferrina y la prealbúmina, siendo ambos significativos en el análisis estadístico multivariante. Los resultados del presente estudio concuerdan los datos publicados por otros autores (19,33,34), donde se observa que el aumento de la PCR se relaciona con peor respuesta a los AEE medido a través del IRE.

El síndrome de malnutrición-inflamación es una condición frecuente identificada hasta en el 75% de los pacientes prevalentes en HD (1,35). Varios autores (12,33,36) mostraron que el síndrome de malnutrición-inflamación era un factor predictivo de hiporrespuesta a los AEE. En nuestro estudio la prevalencia global de malnutrición-inflamación era del 68%, en consonancia con los trabajos precedentes en diálisis (1,12,33,35,36). Sin embargo, cabe destacar que el 90% de los pacientes hiporrespondedores tenían síndrome de malnutrición-inflamación. La triada anemia-malnutrición-inflamación era un modelo dinámico integrado por la combinación de las variables incluidas en el modelo de regresión. El IRE mostró relación significativa con la edad, el tiempo de tratamiento en HD, los marcadores nutricionales (MIS, prealbúmina sérica) y la inflamación (PCR). La alteración de biomarcadores inflamatorios, como la PCR, y marcadores nutricionales (albúmina sérica < 3,8 g/dL o prealbúmina sérica <28 g/dL) fueron asociados con la hiporrespuesta a darbepoetina-*alfa*. El IRE era un predictor independiente del síndrome de malnutrición-inflamación. La combinación de las variables explicaba el 76% de la resistencia a darbepoetina-*alfa* en el modelo de regresión lineal, sugiriendo que el binomio nutrición-inflamación condicionaba la respuesta a darbepoetina-*alfa*. Por tanto, los resultados del presente estudio también confirman la relación entre anemia-nutrición-inflamación observada por otros autores (12,26,33) en pacientes en HD, aunque todavía permanece sin aclarar la contribución de cada uno de ellos en la respuesta a los AEE. En la práctica clínica, al monitorizar la respuesta a darbepoetina-*alfa*, si existe hiporrespuesta sería mandatorio considerar entre los posibles factores etiopatogénicos el binomio nutrición-inflamación.

Otra de las finalidades de nuestro estudio fue identificar cuantitativamente la relación coste-eficacia de la darbepoetina-*alfa* en pacientes en HD. Cuesta y col. (37) estimaron mediante el análisis de minimización de costes, el precio medio de un  $\mu\text{g}$  de darbepoetina-*alfa* en 1,317987 €. Analizando en términos económicos el coste de la triada malnutrición-inflamación e hiporrespuesta a darbepoetina-*alfa*, obtuvimos una diferencia media de  $\sim 900$  €/semana/paciente comparado con el grupo de normrespondedores y respondedores intermedios. Adicionalmente, los resultados del estudio muestran que la malnutrición-inflamación, además de aumentar los requerimientos de darbepoetina-*alfa*, también eleva considerablemente el gasto sanitario.

Las limitaciones del presente trabajo incluyen el propio diseño experimental de carácter transversal en el que sólo se puede evaluar la asociación entre las variables analizadas, aunque no se puede establecer longitudinalmente la relación entre el síndrome de malnutrición-inflamación y la resistencia a darbepoetina-*alfa*. En nuestro estudio, no analizamos los niveles plasmáticos de citocinas pro-inflamatorias y, por tanto, los resultados están limitados a la concentración de PCR como marcador inflamatorio. Además, es necesario considerar que tanto los marcadores nutricionales como inflamatorios pueden sufrir fluctuaciones en cortos periodos de tiempo en pacientes en HD. Otra limitación potencial del estudio fue no registrar los niveles de vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico, y a los pacientes en tratamiento farmacológico con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, sevelamer o estatinas. En contraste, las fortalezas del estudio incluyen: a) la utilización de agua ultrapura para optimizar la respuesta a los AEE, evitar la retrofiltración, y minimizar el estímulo inflamatorio dependiente de la calidad de agua en diálisis. La utilización de agua ultrapura está relacionada con menores niveles de marcadores bioinflamatorios (IL-6 y PCR), así como una mayor respuesta a los AEE en pacientes en HD (38); b) utilización de membranas biocompatibles de alta permeabilidad en las sesiones de HD. Panichi y col. (39) concluyeron que la utilización de membranas de polisulfona recubiertas con vitamina E reducía significativamente el IRE en HD periódica; y c) evaluación del estado nutricional e inflamatorio incluyendo análisis de composición corporal medido por bioimpedancia eléctrica, parámetros de laboratorio, y la adecuación de diálisis.

## **6. CONCLUSIONES**

En resumen, nuestro estudio demuestra que la respuesta a darbepoetina-*alfa* está modulada por marcadores nutricionales e inflamatorios. Los pacientes hiporrespondedores requerían  $\sim 9$  veces más unidades de darbepoetina-*alfa* cuando coexistía con malnutrición-inflamación. El coste anual estimado de la triada anemia refractaria, malnutrición e inflamación asciende a  $\sim 43.000$ € por

paciente/año. Las intervenciones terapéuticas dirigidas a aminorar o corregir los efectos adversos asociados a la corrección de anemia -deficiencia de hierro, malnutrición, anorexia urémica, e inflamación pueden mejorar la respuesta a los AEE y la morbi-mortalidad asociada a estos procesos en pacientes en HD. Nuevos trabajos de investigación son necesarios para esclarecer longitudinalmente los factores causales de malnutrición-inflamación en la hiporrespuesta a los AEE.

## **7. AGRADECIMIENTOS**

Nuestro agradecimiento a todos los enfermos voluntarios que han participado desinteresadamente en el presente estudio.

## **8. CONFLICTO DE INTERESES**

Las autoras, MR y GB, han contribuido en la recogida y análisis de los datos, redacción, y en la elaboración de la versión final del manuscrito. Los autores declaran no tener conflicto de intereses en el presente estudio.

## **9. REFERENCIAS**

1. Locatelli, F.; Pisoni, RL.; Combe C.; Bommer J.; Andreucci, VE.; Piera, L.; Anaemia in haemodialysis patients of five European countries: association with morbidity and mortality in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, (2004).
2. Locatelli, F.; Andrulli, S.; Memoli, B.; Maffei, C.; Del, VL.; Aterini, S.; et al. Nutritional-inflammation status and resistance to erythropoietin therapy in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **21**, 991-998 (2006).
3. KDIGO. Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int. Suppl.* **2**, 279-335 (2012).
4. Macdougall, IC.; Cooper, AC.; Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol. Dial. Transplant.* **17** (Suppl 11), 39-43 (2002).
5. Mann, J.; Kessler, M.; Villa, G.; Martinez-Castelao, A.; Feldt-Rasmussen, B.; Cruz, J.; et al. Darbepoetin alfa once every 2 weeks for treatment of anemia in dialysis patients: a combined analysis of eight multicenter trials. *Clin. Nephrol.* **67**, 140-48 (2007).
6. Vanrenterghem, Y.; Barany, P.; Mann, JF; Kerr, PG; Wilson, J.; Baker, NF.; et al. Randomized trial of darbepoetin alfa for treatment of renal anemia at a reduced dose frequency compared with rHuEPO in dialysis patients. *Kidney Int.* **62**, 2167-75 (2002)
7. Locatelli, F.; Aljama, P.; Barany, P.; Canaud, B.; Carrera, F.; Eckardt, KU.; et al. Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19** Suppl 2, 1-47 (2004).
8. KDOQI Clinical Practice Guideline and Clinical Practice Recommendations for anemia in chronic kidney disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am. J. Kidney Dis.* **50**, 471-530 (2007).
9. Pfeffer, MA.; Burdmann, EA.; Chen, CY.; Cooper, ME.; De, ZD.; Eckardt, KU.; et al. A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N. Engl. J. Med.* **19**, 2019-2032 (2009).
10. Szczech, LA.; Barnhart, HX.; Sapp, S.; Felker, GM.; Hernandez, A.; Reddan, D.; et al. A secondary analysis of the CHOIR trial shows that comorbid conditions differentially affect outcomes during anemia treatment. *Kidney Int.* **77**, 239-246 (2010).

11. Drueke, TB.; Locatelli, F.; Clyne, N.; Eckardt, KU.; Macdougall, IC.; Tsakiris, D.; et al. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N. Engl. J. Med.***16**, 2071-2084 (2006).
12. Rattanasompattikul, M.; Molnar, MZ.; Zaritsky, JJ.; Hatamizadeh, P.; Jing, J.; Norris, KC.; et al. Association of malnutrition-inflammation complex and responsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in long-term hemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.***28**,1936-45 (2013).
13. Barany,P.; Inflammation, serum C-reactive protein, and erythropoietin resistance. *Nephrol. Dial. Transplant.***16**, 224-227 (2001).
14. Hodges, VM.; Rainey, S.; Lappin, TR.; Maxwell, AP.; Pathophysiology of anemia and erythrocytosis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.***64**,139-158 (2007).
15. Cooper, AC.; Mikhail, A.; Lethbridge, MW.; Kemeny, DM.; Macdougall, IC.;Increased expression of erythropoiesis inhibiting cytokines (IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10, and IL-13) by T cells in patients exhibiting a poor response to erythropoietin therapy. *J. Am. Soc. Nephrol.***14**, 1776-1784 (2003).
16. Macdougall, IC.; Cooper, AC.;Hyporesponsiveness to erythropoietic therapy due to chronic inflammation. *Eur. J. Clin. Invest.* **35**, 32-35(2005).
17. Perez, GR.; Gonzalez, PE.; Ceballos, F.; Escallada, CR.; Gomez-Reino, MI., Martin-Rabadan, P.; et al. [Guidelines for quality management of dialysis solutions]. *Nefrologia.* **24** Suppl 2, 1-42 (2004).
18. Rattanasompattikul, M.; Feroze, U.; Molnar, MZ.; Dukkipati, R.; Kovesdy, CP., Nissenson, AR.; et al. Charlson comorbidity score is a strong predictor of mortality in hemodialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.***44**, 1813-1823 (2012).
19. Gunnell, J.; Yeun, JY.; Depner, TA.; Kaysen, GA.; Acute-phase response predicts erythropoietin resistance in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* **33**, 63-72(1999).
20. Kalantar-Zadeh, K.; Kopple, JD.; Block, G.; Humphreys, MH.; A malnutrition-inflammation score is correlated with morbidity and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.***38**, 1251-1263(2001).
21. Kalantar-Zadeh, K.; Kopple, JD.; Humphreys, MH.; Block, G.; Comparing outcome predictability of markers of malnutrition-inflammation complex syndrome in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.***19**, 1507-19 (2004).
22. Demir, M.; Kucuk, A., Sezer, MT.; Altuntas, A., Kaya, S.; Malnutrition-inflammation score and endothelial dysfunction in hemodialysis patients. *J. Ren. Nutr.***20**, 377-383 (2010).
23. Rambod, M.; Bross, R.; Zitterkoph, J.; Benner, D.; Pithia, J.; Colman, S.; et al. Association of Malnutrition-Inflammation Score with quality of life and mortality in hemodialysis patients: a 5-year prospective cohort study. *Am. J. Kidney Dis.***53**, 298-309 (2009).
24. Kalantar-Zadeh, K.; Block, G.; McAllister, CJ.; Humphreys, MH.; Kopple, JD.; Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.***80**, 299-307 (2004).
25. Kalantar-Zadeh, K.; McAllister, CJ.; Lehn, RS.; Lee, GH.; Nissenson, AR.; Kopple, JD.; Effect of malnutrition-inflammation complex syndrome on EPO hyporesponsiveness in maintenance hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.***42**, 761-773 (2003).
26. Kalantar-Zadeh, K., Lee, GH.;Miller, JE.; Streja, E.; Jing, J.; Robertson, JA.; et al. Predictors of hyporesponsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.***53**, 823-834 (2009).
27. Ho, LC.; Wang, HH.; Peng, YS.; Chiang, CK.; Huang, JW.; Hung, KY.; et al. Clinical utility of malnutrition-inflammation score in maintenance hemodialysis patients: focus on identifying the best cut-off point. *Am. J. Nephrol.* **28**, 840-846 (2008).
28. Alastrue, A.; Valoración de los parámetros antropométricos en nuestra población. *Med. Clin. (Barc).***78**, 407-415 (1982).
29. Chertow, GM.; Lazarus, JM.; Lew, NL.; Ma, L.; Lowrie, EG.; Bioimpedance norms for the hemodialysis population. *Kidney. Int.***52**,1617-1621 (1997).
30. Kilpatrick, RD.; Critchlow, CW.; Fishbane, S.; Besarab, A.; Stehman-Breen, C.; Krishnan, M.; et al. Greater epoetin alfa responsiveness is associated with improved survival in hemodialysis patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.***3**, 1077-1083 (2008).
31. Jelkmann, WE.; Fandrey, J.; Frede, S.; Pagel, H.; Inhibition of erythropoietin production by cytokines. Implications for the anemia involved in inflammatory states. *Ann. NY Acad. Sci.***15**, 300-309 (1994).

32. Goicoechea, M.; Martin, J.; Des, P.; Quiroga, JA.; Ortiz, A.; Carreno, V.; et al. Role of cytokines in the response to erythropoietin in hemodialysis patients. *Kidney Int.***54**, 1337-1343 (1998).
33. Panichi, V.; Rosati, A.; Bigazzi, R.; Paoletti, S.; Mantuano, E.; Beati, S.; et al. Anaemia and resistance to erythropoiesis-stimulating agents as prognostic factors in haemodialysis patients: results from the RISCAVID study. *Nephrol. Dial. Transplant.***26**, 2641-2648 (2011).
34. Barany, P.; Vito-Filho, J.C.; Bergstrom, J.; High C-reactive protein is a strong predictor of resistance to erythropoietin in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.***29**, 565-568 (1997).
35. Gracia-Iguacel, C.; Gonzalez-Parra, E.; Perez-Gomez, MV.; Mahillo, I.; Egido, J.; Ortiz, A.; et al. Prevalence of protein-energy wasting syndrome and its association with mortality in haemodialysis patients in a centre in Spain. *Nefrologia.* **33**, 495-505 (2013).
36. Akgul, A.; Bilgic, A.; Sezer, S.; Ozdemir, FN.; Olcay, I.; Arat, Z.; et al. Effect of protein-energy malnutrition on erythropoietin requirement in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial. Int.***11**, 198-203 (2007).
37. Cuesta, GC.; Poveda-Andres, JL.; Garcia, PJ.; Roma, SE.; Cost minimisation analysis for darbepoetin alpha vs. epoetin alpha in chronic kidney disease patients on haemodialysis. *Farm. Hosp.* **34**, 68-75 (2010).
38. Sitter, T.; Bergner, A.; Schiffel, H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.***15**, 1207-1211 (2000).
39. Panichi, V.; Rosati, A.; Paoletti, S.; Ferrandello, P.; Migliori, M.; Beati, S.; et al. A vitamin E-coated polysulfone membrane reduces serum levels of inflammatory markers and resistance to erythropoietin-stimulating agents in hemodialysis patients: results of a randomized cross-over multicenter trial. *Blood. Purif.***32**, 7-14 (2011).