

HEMODİALİZ HİPOTANSİYONU VE NİTRİK OKSİD OLUŞUMU: PARNAPARİN İLE HEPARİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

THE ROLE OF NITRIC OXIDE GENERATION IN HEMODIALYSIS HYPOTENSION: COMPARISON OF HEPARIN WITH PARNAPARIN

Bülent Altun, Başak Oyan, Özkan Dinler, Mustafa Arıcı, A.A.Kıyıkım, Celalettin Usalan,
Yunus Erdem, Ünal Yasavul, Çetin Turgan, Şali Çağlar

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, ANKARA

ÖZET:

Amaç: Hemodializ hipotansiyonunda, nitrik oksid (NO) 'in rolü konusunda artmakta olan kanıtlara rağmen, NO'nun kaynağı hala tartışılmaktadır. Heparin, in vitro olarak insan endotel hücre kültürlerinde NO oluşumunu uyarmaktadır. Bu çalışmanın amacı, hemodializ hastalarında hipotansif atak sırasında, unfraksiyone heparin ile düşük molekül ağırlıklı parnaparinin, NO üretimi üzerine etkilerini karşılaştırmaktır.

Metod: Hemodializ tedavi programında olan ve hipotansif atakları olan 10 hemodializ hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Antikoagülasyon ile üç haftalık heparin ve parnaparin kullanımı sonrası, son dializ seansında serum NO düzeylerine, dializ başında, hipotansif dönem sırasında ve dializ sonunda bakılmıştır.

Bulgular: Heparin ile yapılan dializde NO düzeyi, dializ başında 39.4 ± 13.2 M, hipotansif atak sırasında 92.4 ± 31.4 M ($p < 0.05$) ve dializ sonunda 43.1 ± 25.1 M idi. Parnaparin döneminde ise, dializ başında 47.2 ± 22.7 M, hipotansif atak sırasında 80.7 ± 46.5 M ($p < 0.05$) ve dializ sonunda 45.8 ± 23.2 M idi. NO düzeyindeki artış yüzdesi, hemodializin başına göre, hipotansif dönemde parnaparin ile karşılaştırıldığında, heparinli dializde anlamlı olarak artmıştı ($140.2 \pm 50.4\%$ 'e karşı $119.6 \pm 44.8\%$, $p < 0.05$). Ortalama arteriyel basınçtaki düşme yüzdesi parnaparin ile karşılaştırıldığında heparin ile anlamlı olarak yüksekti ($48.6 \pm 6.4\%$ 'e karşı $39.6 \pm 5.3\%$, $p < 0.05$).

Sonuç: Hipotansif atak sırasında ortalama arteriyel basıncındaki düşme ve NO oluşumundaki artış, heparin ile karşılaştırıldığında parnaparinde daha az belirgindi ve bu farklılık her iki ajanın endotele bağlanma kapasiteleri, trombine olan afiniteleri ve/veya trombosit fonksiyonu üzerine olan etkilerine bağlı olabilir.

Anahtar kelimeler: Hemodializ, hipotansiyon, nitrik oksid, heparin, parnaparin.

ABSTRACT

Background/Aims: Despite the increasing evidence for the role of nitric oxide (NO) in hemodialysis hypotension, the source of NO is still debated. Heparin stimulates NO production by the cultured human endothelial cells in vitro. The aim of this study is to compare the effects of unfractionated heparin and parnaparin, low molecular weight heparin, on the NO production and arterial pressure of hemodialysis patients during hypotensive episodes.

Methods: Ten hemodialysis patients with hypotensive periods on maintenance hemodialysis therapy were involved in this study. Serum NO were obtained at the beginning of dialysis, during hypotensive episode and at the end of dialysis in the last hemodialysis session after 3 weeks of use of heparin and parnaparin for anticoagulation.

Results: NO levels were 39.4 ± 13.2 M at the beginning of hemodialysis, 92.4 ± 31.4 M during hypotensive episode ($p < 0.05$) and 43.1 ± 25.1 M at the end of dialysis with heparin. In parnaparin period, NO levels were 47.2 ± 22.7 M at the beginning, 80.7 ± 46.5 M at the hypotensive episode ($p < 0.05$) and 45.8 ± 23.2 M at the end of session. Percent increase in NO levels during hypotensive period compared to the beginning of haemodialysis with heparin were significantly higher than parnaparin ($140.2 \pm 50.4\%$ vs. $119.6 \pm 44.8\%$, $p < 0.05$). Percent decrease in mean arterial pressure with heparin was significantly higher than parnaparin ($48.6 \pm 6.4\%$ vs. $39.6 \pm 5.3\%$, $p < 0.05$).

Conclusion: Decrease in mean arterial pressure and increase in NO production during hypotensive episodes were less prominent with parnaparin use compared to heparin and this difference might be related to their endothelial binding capacity, thrombin affinity and/or effects on platelet functions.

Key words: Hemodialysis, hypotension, nitric oxide, heparin, parnaparin

GİRİŞ

Hipotansiyon ve kardiyovasküler sorunlar, dializ seansının en önemli komplikasyonlarıdır ve çoğu zaman acil müdahale ve dializin erken sonlandırılmasını gerektirir (1). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, hemodializ hastalarında görülen kardiyovasküler düzensizliklerde vazoaaktif maddelerin rolleri üzerine yoğunlaşmıştır ve hemodializ hipotansiyonu sırasında artmış nitrik oksid (NO) düzeyleri bildirilmiştir (2,3). NO vasküler endotel hücreleri, trombositler, makrofajlar ve nöronal hücrelerin dahil olduğu çeşitli dokularda NO sentetaz ailesine ait enzimlerin katalize ettiği bir reaksiyonla, bir amino asit olan L-aj ininden sentezlenir (4). Kardiyovasküler sistemde NO, vasküler tonusun belirlenmesi ve myokard kontraktibilitesinin düzenlenmesine katılır (5). NO sentezi, interlökin-1, interferon gamma veya endotoksin gibi enflamatuar sitokinlerle karşılaşma sonucu indüklenir (6). Hemodializ hipotansiyonunda NO'nun rolü üzerine artmakta olan kanıtlara rağmen, NO'nun üretim kaynağı konusu henüz aydınlanmamıştır. Vasküler düz kasta sitokin tarafından indüklenmiş NO sentezi, üremik ortamda trombositlerde artmış NO üretimi ve heparinin uyardığı NO sentezi, artmış NO düzeyleri için öne sürülen mekanizmalardır (3,7,8)

Heparin, hemodializ sırasında yapılan antikoagülasyonda yaygın olarak kullanılır ve hayvan modelleri ve hipotansif insanlarda kan basıncını düşürücü etkisi gösterilmiştir (9,10). Heparinin kan basıncını düşürme etkisinin mekanizması tam olarak tariflenmemiştir, fakat insan endotel hücre kültürlerinde heparinin NO üretimini arttırdığı bildirilmiştir (11). in vivo olarak, heparinin plazma NO düzeylerini arttırdığı da gösterilmiştir (12). Son yıllarda dializde antikoagülen olarak düşük moleküler ağırlıklı heparinlerin kullanımı, düşük antitrombin aktivitelerinin olması sebebiyle unfraksiyone heparinden daha az kanama riski taşıdıkları için tercih edilmektedir (13,14)

Bu çalışmanın amacı, unfraksiyone heparin ile bir düşük molekül ağırlıklı heparin olan parnaparinin hemodializ hastalarında hipotansif atak sırasında, NO üretimi ve arteriyel basınç üzerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

HASTALAR ve YÖNTEM

Haftada 3 kez kuprofan membranlı hemodialize giren son dönem böbrek yetmezliği olan 10 hasta (6 erkek, 4 kadın, ortalama yaş 40 ± 9 yıl) çalışmaya dahil edildi. Ortalama dializ süresi 64 ± 22 ay idi (12-95 ay). Böbrek yetmezliğinin sebebi 4 hastada kronik glomerulonefrit, 4 hastada kronik piyelonefrit idi ve 2 hastada ise sebep bilinmiyordu. Hipotansif ataklar,

ortalama arteriyel basıncında başlangıca göre 20 mm Hg'den fazla düşüş olması olarak tanımlandı. Hemodializ sırasında kan basıncı cevaplarına dayanarak, tüm hastaların hemodializ sırasında hipotansif dönemleri oldu. Tüm vakalarda bikarbonat, dializat tampon maddesi olarak kullanıldı ve dializat kalsiyumu 1.5 mmol/l idi. Hastaların hiçbiri antihipotansif ilaç veya verileri değiştirebilecek ilaç kullanmıyordu. Fosfat bağlayıcı olarak tüm hastalar kalsiyum karbonat kullanmaktaydı. Hastalar, heparinli 5 saatlik hemodializ seanslarına 3 hafta boyunca girmiştir ve bu dönem, *heparin dönemi* olarak adlandırılmıştır. Heparin 2000 IU bolus; ardından 1000u/st şeklinde verilmiştir. Heparin dönemini takiben hastalar hemodializde 3 hafta boyunca parnaparin, 3200 IU antiXa şeklinde bolus dozda almışlardır ve bu dönem *parnaparin dönemi* olarak adlandırılmıştır. Kan örneği alınmadan önceki 72 saat boyunca hastalara nitrattan fakir diyet verilmiştir. Çalışma Helsinki Bildirisine göre (1989) yürütülmüş ve her hastadan bilgilendirilmiş onay alınmıştır.

Tüm hastalardan heparin ve parnaparin dönemlerinin, son hemodializ seanslarının kan örnekleri, dializ başında, hipotansif epizot sırasında ve dializin sonunda alınmıştır. Kanlar, 20-22°C'de 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir ve elde edilen plazma, çalışılana kadar -20°C'de saklanmıştır. Çalışmalar bir kere eritilmiş olan çift örnekte yapılmıştır.

NO sentezi, mikrotitre plakalardaki nitrat ile Nitrik Oksid Colometric Assay (Boehringer Mannheim) ile belirlenmiştir. Örnekteki nitrat, nitrat reduktaz enzimi varlığında indirgenmiş nikotinomid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) ile nitrite indirgenir. Oluşan nitrit sulfanilamid ve N-(1-naftil)-etil-enediamin dihidroklorid ile reaksiyona girer ve kırmızı-mor diazo boyası oluşur. Diazo boyası, 550 nm görüş aralığındaki absorpsiyonuna bakılarak ölçülür. Bu prensibe göre, solüsyonlar hazırlandı ve 300 l serum ve 300 l potasyum fosfat tamponu bir ultrafiltreye (centrisart cut off 10000, from Sartorius) kondu ve 2000xg'de (4000rpm, r:7cm) 45 dakika santrifüj edildi. Ultrafiltrat toplandı ve testte kullanıldı. Nitratsız olması için her örnek için ayrı membran filtreler kullanıldı. Sonuçlar, standart solüsyonlar kullanılarak kalibrasyon eğrisinde hesaplandı. Potasyum nitrat standart solüsyonundan elde edilen absorpsanslardaki değişiklikler y-aksına, karşılık gelen nitrat konsantrasyonları ise m şeklinde x-aksına işaretlendi.

Kan basınçları civalı manometre ile otururken ölçüldü ve kol çevresine uygun manşon kullanıldı. Sistolik kan basıncı korotkoff seslerinin varlığında ve

diastolik kan basıncı seslerin kaybolduğu dönem (faz V) olarak alındı. Kan basıncı ölçümleri, hemodializ başı, seans boyunca her 15 dakikada bir ve hemodializin sonunda yapıldı. Ortalama arterial basınç, diastolik kan basıncı + (sistolik kan basıncı - diastolik kan basıncı)/3 formülüne göre hesaplandı. Ortalama kan başındaki düşme yüzdesi, dializ başındaki ortalama arteriyel basıncından hipotansif dönemdeki ortalama arterial basıncın çıkartılması ve bu farkın dializ başı ortalama arteriyel basıncına bölünmesi ile hesaplandı.

Kovaryans etkisini önlemek için, çalışma öncesi her özellik (yaş, cinsiyet, dializ süresi), gözönüne alınarak multivariate analiz yapıldı. Örnekler arası farklar Wilcoxon matched pairs signed rank testi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar ortalama standart deviasyon olarak gösterildi ve farklar P değerleri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Verilerin analizi için SPSS (Statistical Package Program for Social Science) V 5.01 for Windows kullanıldı.

BULGULAR

Hipotansiyon, heparin ile hemodializin başlamasından 165±5 dakika sonra, parnaparin ile ise 180±5 dakika sonra gelişti. Dializ sırasında ultrafiltrasyon hızı ve iki dializ arası kilo değişimi, her iki dializ döneminde farklı değildi (-2.5±0.05 kg'a karşı -2.4±0.06 kg, p>0.05). Antikoagülan olarak heparin kullanıldığında ortalama arteriyel basınç, dializ seansı başında 95±14.2 mm Hg, hipotansif epizot sırasında 63.8±8.4 mm Hg ve dializ sonunda 86.4±2.3 mm Hg idi. Dializ başında, sonunda ve hipotansif dönem sırasında ortalama kan basıncı, parnaparin ve heparin kullanımında benzerdi (p > 0.05) (Tablo 1). Heparin ile ortalama arteriyel basınçtaki düşme, parnaparinine göre anlamlı olarak yüksekti (48.6±6.4%'e karşı 39.6±5.3%, p < 0.05).

Tablo 1: Parnaparin ve heparin ile antikoagüle edilen hemodializ hastalarında ortalama arteriyel basınç (OAB).

OAB (mm Hg) ¹	Heparin	Parnaparin	P ²
Başlangıç	95.0±14.2	94.5±9.5	>0.05
Hipotansif atak	63.8±12.3	69.8±8.1	>0.05
Seans sonu	86.4±2.3	87.3±10.1	>0.05
% Düşme³	48.6±6.4	39.6±5.3	<0.05

¹OAB : Ortalama Arteriyel Basınç

²p>0.05 : anlamlı fark yok

p<0.05 : anlamlı fark

³% Düşme: [(Başlangıç OAB-Hipotansif atak sırasında OAB)/Başlangıç OAB]x100

Hem heparin hem de parnaparin dönemlerinde, hipotansif epizot sırasındaki NO düzeyleri oldukça yüksekti. Heparin kullanımında, NO düzeyleri hemodializ başında 39.4±13.2 µM, hipotansif epizot sırasında 92.4±31.4 µM (p<0.05) ve dializ sonunda 43.1±25.1 µM idi. Parnaparin kullanımında, NO düzeyleri dializ başında 47.2±22.7 pM, hipotansif epizot sırasında 80.7±46.5 µM (p<0.05) ve dializ sonunda 45.8±23.2 µM idi. NO düzeyleri, dializ başında, sonunda ve hipotansif dönem sırasında, parnaparin ve heparin kullanımında benzerdi (Tablo 2). Hipotansif dönem ile dializ başı karşılaştırıldığında, heparin ile antikoagülasyonda NO düzeylerindeki artış yüzdesi, parnaparin ile antikoagülasyona göre belirgin olarak fazlaydı (140.2±50.4%'e karşı 119.6±44.8%, p < 0.05) (Şekil 1).

Tablo 2: Parnaparin ve heparin ile antikoagüle edilen hemodializ hastalarında nitrik oksid (NO) düzeyleri.

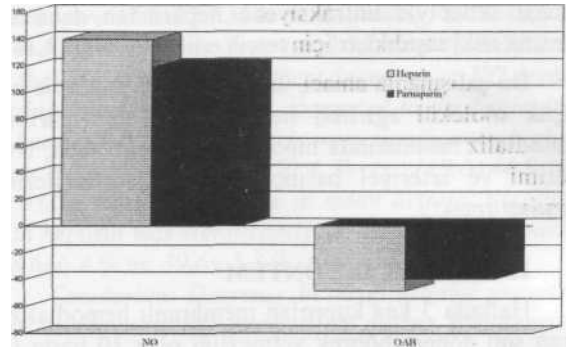
NO (µM) ¹	Heparin	Parnaparin	p ²
Başlangıç	<39.4±13.2	47.7±22.7	>0.05
Hipotansif atak	92.4±31.4	80.7±46.5	>0.05
Seans Sonu	43.1±25.1	45.8±23.2	>0.05
% Artış³	140.2±50.4	119.6±44.8	<0.05

¹NO : Nitrik oksid

²p > 0.05: anlamlı fark yok

p < 0.05 : anlamlı fark

³% Artış: [(Hipotansif atak sırasında NO- Başlangıç NO) / Başlangıç NO] x 100



Şekil 1: Heparin ve parnaparin ile antikoagülasyon yapılan hemodializ hastalarında hipotansif atak sırasında nitrik oksid (NO) düzeyleri ve ortalama arteriyel basıncındaki (OAB) değişiklikler (%).

TARTIŞMA

Biz bu çalışmada, hemodializ tarafından indüklenen hipotansiyonun artmış NO düzeyleri ile ilişkili olduğunu bulduk. Yokokowa ve ark. (15) ilk kez hemodializ sırasında NO üretimini ölçmüşlerdir ve dializde hipotansiyonu olan ve olmayan hastalarda hemodializ başında ölçülen NO düzeyleri arasında fark gösterememişlerdir. Fakat hipotansif epizot sırasında artmış NO üretimi olması ve NO düzeyleri ile azalmış ortalama kan basıncı düzeyleri arasında güçlü bir negatif korelasyonun olması, NO'nun hemodializ hipotansiyonuna sebep olabileceğini düşündürmektedir. Hemodializ hipotansiyonunda, NO üretiminin kaynağı hala tartışmalıdır (16, 17, 18).

Antikoagülasyonda heparin kullanımının, NO üretimi ve hemodializ hipotansiyonunda rolü olabileceği öne sürülmüştür (3,15). Hatta, heparin verilmesi hipertansif sıçan modelleri ve hipertansif insanlarda kan basıncında düşmeye yol açmaktadır. Fakat, heparinin kan basıncını düşürme mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Spontan olarak hipertansif olan sıçanlarda, heparin verilmesi endotelin üretimi ve etkisini inhibe etmektedir (19). Heparinin, bu sıçanların endotel hücre kültürlerinde Endotelin 1 (ET1) mRNA ekspresyon düzeyini inhibe ettiği bildirilmiştir (20). Diğer taraftan, endotelin üretimi, NO ile yakın ilişki halindedir. Diğer bir deyişle, trombin tarafından uyarılmış NO salınımı, siklik guanosin 3' 5' monofosfat (cGMP)'a bağlı yolla ET1 üretimini inhibe etmektedir (21,22). Heparin, insan hücre kültürlerinde trombin tarafından uyarılmış olan NO'nun hücrel sinyalinin (cGMP) arttırmaktadır (22). Fakat, NO inhibitörü olan NG monometil-L-arjinin (LNMA) varlığında heparinin, endotel ve cGMP üretimi üzerindeki etkisi ortadan kalkmaktadır. Bu sonuçlar, heparinin antihipertansif etkisinin, büyük olasılıkla NO-cGMP yoluyla, ET1'in baskılanması ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu kümülatif deneysel kanıtlara rağmen, heparinin NO üretimi üzerine in vivo etkisi ile ilgili çalışmaların sayısı azdır. İskemide reperfüzyon hasarı modelinde, heparinin koroner endotelde NO üretimini uyardığı gösterilmiştir (23). Kardiopulmoner bypass yapılan hastalara verilen heparin, plazma NO düzeylerinde preoperatif değerlere göre artışa sebep olmaktadır (12). Bu bulgularla uyumlu olarak, bizim çalışmamızda hemodializ hastalarında heparin ve parnaparin kullanımı, artmış NO düzeyine sebep olmuştur. Daha önceki bulgular ve bizim bulgularımız, heparinin NO üretimini arttırabildiğini ileri sürmekte ve bu da heparinin hemodializde NO üretimine katkısına göstermekteyse de, bu prosedürün antikoagülasyonsuz olarak da tekrarlanması gerekmektedir.

Yakın zamanda, dializ koşullarının dializ hastalarında NO üretimini değiştirebileceği gösterilmiştir. Rysz ve ark. (24) farklı membranlar ile yapılan hemodializ seansları sırasında NO düzeylerini sürekli monitorize etmiş ve daha bio-uyumlu membranların, daha az NO üretimine sebep olduğunu bildirmişlerdir. Bikarbonat dializi ile karşılaştırıldığında, asetat dializinin dializ sırasında sistolik kan basıncında daha fazla düşmeye ve NO sentezinde daha fazla artışa sebep olduğu gösterilmiştir (25). Biz bu çalışmada, heparinin hemodializ hipotansiyonuna yol açtığından yola çıkarak, düşük molekül ağırlıklı heparin olan parnaparin ile unfraksiyone heparinin NO üretimi üzerine etkisini karşılaştırdık ve parnaparin kullanımı ile dializ sırasında NO üretimi ve ortalama arteriyel kan basıncındaki düşmenin unfraksiyone heparine göre daha az olduğunu bulduk. Hipertansif sıçanlarda, heparine benzer olarak düşük molekül ağırlıklı heparin ile yüksek doz oral tedavinin kan basıncını normale getirdiği bildirilmiştir (26). Bu çalışmada, hipotansif epizotlar sırasında, parnaparin ile heparine göre daha az NO üretimi olması, bu iki ajan arasındaki yapısal ve fonksiyonel farklara bağlıdır. Düşük molekül ağırlıklı heparinlerin endotele bağlanma kapasiteleri ve trombine afiniteleri unfraksiyone heparine göre daha azdır (13). Endotel hücre kültürlerinde heparin, trombin tarafından uyarılan NO üretimini arttırdığı için, parnaparin kullanımı ile daha az olan NO üretiminin, parnaparinin trombine olan afinitesinin düşük olması ve/veya endotele bağlanma kapasitesinin daha az olmasına bağlı olabileceği öne sürülebilir. Buna karşılık, insan umbilikal veninden yapılan endotel hücre kültürlerinde, heparin fraksiyonlarının endotelin üretimi üzerine olan süpresif etkisinin, heparinin boyutundan ve antitrombin IH'e olan afinitesinden bağımsız olduğu bildirilmiştir (27). Diğer taraftan, düşük molekül ağırlıklı heparinler trombosit fonksiyonları üzerinde unfraksiyone heparine göre relatif olarak daha az değişiklik yapmaktadır (28). Sodyum heparinin üremik kan trombosit süspansiyonlarına eklenmesinin, NO salınımında doza bağlı olarak artışa yol açtığı gösterilmiştir (24). Bütün bunlar gözönüne alındığında, trombositlerden daha az NO salınması, parnaparin kullanımında görülen düşük NO düzeyinin mekanizması olarak öne sürülebilir.

Sonuç olarak, biz hemodializdeki hipotansif epizotların artmış NO düzeyleri ile ilişkili olduğunu bulduk. Parnaparin ile karşılaştırıldığında heparin kullanımında, hipotansif dönem sırasındaki hem kan basıncındaki düşme, hem de NO üretimindeki artış daha fazlaydı. Heparin ve parnaparin arasındaki bu fark, endotele bağlanma kapasiteleri, trombine afiniteleri

ve/veya trombosit fonksiyonları üzerini olan etkilerine bağlı olabilir. NO'nun hemodializ hipotansiyonundaki rolü ile hipotansif epizotlarda heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparinlerin NO üretimine olan katkıları daha ileri araştırmaları gerektirmektedir.

REFERANSLAR

1. Zucchelli P, Santoro A. Dialysis induced hypotension: A fresh look to pathophysiology. *Blood Purif* 1993; 11: 85-98.
2. Takahashi M. Relationship between vasoactive substances and changes in blood pressure during hemodialysis. *Jpn J Nephrol* 1995; 37: 549-557.
3. Yokokawa K, Kohno M, Yoshiwa J. Nitric oxide mediates the cardiovascular instability of hemodialysis patients. *Curr Opin Nephrol Hypertension* 1996; 5: 359-363.
4. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1994; 23:1121-1131.
5. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38: 87-104.
6. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-142.
7. Beasley D, Brenner BM. Role of nitric oxide in hemodialysis hypotension. *Kidney Int* 1992; 42 (Suppl 38): 96-100.
8. Noris M, Beningi A, Boccardo P, et al. Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: Implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 1993; 44: 445-450.
9. Susie D, Mandal A.K, Kentara D. Heparin lowers the blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1982; 4: 681-685.
10. Abbott EC, Gornall AG, Sutherland DJ, Laidlaw JC, Stiefel M. The influence of heparin like compound on hypotension electrolytes and aldosterone in man. *Can Med Assoc J* 1996; 94:1155-1164.
11. Yokokawa K, Tahara H, Kohno M, Mandal AK, Yanagisawa M, Takeda T. Heparin regulates endothelin production through endothelin derived nitric oxide in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 2080-2085.
12. Li JM, Hajarizadeh H, La Rosa CA et al. Heparin and protamine stimulate the production of nitric oxide. *J Cardiovasc Surg* 1996; 37: 445-452.
13. Huang JN, Shimamura A. Low molecular weight heparins. *Hematol Oncol Clin of North Am* 1998; 12: 1251-1281.
14. Suzuki T, Ota K, Naganuma S. Clinical application of fragmin (FR 860) in hemodialysis: Multicenter cooperative study in Japan. *Semin Thromb Hemost* 1990; 16:46-54.
15. Yokokawa K, Mankus R, Saklayen MG, et al. Increased NO production in hypertension during hemodialysis. *Ann Intern Med* 1995; 123: 35-37.
16. Kang ES, Acchiardo SR, Wang YB, Tevlin MT, Hughes T, Cordoso S. Hypotension during hemodialysis role of nitric oxide. *Am J Med Sci* 1997;313:138-146.
17. Nishimura M, Takahashi H, Maruyama K, Ohtuska K, Nanbu A. Enhanced NO production may be involved in acute hypotension during maintenance hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 809-817.
18. Lin SH, Chu P, Yu FC, Diang LK, Lin YF. Increased nitric oxide production in hypotensive hemodialysis patients. *ASAIO J* 1996; 42: M895-899.
19. Yokokawa K, Mandal AK, Kohno M. Heparin suppresses endothelin 1 action and production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1992; 263: 1035-1041.
20. Yokokawa K, Mandal AK, Kohno M. Heparin suppresses endothelin 1 mRNA expression and peptide level in cultured endothelial cells of spontaneously hypertensive rats. *Clin Res* 1992A; 40: 172A.
21. De Mey JG, Claeys M, Vanhoutte PM. Endothelium dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine triphosphate, thrombin, arachidonic acid in canine femoral artery. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 222: 166-173.
22. Boulanger C, Liischer TF. Release of endothelin from the porcine aorta: inhibition by endothelin derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990; 85: 587-590.
23. Kouretas PC, Kim YD, Cahili PA, et al. Heparin preserves nitric oxide activity in coronary endothelium during ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 1210-12.
24. Rysz J, Luciak M, Kedziora J, Blaszczyk J, Sibinska E. Nitric oxide release in peripheral blood during hemodialysis. *Kidney Int* 1997; 51: 294-300.
25. Noris M, Todeschini M, Casiraghi F, et al. Effect of acetate, bicarbonate dialysis, acetate free biofiltration on nitric oxide synthesis: Implications for dialysis hypotension. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 115-124.
26. Vasdev S, Ford CA, Longrich L, Barret B, Parai S, Campell N. Oral treatment with low molecular weight heparin normalize blood pressure in hypertensive rats. *Artery* 1994; 21: 1-8.
27. Reantragoon S, Arrigo LM, Seoud MM, Dweck HS, Rosenfold L. Specific heparin fractions suppress endothelin 1 production in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Arch Biochem Biophys* 1994; 314:315-322.
28. Cianciolo G, Coli L, Borgnino LC. Intra HD platelet and coagulative activation with standart and low molecular weight heparin: Comparative evaluation. *Current Therapy in Nephrology* 1992;45-347.