Eritropoetin

Husnjak, Ivana; Zorc, Branka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2006, 62, 249 - 254**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:960976

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Eritropoetin

IVANA HUSNJAK, BRANKA ZORC
Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Uvod

Eritropoetin (EPO, Epo) je hematopoezni faktor rasta koji regulira eritropoezu stimulacijom proliferacije i diferencijacije nezrelih stanica eritrocitnog reda. Poput svih ostalih hormona prisutan je u ljudskom tijelu u vrlo niskim koncentracijama, a izlučuje se kao odgovor na hipoksiju u tkivima. Upotrebljava se u terapiji različitih vrsta anemija, prvenstveno u bubrežnih bolesnika na dijalizi i bolesnika s malignim bolestima. Zloupotrebljava se kao doping u sportovima izdržljivosti.

Građa i funkcija eritropoetina

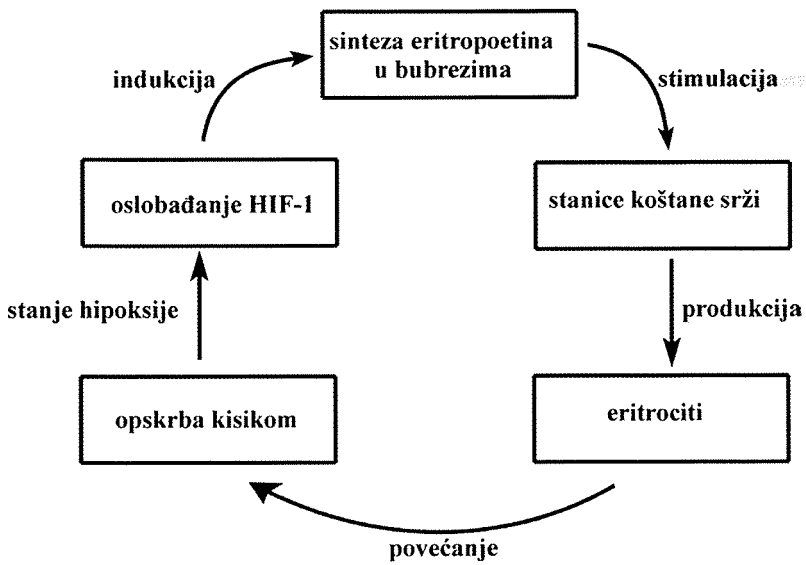
Prirodni eritropoetin je glikoprotein građen od približno 60 % proteina i 40 % ugljikohidrata. Relativna molekulska masa eritropoetina je 30 600 (1). Pet eksona EPO gena kodira 193 aminokiseline, od kojih se prvo odcjepljuje 27, a zatim još jedna aminokiselina tako da cirkulirajući hormon sadrži 165 aminokiselinskih ostataka (2). Četiri lanca ugljikohidrata vezana su na protein preko tri *N*-glikozidne i jedne *O*-glikozidne veze (Slika 1). Za biološko djelovanje eritropoetina presudne su dvije disulfidne veze između 29. i 33. te 7. i 161. aminokiseline, te prisutnost ugljikohidrata s terminalnim kiselinama (*N*-acetilneuraminska kiselina). Njihova je uloga zaštita molekule od brze razgradnje u jetri, što omogućava održavanje optimalne koncentracije eritropoetina u plazmi između 5 i 100 i.j. L^{-1} (25). Ljudi koji žive na visokim planinama i osobe koje boluju od anemije imaju povišenu razinu eritropoetina. U slučaju srednje teške anemije razina se kreće od 100 do 500, a u teške anemije čak i do 1000 i.j. L^{-1}. Najvažnija iznimka tako obrnutog odnosa je anemija u kroničnih bubrežnih bolesnika, u kojih je razina eritropoetina niska jer ga bubrezi više ne mogu proizvoditi. Takvi pacijenti u pravilu dobro reagiraju na obradu egzogenim eritropoetinom.

Biosinteza eritropoetina zbiva se prvenstveno u peritubularnom intersticiju kore bubrega, a u manjoj mjeri u makrofagima, jetri, plućima, slezeni, endotelu kapilara i spolnim žlijezdama (2). Dnevno se u organizmu proizvede 24 i.j. po kilogramu tjelesne mase. Prirodni eritropoetin se izlučuje kao odgovor na hipoksiju u tkivima. Smanjena koncentracija kisika u hipoksičnom tkivu uzrokuje stvaranje transkripcijskog faktora HIF-1 koji stimulira bubrege na proizvodnju eritropoetina (Slika 2). Vezanje eritropoetina na receptore u stanicama koštane srži uzrokuje fosforilaciju i time aktivaciju brojnih signal-



Slika 1. Struktura eritropoetina s ekstracelularnim domenama EPO-receptora (4).

nih proteina koji su neophodni za sazrijevanje eritrocita (4, 6). Povećani broj funkcionalnih crvenih krvnih stanica ima za posljedicu bolju opskrbu tkiva kisikom. Eritropoetin djeluje na stanice preko specifičnog receptora (EPO-R, EpoR). Smatra se da postoje barem dva vezna mjesta različitog afiniteta za eritropoetin, a potvrđeno je postojanje endogenog čimbenika koji povećava afinitet receptora za eritropoetin. Poznato je da i tumorske stanice imaju EPO receptore te se pretpostavlja da eritropoetin može poticati rast nekih tumora (2).



Slika 2. Ciklus proizvodnje crvenih krvnih stanica (4).

Terapija eritropoetinom

Eritropoetin se upotrebljava u terapiji etiološki različitih anemija (2, 3, 7, 8). Anemija je stanje smanjene vrijednosti hematokrita ili hemoglobina, odnosno eritrocita. Uzroci anemije mogu biti vrlo različiti: gubitak krvi (hemoragija, obilna menstrualna krvarenja), nedostatak tvari neophodnih za stvaranje eritrocita (npr. nedovoljni unos ili slaba apsorpcija željeza), poremećena hematopoeza (oštećenje koštane srži), zloćudne bolesti, hiperparatireodizam, kronične upale, AIDS (2). Anemija je česta komplikacija nakon transplantacije srca i bubrega ili posljedica terapije citostaticima i nekim drugim lijekovima (npr. zidovudinom). U pacijenata oboljelih od karcinoma terapija anemije počinje se provoditi već kod prvih simptoma, ako koncentracija hemoglobina padne ispod 12 g L^{-1} (2, 3, 9–11). Pretpostavlja se da terapija tvarima koje stimuliraju eritropoezu može usporiti napredovanje kroničnih bubrežnih bolesti (2, 3, 12, 13).

Eritropoetin se najviše upotrebljava u bolesnika s kroničnim bubrežnim bolestima i zatajenjem bubrega, tj. bolesnika koji su na dijalizi. U takvih pacijenata neophodna je doživotna suplementacija tog hormona. Povoljni učinci eritropoetina u uremičnih bolesnika su: povećan broj proeritrocitnih stanica u koštanoj srži, povećan broj zrelih eritrocita u cirkulaciji, povećan hematokrit, povećana izdržljivost organizma, smanjena potreba za transfuzijom, smanjeni rizik od senzibilizacije, te općenito poboljšanje kvalitete života (14). Broj se retikulocita povećava nakon 10 dana, a hematokrit i hemoglobin kroz 2 do 6 tjedana (5).

Eritropoetin se može davati pacijentima koji iz vjerskih razloga odbijaju transfuziju, ukoliko im život nije neposredno ugrožen. Može se davati i preventivno, prije operativnog zahvata u kojem se očekuje obilnije krvarenje. Uspješno se upotrebljava za ubrzavanje eritropoeze nakon flebotomije ili hemokromatoze (5).

U terapiji anemije koristi se humani eritropoetin dobiven iz stanica sisavaca rekombinantnom DNA-tehnologijom (rHuEPO). Gen za eritropoetin je kloniran te je određen slijed i ekspresija biološki aktivne forme u stanicama sisavaca (15). rHuEPO se proizvodi u dvije forme (*alfa* i *beta*), ali one imaju isti klinički učinak pa je u terapijskoj primjeni jedinstveni glikoprotein epoetin ili EPO. rHuEPO se primjenjuje intravenski, subkutano, intraperitonealno i intradermalno (14). Najpovoljnija je subkutana primjena jer se pomoću nje postiže dulje zadržavanje lijeka u krvnoj plazmi i dugotrajna stimulacija eritropoeze pa je za očekivane učinke potrebna 30–40 % manja doza. Međutim, bioraspoloživost je puno manja nego nakon *i.v.* primjene. Intravenskom primjenom postiže se visoka, ali kratkotrajna vršna koncentracija eritropoetina u krvnoj plazmi. Taj način primjene povoljan je za pacijente na hemodijalizi, a intraperitonealni način samo za pacijente koji su na peritonealnoj dijalizi. Intradermalne injekcije eritropoetina pokazale su se jednako učinkovite kao *s.c.* i *i.v.* injekcije. Doziranje ovisi o jačini anemije, a najbolji učinak postiže se dozama od 50 do 300 i.j. po kilogramu tjelesne mase, tri puta tjedno. U slučaju slabog učinka doza se može povećati do 600 i.j. Kada se postigne zadovoljavajući nivo hemoglobina, doza eritropoetina se postupno smanjuje. Nedostatak željeza jedan je od najčešćih uzroka slabog odgovora bolesnika na liječenje pa se uz eritropoetin najčešće intravenski daje i željezo.

Brojna istraživanja su potvrdila da je eritropoetin u kombinaciji sa željezom adekvatna i sigurnija zamjena transfuziji. Naime, zbog učestalosti krvlju prenosivih bolesti (AIDS, hepatitis B i C, Creutzfeldt-Jakobov sindrom) za koje još ne postoje sigurne, a jeftine i lako primjenjive metode detekcije, transfuzije postaju sve rizičnije. Taj je problem naročito izražen u nerazvijenim zemljama u kojima postoji financijska barijera za testiranja krvnih uzoraka. Međutim, ni terapija eritropoetinom nije potpuno bezopasna. Kao posljedica terapije mogu se javiti tromboza, hipertenzija, izolirana aplazija eritrocitnog reda (posljedica imunološke reakcije), glavobolja te bolovi u kostima i mišićima. Nuspojave su manje izražene ako se umjesto eritropoetina upotrebljava darbepoetin alfa (darbopoetin alfa), modificirana forma rHuEPO-a. Zbog većeg udjela ugljikohidrata sa sialinskim kiselinama darbepoetin alfa se tri puta dulje zadržava u krvnoj plazmi pa se primjenjuje samo jednom tjedno (16, 17). Zbog toga je terapija darbepoetinom jeftinija, što je značajno s farmakoekonomskog stajališta (2).

Zlouporaba eritropoetina u sportu

Eritropoetin se često rabi kao doping u sportovima izdržljivosti kao što su biciklizam, trčanje na duge staze, veslanje, triatloni i sl. Rezultati u takvim sportovima jako ovise o aerobnom kapacitetu. Eritropoetin povećava tjelesne sposobnosti jer povisuje broj eritrocita i time osigurava mišićima veći dotok kisika koji je potreban prilikom kontinuiranog napora. Kao doping se najčešće upotrebljava doza od 897 i.j. po kilogramu tjelesne mase tjedno, što uzrokuje porast hemoglobina s 80 do 120 g L^{-1}. Ako se takav tretman kombinira s testosteronom, učinak je značajno povećan, veći nego zbroj pojedinačnih učinaka (18, 19). Do otkrića eritropoetina sportaši su koristili visinske treninge i krvni doping. Naime, na visokim nadmorskim visinama tlak zraka je niži te organizam u nedostatku kisika proizvodi više eritrocita. Sportaši bi neko vrijeme, neposredno pred natjecanje boravili na visokim nadmorskim visinama. Takvi bi sportaši bili u prednosti pred ostalima natjecateljima. Nakon toga, 1972. godine počeo se primjenjivati krvni doping: iz krvi sportaša su izdvojeni eritrociti, koji su deponirani i prije natjecanja ponovo vraćeni u krvotok.

Pretjerana zlouporaba eritropoetina može dovesti do vrlo teških poremećaja, čak i do fatalnog završetka. Organizam se prisiljava da odradi nešto što inače nije u stanju. Kod teških tjelesnih napora kojima su podvrgnuti sportaši, a naročito biciklisti, povećanje hematokrita mijenja hemodinamska svojstva krvi. Krv postaje viskozna, poput ulja, dodatno i zbog gubitka ogromne količine vode uslijed znojenja (dehidratacije) tijekom treninga ili natjecanja. Sve to pretjerano opterećuje srce koje je ionako pod naporom pa su za vrijeme utrka učestale incidencije infarkta miokarda, moždanog infarkta i plućne embolije. Učinak eritropoetina može trajati i 10 dana nakon primjene što ugrožava sportaša i nakon završetka natjecanja. Zbog toga je uporaba eritropoetina u sportu zabranjena (3, 19). Međutim, egzogeni eritropoetin, rHuEPO-a, ne razlikuje se puno od prirodnog, endogenog pa je doping kontrola bila suočena s problemom detekcije. Današnja doping kontrola za EPO zasniva se na metodi izoelektričnog fokusiranja koja omogućava jednostavno razlikovanje endogenog i egzogenog eritropoetina (20).

Registrirani pripravci

U Hrvatskoj su registrirani sljedeći pripravci eritropoetina: Eprex (Jadran galenski laboratorij), Recormon (Hoffman la Roche) te najnoviji Epoetal (Pliva) (21).

Erythropoietin

by **Ivana Husnjak and Branka Zorc**

S u m m a r y

Erythropoietin, EPO, is a glycoprotein hormone produced mainly by the kidney which regulates the proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells. Low level of oxygen in the body causes the pathway leading to erythropoietin production, and consequentially, erythrocyte production. With the application of recombinant DNA technology, the gene for erythropoietin has been molecularly cloned, sequenced and expressed in a biologically active form in mammalian cells. Recombinant human erythropoietin (rHuEPO) was introduced in clinical practice in 1986 as a drug that can compensate blood transfusion in those cases when there is enough time for erythropoietin to work. Indications for erythropoietin application are: patients with chronic renal insufficiency on dialysis, patients with malignancies on chemotherapy and patients to be operated with expected blood loss grater than 1 litre and neonates. Iron therapy is essential when using erythropoietin to maximize erythropoiesis by avoiding absolute and functional iron deficiency.

Four possible routes of rHuEPO administration exist: intravenous, subcutaneous, intraperitoneal and intradermal. Preferred route nowadays is subcutaneous application. The side effects of treatment are hypertension, seizures, thrombosis. Other possible adverse effects are: flu like syndrome, bone and muscle pain and headache.

Because of its effect on hematocrit and athletic performance erythropoietin was misused in some sports, but nowadays its use as a doping is banned by sport authorities.

Literatura – References

1. European Pharmacopoeia, 4th Edition, Council of Europe. Strasbourg 2002., 1123.
2. *I. Radman, J. Slipac, B. Golubić-Ćepulić*, Paediatr. Croat. **49** (2005) (Suppl. 1) 271-274.
3. *http://www.farmakologija.com/materija/b_aa.htm*
4. *http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Smith/MyFavoriteProteinorGene.htm*
5. M. *Bulat, J. Geber, Z. Lacković*, Medicinska farmakologija, Medicinska naklada. Zagreb 2001, 338-339.
6. *S. N. Constantinescu, S. Ghaffari, H. F. Lodish*, TEM **10** (1999) 18-23.

7. *http://www.plivazdravlje.hr/?section=lijekovi&cat=t&id=93&show=1*
8. *J. W. Eschbach*, Bailliere Clin. Haem. **18** (2005) 347–361.
9. *J. A. Glaspy*, J. Natl. Compr. Canc. Netw. **6** (2005) 796–804.
10. *C. A. Glessinger, R. Klingenberg, P. Staritz, A. Koch, P. Ehlermann, A. Wiggenhauser, T. J. Dengler*, Int. J. Cardiol. (2005) (in press).
11. *P. Pronzato, J. Jassem, J. Mayordomo*, Crit. Rev. Oncol. Hemat. (2005) (in press).
12. *J. Rossert, M. Froissart, C. Jacquot*, Kidney Int. Suppl. **99** (2005) S76–81.
13. *M. Lorenz, W. C. Winkelmayer, W. H. Horl*, G. Sunder Plassmann, Eur. J. Clin. Invest. **35** (2005) (Suppl 3) 89–94.
14. *B. Stojimirović, V. Pavlović Kentera*, Facta Univer. **7** (2000) 1–6.
15. *J. L. Spivak*, Blood Rev. **3** (1989) 130–135.
16. *R. K. Ohls, A. Dai*, Clin. Perinatol. **31** (2004) 77–89.
17. *R. Smith*, Curr. Opin. Hematol. **9** (2002) 228–233.
18. *http://www.coursework.info/i/63099.html*
19. *http://www.prehranasportasa.com/php/index.php3?uGlava=05_09&Naslov=05&Podnaslov=05_09*
20. *F. Lasne, J. de Ceaurriz*, Nature **405** (2000) 635.
21. *L. Bencarić*, Registar lijekova u Hrvatskoj, 48. izdanje, Udruga poslodavaca u zdravstvu. Zagreb 2005.

Primljeno: 27. 01. 2006.