

University of Groningen

## Erythropoietin in cardiac ischemia

Lipsic, Erik

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2006

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Lipsic, E. (2006). *Erythropoietin in cardiac ischemia*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [s.n.].

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

Samenvatting en  
conclusies

## Samenvatting

De behandeling van het myocard infarct (MI) is tegenwoordig gericht op verkorting van ischemie-tijd door herstel van de coronair flow ("open arterie theorie"). Hoewel vroegtijdige reperfusetherapie van het MI de omvang van de myocardiale necrose beperkt, blijft de morbiditeit en mortaliteit na het MI hoog. Additionele bescherming van de myocardcellen tijdens ischemie en reperfusie is nodig om afsterven van de cardiomyocyten verder te reduceren, zodat de hartfunctie en de prognose van patiënten met een acuut MI verbetert.

Een MI leidt bij een groot deel van de patiënten op de langere termijn tot hartfalen, of linker ventrikel dysfunctie. Aangezien de vijf-jaars mortaliteit van patiënten met hartfalen hoger dan 50% blijft, zijn strategieën gericht op regeneratie van het falende hart noodzakelijk.

Traditioneel werd erytropoëtine (EPO) gezien als een hematopoëtisch hormoon. Recent onderzoek heeft echter laten zien dat EPO als een cytokine moet worden beschouwd dat verschillende cellulaire processen kan beïnvloeden, zoals bescherming tijdens ischemie, maar ook angiogenese of stimulatie van stamcellen.

De afgelopen jaren hebben verscheidene onderzoeken aangetoond dat er een functionele EPO receptor aanwezig is in niet-hematopoëtische organen, zoals de hersenen, de nieren en ook in cardiovasculair weefsel. Deze bevindingen suggereren dat EPO naast de stimulatie van de hematopoëse ook een rol zou kunnen spelen als overlevings- en groeifactor.

### *Acute cardioprotectie*

Verschillende experimentele studies hebben een beschermend effect van EPO tijdens hersenischemie laten zien. Systemische toediening van EPO voor of tot 6 uur na een herseninfarct leidt tot een 50-75% reductie van het infarctvolume. In **hoofdstuk 2** hebben wij gekeken naar de aanwezigheid en functionaliteit van de EPO receptor in het hart en naar de effecten van exogene EPO toediening op de hartfunctie tijdens ischemie/reperfusie (I/R). In het eerste deel van het experiment lieten wij zien dat de EPO receptor tot expressie wordt gebracht in het hart, voornamelijk op endotheelcellen en fibroblasten, en in mindere mate ook op cardiomyocyten. Perfusie van de geïsoleerde rattenharten (Langendorff opstelling) met EPO leidde bovendien tot activatie van het belangrijke signaalpad MAPK, dat betrokken is bij de overleving van hartcellen na reperfusie. In het tweede deel van de studie werd aangetoond dat EPO behandeling tijdens I/R leidde tot herstel van linkerventrikel druk en coronaire flow. Deze effecten gingen gepaard met een reductie aan celschade van 56% gedurende reperfusie en met een verminderde apoptose.

Recentelijk hebben verschillende groepen aangetoond dat EPO behandeling tijdens I/R van het hart in vivo, maar ook tijdens permanente coronaire occlusie, leidt tot reductie van de infarctgrootte, hetgeen geassocieerd is met remming van de apoptotische celdood. Vroegtijdige reductie van infarctgrootte en apoptose was tevens geassocieerd met een afname in linker ventrikel (LV) dysfunctie. Desondanks bleef het onduidelijk wanneer EPO toediening tijdens I/R nog cardiale protectie gaf. Dit onderwerp hebben wij in **hoofdstuk 3** bestudeerd. EPO behandeling werd gegeven of 2 uur voor de I/R, aan het begin van de ischemie of na aanvang van de reperfusie. Een éénmalige toediening van EPO op de verschillende tijdstippen resulteerde in een reductie in infarctgrootte van 19-23%, die geassocieerd was met een verbeterde LV functie. Bovendien reduceerde EPO het aantal cellen dat apoptose onderging, zonder een effect op de proliferatieve activiteit van het myocard te hebben. Deze effecten kunnen niet toegeschreven worden aan een stijging van het hematocriet, aangezien deze

zich pas 2 tot 3 dagen na toediening van EPO voordoet. De bevinding dat EPO toediening na de reperfusie ook cardioprotectief is, levert een grote therapeutische window op voor de potentiële behandeling van het acute coronaire syndroom.

### *Post-MI Neovascularisatie en Regeneratie*

Naast de acute cardioprotectieve effecten door apoptose remming, beïnvloedt EPO ook de neovascularisatie na een ischemisch letsel. In een CVA-rattenmodel leidde EPO toediening, 24-uur na occlusie van de cerebrale arterie, tot een verbetering in neurologische functie en zorgde het voor een toename in de dichtheid van de cerebrale capillairen. In het hart zou neovascularisatie van het niet-geïnfarceerde hypertrofische myocard de cardiale functie kunnen verbeteren en de post-MI LV remodeling positief kunnen beïnvloeden. In **hoofdstuk 4** hebben wij de invloed van EPO op de capillarisation van het hart onderzocht. Wij hebben eerdere resultaten bevestigd, waarin werd gezien dat EPO toediening direct na het optreden van het MI leidde tot infarctgrootte reductie, hetgeen gepaard ging met een verbeterde hemodynamische functie. Hoewel EPO behandeling vanaf 3 weken na het infarct niet leidde tot een afname van de infarctgrootte, resulteerde het wel in een verbetering van cardiale functie, aangetoond aan de hand van een toename in de drukopbouw door de linker ventrikel en een afname in de N-ANP spiegels. Deze verbeterde hartfunctie was geassocieerd met herstel van de capillaire dichtheid naar 'sham' niveau en met een toename van het aantal capillairen per cardiomyocyt, hetgeen neovascularisatie aantoont. Daarnaast waren deze effecten gerelateerd aan hogere percentages van de alfa-MHC (myosin-heavy chain) isovormen, een moleculaire marker voor verbeterde myocardiale contractiliteit.

Alhoewel onze studie een significant effect van EPO op de capillarisation na het MI liet zien, zijn er veel vragen overgebleven. Het hematocriet steeg met 27% bij de EPO-behandelde ratten. En, hoewel dit minder waarschijnlijk lijkt, zou de verhoogde zuurstoftransportcapaciteit van het bloed hebben kunnen bijdragen aan de verbeterde hartfunctie. Ook van belang is dat de chronisch hoge dosering van EPO in de klinische situatie zou kunnen leiden tot hypertensie, beroertes en trombose in patiënten met een al verhoogd cardiovasculair risicoprofiel. Verder blijft het mechanisme achter de neovascularisatie onbekend. Stimulatie van endotheelcellen in situ of van de proliferatie en mobilisatie van endotheelvoorlopercellen (EPCs) vanuit het beenmerg zouden beiden een rol kunnen spelen. Recentelijk werd aangetoond dat verhoogde EPC-spiegels geassocieerd zijn met een lager risico op cardiovasculaire dood bij patiënten met coronairlijden. EPO toediening bij hartpatiënten stimuleert de mobilisatie en de functionele activiteit van EPCs.

Om de hematopoëtische effecten van EPO te kunnen onderscheiden van de niet-hematopoëtische effecten en het hierbij behorende mechanisme te bestuderen, hebben wij een lage en een hoge dosering van EPO met elkaar vergeleken in een post-MI hartfalen model in de rat (**hoofdstuk 5**). Wij hebben gekeken naar het verloop van de hartfunctie in de tijd, naar mobilisatie van EPC's en naar neovascularisatie. Het hematocriet steeg in de groep met de hoge dosering, maar niet in die met de lage dosering. In beide EPO-behandelde groepen liet sequentiële echocardiografie een consolidatie van de hartfunctie zien tijdens de 9-weken durende follow-up, terwijl de niet-behandelde groep een duidelijke afname van de hartfunctie liet zien. Bovendien nam de hoeveelheid EPCs in beide EPO-behandelde groepen significant toe, hetgeen geassocieerd was met een toename van 42% in het aantal capillairen per cardiomyocyt in de hoge-dosering groep en van 28% in de lage-dosering groep. Deze bevindingen komen overeen met die in een studie uitgevoerd in een rattenmodel voor

progressief nierfalen, waarin behandeling met een lage dosering EPO de nieren beschermdde en het capillaire netwerk handhaafde, zonder de hematocriet te verhogen.

Samenvattend: in klinische situaties waarin chronische behandeling is geïndiceerd, zoals bij hartfalen, zou gebruik van EPO in een lage dosering gunstig kunnen werken, terwijl de bijwerkingen geassocieerd met een hematocriet stijging kunnen worden vermeden.

### *Klinische implicaties*

EPO wordt al twee decennia lang gebruikt binnen de geneeskunde. Aanvankelijk was dit met name voor de behandeling van anemie veroorzaakt door EPO-tekort bij chronisch nierfalen. De indicaties voor EPO behandeling zijn de laatste jaren echter uitgebreid en omvatten nu ook anemie bij patiënten met myelodysplastisch syndroom, bij kankerpatiënten na chemotherapie en profylaxe om de transfusiebehoefte bij grote chirurgische ingrepen te reduceren. In de cardiologie is aangetoond dat EPO toediening bij anemische patiënten met chronisch hartfalen leidt tot een toename van de LV ejectiefractie en tot een verbetering van het inspanningsvermogen. Alhoewel de indicaties voor EPO gebruik steeds ruimer worden, blijft het doel van de behandeling toch het ophogen van het hematocriet bij anemische patiënten. Echter ook de niet-hematopoëtische effecten van EPO zouden gunstig kunnen zijn bij niet-anemische patiënten met een acute ischemische episode. De eerste gerandomiseerde klinische studie in patiënten met een herseninfarct liet zien dat EPO toediening goed werd verdragen en weinig bijwerkingen bleek te hebben. Daarnaast werd aangetoond dat EPO behandeling leidde tot een kleiner infarct en uiteindelijk zorgde voor een betere cognitieve functie. Hoewel er recent een groot aantal experimentele studies zijn uitgevoerd waarin het beschermende effect van EPO in het myocard infarct wordt aangetoond, zijn er tot op heden geen klinische data beschikbaar. Wel werd aangetoond dat hoge endogene EPO spiegels onafhankelijk gecorreleerd waren met een kleiner infarct bij patiënten met een acuut MI. In **hoofdstuk 6** hebben wij een klinische pilotstudie met EPO bij MI patiënten uitgevoerd. In deze single-center onderzoekergeïnitieerde gerandomiseerde studie hebben wij de veiligheid van de langwerkende EPO analoog darbepoëtine bestudeerd bij niet-anemische patiënten met een acuut ST-elevatie MI. Tweëntwintig patiënten werden voor percutane coronaire angioplastiek gerandomiseerd naar een bolus van 300 µg darbepoëtine of geen aanvullende medicatie. Toediening van darbepoëtine was veilig en werd goed verdragen. Er werden geen “adverse events” gezien tijdens de 30 dagen durende follow-up. In plaats van dat het hematocriet tot boven de referentiewaarden werd verhoogd, voorkwam een bolus van darbepoëtine slechts de daling van het hematocriet die in de controle groep werd gezien. Daarnaast werd 72 uur na het MI een significante stijging van het aantal EPCs gezien in de groep behandeld met darbepoëtine. Ondanks de niet-significant langere tijd tot de start van de behandeling en de grotere “area at risk” (cumulatieve ST-elevaties) in de darbepoëtine groep, was de LV functie 4 maanden na het MI in beide groepen gelijk. De resultaten van deze eerste pilot studie pleiten voor een grotere klinische studie om de effectiviteit van EPO bij patiënten met een acuut MI verder te onderzoeken.

Anemie is al langere tijd bekend als risicofactor voor cardiovasculaire morbiditeit en mortaliteit bij patiënten met chronische nierinsufficiëntie en hartfalen. Onlangs bleek anemie geassocieerd met een slechtere prognose van patiënten met stabiel coronairlijden. In **hoofdstuk 7** hebben wij de effecten van hemoglobine spiegels op de korte-termijn mortaliteit bij patiënten met een acuut MI bestudeerd. Wij vonden een significant verhoogde 30-daagse mortaliteit in patiënten met hemoglobine spiegels onder de 6.2 mmol/l (10 g/dl). Hoewel

andere risicofactoren (leeftijd, nierfunctie) sterker geassocieerd zijn met overleving en dus gedeeltelijk de effecten van anemie verklaren, bleef een lagere hemoglobinespiegel een onafhankelijke voorspeller van de 30-daagse mortaliteit na correctie voor deze variabelen. Specifieke therapeutische strategieën gericht op het hemoglobine-niveau, waaronder EPO behandeling, zouden verder overwogen moeten worden.

## Conclusie

Alhoewel EPO traditioneel wordt beschouwd als een hematopoëtisch hormoon, wordt het ook meer en meer gezien als een pleiotroop cytokine, met andere effecten dan alleen de stimulatie van de proliferatie van rode bloedcellen (bediscussieerd in **hoofdstuk 8**).

De detectie van de EPO receptor buiten het hematopoietisch systeem suggereerde de mogelijkheid dat er verschillende niet-hematopoëtische effecten van EPO bestaan. EPO biedt neuroprotectie tegen een beroerte en bij andere neurologische aandoeningen. Gunstige effecten van EPO tijdens ischemie werden ook in andere organen en weefsels beschreven.

De recombinante vorm van EPO wordt al bijna twee decennia lang in de kliniek gebruikt om verschillende vormen van anemie te behandelen. Hoewel het gebruik van EPO in het algemeen veilig is en goed verdragen wordt, zijn er bijwerkingen bekend gerelateerd aan de verhoging van het hematocriet.

Recentelijk gesynthetiseerde niet-hematopoëtische varianten van EPO, die de weefsel-beschermende activiteit behouden, zouden een effectieve en veilige optie kunnen zijn voor niet-anemische patiënten met orgaan-ischemie.

EPO blijkt twee cruciale processen tijdens ischemie/reperfusie in het hart te beïnvloeden. Ten eerste door tijdens het acute stadium de apoptose te remmen en de infarctgrootte te reduceren, en ten tweede door op de langere termijn de neovascularisatie te bevorderen en de myocardiale structuur en functie te bewaren. Als deze effecten naar hartpatiënten worden geëxtrapoleerd, zou EPO bij het acute coronaire syndroom “twee vliegen in één klap” kunnen slaan.

