

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.

Zhrnutie a záver

Zhrnutie

Súčasná liečba infarktu myokardu (IM) je zameraná na skrátenie času ischémie skorou obnovou koronárnej perfúzie (teória „otvorenej artérie“). Napriek reperfúznej terapii limitujúcej rozsah nekrózy myokardu a zlepšujúcej klinické prežívanie, morbidita a mortalita po IM stále zostáva vysoká. Aditívna ochrana buniek myokardu počas ischémie a reperfúzie môže viesť k zlepšeniu prežívania myocytov, s následným kladným účinkom na srdcovú funkciu a prognózu pacientov s akútnym IM.

U veľkej časti pacientov s IM sa okrem toho rozvíja srdcové zlyhanie alebo ľavokomorová (ĽK) dysfunkcia. Päťročné prežívanie pacientov s diagnózou srdcového zlyhania je nižšie ako 50% a jednoznačne si vyžaduje stratégie zamerané na regeneráciu zlyhavajúceho myokardu. Erytropoetín (EPO) je hormón produkovaný v parenchýme obličiek, stimulujúci hemopoézu v kostnej dreni. Nedávny objav funkčného EPO receptora v ne-hemopoetických bunkách (obličiek, nervového a kardiovaskulárneho systému) naznačil možné pleiotropné účinky erytropoetínu. EPO zrejme ovplyvňuje aj širokú škálu iných procesov v organizme a medzi nimi aj ochranu proti ischemickému poškodeniu, stimuláciu angiogenézy a proliferáciu kmeňových buniek.

Akútna ochrana myokardu

Viacere experimentálne štúdie preukázali protektívny účinok erytropoetínu v centrálnom nervovom systéme. Systémové liečba erytropoetínom pred alebo do šiestich hodín po indukcií fokálnej mozgovej ischémie u potkanov znižuje rozsah infarktu o 50-75%. V **kapitole 2.** sme skúmali prítomnosť a funkčnosť EPO-receptora v srdcovom tkanive a vyhodnotili účinok aplikácie exogénneho erytropoetínu na srdcovú činnosť počas ischemicko/reperfúzneho (I/R) poškodenia.

V prvej časti štúdie sme preukázali expresiu EPO-receptora v srdci potkana, kde je prítomný hlavne v endotelových bunkách a fibroblastoch a v menšej miere aj v kardiomyocytoch. Perfúzia izolovaných potkaních srdc (Langendorffov model) vysokými koncentraciami erytropoetínu aktivuje navyše MAP kinázu - dôležitú signálnu dráhu pre prežívanie srdcových buniek pri reperfúznom poškodení.

V druhej časti štúdie – aplikácia exogénneho erytropoetínu počas I/R poškodenia preukazateľne zvýšila ľavokomorový tlak a koronárny prietok. Tento účinok bol spojený s 56% redukciou bunkového poškodenia počas reperfúzie a tiež zníženou apoptózou.

Viacere štúdie v posledných rokoch preukázali, že podávanie erytropoetínu *in vivo* počas kardiálneho I/R poškodenia alebo trvalej koronárnej oklúzie vedie k zmenšeniu veľkosti infarktu, čo je spojené s inhibíciou apoptózy. Akútna redukcia veľkosti infarktu a apoptózy vedie následne k prevencii dysfunkcie ĽK. Napriek týmto výsledkom, klinicky relevantná otázka šírky „terapeutického okna“ pre EPO-mediovanú ochranu myokardu počas I/R poškodenia zostala nezodpovedaná.

V **kapitole 3.** sme sa venovali možnosti využitia „terapeutického okna“. Erytropoetín bol podávaný 2 hodiny pred začiatkom ischémie, po indukcií ischémie alebo po začatí reperfúzie. Jedna dávka EPO vo vyššie uvedených rôznych časových intervaloch viedla k 19-23% redukcii veľkosti infarktu, spojenej so zlepšenou ĽK funkciou. EPO na jednej strane významne znížil počet buniek vstupujúcich do apoptózy, na strane druhej neovplyvnil proliferačnú aktivitu myokardu. Z toho vyplýva, že účinok EPO je skôr v inhibícii programovanej bunkovej smrti spojenej s I/R poškodením ako v stimulácii proliferácie. Dôležitým faktorom je, že

tento účinok nie je možné pričítať vzostupu hematokritu, pretože k tomu dochádza až 2-3 dni po aplikácii erythropoetínu. Predĺženie kardioprotektívneho účinku erythropoetínu až za začiatok reperfúzie poskytuje široké "terapeutické okno" pre potenciálnu liečbu akútneho koronárneho syndrómu.

Neovaskularizácia a regenerácia myokardu po IM

Okrem akútneho kardioprotektívneho účinku pomocou inhibície apoptózy, erythropoetín ovplyvňuje rast nových ciev (neovaskularizáciu) po ischemickom poškodení. Liečba erythropoetínom 24-hodín po mozgovej ischémii u potkana zlepšuje neurologickú funkciu a zvyšuje počet cerebrálnych kapilár na okraji infarktu. Neovaskularizácia neinfarktovej, hypertrofovej časti myokardu vedie k zlepšeniu kardiálnej funkcie a zamedzeniu postinfarktovej remodelácie LK.

V **kapitole 4.** sme hodnotili efekt liečby erythropoetínom na rast nových ciev pri srdcovom zlyhaní po IM. Potvrdili sme doterajšie pozorovania o redukcii veľkosti infarktu v prípade podania erythropoetínu priamo po indukcii IM, čo bolo spojené so zlepšenou hemodynamickou funkciou srdca. Okrem toho, liečba s EPO zahájená tri týždne po začiatku IM, napriek tomu že neovplyvnila veľkosť infarktu, viedla k zlepšeniu srdcovej činnosti, čo potvrdzuje 17% zvýšenie rozdielu ľavokomorového systolického a diastolického tlaku a 46% redukcia hladiny N-ANP.

Zlepšenie bolo spojené s obnovením hustoty kapilár na normálne (predinfarktové) hodnoty a významným zvýšením indikátora neovaskularizácie- kapiláro-myocytového pomeru. Tieto pozitívne účinky boli navyše spojené s vyšším percentom obsahu izoforiem alfa-MHC (myosine-heavy chain), molekulového markera zvýšenej kontraktility myokardu.

Aj keď spomínaná štúdia ukázala jednoznačný efekt erythropoetínu na vznik nových kapilár po IM, viacero otázok zostalo nezodpovedaných. U potkanov liečených erythropoetínom stúpol hematokrit o 27% a aj keď je to menej pravdepodobné, zvýšená transportná kapacita krvi pre kyslík mohla teoreticky prispieť k zlepšenej kardiálnej činnosti. Na druhej strane v klinickej situácii môže chronická liečba vysokými dávkami erythropoetínu spôsobovať hypertenziu, cievnu príhodu, trombózu a následnú smrť. Tieto komplikácie sú prídavným rizikom hlavne u pacientov s kardiovaskulárnym ochorením. Inou otázkou je doteraz neznámy mechanizmus erythropoetínom indukovanej neovaskularizácie. Stimulácia *in situ* proliferácie endotelových buniek, ako i mobilizácia endotelových progenitorových buniek (EPB) v kostnej dreni by mohli vysvetliť efekt erythropoetínu. Zvýšené hodnoty cirkulujúcich EPB boli v nedávnej štúdii spojené so zníženým rizikom z kardiovaskulárnej smrti u pacientov s dokázanou koronárnou chorobou.

V **kapitole 5.** sme za účelom rozlíšenia hemopoetických a ne-hemopoetických účinkov erythropoetínu a odkrytia možného mechanizmu jeho pôsobenia porovnali liečbu srdcového zlyhania nízkymi a vysokými dávkami erythropoetínu u potkanov s IM. Počas štúdie sme sekvenčne merali srdcovú funkciu, mobilizáciu EPB a neovaskularizáciu. Hematokrit sa významne zvýšil v skupine s vysokým dávkovaním a zostal nezmenený v skupine s nízkym dávkovaním EPO. V oboch erythropoetínom liečených skupinách sme pomocou echokardiografie preukázali zachovanie systolickej funkcie LK počas 9-týždňového sledovania a invazívne hemodynamické merania potvrdili zlepšenú kontrakčnú a relaxačnú činnosť srdca na konci štúdie. Liečba erythropoetínom navyše zvýšila počet cirkulujúcich EPB, čo bolo spojené s 42% nárastom kapiláro-myocytového pomeru u EPO vysoko- a 28% u nízko-dávkovanej skupiny. Naše výsledky sú v súlade so štúdiou uskutočnenou v modeli progresívneho obličkového

zlyhania u potkana, kde liečba nízkymi dávkami EPO mala napriek nezvýšeniu hematokritu nefroprotektívny účinok a zachovala kapilárnu sieť v obličkách.

V situáciach kde je indikovaná chronická liečba (srdcové zlyhanie), použitie nízkych dávok erytropoetínu môže byť efektívne a zároveň nespôsobovať nežiadúce účinky spojené so zvýšením hematokritu.

Klinické využitie

Erytropoetín je používaný v klinickej medicíne po dve desaťročia, spočiatku hlavne na liečbu anémie spôsobenej zníženou produkciou erytropoetínu pri chronickom obličkovom zlyhaní. Indikácie na liečbu erytropoetínom sa v posledných rokoch rozšírili a sú zamerané na liečbu anémie u pacientov s myelodysplastickým syndrómom, aplastickou anémiou, onkologických pacientov s anémiou po chemoterapii, ako profylaktická liečba za účelom redukcie počtu transfúzií pred rozsiahlym operačným zákrokom a v iných indikáciách.

Liečba erytropoetínom v kardiológii zvyšuje ejekčnú frakciu LK a zlepšuje záťažovú kapacitu u anemických pacientov s chronickým srdcovým zlyhaním. Napriek rozšíreniu indikácie erytropoetínu, zostáva doteraz hlavným účelom liečby zvýšenie hematokritu u anemických pacientov. Na druhej strane práve ne-hemopoetické účinky erytropoetínu môžu byť prospešné aj u pacientov s akútnou ischemickou príhodou bez anémie. Prvá randomizovaná klinická štúdia u pacientov s náhlou cievnou mozgovou príhodou preukázala, že okrem bezpečnosti a dobrej tolerancie, liečba erytropoetínom zlepšuje klinické parametre a znižuje ischemické poškodenie mozgu.

Aj keď neustále narastá počet štúdií poukazujúcich na ochrannú úlohu erytropoetínu pri experimentálnej ischemii, doteraz nie sú k dispozícii žiadne klinické výsledky. Je pozoruhodné, že vysoké hladiny endogénneho erytropoetínu boli spojené s menšími veľkosťami infarktov u pacientov s akútnym IM.

V **kapitole 6.** sme uskutočnili prvú pilotnú klinickú štúdiu s aplikáciou erytropoetínu u pacientov s akútnym IM. Hlavným cieľom našej randomizovanej, nezaslepanej štúdie bolo vyhodnotenie bezpečnosti a tolerancie dlhooúčinkujúceho analógu erytropoetínu-darbopoetínu-alfa u pacientov s akútnym ST IM liečeným primárnou koronárnou angioplastikou. Dvadsaťdva pacientov bolo randomizovaných na aplikáciu 300 µg darbopoetínu alebo žiadnu aditívnu liečbu. Podávanie darbopoetínu-alfa u pacientov bolo bezpečné a dobre tolerované. Počas 30-dňového klinického pozorovania sme nezaznamenali žiadne nežiadúce účinky. Jeden bolus darbopoetínu nespôsobil nárast hematokritu nad referenčné hodnoty ale predišiel poklesu hematokritu pozorovanom v kontrolnej skupine. Dôležitým pozorovaním bolo významné zvýšenie počtu EPB 72-hodín po aplikácii darbopoetínu. Napriek dlhšiemu „času k liečbe“ a rozsiahlejšej ohrozenej oblasti myokardu (kumulatívna ST-elevácia) bola LK funkcia štyri mesiace po IM rovnaká v oboch skupinách. Výsledky tejto klinickej štúdie podporujú začatie rozsahovo väčšej štúdie za účelom zistenia efektivity podávania erytropoetínu u pacientov s akútnym IM.

U pacientov s chronickou renálnou insuficienciou a srdcovým zlyhaním je anémia známym rizikovým faktorom zvýšenej kardiovaskulárnej morbidity a mortality. V posledných prácach bol výskyt anémie spojený s horším prežívaním aj u pacientov s dokázanou ischemickou chorobou srdca. V **kapitole 7.** sme skúmali účinok hladiny hemoglobínu na krátkodobú mortalitu u pacientov s akútnym IM. V tejto retrospektívnej štúdiu sme analyzovali 1841 po sebe nasledujúcich pacientov prijatých s diagnózou akútneho IM. Významne zvýšenú 30-dňovú mortalitu sme zaznamenali u pacientov s hodnotou hemoglobínu pod 100 g/l. Aj

keď ostatné rizikové faktory (vek, obličková funkcia) boli výraznejšie spojené s prežívaním pacientov a čiastočne tak môžu vysvetlovať negatívny efekt anémie, nízka hladina hemoglobínu zostala nezávislým prediktorom 30-dňovej mortality aj po korekcii pre spomínané rizikové faktory. Špecifické liečebné postupy, vrátane liečby erytropoetínom, by mohli byť v budúcnosti zvažované u anemických pacientov s akútnym IM.

Záver

Tradične vnímaný ako hemopoetický (erytropoetický) hormón, erytropoetín je stále viac pokladaný za pleiotropný cytokín, s účinkami ďaleko prekračujúcimi len stimuláciu produkcie červených krviniek (diskutované v **kapitole 8**).

Detekcia EPO-receptora mimo hemopoetického systému implikovala možnosť rôznych ne-hemopoetických funkcií erytropoetínu. Aplikácia erytropoetínu v centrálnom nervovom systéme poskytuje ochranu neurónov pri ischemickej príhode a iných neurologických ochoreniach. Prospešné účinky erytropoetínu počas ischemického poškodenia boli dokázané aj v rôznych iných orgánoch a tkanivách.

Rekombinantná forma erytropoetínu je používaná na liečbu rôznych foriem anémie v klinickej medicíne už skoro dve desaťročia. Aj keď liečba erytropoetínom je vo všeobecnosti dobre tolerovaná a bezpečná, môže byť spojená aj s nežiadúcimi účinkami spojenými hlavne so vzostupom hematokritu. V poslednom čase syntetizované ne-hemopoetické varianty erytropoetínu, ktoré si zachovávajú ochranný účinok na tkanivá, môžu byť zároveň efektívnou a bezpečnou alternatívou u neanemických pacientov s orgánovou ischémiou.

V srdci ovplyvňuje erytropoetín dva kľúčové procesy počas experimentálneho IM; akútne inhibíciou apoptózy a redukciami veľkosti infarktu, a z dlhodobého hľadiska stimuláciou neovaskularizácie a uchovaním štruktúry a funkcie myokardu. Pokiaľ bude možné dané účinky extrapolovať aj na pacientov so srdcovým ochorením, liečba akútnych koronárnych syndrémov erytropoetínom by mohla „zabiť dve muchy jednou ranou“.

