

Efek Proteksi Otak Erythropoietin

Iwan Fuadi, Tatang Bisri

Departemen Anestesiologi & Terapi Intensif Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran–RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung

Abstrak

Eritropoietin (EPO) adalah hormon ginjal yang berfungsi mempertahankan jumlah eritrosit. Penelitian-penelitian menunjukkan bahwa EPO adalah molekul multifungsi yang dihasilkan dan digunakan oleh berbagai jaringan. Selain eritropoiesis, EPO juga terlibat pada respon biologis kerusakan jaringan akut dan subakut. Eritropoietin tidak hanya berperan dalam eritropoiesis tetapi juga memiliki efek proteksi otak dengan merangsang *protein of repair*, mengurangi eksitotoksitas neuron, mengurangi inflamasi, menghambat apoptosis neuron dan merangsang neurogenesis dan angiogenesis pada penelitian eksperimental cedera iskemia, hipoksia dan cedera toksik. EPO juga memperbaiki *outcome* neurologik dan fungsi mental. Ditemukannya EPO dan reseptor EPO (EPOR) di organ-organ dan jaringan *non eritroid* menunjukkan EPO mempunyai fungsi yang lain. Produksi ekstrarenal dari EPO ditemukan pada binatang pengerat dewasa dan pada manusia dengan *severely anemic anephric* masih ditemukan kadar EPO walau sangat rendah. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi sintesa ekstrarenal dari EPO. Berbagai jenis sel pada sistem saraf pusat memproduksi EPO dan mengekspresikan EPOR. Mekanisme kerja EPO dapat mempengaruhi berbagai langkah dalam kaskade kematian sel. EPO dapat mencegah kematian sel neuron eksitotoksik yang diakibatkan oleh berbagai reseptor glutamat agonis juga melindungi sel neuron dari toksisitas yang diakibatkan oleh kainate, NMDA dan AMPA. EPO dapat melawan efek sitotoksik dari glutamat, meningkatkan ekspresi enzim-enzim antioksidan, mengurangi pembentukan radikal bebas, memperbaiki aliran darah serebral, mempengaruhi pelepasan neurotransmitter, dan meningkatkan angiogenesis. EPO tidak hanya berfungsi dalam proses eritropoiesis tetapi juga mempunyai efek protektor otak. Jalur proteksi otak dari EPO memang masih belum jelas tetapi penelitian-penelitian menunjukkan terdapat perbaikan dari otak baik secara klinis maupun laboratoris setelah pemberian EPO.

Kata kunci: EPO, proteksi otak, kematian sel neuron

JNI 2015; 4 (2): 149–56

Brain Protection Effect of Erythropoietin

Abstract

Erythropoietin (EPO) has been viewed solely as a renal hormone with a specialized role in maintaining adequate numbers of erythrocytes. However, recent studies have revealed that EPO is a multifunctional molecule produced and utilized by many tissues. In addition to erythropoiesis, EPO's other key roles involve the acute and sub acute biological responses to tissue damage. Studies showed that EPO stimulates proteins of repair, diminishes neuronal excitotoxicity, reduces inflammation, inhibit neuronal apoptosis and stimulates both neurogenesis and angiogenesis. EPO also improved neurological outcomes and mental function. The discovery of EPO and EPOR (erythropoietin receptor) in many non-erythroid organs and tissues suggested that EPO has other roles. Extrarenal production of EPO found in adult rodents and in humans. Different cell types in the nervous system produce EPO and express EPOR. EPO mechanism influence every step in cascade of neuronal cell death. EPO prevents excitotoxic neuronal cell death caused by glutamate receptor agonists that protect neuron from toxicity from kainate, NMDA and AMPA. EPO can resist cytotoxic effect of glutamate, increased antioxidant enzymes expression, reduce free radical formation, repair cerebral blood flow, influence release of neurotransmitter dan angiogenesis. EPO function not only in erythropoiesis but also in brain protection. The brain protection pathway of EPO remains unclear but clinical and laboratory studies showed that good result.

Key words: EPO, brain protection, neuronal cell death

JNI 2015; 4 (2): 149–56

I. Pendahuluan

Cedera otak merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia. Cedera otak traumatika menyebabkan gangguan fisik, kognitif, perilaku dan emosi jangka panjang. Saat ini kerusakan otak primer akibat cedera otak sangat kecil kemungkinan untuk diperbaiki tetapi kerusakan otak sekunder memiliki peluang untuk perbaikan. Saat ini terapi secara farmakologis untuk menurunkan kerusakan otak sekunder tidak ada yang spesifik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa erythropoietin (EPO) merupakan mediator endogen untuk proteksi otak pada berbagai gangguan sistem saraf pusat termasuk cedera otak traumatika.¹ Selama bertahun-tahun EPO dianggap hanya sebagai hormon dari ginjal yang berfungsi khusus untuk mempertahankan jumlah eritrosit yang adekuat. Tetapi banyak penelitian yang menunjukkan bahwa EPO merupakan molekul multifungsi yang dihasilkan dan digunakan oleh berbagai jaringan. Selain fungsi eritropoiesis EPO juga berperan dalam respon kerusakan jaringan baik yang akut maupun yang subakut. Pada kondisi tersebut EPO mengurangi kerusakan baik primer maupun sekunder dan memfasilitasi perbaikan fungsi-fungsi jaringan.² Ditemukannya EPO dan reseptor EPO (EPOR) di organ-organ dan jaringan non eritroid seperti sel endotel, organ reproduksi, jantung, traktus gastrointestinal, sel otot dan sistem saraf pusat menunjukkan EPO mempunyai fungsi-fungsi yang lain. Produksi ekstrarenal dari EPO sekitar 15–20% dari total produksi EPO pada binatang pengerat dewasa. Pada manusia dengan *severely anemic anephric* masih ditemukan kadar EPO walau sangat rendah. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi sintesa ekstrarenal dari EPO.¹ Berbagai jenis sel pada sistem saraf pusat (neuron, sel glia dan sel endotelial) memproduksi EPO dan mengekspresikan EPOR. EPO memiliki beberapa kemungkinan jalur untuk proteksi otak. Penelitian sebelumnya menunjukkan EPO melindungi neuron dari proses toksisitas glutamat dengan mengaktivasi kanal Ca eksitatori dan meningkatkan aktifitas antioksidan dalam neuron. Penelitian pada tikus yang diberikan EPO sebelum dan sesudah trauma pada otak menunjukkan nekrosis yang lebih sedikit,

penurunan inflamasi, apoptosis, dan edema otak.³ Penelitian pemberian EPO pada pasien stroke aman dan memperbaiki *outcome* fungsional.⁴ Penelitian penggunaan EPO pada manusia dengan cedera kepala aman digunakan hanya hasil yang didapat kurang memuaskan karena sampel yang kurang homogen diperkirakan bila sampel homogen akan didapatkan hasil yang lebih baik.⁵

II. Erythropoietin

Recombinant Human Erythropoietin (rhEPO)

EPO endogen diproduksi oleh interstitial fibroblast dan endotel peritubuler di ginjal (90%) pada orang dewasa, dan di hepatosit (10%) pada saat fetus yang merupakan primer EPO. EPO mRNA (*messenger RNA*) juga dapat dideteksi di paru-paru, testis, dan otak, tetapi tidak pada otot, usus atau tulang belakang dari golongan binatang pengerat. Carnot dan Deflandre merupakan orang yang pertama kali mempublikasikan hemapoietin pada otak. Lebih dari 60 tahun, banyak penelitian dilakukan untuk membuktikan kemungkinan bahwa EPO dapat diproduksi oleh otak sendiri. Sejak diketahui bahwa EPO dapat melewati sawar darah otak, banyak penelitian tentang EPO dan efeknya terhadap susunan saraf pusat (SSP).^{6,7} Ada empat macam rhEPO, yaitu epoetin alfa, epoetin beta, epoetin omega, dan epoetin delta. Sampai saat ini tentang epoetin delta belum banyak didapatkan data. EPO yang ada di Indonesia adalah epoetin alfa. Perbedaan struktur kimia terdapat pada kadar oligosakarida. Epoetin alfa (39% oligosakarida), epoetin beta (24% oligosakarida), dan epoetin omega (21% oligosakarida) tidak ada perbedaan efikasi dan farmakologinya. Epoetin alfa dan beta diproduksi dari *Chinese hamster ovary* (CHO) dan epoetin omega diproduksi dari sel *baby hamster kidney* (BHK).^{6,7} Epoetin alfa ini dihasilkan dengan teknologi DNA rekombinan melalui pengenalan gen eritropoietin manusia dalam sel CHO. Sel CHO yang sudah dipilih kemudian dikloning sampai menghasilkan 70–80 ribu sel. Selama kloning diberikan terapi bromdeoxyuridine dengan konsentrasi 250 ug/mL kemudian dilakukan kromatografi dan selanjutnya dilakukan pemilihan sel yang sesuai

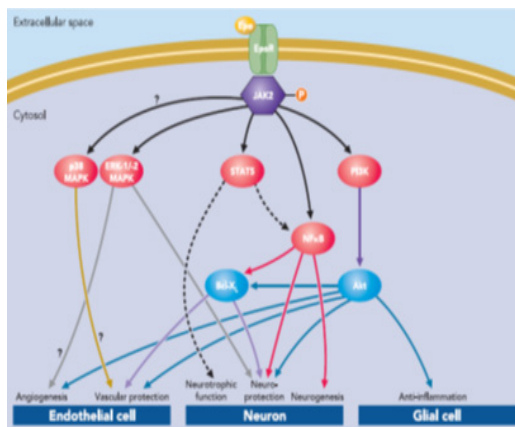
morfologi, kariotip, dan fenotipnya. Untuk pembuatan rhEPO disiapkan cotransfection dari sel CHO dengan plasma pSVEp2neo dan pBRTK dilanjutkan dengan proses stabilisasi sampai menghasilkan sel rhEPO yang bebas virus dan tidak ada perubahan kariotip, isozim, laju pertumbuhan sel, *copy number of vector*, kadar enzim dan hibridisasi in situ. Hal ini yang menghasilkan efek biologis dan urutan asam amino yang sama dengan eritropoetin endogen.⁷

Struktur Kimia Eritropoietin

Epoetin alfa merupakan glikoprotein 34.000 Dalton, yang terdiri dari 60% protein dan 40% karbohidrat yang mempengaruhi eritropoiesis sel darah merah. Human gen EPO merupakan single-copy-gen, yang terletak pada kromosom 7 yang terdiri dari 5 ekson dan 4 intron, 165 asam amino peptida. EPO memiliki berat molekul glikoprotein 30.000, deglikosilat EPO 18.000 terdiri dari 2 buah rantai disulfida, 4 α -helical bundle, dengan proporsi karbohidrat berupa fruktosa, galaktosa, manosa, N-asetilgalaktosamin, asam N-asetilneuraminik, 3 N linked, 1 O-linked glykosilasi.⁶ EPO akan merangsang pembelahan dan diferensiasi progenitor eritroid pada sumsum tulang belakang. EPO masuk ke sirkulasi, kemudian di sumsum tulang mengatur produksi sel darah, dan mencegah apoptosis dari sel progenitor eritroid.⁸

Mekanisme Kerja EPO

Mekanisme kerja EPO dapat mempengaruhi berbagai langkah dalam kaskade kematian sel



Dikutip dari: Rabie T dkk.³

Gambar 1 Proses Sinyal EPO

neuron. Sebagai contoh EPO dapat mencegah kematian sel neuron eksitotoksik yang diakibatkan oleh berbagai glutamat reseptor agonis. EPO juga melindungi sel neuron dari toksisitas yang diakibatkan oleh kainate dan NMDA dan AMPA. EPO juga menghambat pelepasan eksitotoksitas glutamat yang diinduksi oleh kalsium pada granula serebular neuron akibat iskemia oleh zat kimia pada in vitro. Penghambatan eksitotoksitas glutamat yang akan menghambat aksi glutamat pada reseptornya dihambat oleh EPO sehingga kematian sel akibat iskemia dapat ditekan. EPO juga menurunkan NO-mediated injury.⁹

Mekanisme Kerja EPO di Sistem Saraf Pusat

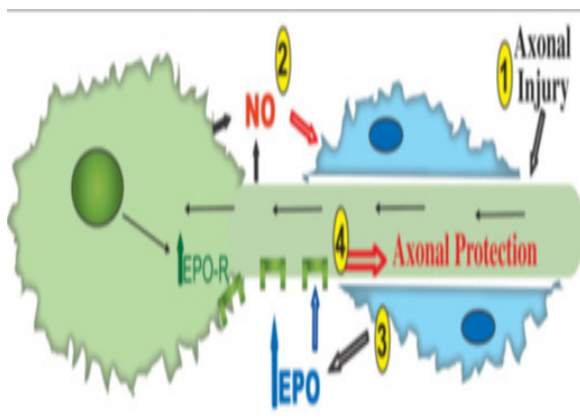
Eksresi EPO di otak dewasa meningkat pada hipoksia dan stres metabolik akut. Hal ini dibuktikan dengan terdeteksinya EPO dalam cairan serebrospinalis atau pada jaringan otak setelah cedera kepala traumatika, perdarahan subarakhnoid, dan stroke pada pemeriksaan post mortem.¹⁰ Mekanisme kerja EPO sebagai neuroprotektor diduga multifaktorial baik secara langsung maupun tidak langsung pada neuron. EPO dapat melawan efek sitotoksik dari glutamat, meningkatkan ekspresi enzim-enzim antioksidan, mengurangi pembentukan radikal bebas, memperbaiki aliran darah serebral, mempengaruhi pelepasan neurotransmitter, dan meningkatkan angiogenesis.¹⁰ Hipoksia dan cedera meningkatkan produksi EPO dan EPO reseptor (EPO-R) pada otak. EPO menurunkan regulasi tyrosine phosphatase dan mengaktifkan ERK1 dan ERK2 suatu regulator kinase pada neuron di daerah cortex. Epoetin alfa melindungi neuron daerah hipokampus pada tikus dari kematian sel akibat hipoksia melalui aktivasi ERK1, ERK 2 dan Akt.¹⁰ Pada neuron di cortex otak tikus Pada neuron daerah cortex pada tikus EPO berefek proteksi dengan cara EPO-R mengaktifasi JAK2 kemudian mengaktifasi kaskade nuclear factor (NF)- κ B dan meningkatkan ekspresi gen inhibitor apoptosis yaitu XIAP dan c-IAP2. EPO juga mempunyai efek proteksi terhadap cedera akibat iskemia pada neuron melalui regulasi gen anti apoptosis yaitu gen Bcl-x. Efek neuroprotektor juga dapat dilihat dari efek penurunan inflamasi dari daerah cedera otak. NF- κ B yang diaktifasi oleh EPO adalah

regulator dari gen inflamasi (gambar 1).¹⁰

Eritropoietin memiliki efek neuroprotektor kemungkinan melalui beberapa cara. *Hypoxia-induced* EPO mengatur regulasi penyampaian oksigen ke otak. Pengaruh EPO terhadap endotelium juga diduga berefek neuroprotektor, dengan cara:

1. Memproduksi faktor-faktor yang mengatur aliran darah.
2. Meningkatkan survival sel endotel.
3. Melakukan modifikasi mobilisasi sel progenitor endotelial dan angiogenesis.
4. Mempunyai efek neurogenesis dan migrasi neuroblast.

EPO berefek maturasi oligodendrosit dan melindungi dari interferon-gamma (IFN- γ), toksisitas lipopolisakarida, ekspresi *inducible nitric-oxide synthase* (iNOS) dan produksi nitrit.¹¹ EPO mempunyai efek antioksidan (secara langsung sebagai *free radical scavenging* atau tidak langsung dengan mengaktifasi enzim-enzim antioksidan).¹¹ Anti apoptosis dari EPO dengan cara berikatan dengan EPO-R menginduksi fosforilasi dari Janus tyrosine kinase 2 (Jak2). Jak2 yang teraktifasi menyebabkan fosforilasi dari *tyrosine site* pada EPO-R intrasel. Fosforilasi ini menyebabkan aktifasi dari *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5), *phosphoinositol-3-kinase* (PI3K), *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs), *SH2-containing protein-tyrosine phosphatases* (SHPs) dan NF- κ B *transcription factor*. STAT5



Dikutip dari : Keswani dkk.¹²

Gambar 2 Skema jalur proteksi EPO pada axon

mengaktifkan protein antiapoptosis Bcl-xl. PI3K mengaktifkan protein kinase B (Akt) yang menghambat *programed cell death* (PCD). MAPKs menjembatani ekspresi gen yang mencegah PCD. SHPs menghambat PCD dan menurunkan regulasi EPO. NF- κ B menyebabkan induksi *inhibitor of apoptosis protein (IAP) family*.¹¹ EPO sistemik juga menurunkan degenerasi dari axon, kelemahan anggota gerak dan nyeri neuropatik. Hipotesa jalur proteksi EPO terhadap axon sebagai berikut, axon yang mengalami cedera merangsang produksi *nitric oxide* (NO) dalam neuron, NO merangsang produksi EPO dari sel Schwann sekitarnya. EPO yang dihasilkan dari sel Schwann mengaktifkan jalur proteksi axon melalui ligasi EPO-R pada neuron (gambar 2).¹²

Jalur Sinyal yang Berperan dalam Proses Neuroproteksi dari EPO

Berbagai penelitian telah mengeksplorasi proteksi otak dari EPO melalui jalur sinyal EPO-EPOR kompleks (gambar 3). EPO endogen dan eksogen dapat berikatan dengan EPOR menyebabkan homodimerization dan fosforilasi JAK-2 mengakibatkan proses aktivasi *downstream signaling* yang rumit.¹ Fosforilasi JAK-2 mengaktifkan fosfatidylinositol 3-kinase (PI3-K) dan menginduksi aktifasi NF- κ B (nuclear factor) dan menstimulasi STAT-5 homodimerization. Selain itu fosforilasi JAK-2 mengaktifasi *Ras-Mitogen activated protein kinase* (MAPK) *signaling pathways*, dan modulasi konsentrasi kalsium pada sel yang tereksitasi, aktifitas elektrik dan pelepasan neurotransmitter dengan mengaktifkan phospholipase C- γ . Dari berbagai jalur ini yang perlu diperhatikan adalah jalur PI3-K/v-Akt murine thymoma *viral oncogene homolog* (Akt) Ras/MAPK, kedua jalur tersebut penting pada efek anti apoptosis dan efek tropik dari EPO. Jalur Janus-tyrosine-kinase-2 (JAK2)-PI3K sangat penting kemampuan neuroproteksi dari EPO. Penelitian *in vivo* menunjukkan inhibisi JAK-2 atau PI3-K menghilangkan efek neuroproteksi dari EPO. Aktifasi Akt yang dimediasi melalui PI3-K, memodulasi beberapa sinyal intrasel yang berperan pada apoptosis, *synaptic signaling*, dan sintesa glikogen. Molekul target dari Akt adalah

p53, GSK-3 dan cytochrome c yang berperan pada proses-proses modulasi penting seperti sintesa glikogen, siklus sel dan kematian sel. alur Ras/Raf/MEK/extracellular *signal-regulated* kinase (ERK)-1/2 juga berperan pada respon neuroproteksi diperkirakan berperan pada efek antiapoptosis dari EPO dengan meningkatkan transkripsi dari gen-gen antiapoptosis (Bcl-2, Bcl-xL). Penelitian sebelumnya menemukan bahwa EPO menurunkan volume infark dan merangsang aktivasi dari jalur JAK-2, ERK-1/2, and PI3-K/Akt yang berhubungan dengan peningkatan protein antiapoptosis Bcl-xL. Akhirnya jalur JAK2-STAT diperkirakan berperan penting pada efek antiapoptosis dari EPO. Fosforilasi STAT-5 akibat EPO/EPOR *coupling* melalui JAK-2. Phosphorylated STAT-5 yang sudah berfosforilasi berhomodimerisasi dan memasuki inti sel dimana gen antiapoptosis Bcl-2 and Bcl-xL ditranskripsi. Bcl-2 dan Bcl-xL mempunyai kemampuan untuk mencegah pelepasan cytochrome c dari mitokondria. EPO telah diketahui meningkatkan STAT-5 dan konsentrasi gen-gen antiapoptosis. Peran pasti dari jalur STAT-5 masih belum jelas, tetapi kemungkinan berperan pada efek antiapoptosis dan neurogenesis. Beberapa jalur baru yang mungkin berperan dalam kemampuan EPO untuk mencegah apoptosis seluler berkaitan erat dengan Akt-1. Setelah aktivasi jalur PI3-K, EPO

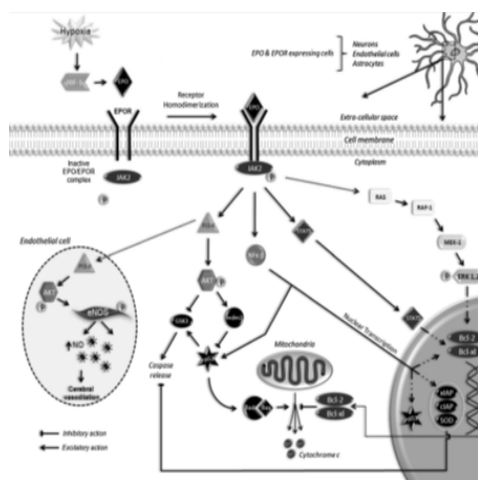
melakukan modulasi *pro-apoptotic forkhead transcription factor* O₃ (FOXO3a) dimana pada kondisi normal akan mengaktifasi transkripsi gen-gen apoptosis. Selain itu setelah pemaparan β -amyloid peptide di sel saraf, EPO menggunakan NF κ - β untuk mencegah apoptosis.¹

Transport EPO Melalui Sawar Darah Otak

Kemampuan EPO dalam menembus sawar darah otak masih menjadi pertanyaan. Penelitian pada tikus yang disuntikkan biotynilated EPO ditemukan biotin di otak tikus tersebut. Kemungkinan dapat menembus otak melalui proses transitisos.³ Penelitian ini menyarankan bahwa pemberian EPO eksogen dalam jumlah yang cukup dapat melindungi sistem saraf dengan melewati sawar darah otak secara langsung dan tidak langsung.¹¹ Penelitian lain menunjukkan dengan menggunakan radiolabeled EPO dan albumin, menunjukkan EPO masuk ke parenkhim otak menggunakan cara yang sama. EPO terbukti dapat melewati sawar darah otak pada penelitian *nuclear imaging* dengan menggunakan *indium-labeled* EPO yang diberikan secara sistemik pada pasien normal dan pasien dengan schizophrenia.³

Farmakokinetik EPO

Farmakokinetik EPO diukur berdasarkan konsentrasi serum dengan *radioimmunoassay* atau *enzym-linked immunoassay*, EPO endogen tidak berbeda dengan EPO eksogen karena struktur protein yang sama.¹³ Pemberian EPO dapat melalui intravena, intraperitoneal atau subkutan. Gambaran farmakokinetik pemberian suntikan EPO intravena dan subkutan sangat berbeda. Pada pemberian suntikan intravena, kadar dalam plasma meningkat dengan cepat, dan akan mencapai kadar puncak tertinggi serta secara cepat pula kadar dalam plasma akan menurun dalam waktu 6-9 jam. Pada pemberian secara subkutan, kadar dalam plasma akan meningkat dalam waktu 12-24 jam pertama, kemudian menurun sampai kadar puncak terendah, tetapi menurun sangat lambat dalam beberapa hari. Akibatnya kadar epoetin alfa dapat tetap di atas kadar normal untuk lebih dari 100 jam setelah pemberian suntikan subkutan tunggal. Namun pemberian intraperitoneal hampir mendekati subkutan walaupun pemberian pada manusia



Dikutip dari : Ponce dkk.1

Gambar 3 Jalur Proteksi Otak oleh Erythropoietin

tidak lazim. Bioavailabilitas relatif (dihitung sebagai daerah di bawah konsentrasi dan kurva waktu = AUC) setelah suntikan subkutan pada umumnya lebih kecil 10–40% bila dibandingkan dengan suntikan intravena pada dosis yang sama. Namun, intraperitoneal 2,9–14% lebih rendah bila dibandingkan subkutan.⁷ Pemberian dosis tunggal EPO dievaluasi farmakokinetik EPO pada delapan penderita dialisis setelah pemberian dosis tunggal intravena dan subkutan dengan dosis 40 IU/kg dengan jarak 7 hari. Kemudian, seluruh penderita mendapat 40 IU/kg subkutan 3 kali dalam seminggu selama 6 minggu.

Parameter farmakokinetik setelah pemberian dosis tunggal EPO intravena dan subkutan dipantau (digunakan nilai rata-rata); konsentrasi maksimal (C_{max}); 416,7 U/L dan 39,5 U/L (p<0,02); AUC; 3.049 Uh/L dan 1.22 Uh/L (p<0,02); waktu paruh (t_{1/2}); 6,7jam dan 13,2 jam (p=NS); F: 100% dan 38,7%. Sedangkan waktu klirens pemberian secara intravena EPO 8,1–8,6 mL/jam/kg. Secara statistik, tidak ada perbedaan bermakna dalam nilai parameter farmakokinetik bila dibandingkan antara pemberian secara EPO dosis tunggal dan ganda.⁷

Meskipun bioavailabilitas antara dua rute pemberian sangat berbeda, responsnya sama. Alasannya adalah kemungkinan terdapat sejumlah reseptor yang terbatas pada permukaan unit koloni eritroid yang secara cepat akan tersaturasi pada pemberian intravena. Kadar puncak tertinggi tampak setelah pemberian intravena sebagai akibat penggunaan EPO yang inadekuat dan selanjutnya diekskresikan tanpa menghasilkan efek biologikal yang penuh. Sebaliknya, kadar puncak terendah dan bioavailabilitas pada pemberian subkutan lebih fisiologis. Disamping itu, mungkin digunakan sebagian besar sel-sel. Karena waktu paruh epoetin alfa yang panjang bila disuntikan secara subkutan, saturasi reseptor dipertahankan sehingga efek *growth factor* akan lebih lama dan lebih kuat.⁷ Klirens sistemik EPO pada manusia berkisar 3,3–17 ml/menit. Kurang dari 5% dari dosis intravena tidak berubah pada urin, sedangkan eliminasi melalui urin sedikit sekali (10% dari eliminasi total/hari).⁷

Farmakodinamik EPO

Pada susunan saraf pusat diketahui bahwa EPO dapat meningkatkan pengeluaran dopamin. Eritropoietin diduga aman diberikan pada penderita Parkinson. Pemberian EPO dapat memperbaiki penderita ensefalomielitis karena efek dari antiinflamasi dari EPO. Bahkan, EPO berfungsi sebagai terapi pada schizophrenia hebefrenik.¹⁴ Pada gastrointestinal, respiratori, dan kardiovaskuler otot polos pada hewan percobaan dengan dosis 70–7.000 U/kg tidak ditemukan efek yang bermakna. Pada air dan ekskresi elektrolit dosis EPO di atas 700 U/kg meningkatkan volume urin tikus, tetapi tidak merubah konsentrasi Na⁺ dan K⁺ urin. Faktor pembekuan darah berupa PT dan APTT tidak dipengaruhi dengan pemberian EPO 70–7.000 U/kg. Namun pemberian EPO meningkatkan Hb pada penderita penyakit renal.⁷

Efek yang Tidak Diharapkan dari Pemberian EPO

Timbulnya hipertensi dan eksaserbasi hipertensi tidak disebabkan oleh peningkatan hematokrit atau Hb. Hal ini terjadi karena *nitric oxide* (NO) resisten dapat menyebabkan vasokonstriksi, meningkatkan produksi endotelial, meningkatkan renin di jaringan, serta menimbulkan perubahan pada jaringan penghasil prostaglandin vaskuler.¹⁵ Hal yang terpenting dalam pemberian EPO adalah meminimalisasi peningkatan hematokrit yang dapat menyebabkan peningkatan viskositas darah karena peningkatan hematokrit dapat menyebabkan defisit perfusi pada otak. Hal ini terjadi karena EPO menyebabkan peningkatan hematokrit lebih dari 80%. Bahaya yang lebih besar lagi adalah kemungkinan infark serebral.¹⁶

Dosis, Cara dan Waktu Pemberian EPO

Pemberian EPO sebagai neuroprotektor bergantung pada konsentrasi dan waktu pemberiannya. Pada trauma kepala dengan sawar darah otak yang masih utuh pemberian EPO dibutuhkan lebih besar apabila dibandingkan dengan yang tidak utuh karena harus melewati endotelial kapiler yang terdiri dari beberapa lapis dan mempunyai corak yang berbeda, diantaranya lapisan yang sudah tidak adanya fenestra, *tight-junction*, jaringan yang mempunyai jumlah

sel yang rendah dan perivaskuler yang dekat dengan astrosit kemudian lapisan epindim yang kaya akan organela dan lisosom.¹⁷ Pemberian EPO intravena total 100.000 IU (3,3x10⁴ IU/50ml/30 menit selama 3 hari) pada pasien stroke meningkatkan kadar EPO dalam cairan serebrospinalis 60–100 kali lipat. Dosis ini adalah dosis besar pada percobaan klinis masih dapat ditoleransi.⁴ Dosis besar diperlukan untuk dapat menembus sawar darah otak, karena hanya sekitar 1% yang mencapai otak.¹⁸ Pada manusia dosis yang dapat menembus sawar darah otak adalah 40.000 U atau 1.500 U/kg secara intravena.¹⁰

Pemberian EPO pada manusia pada 40 penderita stroke yang timbulnya kurang dari 8 jam diberikan EPO 3,3 x 10⁴ IU/50 mL/30 menit selama 3 hari. Kemudian, dievaluasi dengan MRI pada hari ke-1, ke-3, dan ke-18, lalu dinilai skala stroke serta kadar S-100B. Dari hasil MRI didapat perbaikan pada hari ke-3 dan skala stroke kembali normal pada hari ke-30 dan kadar S-100B mulai menurun pada hari ke-3 dengan dosis 3,3 x 10⁴ IU/50 mL/30 detik akan memperbaiki *outcome* pada hari ke-30, jika diberikan selama 3 hari tanpa peningkatan dari nilai hematokrit. Waktu pemberian 24 jam sebelum sampai 6 jam setelah kejadian stroke mempunyai *outcome* yang baik. Pada hewan percobaan ditemukan hasil yang hampir sama.⁴ Pemberian EPO sebaiknya kurang dari 3 jam setelah kejadian trauma, karena proses apoptosis sebagai salah satu target proteksi EPO, terjadi 3 jam setelah proses infark. Hal ini didukung hasil penelitian pada binatang yang dilakukan oklusi arteri serebri media. Pemberian EPO 3 jam setelah oklusi sama efektifnya dengan pemberian EPO pada saat oklusi. Efektifitas EPO menurun 50% pada pemberian setelah 6 jam pascaoklusi dan tidak mempunyai efek neuroproteksi pada pemberian 9 jam setelah oklusi.⁴

III. Simpulan

EPO tidak hanya berfungsi dalam proses eritropoiesis tetapi juga mempunyai efek protektor otak. Jalur proteksi otak dari EPO memang masih belum jelas tetapi penelitian-penelitian menunjukkan terdapat perbaikan dari

otak baik secara klinis maupun laboratoris setelah pemberian EPO.

Daftar Pustaka

1. Ponce LL, Navarro JC, Ahmed O, Robertson CS. Erythropoietin neuroprotection with traumatic brain injury. *PATPHY*. 2012;730:1–8.
2. Brines M, Cerami A. Erythropoietin-mediated tissue protection reducing collateral damage from the primary injury response. *J Intern Med*. 2008;264:405–32.
3. Rabie T, Marti HH. Brain protection by erythropoietin: a manifold task. *Physiology*. 2010;23:263–74.
4. Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, Cepek L, Lewczuk P, Stiefel M, et al. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med*. 2002;8(3):495–505.
5. Nirula R, Diaz-Arrastia R, Brasel K, Wigelt JA, Waxman K. Safety and efficacy of erythropoietin in traumatic brain injury patients : a pilot randomized trial. *Crit Care Res Pr*. 2010;
6. Deicher R, Horl H. Differentiating factors between erythropoiesis-stimulating agents. *Drugs*. 2004;64:499–507.
7. Sofia P, Bisri T, Wargahadibrata AH. Effect neuroprotector epoetin alfa after brain trauma: a histopathology brain rats study. *Anesth Crit Care*. 2005;23(3):203–13.
8. Diczayglioglu M, Bichet S, Marti H. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci*. 1995;3717–20.
9. Marti HH. Erythropoietin and the hypoxic brain. *J Exp Biol*. 2004;207:3233–42.

10. Weiss MJ. New insight into erythropoietin and epoetin alfa: mechanism of action, target tissues, and clinical applications. *The Oncologist*. 2003;8:18–29.
11. Almpiani M. Neuroprotective effects of erythropoietin. *Adv Altern Think Neurosci*. 2009;1:21–5.
12. Keswani SC, Buldanlioglu U, Fischer A, Reed N, Polley M, Liang H, et al. A novel endogenous erythropoietin mediated pathway prevents axonal degeneration. *Ann Neurol*. 2004;56:815–26.
13. Menon G, Nair S, Bhattacharya R. Cerebral protection-current concepts. *IJNT*. 2005;2(2):67–79.
14. Ehrenreich H, Degner D, Brines M. Erythropoietin: a candidate compound for neuroprotection in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2004;9:42–54.
15. Wang XQ, Vaziri ND. Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cell. *Hypertension*. 1999;33:894–9.
16. Iperen V, Gaillard M, Kraaijenhagen J. Response of erythropoiesis and iron metabolism to recombinant human erythropoietin in intensive care unit patients. *Crit Care Med*. 2001;29:193–8.
17. Kass IS, Cottrell JE. *Pathophysiology of Brain Injury*. 4th ed. St Louis, Missouri: Mosby Inc; 2001. 69–82.
18. Siren A-L, Fabhauer T, Bartel C, Ehrenreich H. Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system. *J Am Soc Exp Neurother*. 2009;6:108–27.