



УДК 616.1:615.273.2

**В. М. Запорожан**, акад. АМН України, д-р мед. наук, проф,  
**М. М. Перепелюк**, канд. мед. наук,  
**О. Л. Холодкова**, канд. мед. наук,  
**Д. М. Пихтєєв**

## **ЗАСТОСУВАННЯ ЕРИТРОПОЕТИНУ ПРИ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ**

*Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна*

УДК 616.1:615.273.2

**В. Н. Запорожан, Н. Н. Перепелюк, Е. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв**  
**ПРИМЕНЕНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**  
*Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина*

В статье представлен литературный обзор работ по применению эритропоэтина (рЭПО) при сердечно-сосудистых заболеваниях. Показано, что над этой темой в мире работают несколько исследовательских групп. Выявлены кардиопротективные свойства эритропоэтина при введении его в условиях ишемии миокарда. Он блокирует апоптоз эндотелия, содействует редукции гипертрофированного левого желудочка, уменьшает ремоделирование левого желудочка у больных инфарктом миокарда и хронической сердечной недостаточностью. Наличие эндотелио- и кардиопротективных свойств рЭПО может быть предпосылкой клинического использования этого препарата у больных с разными проявлениями ишемической болезни сердца. Внедрению рЭПО в клиническую практику должно предшествовать исследование гипертензивной и онкологической безопасности при курсовом или даже однократном применении рЭПО.

**Ключевые слова:** эритропоэтин, сердечно-сосудистые заболевания.

UDC 616.1:615.273.2

**V. M. Zaporozhan, M. M. Perepelyuk, O. L. Kholodkova, D. M. Pykhteyev**  
**ERYTHROPOIETIN AS THERAPY IN CARDIO-VASCULAR DISEASES**  
*The Odesa State Medical University, Odesa, Ukraine*

The review of works on erythropoietin (rEpo) usage in cardio-vascular diseases is represented in the article. It is shown that there are several research groups working in this field in the world. Cardioprotective properties of erythropoietin after its introduction in case of myocardial ischemia are revealed. It blocks apoptosis of endothelium, influences the reduction of the hypertrophied left ventricle, diminishes remodeling of left ventricle at patients with myocardial infarction and chronic cardiac insufficiency. Presence of endothelial and cardiac protective properties of rEpo can be pre-condition of the clinical use of this medication in patients with different kinds of ischemic heart disease. Introduction of rEpo requires research of its hypertensive and oncologic safety at a course or, even, single application before use in clinical practice.

**Key words:** erythropoietin, cardio-vascular diseases.

Еритропоетин (ЕПО) — гормон глікопротеїнової природи масою 30,4 кДа, пептидна частина якого складається зі 165 амінокислот, — кисневозалежний регулятор еритропоезу [1; 2]. Він продукується нирками ( $\approx 90\%$ ) та печінкою [3–5]. Оцінка рівня ендogenous ЕПО та застосування рекомбінантного ЕПО (рЕПО) протягом останніх років вийшли за межі гематології, оскільки в багатьох клінічних та експериментальних дослідженнях продемонстрована здатність ЕПО виступати регулятором і трофічним фактором за межами червоного кісткового мозку. Рецептори

до ЕПО були виявлені на нейронах, ендотеліальних, міокардіальних і гладком'язових клітинах [6; 7]. На мишах експериментально визначено, що головний мозок і матка теж продукують ЕПО для «місцевих потреб» [8].

Спроби застосування рЕПО в кардіології пояснюються його плейотропними ефектами. Він блокує апоптоз ендотелію, сприяє редукції гіпертрофованого лівого шлуночка, зменшує ремоделивання лівого шлуночка у хворих на інфаркт міокарда та хронічну серцеву недостатність [9–12].

Поліфункціональність ЕПО ініціювала пошук корелятивів між станом хворих із ХСН і рівнем ЕПО [13]. Доведено, що рівень циркулюючого ЕПО прямо корелює з функціональним класом серцевої недостатності, а також є предиктором летальності та частоти госпіталізацій пацієнтів із застійною серцевою недостатністю. Цей показник за своєю прогностичною цінністю перевищив такі відомі маркери, як рівень С-реактивного протеїну та фракцію викиду лівого шлуночка.

У нашому огляді літератури ми навмисно не розглядали роботи, у яких кардіопротективний ефект рЕПО можна пов'язати з його антианемічною дією, а намагалися простежити суто плеiotропні ефекти рЕПО.

Ефективність рЕПО при серцевій недостатності, яка розвинулася внаслідок експериментального інфаркту міокарда (ІМ), продемонстрована в досліді на щурах [14]. Визначена залежність ефекту від часу введення препарату: застосування рЕПО одразу після розвитку ІМ приводило до зменшення зони інфаркту на 23–30 % ( $P < 0,01$ ), через 3 міс. після ІМ — не впливало на розмір післяінфарктного рубця, але сприяло зменшенню кінцево-діастолічного тиску лівого шлуночка на 34 % ( $P < 0,01$ ) та рівня передсердного натрійуретичного пептиду на 46 %. Кардіопротективний ефект автори пов'язували з неоваскуляризацією.

Залежність ефекту ЕПО від часу введення вивчали й на собаках. Моделювали ІМ перев'язкою коронарної артерії. Призначали ЕПО внутрішньовенне (1,000 МО/кг) безпосередньо перед накладанням лігатури — ЕПО (0), через 6 год — ЕПО (6 год), а через 1 тиж. — ЕПО (1 тиж.) [15]. Найкращі результати отримані в групі тварин, яким ЕПО вводили безпосередньо перед індукцією ішемії та через 6 год. Розмір зони інфаркту був практично втричі меншим в ЕПО (0) порівняно з контролем через 6 год після ІМ. Рівень  $CD34^+$  через 1 тиж. після ІМ в ЕПО (0) та ЕПО (6 год) вірогідно перевищував контроль. Щільність капілярів та інтраміокардіальний кровотік в ішемізованій зоні через 4 тиж. після ІМ в ЕПО (0) та ЕПО (6 год) також вірогідно перевищували контроль. Фракція викиду лівого шлуночка у цей же термін: ЕПО (0) > ЕПО (6 год) > ЕПО (1 тиж.) > контроль. Гематологічні параметри між групами не розрізнялися.

Дослідницька група під керівництвом Walter J. Koch отримала підтвердження кардіопротективної дії ЕПО під час експериментального ІМ у кролів. Дослідним тваринам перед індукцією ІМ однократно вводили ЕПО [16]. Через 6 год після розвитку інфаркту в серцях тварин із групи ЕПО визначали вірогідно меншу кількість кардіоміо-

цитів у стані апоптозу, ніж у контролі (замість ЕПО вводили фізіологічний розчин). Через 3 дні після розвитку ІМ розмір зони інфаркту в групі ЕПО був вірогідно меншим порівняно з групою контролю. Відсутність зміни гематокриту та частоти серцевих скорочень у тварин дослідної групи свідчить про те, що однократне застосування ЕПО не підвищує ризик тромбозу та декомпенсації серцевої діяльності. Реалізація вищеведених ефектів уможливилася, на думку авторів, за рахунок підвищення активності протеїнази В.

Результати дослідження цієї ж групи вказують на те, що «прекондиціонування» серцевих фіброblastів кроля *in vitro* за допомогою ЕПО покращує переживання ними (фіброblastами) ішемії [17]. Автори припускають, що оптимізація ремоделювання післяінфарктного серця за допомогою ЕПО реалізується не лише на рівні міокардіоцитів, а й фіброblastів.

Інший механізм, що пояснює інфаркт-протективну дію рЕПО, — це зниження рівня туморнекротичного фактора- $\alpha$  та інтерлейкіну-6 і підвищення продукції інтерлейкіну-10 після однократної ін'єкції 5000 МО/кг рЕПО [18], а також підвищення експресії Hsp70 (серцевий білок теплового шоку) після ін'єкції 3000 МО/кг рЕПО [19]. Ці зміни, у свою чергу, сповільнюють взаємодію між кардіоміоцитами та нейтрофілами, які хемотаксично мігрували до осередку інфаркту.

Ремоделювання серця після ІМ (25 хв ішемії / 2 год реперфузії) оптимізується при завчасному використанні ЕПО (5 ОД/мл) і реалізується шляхом каскаду реакцій, які запускаються після взаємодії використовуваного препарату з ЕПО-рецепторами у міокарді [20]. Протективна дія ЕПО мінімізується при одночасному використанні інгібітора фосфатидилінозитол-3-кінази, однак за рахунок компенсаторного механізму активації мітохондріальних АТФ-чутливих  $K^+$ -каналів може бути реалізована практично в повному обсязі.

Двома роками раніше група авторів з Університету Гронінгена гістохімічно підтвердила наявність ЕПО-рецепторів на фіброblastах, кардіоміоцитах і ендотеліальних клітинах серця [21]. Призначення ЕПО (10 ОД/мл) зменшувало ушкодження клітин на 56 % ( $P < 0,05$ ) під час реперфузії ізольованих сердець щурів, апоптоз — на 15 % ( $P < 0,05$ ), а також вірогідно відновлювало скорочувальну функцію лівого шлуночка ( $P = 0,02$ ) і коронарний кровообіг ( $P = 0,01$ ).

Апоптоз кардіоміоцитів у щурів оцінювали за рівнем активних каспаз після 45-хвилинної оклюзії вінцевої артерії та через 24 год після реперфузії [22]. Виявлено зменшення проявів апоптозу

після застосування рЕПО дозою 5000 МО/кг одразу після ішемії (на 29 %) і після реперфузії (на 38 %).

Покращання коронарної перфузії за рахунок застосування рЕПО в дослідях на серцях щурів пов'язано з активацією ендотеліальної NO-синтетики та протеїнкінази В [23–24]. Збільшення активних форм протеїнкінази В забезпечує кардіо- й ендотеліопротективний ефект шляхом блокади каспаз і, як наслідок, гальмуванням апоптозу [24–26].

Оригінальна методика перевірки прямої кардіопротективної дії ЕПО застосована F. Fiordaliso et al. [27]. Дослідники використали ЕПО-карбамілат — аналог ЕПО, який має низьку еритропоетичну активність. Щоденне застосування препарату протягом 1 тиж у щурів із модельованою транзиторною ішемією зменшувало прояви апоптозу кардіоміоцитів приблизно на третину. Це корелювало зі збереженням систоло-діастолічної функції у тварин дослідної групи (порівняно з контролем без ЕПО-аналога), покращувало відповідь на індуковану добутамінном стресову відповідь міокарда, не супроводжувалося підвищенням гематокриту і рівня гемоглобіну.

Застосування ЕПО у щурів із доксорубіцин-індукованою кардіоміопатією підвищувало скоротливість міокарда, яку оцінювали за допомогою ехокардіографії, а також зменшувало летальність серед піддослідних тварин [28]. У ЕПО-лікованих щурів утричі, порівняно з нелікованими, підвищився рівень ендотеліальних прогеніторних клітин крові. Позитивні кардіопротективні ефекти ЕПО автори схильні частково віднести за рахунок зростання кількості й покращання функціональної здатності ендотеліальних прогеніторних клітин.

Наявність ендотеліо- та кардіопротективних властивостей рЕПО може бути передумовою клінічного використання цього препарату у хворих із різними проявами ішемічної хвороби серця.

Варто наголосити, що максимальний кардіопротективний ефект рЕПО, помічений практично всіма дослідниками, реалізувався як на рівні скоротливих елементів, так і строми з судинами. Кількісні показники кардіопротекції/регенерації знаходяться в прямій залежності від часу використання рЕПО у відношенні до міокард-травмуючого фактора — що раніше, то краще!

Однак слід пам'ятати про певні обмеження, що вимагають обережності в дозуванні рЕПО. Це, по-перше, активація ренін-ангіотензинової системи та синтезу ендотеліну та серотоніну, тобто ініціація чи обтяження артеріальної гіпертензії [29]. Гіпертензивні реакції розвиваються найчас-

тіше серед побічних проявів рЕПО. Рідше виникають тромбози, можливе загострення проліферативної діабетичної ретинопатії [30].

По-друге, ЕПО може активізувати онкогенез за рахунок індукції ангиогенезу [31]. Застосування ЕПО-антагоністів (розчинний ЕПО-рецептор чи антитіла до ЕПО) разом із клітинами карциноми молочних залоз у «голих» безтимусних мишей із високою експресією ЕПО-рецептора спричинило інгібіцію росту судин (і пухлини в цілому) — гіпотеза доведена методом від противного.

Визначено також, що ЕПО може виступати як фактор автокринної регуляції неопластично-змінених тканин [32]. На клітинних лініях меланоми показана висока експресія рецепторів до ЕПО, секреція ЕПО клітинами меланоми в нормоксемічних умовах *in vitro* та підвищення секреції ЕПО в гіпоксичних умовах і після додавання до культури дихлориду кобальту. Екзогенний по відношенню до меланоми рЕПО підвищував резистентність клітин меланоми до гіпоксії та дакарбазину.

Враховуючи те, що більшість пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями є літніми людьми, а ризик онкозахворювань підвищується з віком, варто зважити користь/ризик застосування рЕПО, щоб «загасивши вогонь, не втрапити в полум'я».

Підбиваючи підсумки, можна констатувати, що результати експериментальних досліджень свідчать про перспективність вивчення клінічної ефективності рЕПО при захворюваннях серцево-судинної системи, насамперед при різних варіантах ішемічної хвороби серця. Впровадженню рЕПО в клінічну практику (у цієї категорії хворих) повинно передувати дослідження гіпертензивної та онкологічної безпечності при курсовому чи, навіть, однократному застосуванні рЕПО.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Jelkmann W. Renal erythropoietin: properties and production / W. Jelkmann // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. — 1986. — Vol. 104. — P. 139-217.
2. Fantacci M. Carbamylated erythropoietin ameliorates the metabolic stress induced in vivo by severe chronic hypoxia / M. Fantacci, P. Bianciardi, A. Caretti // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2006. — Vol. 103 (46). — P. 17531-17536.
3. Ермоленко В. М. Эритропоэтин: биологические свойства и применение в клинике / В. М. Ермоленко, А. Ю. Николаев // Тер. арх. — 1990. — № 62 (11). — С. 141-145.
4. Spivak J. L. Serum immunoreactive erythropoietin in health and disease / J. L. Spivak // J. Perinat. Med. — 1995. — Vol. 23 (1-2). — P. 13-17.
5. Renal and extrarenal erythropoietin production in anaemic rats / A. J. Erslev, J. Caro, E. Kansu, R. Silver // Br. J. Haematol. — 1980. — № 45 (1). — P. 65-72.

6. *Erythropoietin* and the brain: from neurodevelopment to neuroprotection / Buemi M., Cavallaro E., Floccari F. et al. // *Clinical Science*. — 2002. — Vol. 103. — P. 275-282.
7. *Erythropoietin* receptor mRNA expression in human endothelial cells / Anagnostou A., Liu Z., Steiner M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1994. — Vol. 91. — P. 3974-3978.
8. *Tissue-specific* regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain and uterus / Chikuma M., Masuda S., Kobayashi T. et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2000. — Vol. 279. — P. 1242-1248.
9. *The cardiovascular* effects of erythropoietin / K. J. Smith, A. J. Bleyer, W. C. Little, D. C. Sane // *Cardiovasc. Res.* — 2003. — Vol. 59 (3). — P. 538-548.
10. *Erythropoietin* in heart failure and other cardiovascular diseases: hematopoietic and pleiotropic effects / Manolis A. S., Tzeis S., Triantafyllou K. et al. // *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.* — 2005. — Vol. 5 (5). — P. 355-375.
11. *Recombinant* human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling / Calvillo L., Latini R., Kajstura J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2003. — Vol. 100 (8). — P. 4802-4806.
12. *Therapeutic Effectiveness* of a Single vs Multiple Doses of Erythropoietin after Experimental Myocardial Infarction in Rats / C. Moon, M. Krawczyk, E. G. Lakatta, M. I. Talan // *Cardiovasc. Drugs Ther.* — 2006. — Vol. 20 (4). — P. 245-251.
13. *Circulating* Erythropoietin Levels and Prognosis in Patients With Congestive Heart Failure / George J., Patal S., Wexler D. et al. // *Comparison With Neurohormonal and Inflammatory Markers Arch. Intern. Med.* — 2005. — Vol. 165. — P. 1304-1309.
14. *Erythropoietin* Induces Neovascularization and Improves Cardiac Function in Rats With Heart Failure After Myocardial Infarction / Van der Meer P., Lipsic E., Henning R. H. et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2005. — Vol. 46. — P. 125-133.
15. *Erythropoietin* enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs / Hirata A., Minamino T., Asanuma H. et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2006, Jul 4. — Vol. 48 (1). — P. 185-186.
16. *A novel* protective effect of erythropoietin in the infarcted heart / Cyrus J. Parsa, Akio Matsumoto, Jihee Kim et al. // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 112. — P. 967.
17. *Cardioprotective* Effects of Erythropoietin in the Reperfused Ischemic Heart. A POTENTIAL ROLE FOR CARDIAC FIBROBLASTS / Cyrus J. Parsa, Jihee Kim, Ryan U. Riel et al. // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279, Issue 20. — P. 20655-20662.
18. *Recombinant* human erythropoietin (rhEPO) preconditioning on nuclear factor-kappa B (NF-kB) activation & proinflammatory cytokines induced by myocardial ischaemia-reperfusion / Liu X., Shen J., Jin Yi. et al. // *Indian. J. Med. Res.* — 2006. — Vol. 124. — P. 343-354.
19. *Recombinant* human erythropoietin pretreatment attenuates myocardial infarct size: a possible mechanism involves heat shock Protein 70 and attenuation of nuclear factor-kappa B / Xu B., Dong G. H., Liu H. et al. // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2005. — Vol. 35 (2). — P. 161-168.
20. *Alteration* in Erythropoietin-Induced Cardioprotective Signaling by Postinfarct Ventricular Remodeling / Takayuki Mi-ki, Tetsuji Miura, Toshiyuki Yano et al. // *Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. — 2006. — Vol. 317. — P. 68-75.
21. *Erythropoietin* improves left ventricular function and coronary flow in an experimental model of ischemia-reperfusion injury / Van der Meer P., Lipsic E., Henning R. H. et al. // *Eur. J. Heart. Fail.* — 2004. — Vol. 6 (7). — P. 853-859.
22. *Cai Z.* Phosphatidylinositol-3-Kinase Signaling Is Required for Erythropoietin-Mediated Acute Protection Against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury / Z. Cai, G. L. Semenza // *Circulation*. — 2004. — Vol. 109. — P. 2050-2053.
23. *Erythropoietin* is a novel vascular protectant through activation of Akt I and mitochondrial modulation of cysteine proteases / Z. Z. Chong, J. Q. Kang, K. Maiese // *Circulation*. — 2002. — Vol. 106. — P. 2973-2979.
24. *Akt* activation preserves cardiac function and prevents injury after transient cardiac ischemia in vivo / Matsui T., Tao J., del Monte F. et al. // *Circulation*. — 2001. — Vol. 104. — P. 330-335.
25. *Datta S. R.* Cellular survival: a play in three Acts / S. R. Datta, A. Brunet, M. E. Greenberg // *Genes Dev.* — 1999. — Vol. 13. — P. 2905-2927.
26. *Erythropoietin* protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway / Tramontano A. F., Muniyappa R., Black A. D. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 308. — P. 990-994.
27. *A nonerythropoietic* derivative of erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury / Fiordaliso F., Chimenti S., Staszewsky L. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2005. — Vol. 102 (6). — P. 2046-2051.
28. *Erythropoietin* improves myocardial performance in doxorubicin-induced cardiomyopathy / Hamed S., Barshack I., Luboshits G. et al. // *European Heart Journal*. — 2006. — Vol. 27 (15). — P. 1876-1883.
29. *Kobusiak-Prokopowicz M.* Erythropoietin in patients with essential hypertension / M. Kobusiak-Prokopowicz, B. Jodla-Mydlowska // *Kardiol. Pol.* — 2002. — Vol. 57 (11). — P. 407-414.
30. *Zhu X.* Nonhematologic complications of erythropoietin therapy / X. Zhu, M. A. Perazella // *Semin Dial.* — 2006. — Vol. 19 (4). — P. 279-284.
31. *Erythropoietin* Blockade Inhibits the Induction of Tumor Angiogenesis and Progression / Hardee M. E., Cao Y., Fu P. et al. // *PLoS ONE*. — 2007. — Vol. 2 (6). — P. 549.
32. *Functional* Erythropoietin Autocrine Loop in Melanoma / Suresh M. Kumar, Geza Acs, Dong Fang et al. // *Am. J. Pathol.* — 2005, March. — Vol. 166 (3). — P. 823-830.