

ERITROPOITIN FISIOLOGI, ASPEK KLINIK, DAN LABORATORIK

(*Erythropoietin Physiology, Clinical, and Laboratory Aspect*)

P. B. Notopoero*

ABSTRACT

Erythropoietin is a glycoprotein hormone produced by kidney and functioning as regulator for erythropoietic processes. The regulation of erythropoietic processes are stimulation of proliferation, maturation erythroid progenitor cells and prevention of apoptotic process. The balance between dynamic erythropoietic processes and loss of erythrocytes is regulated by homeostatic mechanism. The decrement of EPO production will cause anemia such as anemia in end state renal disease. The development of rHuEPO support the invention of sensitive and specific immunoassay methods to measure the level of EPO. There are various commercial kit using various immunoassay methods used to achieve this purpose. The use of rHuEPO gives dramatic impact for the improvement of end state renal disease patients's quality of life. The research for the effect of EPO in the neuron, vascular, and retinuous tissue develop the use of EPO for the neurology, cardiology and ophthalmology area. This should be followed with the understanding of the patophysiology of EPO effect in the various organs. In 1990, the rHuEPO is used to replace the blood transfusion as the blood doping. The various direct and indirect methods can detect the missuse of rHuEPO as doping in the world sport events.

Key words: EPO, rHuEPO

PENDAHULUAN

Eritropoitin (EPO) merupakan regulator humoral eritropoesis yang *lineage specific*. Produksi eritropoitin dalam tubuh bergantung pada tekanan oksigen jaringan dan dimodulasi oleh suatu mekanisme umpan balik positif maupun negatif. Pada tekanan oksigen yang rendah, produksi meningkat yang akan menimbulkan peningkatan produksi eritrosit di sumsum tulang. Peningkatan suplai oksigen menuju jaringan akan menyebabkan penurunan produksi EPO. Sedikit penurunan produksi EPO akan menimbulkan anemia. Satu contoh yang klasik dari anemia ini adalah anemia pada gagal ginjal terminal. Penggunaan *recombinant human EPO* (rHuEPO) pada keadaan ini telah dikenal secara luas dan memiliki dampak dramatik pada peningkatan kualitas hidup penderita penyakit ginjal. Dengan meluasnya penggunaan EPO pada berbagai kondisi klinik dan dimulainya pendekatan terapi yang baru dengan EPO, diperlukan suatu pemahaman tentang fisiologi dan patofisiologi hormon ini.¹

Produksi EPO

Sel yang mengandung EPO mRNA terletak di peritubular (interstisial dan endotelial) pada ginjal tikus yang anemik. Fisher² dengan menggunakan

teknik yang sama juga melaporkan tingginya kadar EPO mRNA di sel peritubular (interstisial) ginjal kera yang mengalami hipoksia. EPO mRNA di sel tubulus dengan menggunakan RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) pada *microdissected isolated nephron segment* (yang terdiri dari bagian *ascending loop of Henle* di medula, bagian proksimal *loop of Henle*, bagian *ascending loop of Henle* di korteks, bagian medula dan korteks *ductus colligentes*).^{2,3}

Faktor yang Berperan dalam Regulasi Eritropoesis

Produksi eritrosit (eritropoesis) diatur oleh beberapa sitokin. Faktor pertumbuhan yang dikenal terlibat dalam eritropoesis yaitu *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF), *interleukin* (IL)-6, *stem cell factor* (SCF), IL-1, IL-3, IL-4, IL-9, IL-11, *granulocyte-macrophage* (GM)-CSF, *insulin growth factor-1* (IGF-1) dan EPO. EPO berperan pada tahap lanjut perkembangan sel progenitor eritroid. EPO terutama merangsang *colony forming unit* eritroid (CFU-E) untuk berproliferasi menjadi normoblas, retikulosit, dan eritrosit matur. Target primer EPO dalam sumsum tulang adalah CFU-E. EPO bersama dengan SCF, GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-9, dan IGF-1 menyebabkan maturasi dan proliferasi dari tahap *burst forming unit*

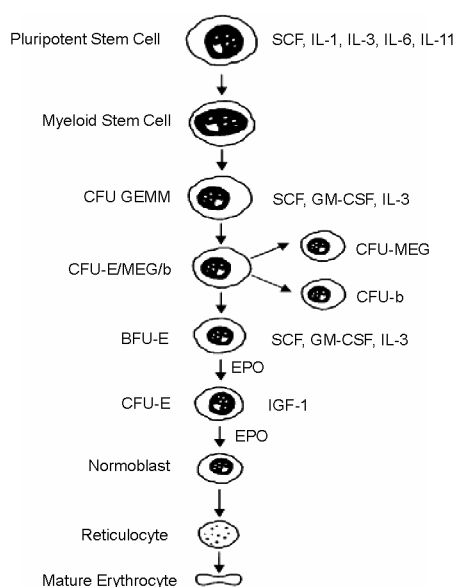
* Bagian Patologi Klinik FK. UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya

eritroid (BFU-E) dan CFU-E menuju tahap normoblas dari perkembangan sel eritroid. Selanjutnya EPO berperan pada proses apoptosis yaitu menurunkan laju kematian sel progenitor eritroid dalam sumsum tulang. SCF, IL-1, IL-3, IL-6, dan IL-11 memberikan rangsang yang menyebabkan diferensiasi sel induk pluripoten menjadi sel induk mieloid dan CFU granulosit, eritroid, monosit, dan megakariosit (GEMM). Kemudian CFU-GEMM berkembang menjadi CFU yang spesifik untuk granulosit, eritroid, monosit, megakariosit, makrofag, dan eosinofil.^{2,4}

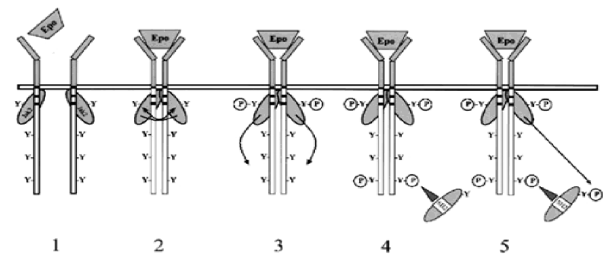
Reseptor EPO

EPO mengikat reseptor permukaan sel progenitor eritroid untuk mengatur proliferasi sel eritroid sumsum tulang untuk berproliferasi, diferensiasi, dan bertahan hidup. Jumlah reseptor EPO pada permukaan sel kurang dari 1000 reseptor/sel. Reseptor EPO terutama di ekspresikan oleh sel eritroid pada tahap antara CFU-E dan tahap pronormoblas. Sejumlah kecil reseptor EPO diekspresikan oleh BFU-E dan adanya respon yang lemah terhadap EPO ditunjukkan oleh sel pada tahap ini. Jumlah reseptor terbanyak didapatkan pada CFU-E dan pronormoblas. Jumlah reseptor EPO per sel menurun bertahap selama diferensiasi sel eritroid dan beberapa penelitian melaporkan bahwa retikulosit dan eritrosit matur tidak mengandung reseptor EPO.¹

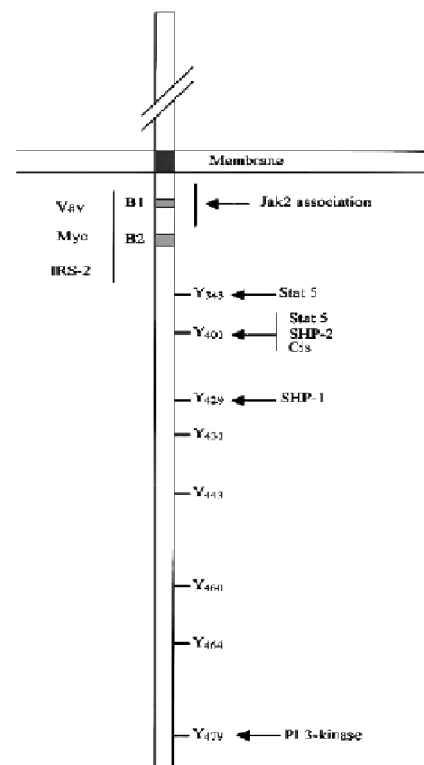
Reseptor EPO diekspresikan sebagai suatu protein dengan berat molekul antara 66–78 kD. Reseptor EPO berbentuk suatu dimer yang *preformed*.



Gambar 1. Faktor pertumbuhan yang mempengaruhi eritropoiesis dari sel induk pluripoten menjadi eritrosit matur²



Gambar 2. Mekanisme Molekuler Aktivasi Reseptor EPO²



Gambar 3. Skema yang menggambarkan bagian intraseluler reseptor EPO dan berbagai tempat "berlabuh" protein petanda untuk komunikasi intrasel²

Pengikatan EPO pada reseptor EPO mengubah struktur konformasional reseptor EPO dengan suatu mekanisme *self dimerization*. JAK2 kinase berhubungan dengan reseptor EPO pada daerah transmembran. Proses dimerisasi ini diperlukan untuk tahap aktivasi JAK2 kinase selanjutnya (No. 1, Gambar 2).

Karena adanya proses dimerisasi ini, dua molekul JAK2 kinase yang terletak transmembran sebelumnya belum berhubungan menjadi berdekatan dan teraktivasi oleh proses transfosforilasi. (No. 2, Gambar 2). Mekanisme selanjutnya adalah proses fosforilasi dari asam amino tirosin pada reseptor EPO. Setelah EPO mengaktivasi reseptor, 8 molekul asam amino tirosin yang terletak pada daerah sitoplasma reseptor EPO terfosforilasi (No. 3, 4, Gambar 2). Adanya

fosforilasi asam amino tirosin ini menyebabkan tersedianya suatu tempat “berlabuh” untuk molekul SH-2 (*Src homology-2*) yang akan digunakan dalam proses komunikasi intraseluler selanjutnya. (No 5, Gambar 2).^{1,2}

Proses komunikasi intraseluler terjadi setelah proses aktivasi reseptor EPO. Sejumlah jalur lalu lintas komunikasi intrasel (*pathway*) terlibat dalam tahap ini. Jalur Ras/MAP kinase akan teraktivasi dan menghasilkan proliferasi sel. EPO juga akan mengaktifkan jalur komunikasi intrasel STAT1, STAT3, STAT5A, dan STAT5B, terutama pada jalur yang diinduksi sitokin.^{2,5}

Regulasi Ekspresi Gen EPO

Gen EPO manusia terletak pada kromosom 7 (7pter-q22). Gen EPO ini mengandung 5 ekson dan 4 intron.^{2,6} Model regulasi yang *oxygen dependent* dari faktor transkripsi HIF (*hypoxia-inducible factor*) yang melibatkan mekanisme hidroksilasi molekul asam amino prolin spesifik.^{2,4}

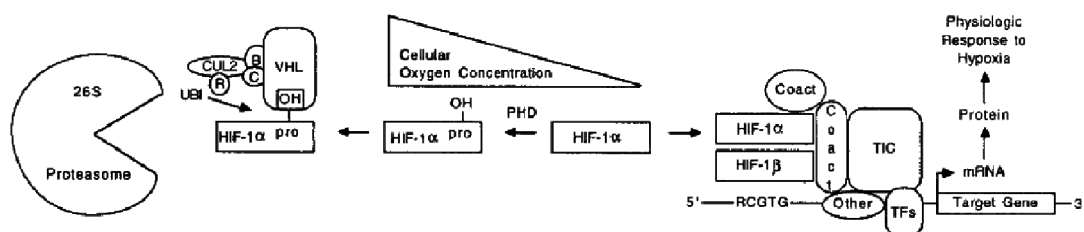
Ketersediaan oksigen akan menentukan laju hidroksilasi asam amino prolin dalam molekul HIF-1 α . Hidroksilasi prolin tersebut diperlukan dalam interaksi molekul HIF-1 α dengan protein VHL (Von Hippel-Lindau). Interaksi molekul HIF-1 α dengan protein VHL akan membentuk suatu kompleks E3 *ubiquitin-protein ligase*. Adanya ubiquinasi molekul HIF-1 α akan menyebabkan terjadinya degradasi kompleks protein tersebut oleh *proteasome* 26S. Dalam kondisi hipoksia (kadar oksigen dalam sel yang rendah) HIF-1 α akan mengalami proses dimerisasi dengan HIF-1 β . Heterodimer HIF-1 akan mengikat *hypoxia response elements* yang mengandung *core recognition sequence* 5'-RCGTG-3' dan mengikat molekul koaktivator (*Coact*) yang akan menghasilkan peningkatan pembentukan *transcription initiation complex* dan selanjutnya meningkatkan sintesis EPO mRNA. Peningkatan sintesis EPO mRNA akan menghasilkan produksi EPO fisiologis yang merupakan respon terhadap keadaan hipoksia.^{2,7}

EPO Endogen

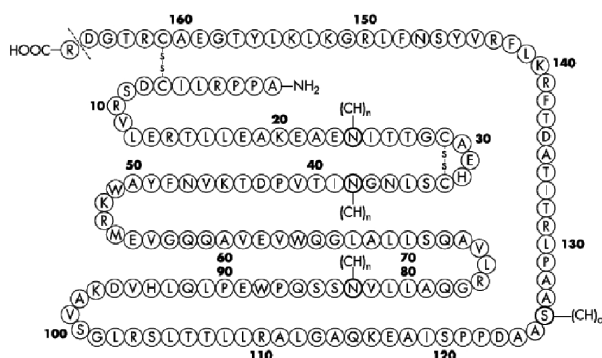
EPO manusia sebagian besar disintesis di sel peritubulus ginjal dan sebagian kecil di hati. Gen EPO manusia terletak pada kromosom 7pter-q22, mengandung 5 ekson dan 4 intron. Gen ini memproduksi sebuah polipeptida setelah proses transkripsi yang mengandung 193 asam amino. Dalam proses modifikasi setelah translasi, polipeptida ini mengalami proses glikosilasi pada 3 ikatan nitrogen (N-glikosilasi) dan 1 ikatan oksigen (O-glikosilasi). Selanjutnya akan terjadi pembentukan ikatan disulfida bersamaan dengan pelepasan 27 urutan asam amino hidrofobik sekretorik. Pada saat memasuki aliran darah, asam amino arginin dari rantai ujung karboksil memisahkan diri sehingga total jumlah asam aminonya adalah 165 asam amino. Struktur primer EPO matang mengandung 165 asam amino. Protein EPO berbentuk seutas rantai polipeptida dengan 2 ikatan sulfida intramolekul dan 4 rantai polisakarida bebas yang terikat pada asam amino yang spesifik. Rantai polipeptida yang memberikan 40% berat molekul EPO, berperan penting dalam fungsi hormonal EPO. Pada rantai polisakarida tersebut juga terikat asam sialat yang merupakan petanda biologi hormon EPO. Petanda ini berfungsi menjaga agar EPO tidak didegradasi oleh hati sebelum mencapai sel target. Hormon EPO yang diproduksi akan menuju sel induk eritrosit dalam sumsum tulang. EPO lebih berperan pada tahap CFU-E dan pronormoblas yang lebih dekat dengan eritrosit matur daripada tahap BFU-E.^{8,9}

Recombinant Human Erythropoietin (rHuEPO)

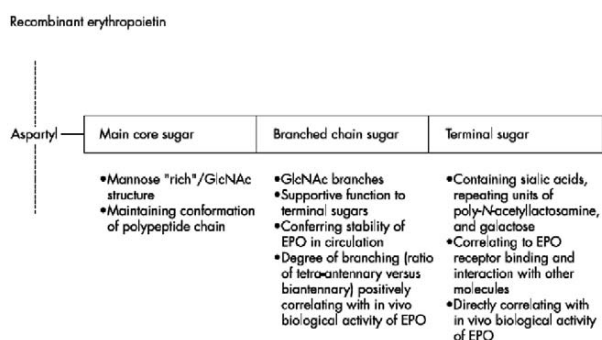
Produksi EPO dengan derajat kemurnian tinggi dapat terlaksana karena perkembangan teknik rekayasa genetika. Penggunaan EPO endogen untuk tujuan terapi tidak dimungkinkan karena hormon EPO terdapat pada tubuh manusia dengan konsentrasi rendah. Dalam perkembangan pembuatan rHuEPO,



Gambar 4. Pengaturan (Regulasi) Penanda (Ekspresi) HIF-1 α oleh kadar oksigen sel ²



Gambar 5. Bangun pratama (Struktur Primer) EPO Endogen¹⁰



Gambar 6. Unit fungsional N-Glikosilasi pada EPO¹⁰

beberapa peneliti melaporkan bahwa proses N-glikosilasi memberikan kemampuan biologi rHuEPO. Adanya peningkatan jumlah N-glikosilasi akan meningkatkan aktivitas biologi rHuEPO. Pada saat ini telah dikenal adanya rHuEPO yang "hiperglikosilasi" yang dikenal sebagai NESP (*Novel Erythropoiesis Stimulating Protein - Darbopoietin*) yang memiliki waktu paruh $3 \times$ lipat dan aktivitas yang lebih tinggi daripada rHuEPO "biasa".¹⁰

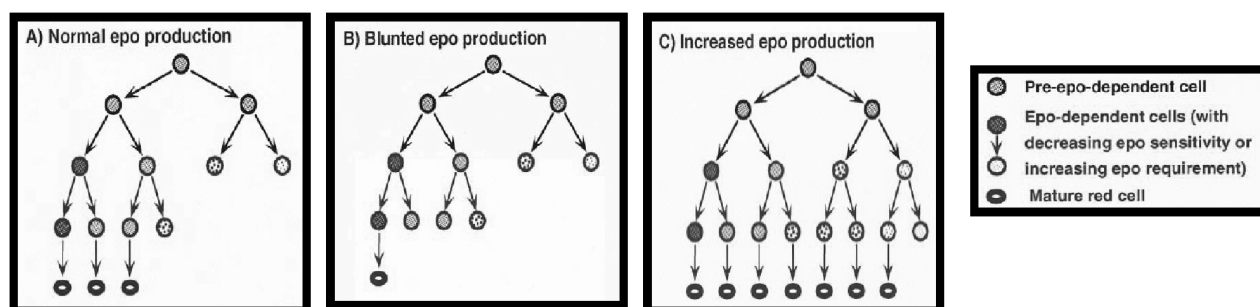
Pemakaian (aplikasi) Klinik Penggunaan EPO

EPO berperan baik sebagai faktor ketahanan hidup (*survival factor*) dan faktor mitogen. Pada sel progenitor eritroid manusia dengan reseptor EPO yang banyak, yaitu CFU-E dan proeritroblas, EPO berperan sebagai faktor ketahanan hidup. Model eritropoesis yang didasarkan pada mekanisme hambatan kematian sel yang terprogram oleh EPO dalam populasi sel progenitor eritroid. Progenitor eritroid tingkat lanjut (CFU-E dan proeritroblas) bergantung pada adanya EPO secara terus-menerus untuk menekan pengguguran (apoptosis) dan bersifat berbeda bagian (heterogen) sesuai dengan kepekaannya terhadap EPO.⁹

Dalam kondisi normal (Gambar A), hanya 1 bagian progenitor eritroid tingkat lanjut yang membutuhkan sedikit EPO dapat bertahan hidup dan menghasilkan prekursor eritroid yang menghasilkan sejumlah normal eritrosit yang matur.

Pada keadaan gagal ginjal terminal yang ditandai dengan adanya kegagalan produksi EPO, yaitu sejumlah besar (mayoritas) progenitor eritroid mengalami apoptosis oleh karena rendahnya kadar EPO dalam sumsum tulang. Hanya sebuah subpopulasi progenitor yang sangat sensitif terhadap EPO dan hanya membutuhkan kadar EPO dengan pada kadar yang sangat rendah dapat bertahan hidup. Pemberian rHuEPO menyebabkan suatu peningkatan aktivitas eritropoesis dengan jalan menghambat proses apoptosis dari sejumlah besar progenitor eritroid tingkat lanjut yang memiliki sensitivitas intermediet (Gambar B).

Pada keadaan anemia karena hemolisis atau kehilangan darah akut, produksi EPO endogen dari ginjal meningkat beberapa kali lipat yang menyebabkan tingginya kadar EPO dalam sumsum tulang. Hampir semua progenitor eritroid, dapat bertahan hidup. Keadaan ini menyebabkan peningkatan eritropoesis secara maksimal. Pemberian rHuEPO tidak diperlukan untuk meningkatkan eritropoesis lebih lanjut. (Gambar C).^{9,11}

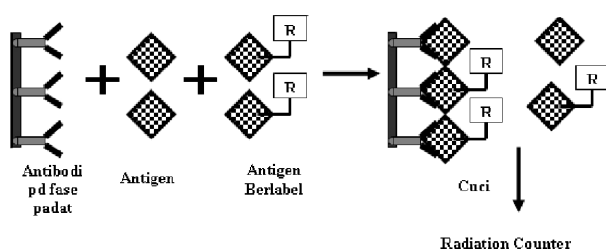


Gambar 7. Berbagai keadaan eritropoesis pada variasi produksi EPO⁹

METODE

Pemeriksaan laboratorium terhadap produksi EPO endogen sudah menjadi prosedur diagnostik rutin seiring dengan tersedianya berbagai macam immunoasai komersial untuk EPO serum. Kadar EPO serum pada individu normal berkisar antara 5–30 mU/mL. Penelitian dengan menggunakan berbagai macam metode immunoasai menunjukkan adanya rentang yang luas kadar EPO di antara orang normal. Pemeriksaan EPO dapat dilakukan dengan immunoasai metode RIA, metode EIA yaitu *double antibody sandwich* ELISA dan ELISA kompetitif, dan metode *chemiluminescence*.^{2,3}

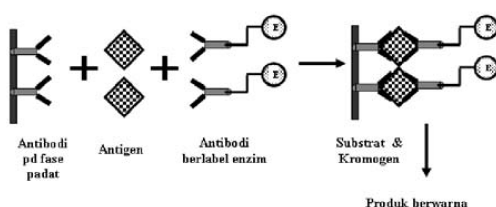
Immunoasai Metode RIA



Gambar 8. Immunoasai metode RIA¹²

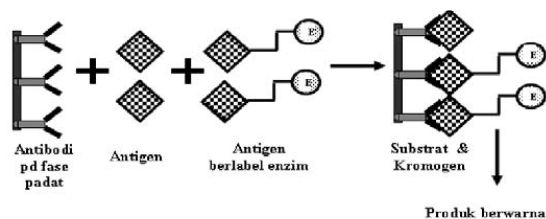
Double antibody sandwich ELISA

Metode pemeriksaan *double antibody sandwich* ELISA merupakan metode pemeriksaan yang lebih spesifik dan dapat mengenali hanya sebuah isoform.^{2,3}



Gambar 9. Immunoasai metode *Double antibody sandwich* ELISA¹²

ELISA kompetitif



Gambar 10. Immunoasai metode ELISA kompetitif¹²

Metode chemiluminescence

Immunoasai luminesens (LIA) memiliki prinsip dasar yang hampir sama dengan immunoasai fluoresens (IFA). Bila pada IFA dipakai cat fluoresens sebagai label untuk antigen atau antibodi, maka pada LIA dipakai bahan luminesens sebagai label.¹²

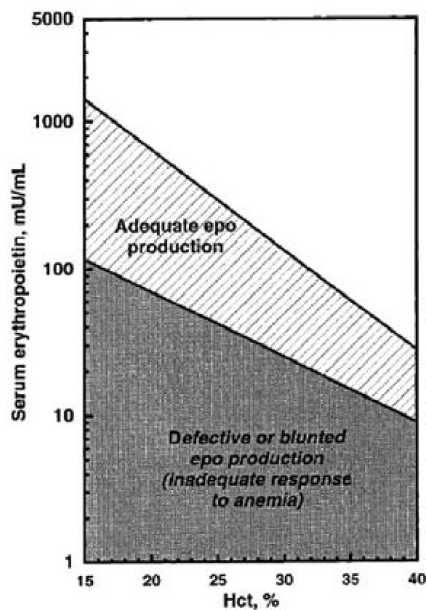
Metode RIA dilaporkan memiliki koefisien variasi (CV) 2–5% pada kadar EPO 40–150 mU/mL. Pada kadar EPO yang rendah yaitu 10–15 mU/mL, metode RIA memiliki CV lebih dari 10%. Metode EIA dilaporkan memiliki presisi yang baik pada kadar EPO 10–54 mU/mL dengan CV 5–7%. Metode EIA memiliki daya lacak yang lebih baik. Metode EIA dapat mendeteksi EPO pada kadar yang lebih rendah (0,4–0,8 mU/mL) dibandingkan dengan metode RIA (2,3–3,6 mU/mL).^{13,14}

Kadar EPO serum harus dievaluasi sehubungan dengan derajat anemia dan setiap laboratorium harus menentukan regresi eksponensial EPO serum terhadap hematokrit atau hemoglobin (Hb) pada populasi referen dari penderita anemia dan menentukan derajat kepercayaan 95% (*confidence limit*). Subyek yang dikumpulkan untuk menghitung persamaan regresi referen harus terbukti tidak menderita gagal ginjal dan inflamasi. Penderita (pasien) dengan anemia defisiensi besi, anemia hemolitik, dan thalassemia intermedia dapat dijadikan subyek referen.¹³

Diagnosis dari keadaan defisiensi produksi EPO didasarkan pada rendahnya kadar EPO serum dibandingkan dengan subyek referen dengan kadar hemoglobin atau hematokrit yang sama. Secara individual, tingkat produksi EPO endogen dapat dengan mudah dinilai dengan evaluasi grafik (Gambar 6), atau dengan rasio log *observed/predicted* EPO serum (Rasio O/P). Nilai *predicted* didapat dari persamaan regresi. Rasio O/P kurang dari 1 bila nilai *observed* lebih rendah daripada nilai *predicted*. Pada subyek referen, rasio O/P berkisar 0,8–1,2 dengan derajat kepercayaan 95%. Rasio O/P dapat memberikan suatu pengukuran derajat produksi EPO.¹³

Daerah dengan garis paralel menunjukkan derajat kepercayaan 95%. Nilai di bawah 95% rentang referen menunjukkan adanya defek produksi EPO sebagai respon terhadap anemia. Penderita dengan anemia aplastik dan anemia refrakter menunjukkan nilai EPO di atas rentang referen.

Berbagai keadaan klinik selain uremia yang berhubungan dengan defisiensi produksi EPO endogen yaitu:^{13,15} anemia pada prematuritas, anemia karena inflamasi kronik (*Arthritis Rematoid*, *Inflammatory bowel disease*, infeksi kronik, dan AIDS), anemia pada keganasan (dengan atau tidak dengan pemberian kemoterapi) (*Tumor solid*, *multiple myeloma*, dan limfoma maligna).



Gambar 11. Hubungan antara kadar EPO serum dan hematokrit pada subyek referen¹³

Peran rHuEPO pada Gangguan Hematologi pada Keadaan Non-Uremia

Farmakokinetik dan Cara Pemberian rHuEPO

Pemberian rHuEPO sub-kutan menginduksi konsentrasi EPO plasma puncak yang lebih rendah dengan waktu paruh 19–22 jam dibandingkan dengan pemberian intravena dengan waktu paruh 4–5 jam. Pemberian rHuEPO dengan dosis lebih kecil sub-kutan lebih menyerupai keadaan produksi EPO fisiologi dan memberikan efektivitas yang lebih besar daripada pemberian intravena.^{9,13}

Dosis dan Kriteria Terapi rHuEPO

Kriteria praktis pemberian dosis awal rHuEPO pada penderita (pasien) anemia pada keadaan non-uremia: 1) pada penderita yang tidak memerlukan transfusi, jumlah trombosit $\geq 100 \times 10^9/L$, tidak ada tanda inflamasi, dan tidak ada kemoterapi, dimulai dengan 200–250 IU/kg/mg subkutan (dibagi 3 $\times$ pemberian), 2) pada penderita yang membutuhkan transfusi reguler, jumlah trombosit $< 100 \times 10^9/L$, keadaan disertai inflamasi atau pemberian kemoterapi. (Salah satu dari keadaan tersebut), pemberian dimulai dengan 400–500 IU/kg/mg subkutan (dibagi 3 $\times$ pemberian).⁹

Evaluasi Pemberian Terapi rHuEPO

Indikator terbaik untuk mengetahui adanya respon adekuat pemberian rHuEPO adalah adanya peningkatan Hb setelah 2–4 minggu. Parameter ini kurang berguna pada penderita yang menerima terapi dan atau bersamaan dengan kemoterapi. Pada

penderita kanker, peningkatan jumlah retikulosit $\geq 40 \times 10^9/L$ setelah 4 minggu merupakan indikator yang baik. Jadi efektivitas terapi harus dinilai dengan mengukur Hb dan menghitung jumlah retikulosit setelah 4 minggu. Penderita dengan peningkatan Hb $\geq 1 g/dl$ dan atau jumlah retikulosit $\geq 40 \times 10^9/L$ menunjukkan respon yang baik terhadap terapi rHuEPO. Peningkatan *circulating transferrin receptor* $\geq 25\%$ dapat memberikan prediksi respon terhadap terapi rHuEPO pada penderita (pasien) anemia dengan keadaan uremia dan non-uremia.⁹

Pada Keadaan Uremia

Farmakokinetik dan Cara Pemberian rHuEPO

Secara umum, pemberian sub-kutan lebih efektif dibandingkan dengan pemberian intravena. Penelitian farmakokinetik menunjukkan bahwa waktu paruh setelah pemberian intravena adalah 4–9 hari, sedangkan waktu paruh pemberian sub-kutan > 24 jam. Perlu diperhatikan untuk tidak menghentikan pemberian rHuEPO hanya karena target Hb tercapai, karena kadar Hb akan menurun lebih rendah dari yang dapat diantisipasi karena peningkatan Hb sebelumnya menekan produksi EPO endogen.^{2,15}

Dosis dan Evaluasi Terapi rHuEPO

The National Kidney Foundation Dialysis Outcomes Quality Initiative (NKF-DOQI) merekomendasikan suatu pendekatan terapi anemia pada penderita (pasien) gagal ginjal kronik bila Hb $< 11g/dl$ pada wanita premenopause dan prepubertas, Hb $< 12g/dl$ pada wanita pasca menopause dan pria dewasa.^{13,16} Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI, 2001) merekomendasikan terapi EPO apabila Hb $\leq 10g/dL$ dan Hematokrit $\leq 30\%$ dan penyebab lain anemia sudah disingkirkan.¹⁷

Evaluasi Pemberian Terapi rHuEPO

European best Practice Guidelines merekomendasikan target Hb $> 11g/dl$ pada penderita gagal ginjal kronik. *National Kidney Foundation* merekomendasikan target hematokrit 33–38%.¹⁶ Berdasarkan Konsensus Manajemen Anemia pada Gagal Ginjal Kronik, oleh PERNEFRI 2001 target Hb $> 10g/dL$ dan Hematokrit $> 30\%$.¹⁷

Parameter yang perlu dievaluasi pada pemberian terapi EPO:^{16,17} hemoglobin dan atau hematokrit, indeks sel darah merah, jumlah retikulosit, parameter Status Besi Tubuh yaitu *serum iron* (SI), *total iron binding capacity* (TIBC), saturasi transferin, dan ferritin serum.

Pemberian terapi dengan rHuEPO pada keadaan uremia dan non-uremia menyebabkan terjadinya keadaan defisiensi besi. Oleh karena itu pada pemberian terapi rHuEPO perlu diperhatikan gejala dan tanda keadaan defisiensi besi yaitu ferritin serum, saturasi transferin, dll. Dua bentuk keadaan

iron-deficient erythropoiesis dapat terjadi dengan pemberian rHuEPO yaitu: 1) *True Iron Deficiency* terjadi selama pemberian rHuEPO jangka panjang disebabkan karena adanya perpindahan progresif besi dari cadangan simpanan besi tubuh menuju ke eritron.^{9,13} 2) *Functional* atau *Relative Iron Deficiency* terjadi pada keadaan cadangan simpanan besi tubuh yang normal (atau bahkan meningkat) tetapi suplai besi ke dalam eritron tidak adekuat untuk memenuhi kebutuhan sel progenitor eritroid. Adanya ketidakseimbangan suplai besi terhadap eritropoiesis sumsum tulang ditandai dengan rendahnya saturasi transferrin (<20%). Secara umum, kadar ferritin serum < 100 µg/L berhubungan dengan adanya *functional iron deficiency* pada pemberian terapi dengan rHuEPO. Macdougall dkk. pada tahun 1992 menggunakan *automated cell counter* untuk mendapatkan persentase eritrosit yang hipokromik (didefinisikan sebagai kadar Hb eritrosit individual < 28 g/dL). Pada keadaan normal berjumlah kurang dari 2,5% dari seluruh eritrosit.^{9,18} Adanya peningkatan lebih dari 10% selama pemberian terapi rHuEPO menunjukkan adanya keadaan *functional iron deficiency* dan hal ini membutuhkan terapi intensif dengan tambahan suplemen besi. Deteksi awal *iron-restricted erythropoiesis* dapat dilakukan dengan menggunakan evaluasi *reticulocyte Hb content* (CHr). Pada penderita yang memenuhi salah satu dari kriteria di atas (saturasi transferrin < 20%, ferritin serum < 100 µg/dL, > 10% eritrosit hipokromik, atau retikulosit dengan CHr rendah), perlu dipertimbangkan untuk memberikan terapi tambahan suplementasi besi yang lebih agresif.^{13,18}

Peranan EPO pada Sistem Non-hematologi

Peranan EPO pada Sistem Kardiovaskular

Penurunan Hb sering terjadi pada penderita gagal jantung kronik (CHF/*Chronic Heart Failure*) dan meskipun kadar EPO plasma meningkat pada penderita CHF, kadar tersebut masih tetap kurang untuk dapat mengimbangi penurunan Hb. Pemberian terapi rHuEPO secara bermakna meningkatkan fungsi jantung dan kualitas hidup penderita CHF yang mengalami anemia setelah terjadinya koreksi Hb. EPO dilaporkan juga memiliki efek non-eritropoetik. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pemberian terapi EPO dapat memberikan fungsi protektif dalam penyakit pembuluh darah (vaskular). Foley dkk melaporkan bahwa pada setiap penurunan Hb sebesar 1g/dl pada populasi penderita gagal ginjal terdapat suatu hubungan tidak langsung dengan adanya dilatasi ventrikel kiri jantung dan perkembangan terjadinya gagal jantung. Anemia kronik menyebabkan terjadi suatu *relative volume overload* yang selanjutnya akan menyebabkan dilatasi

ventrikel jantung. Hipertrofi ventrikel kiri merupakan prediktor penyakit kardiovaskular dan menurunkan angka harapan hidup secara bermakna.¹⁹

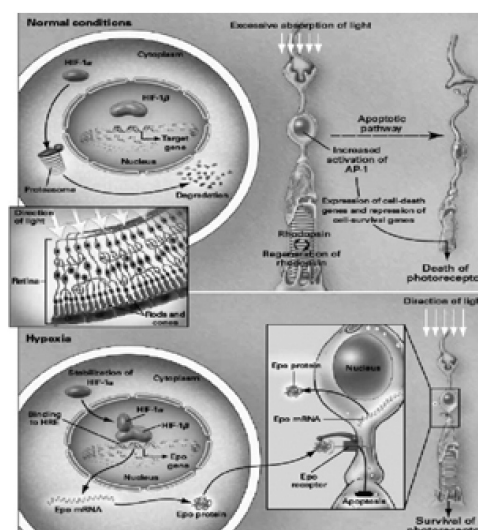
Penggunaan rHuEPO memberikan kontribusi penting dalam terapi penderita CHF, karena keadaan CHF berhubungan dengan peningkatan apoptosis dan penurunan kapilerisasi. Kedua keadaan tersebut dapat dicegah dengan pemberian rHuEPO karena rHuEPO memiliki efek anti-apoptosis dan efek stimulasi angiogenesis.¹⁹

EPO juga memiliki peran pada keadaan iskemia infark miokardium. Terapi EPO mencegah terjadinya apoptosis pada sel endotel selama proses reperfusi dan dapat melindungi miokardium dan menjaga aliran darah. Karena proses apoptosis mencapai puncaknya pada periode reperfusi, maka rHuEPO akan memberikan efek yang menguntungkan bila diberikan pada penderita yang menerima terapi trombolitik atau setelah *percutaneous coronary intervention* (PCI).^{13,19}

Peranan EPO pada Retina

Kehilangan penglihatan yang disebabkan karena proses apoptosis sel merupakan gambaran dari *age-related macular degeneration* (ARMD), retinitis pigmentosa, glaucoma, dan penyakit degeneratif retina lainnya. Paparan sinar yang berlebihan dapat menyebabkan degenerasi dan kematian fotoreseptor.

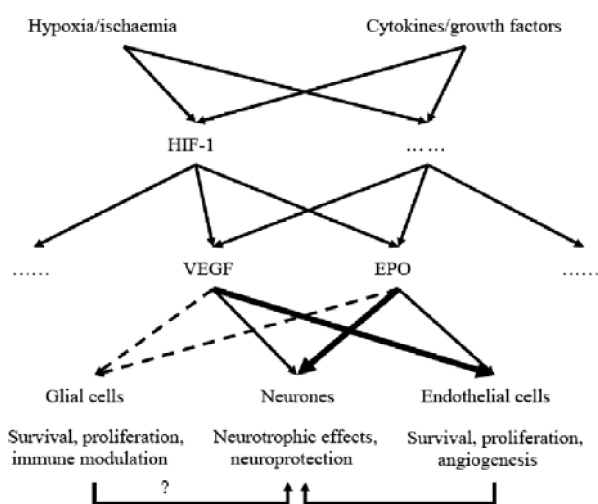
Interaksi antara EPO dengan reseptor EPO dalam fotoreseptor memacu rantai hambatan apoptosis (Gambar 8).^{20,21}



Gambar 14. Proteksi fotoreseptor yang dimediasi EPO terhadap jejas fotokimiawi²⁰

Peran EPO pada Sistem Saraf

Gen EPO ditemukan pada jaringan otak manusia daerah korteks temporal, *hippocampus*, dan *amygdala*. EPO dapat dideteksi dalam cairan serebrospinal manusia dewasa dan neonatus. Pada tingkat sel, EPO diproduksi oleh astrosit dan neuron. Reseptor EPO secara luas diekspresikan pada kebanyakan sel otak, termasuk neuron, sel endotel, sel *microglial*, dan astrosit. EPO berperan sebagai faktor neurotropik pada neuron. Target kedua kerja EPO fisiologis pada jaringan otak adalah pembuluh darah otak. EPO bekerja sebagai faktor angiogenik pada jaringan otak. Target selanjutnya adalah sel glia. EPO dilaporkan berperan pada proses maturasi, proliferasi dan diferensiasi oligodendrosit dan astrosit. Selanjutnya EPO dilaporkan memiliki efek antiapoptosis yang melindungi kerusakan otak yang disebabkan karena adanya hipoksia.^{20,22}



Gambar 15. Proteksi neuronal pada sistem saraf pusat yang mengalami hipoksia²²

Pada keadaan hipoksia, EPO bekerja pada jaringan otak melalui 2 cara. Yang pertama sebagai faktor neurotropik atau neuroprotektif langsung. Kedua sebagai faktor angiogenesis. Target utama EPO adalah neuron, sedangkan target utama VEGF adalah mencegah apoptosis dan merangsang pertumbuhan sel endotel yang akan menghasilkan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis).²⁰

Penyalahgunaan rHuEPO

Definisi *blood doping* dikenal sejak tahun 1970 dalam menjelaskan penggunaan transfusi darah yang dapat meningkatkan massa dari eritrosit, yang akan meningkatkan transport oksigen menuju jaringan. *Blood doping* terutama digunakan oleh olahragawan

yang mengutamakan ketahanan yaitu olahragawan dengan latihan aerobik seperti bersepeda, lari lintas alam, maraton, dan triatlon. Pada saat ini, rHuEPO lebih banyak digunakan sebagai doping daripada transfusi darah. Penggunaan transfusi darah membutuhkan adanya dokter atau profesional terlatih untuk mengambil, mempersiapkan, menyimpan dan melakukan transfusi darah. Sebaliknya penggunaan rHuEPO dapat dilakukan tanpa supervisi medis yang akan menyebabkan terjadinya risiko terjadinya penyalahgunaan rHuEPO. Penggunaan dosis rHuEPO yang seharusnya diberikan pada seorang penderita anemia untuk meningkatkan hematokritnya tidak dapat secara langsung diaplikasikan pada seorang yang sehat. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan hematokrit seseorang mencapai tingkat yang membahayakan jiwa. Pada saat seseorang berolahraga, dehidrasi adalah akibat yang sering terjadi karena pengeluaran keringat yang berlebihan. Hal ini akan menimbulkan terjadinya hemokonsentrasi yang akan menimbulkan peningkatan kepekatan darah dan penurunan curah jantung. Keduanya akan meningkatkan risiko kejadian trombotik.⁸

Selama beberapa tahun, beberapa penelitian dilakukan untuk mengatasi masalah penggunaan rHuEPO sebagai *doping*. Permasalahan utama adalah adanya kesulitan untuk mendeteksi dan membedakan rHuEPO karena struktur kimiawinya yang kompleks, memiliki berat molekul tinggi, terdapat di darah dalam konsentrasi rendah dan hampir menyerupai bentuk EPO endogen. Salah satu solusi yang diambil oleh *International Union of Cyclism (IUC)* pada tahun 1997 adalah melakukan tes darah dan melakukan pemeriksaan dengan metode tidak langsung berdasarkan perubahan fisiologis yang terjadi pada seseorang yang mengonsumsi rHuEPO yaitu pemeriksaan hematokrit pada atlet secara acak pada setiap kompetisi. IUC menetapkan bahwa atlet pria dengan hematokrit > 50% dan atlet wanita dengan hematokrit > 47% tidak diperbolehkan untuk berkompetisi. Efek samping rHuEPO akan lebih jelas terlihat apabila dosis yang diberikan meningkatkan hematokrit antara 50–55%. Pada saat ini IUC menetapkan, kriteria tambahan bagi para atlet yang akan berkompetisi yaitu kadar hemoglobin serum 17 g/dL. Parameter lain yang digunakan untuk mendeteksi pemakaian rHuEPO adalah adanya retikulositosis dan makrosit pada darah tepi yang menunjukkan adanya peningkatan aktivitas sumsum tulang. Selain itu dipergunakan juga parameter *soluble transferrin receptor (STR)* yang merupakan petanda untuk aktivitas eritroid dan parameter rasio STR/ferritin serum. Pada Olimpiade di Sidney tahun 2000, *Australian Sports Drug Testing Laboratory* menggunakan 5 parameter darah untuk mendeteksi penggunaan rHuEPO yaitu eritrosit, makrosit, retikulosit, EPO serum dan STR.⁸

DAFTAR PUSTAKA

1. Lappin TRJ, Rich IN. Erythropoietin – The First 90 Years. Clin Lab Haem, 2003; 18: 137–45.
2. Fisher JW. Erythropoietin : Physiology and pharmacology update. Society for experimental biology and medicine, 2003; 216: 358–69.
3. Kendall RG. Erythropoietin. Clin Lab Haem, 2001; 23: 71–80.
4. Moritz KM , Lim GB, Wintour EM. Developmental regulation of erythropoietin and erythropoiesis, 1997; Downloaded from <http://ajpregu.physiology.org> (accessed October 19, 2005).
5. Lewis D. Preclinical and clinical studies: A preview of potential future applications of erythropoietic agents. Seminars in hematology, 2004; 41(7): 17–25.
6. Dessypris E. Erythropoiesis. In: Wintrobe's clinical hematology 10th Ed, Lippincott Williams & Wilkins, 1999; 169–86.
7. Goodnough LT, Monk TG, Andriole G. Erythropoietin therapy. New England Journal of Medicine, 1997; 336(13): 933–9.
8. Bento R, Damasceno L, Neto FR. **Recombinant human erythropoietin in sports: A Review.** Rev Bras Med Esporte, 2003; 9(3): 181–8.
9. Cazzola M, Mercuriali F, Brugnara C. Use of recombinant human erythropoietin outside the setting of uremia. Blood, 1997; 89(12): 4248–67.
10. Ng T, Marx G, Littlewood T. Recombinant erythropoietin in clinical practice. Postgrad Med J. 2003; 79: 367–76.
11. Littlewood T. Medical uses of erythropoietin. Vox Sanguinis. 2004; 87(2): 593–5.
12. Handojo I . Pengantar imunoasai dasar. Surabaya, Airlangga University Press. 2003; 112–3.
13. Goodnough LT, Skikne B, Brugnara C. Erythropoietin, iron, and erythropoiesis. Blood. 2000; 96(3): 823–30.
14. Marsden JT, Sherwood RA, Peters TJ. Evaluation of six erythropoietin kits. Ann Clin Biochem, 1999; 36: 380–7.
15. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. **Medical Progress**, New England Journal of Medicine, 2005; 352: 1011–23.
16. The National Kidney Foundation Diálisis Outcomes Quality Initiative (NKF-DOQI). Guidelines for anemia of chronic kidney disease 2000. Downloaded from <http://K-DOQI Update 2000.org> in December 23rd, 2005.
17. Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI). Konsensus Manajemen Anemia pada Pasien Gagal Ginjal Kronik, 2001.
18. Sanders HN, Rabb AH, Bittle RN. Nutritional implications of recombinant human erythropoietin therapy in renal disease. J Am Diet Assoc. 1994; 94: 1023–9.
19. Meer P, Voors A, Lipsic E. Erythropoietin in cardiovascular diseases. European Heart Journal , 2003; 25: 285–91.
20. Lipton SA. Erythropoietin for neurologic protection and diabetic neuropathy. clinical implication of basic research, New England Journal of Medicine, 2004; 350: 24–5.
21. Beccerra SP, Amaral J. Erythropoietin – an endogenous retinal survival factor. Clinical implication of basic research, New England Journal of Medicine, 2002; 347(24): 1968–70.
22. Marti H. Erythropoietin and the hypoxic brain. the journal of experimental biology, 2004; 207: 3233–42.