

## Епоетин алфа ја намалува нефротоксичноста индуцирана со цисплатин кај стаорци

Димче Зафиров<sup>1</sup>, Јасмина Тројачанец<sup>1</sup>, Никола Лабачевски<sup>1</sup>, Петраки Корнети<sup>2</sup>,  
Светлана Цекова<sup>2</sup>, Игор Кикерков<sup>1</sup>, Емилија Атанасовска<sup>1</sup>,  
Калина Георгиевска<sup>1</sup>, Стојмир Петров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Инстѝтутѝ за Преѝклиничка и Клиничка Фармакологија со Токсикологија, Медицински факултѝетѝ,  
Универзитѝетѝ “Св. Кирил и Мѝтѝодиј”, 50 Дивизија б.б. 1000 Скопје, Република Македонија.

<sup>2</sup>Инстѝтутѝ за Медицинска и Експериментѝална Биохемија, Медицински факултѝетѝ,  
Универзитѝетѝ “Св. Кирил и Мѝтѝодиј”, 50 Дивизија б.б. 1000 Скопје, Република Македонија.

Примен април 2006, прифатен јуни 2006

### Апстракт

Клиничката ефикасност на цисплатин како антитуморски лек е несомнена, но дозно-лимитирачки фактор за негова употреба претставува изразитата нефротоксичност. Најновите истражувања покажуваат дека епоетин алфа може да има значајна улога не само во тераписки цели за корекција на разни видови на анемии, туку истиот може да биде ефикасен и како невропротектив, хепатопротектив, кардиопротектив и особено значајно како нефропротектив кај нефротоксичност индуцирана од препарати на база на платина.

Главна цел на оваа студија беше да се утврди ефектот на епоетин алфа во превенцијата на нефротоксичност експериментално индуцирана со долготрајна администрација на цисплатин во доза од 2 mg/kg/t.t./недела во тек на 8 недели, кај Wistar стаорци. Добиените резултати од оваа студија покажуваат дека епоетин алфа сигнификантно ги ублажува функционалните бубрежни пореметувања индуцирани со долготрајна администрација на цисплатин, ја подобрува општата состојба и го намалува морталитетот кај испитуваните животни.

**Клучни зборови:** епоетин алфа, цисплатин, нефротоксичност, стаорци.

### Апстракт

Клиничката ефикасност на цисплатин како антитуморски лек во третманот на разни малигни заболувања е несомнена, но дозно-лимитирачки фактор за негова употреба претставува неговата изразита нефротоксичност. Досегашните повеќегодишни искуства со овој лек покажуваат дека тераписките ефекти на цисплатин имаат дозно зависен карактер, односно сигнификантно се зголемуваат со зголемувањето на неговата доза. Меѓутоа, комплетниот тераписки потенцијал на цисплатин

во голема мера е лимитиран од неговите кумулативни токсични ефекти, од кои најзначајни се нефротоксичноста, невротоксичноста, гастроинтестиналната токсичност и миелотоксичноста. Од сите нив, реналната токсичност е најсериозен дозно-лимитирачки фактор за негова клиничка употреба поради нејзината висока инциденца и влијанието на морбидитетот и морталитетот на пациентите (1).

Како клучни фактори во механизмот на нефротоксичното дејство на цисплатин се сметаат неговото цитотоксично дејство, кое е карактеристично за акутната нефротоксичност и индукцијата на апоптоза, односно програмирана клеточна смрт, која е карактеристична за хроничната експозиција на цисплатин. Во однос на молекуларниот механизам на цитотоксичното дејство на цисплатин, особено во однос на токсичноста врз проксимал-

\* Димче Зафиров

e-mail: pharma@mt.net.mk

Тел. 02 11 18 28; 02 16 59 66; Факс. 02 11 18 28

ните тубули во бубрезите, постојат повеќе претпоставки, од кои се издвојуваат два прилично јасни механизми преку кои цисплатин ги уништува клетките. Првата, цитотоксичното дејство на цисплатин го објаснува на ист начин како и неговото цитотоксично дејство врз малигните клетки, односно преку негово врзување за DNK и формирање на комплекси d (GrG)-цисплатин, што предизвикува значителни конформациски промени на DNK (дисторзија, искривување на оската), кои се токсични за клетките кои се наоѓаат во фаза на делба (2, 3, 4). Втората теорија се објаснува преку стварање на нефротоксини при метаболизмот на цисплатин (5, 6).

Додека екстензивните акутни оштетувања можат да предизвикаат некротична клеточна смрт, податоците од најновите истражувања покажуваат дека помалку тешките ренални оштетувања, кои и најчесто се среќаваат во модерната клиничка пракса, преобладаваат се пропратени со апоптоза (програмирана клеточна смрт) на тубуларните епителни клетки (7, 8). Апоптозата на тубуларните епителијални клетки од пред неколку години се смета дека е најверојатно еден од најзначајните механизми преку кој цисплатин го манифестира своето нефротоксично дејство при негова повторувана администрација, покрај стварањето на метаболични нефротоксини (7, 8).

Во онколошката пракса, кумулативната токсичност на антинеопластичните лекови се настојува да се минимизира со разни стратегии и постапки кои вклучуваат: намалување на вкупната кумулативна доза на цисплатин, хиперхидрација на организмот со примена на диуретици и др. Меѓутоа, овие мерки се покажале како недоволно ефикасни за задоволителна превенција од нефротоксичното дејство на цисплатин.

Најновите стратегии и размислувања за намалување на нефротоксичноста на цисплатин вклучуваат начини за инхибиција на активацијата на цисплатин во нефротоксин, потоа употреба на антиоксиданси за неутрализирање на реактивните оксигени молекули и "target" инхибиција на апоптотичките механизми кои се активираат под дејство на цисплатин во бубрежните клетки.

Врз основа на до сега познатите механизми на индукција на апоптоза од страна на цисплатин (активација на така наречените Fas-рецептори и активација на митохондриите), во последните неколку години, интензивно се испитуваат разни супстанции кои би можеле да ја инхибираат апоптозата,

преку делување на разни нивоа од патиштата на индукција на апоптоза, почнувајќи од супстанции кои отстрануваат реактивните оксигени метаболити, антиоксиданси, потоа супстанции кои делуваат инхибиторно на активацијата на каспазите, супстанции кои превенираат намалување на нивото на АТФ и др. Исто така, за превенцијата на нефротоксичноста на цисплатин во последните неколку години посебно интересни се и лековите кои покрај тоа што можат да делуваат антиапоптотички, можат и да ја стимулираат регенерацијата на оштетените ткива, односно да делуваат како фактори на раст. Еден од таквите лекови всушност претставува и рекомбинантниот хуман еритропоетин, односно епоетин алфа како негов прототип, кој всушност преобладава претставува хематопетски фактор на раст, но и стимулатор на единствениот за сега познат интраклеточен инхибитор на апоптозата - *bcl-2*. Основните цели на оваа студија беа да се утврдат ефектите на епоетин алфа во превенцијата на нефротоксичноста експериментално индуцирана со долготрајна администрација на цисплатин во доза од 2 mg/kg/t.t./недела во тек на 8 недели.

### Експериментален дел

*Лекови:* Во текот на студијата беа користени следните лекови: Cisplatin (CP) - Bristol Myers Squib и Epoetin alfa (EPO) (Cilag AG).

*Експериментални животи:* За изведување на експериментите кои беа предвидени во ова испитување беа користени 75 машки и женски нормотензивни стаорци од сојот Wistar, на возраст од 9-11 недели, со телесна тежина од 200-300 g. Стаорците се добиени по пат на размножување во шталата на Институтот за предклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија.

*Експериментални протоколи:* За да се одговори на поставените цели, стаорците беа поделени во 3 групи од по 25 животни. За да се евалуира нефротоксично дејство на цисплатин (CP) при негова долготрајна администрација, кај првата група стаорци интраперитонеално беше администриран Cisplatin во доза од 2 mg/kg/t.t., еднаш неделно, во тек на 8 недели. За да се евалуираат ефектите на Epoetin alfa во превенцијата на нефротоксичност индуцирана од хемотерапија во која е вклучен препарат на платина, кај втората група стаорци истовремено со почетокот на третманот со Cisplatin (во истата доза како и во претходниот протокол) се за-

почна со превентивна субкутана апликација на Epoetin alfa (EPO) во доза од 150 IE/kg/t.t./ 3 пати неделно. Третата група, која исто така броеше 25 стаорци, претставуваше контролна група и експерименталните животни од оваа група примаа физиолошки раствор во исти количини и временски интервали како и групите животни кои ги примаа испитуваните лекови.

*Мерења и анализи:* во текот на испитувањето беа извршени следните мерења и анализи: биохемиска анализа на крвта од стаорците, која вклучуваше одредување на концентрацијата на серумски креатинин и уреа; анализи на урина кои вклучуваа одредување на диурезата, нивото на NAG (N-Acetyl-b-D-glucosaminidase) во урина и вкупни протеини во урина; како и следење на телесната тежина и општата состојба на животните. Сите овие мерења и анализи кај испитуваните животни се изведуваа пред почетокот на испитувањето (0-ден), после 4 и 8 недели од почетокот на испитувањето.

Екскреција на NAG (N-Acetyl-b-D-glucosaminidase) во урина се одредуваше според валидиранта методата на Horak E. 1981 (9).

*Земање на примероци на крв:* крвта од стаорците беше земена од орбиталниот синус на стаорците, во лесна етерска анестезија, со венепункција, при што беа земани примероци на крв (по 400 ml) за издвојување на 200 ml серум/плазма, потребен за биохемиски анализи и примероци на крв за хематолошки испитувања (по 100 ml).

*Собирање на урина:* за анализа на урината беа користени примероци од 24-часовна урина кај стаорците, со користење на метаболни кафези.

*Статистичка обработка:* од дескриптивна стасистика беа користени мерките на централна тенденција и варијабилитет (средна вредност, стандардна девијација). Разликите помеѓу одредени временски точки, како и разликите помеѓу групите беа анализирани со Student-ov "t test" за зависни односно независни примероци и непараметриските тестови Mann-Whitney U-test, Wilcoxon-ов тест и Kruskal-Wallis ANOVA. Како сигнификантно значајни беа земени разликите за  $p < 0.05$ .

## Резултати и дискусија

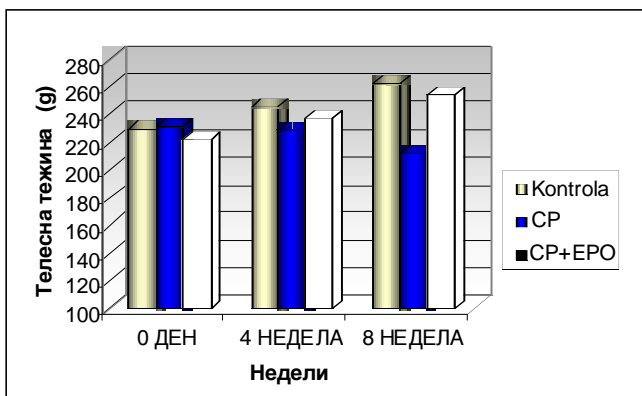
Добиените резултати од оваа студија ја потврдуваат кумулативната нефротоксичност на цисплатин. Администрацијата на цисплатин во неделна доза од 2 mg/kg/t.t. резултираше со умерено изразени или тешки функционални бубрежни поре-

метувања кај сите животни од оваа група, а кои беа манифестни и сигнификантни во однос на базалните вредности и контролната група веќе после 4 недели, односно при негова администрација во вкупна кумулативна доза од 8 mg/kg/t.t. Ваквата нефротоксичност се рефлектираше и на општата состојба на испитуваните животни, манифестирана со застој во растот, губиток во телесна тежина, намалена моторна активност, успореност и пасивност на испитуваните животни. Во понатамошниот тек од испитувањето, со зголемувањето на вкупната кумулативна доза на цисплатин, кај испитуваните животни од оваа група (CP- група) симптомите на нефротоксичност, анемија и општа лоша состојба беа уште по изразени. На крајот од испитувањето, како резултат на токсичното дејство на цисплатин, од вкупно 25 стаорци, 3 егзитираа (12%).

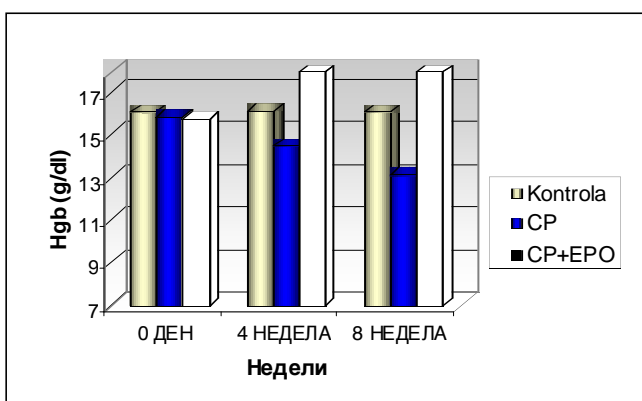
За разлика од тоа, во втората група на животни, кои покрај цисплатин примаа и епоетин алфа (EPO), иако симптомите и знаците за нефротоксичност не беа комплетно превенирани, тие беа сигнификантно помалку изразени во однос на CP групата. Од вкупниот број на стаорци во оваа група, само кај 4 стаорци беа присутни лесно до умерено изразени функционални бубрежни пореметувања. Како резултат на добро познатите ефекти на епоетин алфа на анемијата, растот и зголемувањето на кислородниот капацитет, кај оваа група на животни не беше регистрирана анемија и стагнација во растот, односно губиток во телесна тежина. Од посебно значење е и податокот што ниту едно животно од оваа група не егзитираше во текот на испитувањето, што укажува на нивната зголемена толерабилност кон повисоки дози на цисплатин.

### Телесна тежина

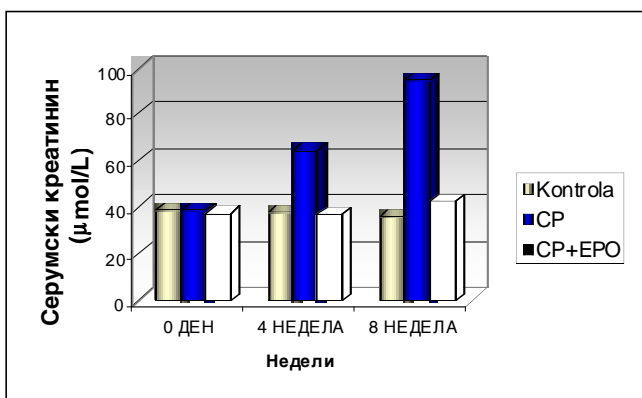
Една од карактеристиките на групата животни кои примаа само цисплатин (CP) беше прогресивниот пад на телесната тежина во текот на целото испитување (Сл. 1.). На крајот од испитувањето, по 8 недели, телесната тежина кај оваа група на животни беше намалена за 8% во однос на базалните вредности. За разлика од тоа, во групата животни кои покрај цисплатин примаа превентивно и епоетин алфа, не само што не беше регистриран застој во растот и пад во телесната тежина во текот на испитувањето, туку беше евидентно континуираното зголемување на телесната тежина и релативно добра општа состојба во текот на целото испитување (Сл. 1).



Сл. 1. Вредности на телесна тежина кај стаорците во текот на испитувањето (g)



Сл. 2. Ниво на хемоглобин кај стаорците во текот на испитувањето (g/dl.)



Сл. 3. Вредности на креатинин во серум кај стаорците во текот на испитувањето (mmol/L)

### Хемоглобин

Во групата животни кои примаа само цисплатин, сигнификантно ( $p < 0.05$ ) намалување на вредностите на хемоглобинот, кои се користеа за евалуација на степенот на хематолошката токсичност, во однос на базалните вредности ( $15.93 \pm 0.76$  g/dl) беше регистрирано после 4 недели од апликацијата на лекот, при што тие изнесуваа:  $14.55 \pm 0.48$  g/dl.

На крајот од испитувањето, по 8 недели администрација на вкупна кумулативна доза на цисплатин од  $16$  mg/kg/t.t., истите беа високо сигнификантно ( $p < 0.01$ ) пониски во однос на базалните вредности и контролната група и изнесуваа:  $13.16 \pm 0.5$  g/dl.

За разлика од тоа, во групата животни кои ја примаа истата доза на цисплатин, но истовремено превентивно примаа и Epoetin alfa во доза од  $150$  IU/kg/t.t. три пати неделно, не само што не беше регистрирано намалување на вредностите на хемоглобинот, туку истите беа и сигнификантно повисоки во однос на базалните вредности и вредностите одредени кај контролната група. На крајот од испитувањето вредностите на хемоглобинот беа високо сигнификантно ( $p < 0.01$ ) повисоки во однос на базалните вредности и контролната група и изнесуваа:  $20.74 \pm 1.5$  g/dl. (Сл. 2.)

Процентуални изразено, во групата животни кои беа третирани само со цисплатин, на крајот од испитувањето вредностите на испитуваните хематокинетски параметри во однос на базалните вредности беа намалени за  $17.39\%$ . Спротивно на тоа, во групата животни кои покрај цисплатин примаа и епоетин алфа, на крајот од испитувањето вредностите на хемоглобинот во однос на базалните вредности беа зголемени за  $31.35\%$

### Серумски креатинин и уреа

Како рутински параметри за процена на бубрежната функција се користеа серумските концентрации на креатинин и уреа кај стаорците.

Администрацијата на цисплатин во неделна доза од  $2$  mg/kg/t.t. предизвика зголемување на нивото на креатинин и серум после 4 недели, при што просечните вредности на овие параметри изнесуваа  $64.75 \pm 8.88$  mmol/L (креатинин), односно  $10.04 \pm 1.53$  mmol/L (уреа), што е сигнификантно ( $p < 0.05$ ) повисоко во однос на контроланата група (креатинин =  $38.55 \pm 2.68$  mmol/L; уреа =  $7.58 \pm 1.39$  mmol/L) и базалните вредности. На крајот од испитувањето вредностите на овие 2 рутински параметри за процена на бубрежната функција уште повеќе се зголемија, при што истите изнесуваа  $95.0 \pm 23.15$  mmol/L (креатинин), односно  $24.26 \pm 10.72$  mmol/L (уреа) (Сл. 3 и 4).

Претретманот со епоетин алфа, како резултат на неговите нефропротективни својства, се покажа ефикасен, превенирајќи клинички значајно зголемување на вредностите на овие два параметри. Единствено на крајот од испитувањето, по администрација на вкупна кумулативна доза на цисплатин од  $16$

mg/kg/t.t. беше регистрирано лесно зголемување на овие вредности во однос на базалните вредности (креатинин:  $43.07 \pm 10.44$  mmol/L; уреа:  $11.15 \pm 3.05$  mmol/L) и контролната група. (Сл. 3 и 4).

### Диуреза

Одредувањето на волуменот на 24 часовната урина (диуреза) претставува еден од општите показатели за процена на бубрежната функција и евентуалните оштетувања предизвикани од цисплатин кај експерименталните животни.

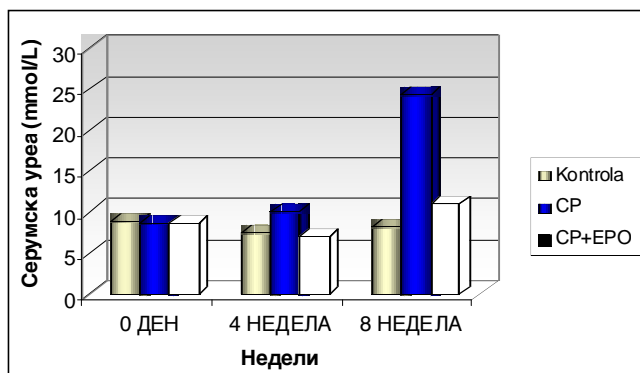
Во групата која примаше само цисплатин, веќе после 4 недели беше манифестна полиурија, како резултат на нефротоксичното дејство на цисплатин. Просечните вредности на диурезата од базалните  $7.41$  ml/24 h се зголемија на  $11.29 \pm 2.21$  ml/24 h. На крајот од испитувањето, по администрација на вкупна кумулативна доза на цисплатин од  $16$  mg/kg/t.t., просечните вредности на диурезата уште повеќе се зголемија и изнесуваа  $18.00 \pm 3.51$  ml/24 h.

За разлика од тоа, кај CP + EPO групата, иако и овде имаше сигнификантно зголемување на диурезата во однос на базалните вредности и контролната група, истата беше сигнификантно ( $p < 0.05$ ) пониска во однос на групата која примаше само цисплатин. После 4, односно 8 недели, просечните вредности на диурезата кај оваа група на стаорци изнесуваа  $10.86 \pm 3.39$  ml/24 h, односно  $12.89 \pm 1.69$  ml/24 h, што е сигнификантно ( $p < 0.05$ ) пониско во однос на CP групата.

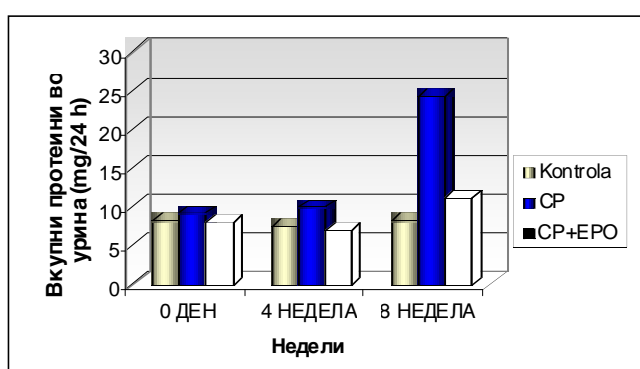
### Вкупни протеини во урина

Протеинуријата, односно одредувањето на вкупните протеини во урина го користевме во оваа студија како специфичен параметар за процена бубрежната функција кај испитуваните животни. Цисплатин кај CP групата манифестираше јасно изразена протеинурија, односно зголемени вредности на вкупни протеини во мокрача за 24 часа после 4 недели ( $12.0 \pm 2.03$  mg/24 h), која беше уште повеќе изразена на крајот од испитувањето по 8 недели, кога вредностите на вкупни протеини во мокрача за 24 часа беа за приближно два пати поголеми од базалните вредности и изнесуваа  $18.45 \pm 3.21$  mg/24 h (Сл. 5).

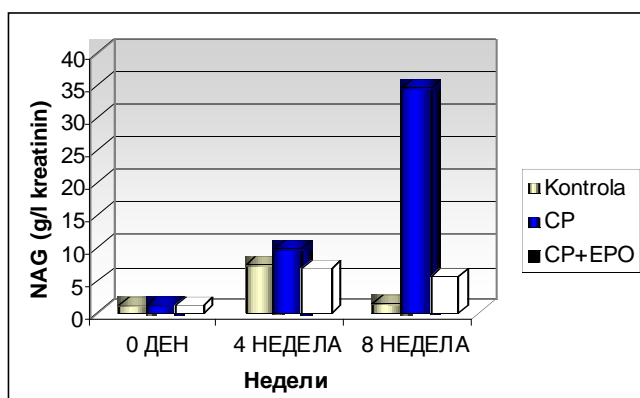
Како и во однос на останатите параметри, така и во однос на овој параметар епоетин алфа се покажа ефикасен, превенирајќи тешка протеинурија кај стаорците, при што лесно зголемување на вредностите на вкупни протеини во мокрача беше регистрирано само на крајот од испитувањето, кога



Сл. 4. Вредности на уреа во серум кај стаорците во текот на испитувањето (mmol/L)



Сл. 5. Вкупни протеини во урина за 24 часа кај стаорците во текот на испитувањето (mg/24h)



Сл. 6. Вредности на НАГ во урина кај стаорците во текот на испитувањето (U/g/креатинин)

просечните вредности изнесуваа  $12.54 \pm 2.01$  mg/24 h, што е сигнификантно пониско ( $p < 0.01$ ) во однос на групата која примаше само цисплатин (Сл. 5).

### Уринарна екскреција на NAG (N-Acetyl-b-D-glucosaminidase)

Уринарната екскреција на лизозомалниот ензим NAG се користеше како специфичен индикатор за тубуларни клеточни оштетувања. NAG се ка-

рактеризира со ренална тубуларна специфичност и е валиден индикатор за тубуларни оштетувања. Докажано е дека вредностите на NAG корелираат со соодветните морфолошки ренални тубуларни лезии индуцирани со различни механизми.

Кај животните од CP групата, вредностите на NAG во урина после 4 неделен третман со цисплатин, беа за приближно 3 пати зголемени во однос на базалните вредности и изнесуваа  $3.49 \pm 1.74$  U/g creatinin. Во понатамошниот тек од испитувањето, вредностите на NAG во урина изразито се зголемија, при што истите на крајот од испитувањето беа за приближно 28 пати поголеми во однос на базалните вредности и изнесуваа  $34.74 \pm 23.61$  U/g creatinin (Сл. 6).

За разлика од тоа, во CP + EPO групата, иако не беше комплетно превенирано зголемувањето на вредностите на NAG во урина, ова зголемување беше многу послабо изразено, при што просечните вредности на NAG во урина беа сигнификантно зголемени во однос на базалните вредности единствено при контролниот преглед на крајот од испитувањето, односно по 8 недели, кога изнесуваа  $5.53 \pm 3.97$  U/g creatinin. Добиените резултати од оваа студија несомнено го потврдуваат фактот за изразита тубуларна токсичност на цисплатин, поради изразито високите вредности на NAG кај групата животни кои примаа само цисплатин. Истата иако не беше комплетно превенирана, во голема мера беше редуцирана со претретман со епоетин алфа, што укажува на негови тубуларно протективни ефекти.

Во оваа студија, за да се процени ефектот на епоетин алфа во превенцијата на нефротоксичност индуцирана од цисплатин, беше поставен експериментален модел на индуцирана нефротоксичност со цисплатин со негова долготрајна администрација во доза од 2 mg/kg/t.t./недела, во тек на вкупно 8 недели. Ваквиот режим на дозирање на цисплатин резултираше со развој на знаци и симптоми на нефротоксичност од умерен до тежок степен, кои беа манифестни по 4 недели, а уште по изразени на крајот од испитувањето, што укажува на кумулативниот карактер на нефротоксичноста на цисплатин. Механизмот преку кој цисплатин делува нефротоксично е доста комплексен и нерасветлен до крај. Додека екстензивните акутни оштетувања можат да предизвикаат некротична клеточна смрт, податоците од најновите истражувања покажуваат дека помалку тешките ренални оштетувања, кои и најчесто се среќаваат во модер-

ната клиничка пракса, предоминантно се пропра-тени со апоптоза (програмирана клеточна смрт) на тубуларните епителни клетки (7, 8). Апоптозата на тубуларните епителни клетки од пред неколку години се смета дека е најверојатно еден од најзначајните механизми преку кој цисплатин го манифестира своето нефротоксично дејство при негова повторувана администрација, покрај стварањето на метаболни нефротоксини (7, 8). Добиените резултати од оваа студија несомнено покажуваат дека еритропоетинот, односно епоетин алфа, иако не комплетно, во голема мера ја намалува и ублажува нефротоксичноста индуцирана со цисплатин и дека влијае исклучително поволно и на целокупната општа состојба на животните, превенирајќи и развој на анемија, која може да претставува додатна компликација и фактор за влошување на општата состојба. Ваквите добиени резултати се во согласност со најновите истражувања кои покажуваат дека епоетин алфа може да има значајна улога не само во тераписки цели, за корекција на разни видови на анемии, туку истиот може да биде ефикасен и како невропротектив (особено кај периферна невротоксичност индуцирана со цисплатин), потоа како хепатопротектив, кардиопротектив и особено значајно како нефропротектив кај нефротоксичност индуцирана од препарати на база на платина.

Нефропротективните ефекти на еритропоетинот, односно епоетин алфа не се комплетно разјаснети. Постојат повеќе хипотези кои сугерираат различни можни механизми за нефропротективните ефекти на еритропоетинот. Познато е дека еритропоетинот е цитокин, кој специфично ја регулира диференцијацијата и пролиферацијата на еритроидните прогениторни клетки. Пролиферативниот ефект на еритропоетинот е документиран и за други клеточни типови, како што се и ендотелните клетки (10). Овој пролиферативен ефект на еритропоетинот најверојатно се должи на фактот што ендотелните клетки исто така поседуваат еритропоетински рецептори (11, 12). По новите објавени податоци сугерираат дека тубуларните и мезангијални клетки покажуваат експресија на автентичен ЕПО-рецептор mRNA (13), поради што еритропоетинот би можел да се смета за ренотропен цитокин.

Влијанието на еритропоетинот на клеточната пролиферација може да се смета како еден од многу веројатните механизми на дејство на еритропоетинот, во превенцијата на нефротоксичност инду-

цирана од цисплатин, особено при употреба на повисоки дози, кога цисплатин го манифестира своето цитотоксично дејство, индуцирајќи некротични промени во проксималните тубули. Со своето стимулаторно дејство на диференцијацијата, пролиферацијата и регенерацијата на тубуларните епителни клетки, еритропоетинот може да влијае поволно на ваквиот вид на нефротоксичност.

Една од алтернативните хипотези која го објаснува поволниот ефект на еритропоетинот на бубрежните оштетувања, ги вклучува и неговите хемодинамски ефекти, иако тие не се јасно покажани. Во литературата, за еритропоетинот е покажано дека ја зголемува брзината на нефронската гломеруларна филтрација во кортикалните нефрони, но без да ја зголеми брзината на вкупната филтрација (14). Во акутните експерименти кај зајаци, еритропоетинот не индуцирал хемодинамски промени (15), но е покажано дека може да ја зголеми реапсорбијата на натриум преку директно дејство на тубулите (16). Во студијата на Vagnis et al. 2001 (17), епоетин алфа ја зголемил брзината на гломеруларната филтрација, но дури после 9 дена, без притоа да влијае на висината на крвниот притисок.

Слично на акутните студии, и во хроничните студии, еритропоетинот ја зголемил брзината на реналниот крвен проток, но после 5 недели примена на епоетин алфа, иако овој ефект на епоетин алфа се очекувал порано (18). Значењето на овој механизам на дејство на еритропоетинот за сега останува се уште неразјаснет, бидејќи манифестацијата на хемодинамскиот ефект се очекува непосредно по започнувањето на третманот со еритропоетин.

Од друга страна, регистрираното анти-апопто-тичко дејство на еритропоетинот на коскената срцевина, односно неговото стимулаторно дејство на единствениот за сега познат интраклеточен инхибитор на апоптозата - *bcl-2*, го прави мошне интересен и атрактивен лек кој може да се користи за инхибиција на апоптозата и во други телесни ткива и органи, особено за превенција на токсичност на лекови, во чиј механизам на токсичност апоптозата има значајно влијание. Знаејќи го механизмот на нефротоксично дејство на цисплатин, за кој се претпоставува дека во голема мера се должи на индукцијата на апоптоза при негова хронична администрација, логично се наметнува претпоставката дека еритропоетинот би можел да биде ефикасен во превенцијата на нефротоксичнаста и преку инхибиција на апоптозата индуцирана со цисплатин.

## Заклучок

Резултати од оваа студија ја потврдуваат кумулативната нефротоксичност на цисплатин. Администрацијата на цисплатин во тек на 8 недели, во вкупна кумулативна доза од 16 mg/kg/t.t., резултираше со умерено изразени или тешки функционални бубрежни пореметувања кај сите стаорци кои примаа само цисплатин.

Епоетин алфа се покажа ефикасен не само во превенцијата на анемијата индуцирана од цисплатин, туку истиот, иако некомплетно, во голема мера ја превенираше и нефротоксичноста на цисплатин. Епоетин алфа сигнификантно ги ублажи функционалните бубрежни пореметувања индуцирани со долготрајната администрација на цисплатин, ја подобри општата состојба и го намалува морталитетот кај испитуваните животни, зголемувајќи ја толерабилноста кон повисоки дози на цисплатин. Потребни се додатни, специфични испитувања за да се утврдат прецизните механизми преку кои епоетин алфа ги остварува своите нефропротективни ефекти.

## Литература

1. P.J. O'Dwyer, J.P. Stevenson, S.W. Johnson. In: Lippert B (ed) *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*. Wiley-VCH, Zurich, pp 29-70 (1999)
2. S. Ishida, J. Lee, D.J. Thiele, I. Herskowitz, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**, (14298-14302) (2002)
3. X. Lin, T. Okuda, A. Holzer, S.B. Howell, *Mol Pharmacol.*, **62**, 1154-1159 (2002)
4. A. Eastman, In: Lippert B (ed) *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*. Wiley-VCH, New York, 1999; pp 111-135
5. Y. Sadzuka, Y. Shimizu, Y. Takino, S. Hirota, *Biochem Pharmacol*, **48**, 453-459 (1994)
6. Y. Sadzuka, Y. Shimizu, Y. Takino, *Toxicol Lett*, **70**, 211-222 (1994)
7. N. Ueda, G.P. Kaushal, S.V. Shah, *Am J Med*. **108**, 403-415 (2000)
8. J.S. Levine, W. Lieberthal, In *Acute Renal Failure, Molitoris BA and Finn WF (editors)*, W.B. Saunders, Philadelphia, pp 30-59 (2001)
9. E. Horak, S.M. Hopfer, F.W. Sunderman, *Clin Chem.*, **27** (7), 1180-5 (1981)
10. Nagai T, Akizawa T, Nakashima Y, S. Kohjiro et al. *Nephrol Dial Transplant.*, **10** (10), 1814-9 (1995)
11. A. Anagnostou, E.S. Lee, N. Kessimian, R. Levinson, M. Steiner, *Proc Natl Acad Sci U S A*. **87** (15), 5978-82 (1990)
12. A. Anagnostou, Z. Liu, M. Steiner, K. Chin, E.S. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. **91** (9), 3974-8 (1994)
13. C. Westenfelder, D.L. Biddle, R.L. Baranowski, *Kidney Int*. **55** (3), 808-20 (1999)

14. A.D. Paixão, A.T. Ferreira, M.E. Oshiro, C.V. Razvickas, M.A. Boim, N. Schor, *Exp Nephrol.*, **6** (3), 245-52 (1998)
15. N. Nushiro, T. Sakamaki, J. Hoshino, T. Nakamura et al., *Hypertens Res.*, **18** (3), 203-7 (1995)
16. N. Nushiro, T. Sakamaki, S. Misawa, M. Seino et al., *Nippon Jinzo Gakkai Shi.*, **35** (2), 125-31 (1993)
17. C. Bagnis, H. Beaufils, C. Jacquiaud, Y. Adabra et al., *Nephrol Dial Transplant.* **16** (5), 932-8 (2001)
18. C.S. Wilcox, X. Deng, A.H. Doll, H. Snellen, W.J. Welch, *Kidney Int.* **44** (2), 430-5 (1993)

---

## Summary

### Epoetin alpha reduces cisplatin induced nephrotoxicity in rats

Dimche Zafirov<sup>1</sup>, Jasmina Trojachanec<sup>1</sup>, Nikola Labachevski<sup>1</sup>, Petraki Korneti<sup>2</sup>, Svetlana Cekovska<sup>2</sup>, Igor Kikerkov<sup>1</sup>, Emilija Atanasovska<sup>1</sup>, Kalina Georgievska<sup>1</sup>, Stojmir Petrov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Preclinical and Clinical Pharmacology and Toxicology,  
Medical faculty; "Ss Cyril and Methodius", 50 Divizija b.b., 1000 Skopje, Macedonia.

<sup>2</sup>Department of Medical and Experimental Biochemistry,  
Medical faculty; "Ss Cyril and Methodius", 50 Divizija b.b., 1000 Skopje, Macedonia.

**Key words:** *epoetin alpha, cisplatin, nephrotoxicity, rats.*

Clinical efficacy of cisplatin as antitumorous drug is indisputable; but its use is dose-limited due to its association with severe nephrotoxicity. The latest researches have demonstrated that epoetin alpha might have an important role not only in therapeutic aims for correction of different types of anemia, but in could also be efficient as neuroprotective, hepatoprotective, cardioprotective and especially as nephroprotective drug in nephrotoxicity induced by agents based on platinum.

The main aim of this study was to determine the effect of epoetin alpha in prevention of nephrotoxicity induced experimentally in Wistar rats by long-term administration of cisplatin at dose of 2 mg/kg/b.w./per week during a period of 8 weeks. The results obtained have shown that epoetin alpha significantly alleviates the functional renal failure induced by long-term administration of cisplatin and improves the general condition as well as reduces the mortality in examined animals.

---