



# Eritropoetin dan Penggunaan Eritropoetin pada Pasien Kanker dengan Anemia

**Muhammad Darwin Prenggono**

RSUD Ulin / Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat  
Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia

## ABSTRAK

Eritropoetin (Epo) adalah hormon glikoprotein 30,4 kDa yang merupakan regulator utama produksi eritrosit sebagai respons terhadap penurunan oksigenasi jaringan. Produksi Epo terutama terjadi di ginjal dan sebagian kecil di hati, juga oleh sel-sel jaringan dan tumor. Efek Epo pada sel diperantarai oleh reseptor eritropoetin (EpoR). Aktivasi EpoR dimulai saat Epo berikatan dengan EpoR dan membentuk dimerisasi EpoR yang kemudian mengaktifkan jalur pensinyalan JAK2. Aktivasi JAK2 menyebabkan aktivasi jalur-jalur pensinyalan intraseluler, seperti STAT, Ras/MAPK, dan PI3-K. Pada sel-sel kanker, aktivasi jalur-jalur pensinyalan tersebut diduga mengakibatkan peningkatan proliferasi sel dan penurunan apoptosis. Ekspresi EpoR pada sel-sel kanker masih merupakan kontroversi. Penelitian dengan *Epo-binding assay* tidak dapat mengkonfirmasi keberadaan EpoR di membran sel kanker dan aktivasinya. Hubungan antara ekspresi EpoR dan progresivitas kanker diduga terjadi melalui efek parakrin ke sel-sel lain dalam lingkungan mikrotumor, seperti endotel dan trombosit. Efek Epo pada EpoR di sel-sel endotel dan trombosit tersebut dapat memicu angiogenesis dan mikrometastasis, sehingga menyebabkan perburukan kanker. Peran Epo dan EpoR pada progresivitas sel-sel kanker masih kontroversial dan memerlukan pembuktian lebih lanjut. Sejauh ini pedoman penatalaksanaan anemia terkait kanker yang dikeluarkan oleh NCCN dan ASCO tetap merekomendasikan penggunaan eritropoetin untuk pasien kanker dengan pembatasan-pembatasan tertentu.

**Kata kunci:** Eritropoetin, produksi eritrosit, anemia, kanker

## ABSTRACT

Erythropoetin (Epo) is a glycoprotein hormone of 30.4 kDa, is the main regulator of erythrocyte production in response to decreased tissue oxygenation. Epo production occurs mainly in the kidney and to a much lesser degree in the liver, it is also produced by other tissues and tumor cells. Activation of EpoR starts when Epo binds to EpoR resulting dimerization which then activates the JAK-2 signaling pathway. JAK2 activation triggers the activation of other intracellular signaling pathways, such as STAT, Ras/MAPK, and PI3-K. In cancer cells, activation of those signaling pathways could lead to increased cell proliferation and reduced cell apoptosis. The expression of EpoR on cancer cells is still an open debate. Studies using Epo-binding assay could not confirm the existence of EpoR on the cell membrane nor its activation. The association between EpoR expression and cancer progression is thought to occur through the paracrine effect on other cells within the tumor microenvironment, such as endothelial cells and platelets. The effect of Epo on the EpoR in endothelial cells and platelets could induce angiogenesis and micrometastasis, which then could lead to cancer progression. Role of Epo and EpoR in cancer progression has been controversial and further research is needed. Cancer-related anemia guidelines from NCCN and ASCO still recommend the use of Epo in cancer patients with certain restrictions. **M. Darwin Prenggono. Erythropoetin and the Use of Erythropoetin in Cancer Patients with Anemia.**

**Keywords:** Erythropoetin, erythrocyte production, anemia, cancer

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Eritropoetin adalah hormon yang terutama diproduksi oleh ginjal untuk meningkatkan produksi eritrosit. Hipoksia meningkatkan produksi hormon Epo sedangkan hiperoksia menurunkan hormon Epo dan menurunkan

produksi eritrosit.<sup>1</sup> Epo bersirkulasi dalam plasma dan mengikat reseptor spesifik di sel-sel progenitor eritrosit sehingga berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel darah merah.<sup>2</sup> Tujuan produksi eritropoetin adalah untuk menjaga massa sel darah merah yang optimal dalam kondisi fisiologis.

Produksi eritropoetin (Epo) dikendalikan di *level* transkripsional,<sup>3</sup> dan hipoksia merupakan satu-satunya regulator fisiologis untuk ekspresi gen eritropoetin.<sup>4</sup> Eritropoetin diproduksi terutama oleh ginjal,<sup>5</sup> sebagian kecil diproduksi di hati, tetapi semua sel pada dasarnya memiliki kemampuan mentrans-



kripsi gen Epo dalam kondisi hipoksia. Produksi Epo di ginjal bersifat terus-menerus (konstitutif) dan maksimal, sehingga peningkatan produksi eritropoetin membutuhkan transkripsi gen Epo di sel-sel lain.<sup>6</sup> Produksi Epo oleh hepatosit bersifat proporsional terhadap stimulus hipoksik.<sup>7</sup> Pada konsentrasi O<sub>2</sub> sangat rendah (7,5%), hati berkontribusi sebesar 33% dari total Epo di sirkulasi.<sup>8</sup>

Efek biologis eritropoetin diperantarai oleh ikatannya dengan reseptor eritropoetin (EpoR) di permukaan sel. Pertama kali, EpoR ditemukan di permukaan sel-sel eritroid di sumsum tulang dengan jumlah ratusan sampai ribuan per sel.<sup>9</sup> Belakangan ini, ekspresi EpoR (dan juga Epo) ditemukan di berbagai jaringan non-hematopoetik dan tumor ganas.<sup>10,11</sup> Temuan bahwa EpoR diekspresikan oleh sel-sel kanker dan identifikasi fungsi Epo non-hematopoetik telah memicu berbagai penelitian tentang kemungkinan efek modulasi pertumbuhan dan efek terkait hipoksia oleh Epo pada sel-sel kanker. Hal ini terutama dihubungkan dengan disetujuinya penggunaan terapi *erythropoetin stimulating agent* (ESA) untuk mengobati anemia terkait kanker. Suatu studi pada 157 pasien kanker kepala dan leher menunjukkan bahwa pemberian ESA dapat memperburuk prognosis apabila sel-sel kanker mengekspresikan EpoR.<sup>12</sup>

Sejauh ini, peran Epo dan EpoR pada progresivitas sel-sel kanker masih kontroversial dan memerlukan pembuktian lebih lanjut. Namun, pedoman penatalaksanaan anemia yang dikeluarkan oleh *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) versi tahun 2015 menganjurkan pemberian ESA salah satunya pada pasien kanker yang menjalani terapi paliatif dan tidak menganjurkan penggunaan ESA pada pasien yang mendapat kemoterapi mielosupresif untuk tujuan kuratif.<sup>13</sup> Pedoman saat ini juga belum mencantumkan pemeriksaan EpoR sebagai metode seleksi pasien untuk mendapat ESA. Oleh karena itu, cara kerja Epo dan pensinyalan Epo/EpoR pada sel-sel tumor perlu dipelajari dan diteliti lebih lanjut.

Tulisan ini diharapkan dapat memberi wawasan baru tentang peran eritropoetin dan mekanisme pensinyalan eritropoetin melalui reseptor eritropoetin baik di sel-sel hematopoetik maupun sel-sel tumor.

**PEMBAHASAN**

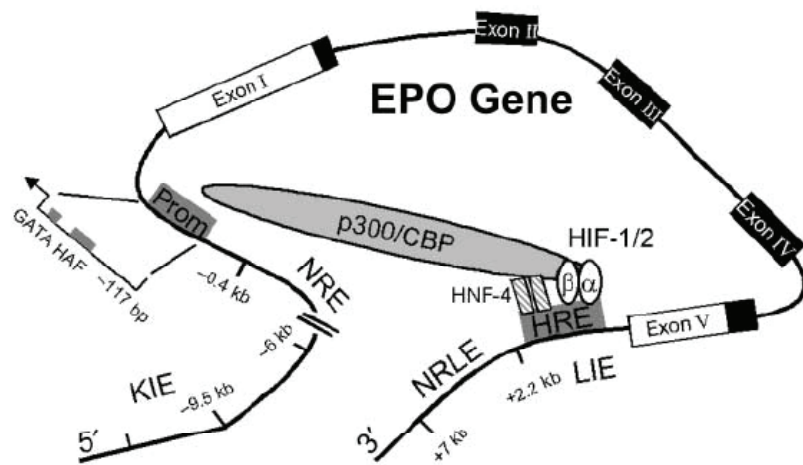
**Struktur eritropoetin**

Eritropoetin adalah suatu hormon glikoprotein berukuran 30,4 kDa yang merupakan regulator utama produksi sel darah merah sebagai respons eritropoetik akibat penurunan oksigenasi jaringan.<sup>14,15</sup> Susunan asam amino Epo berhasil dipurifikasi tahun 1977<sup>16</sup> dan gen Epo kemudian berhasil dikloning tahun 1985.<sup>17</sup> Selanjutnya, identifikasi kompleks faktor transkripsi *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1 dan regulasinya dapat menguak mekanisme dasar penginderaan oksigen seluler yang mengatur ekspresi Epo.<sup>18</sup> Gen Epo terdiri dari regio *promoter* (Prom), lima ekson dan *hypoxia-response element* (HRE) di dalam *enhancer* (Gambar 1).

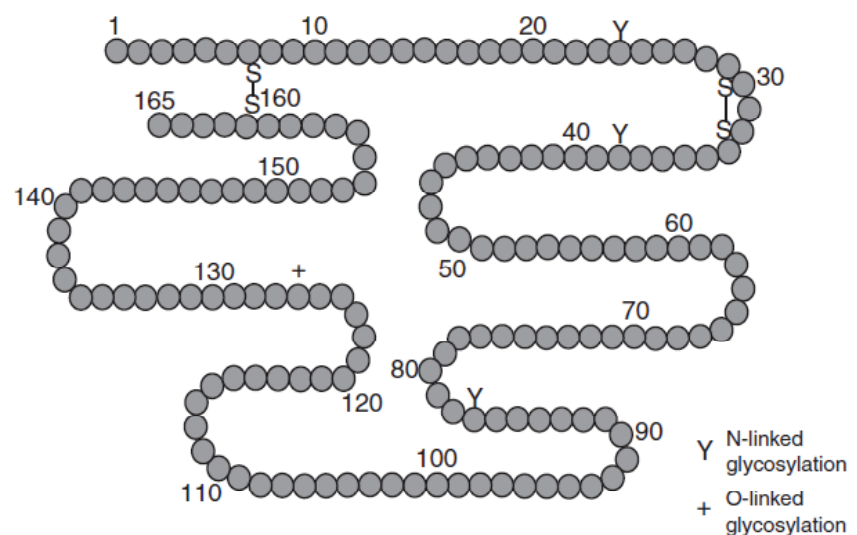
Promoter gen Epo tidak mempunyai elemen TATA atau CAAT untuk aktivasi transkripsi.<sup>19</sup>

Elemen-elemen regulator transkripsi utama adalah hypoxia responsive element (HRE) untuk pengikatan HIF-1/2  $\alpha/\beta$  dan faktor transkripsi lain (misalnya hepatic nuclear factor [HNF]-4). Elemen regulator DNA lainnya adalah kidney inducible element (KIE), negative regulatory element (NRE), liver-inducible element (LIE), dan negative regulatory liver element (NRLE).<sup>20</sup>

Pada manusia, mRNA Epo menyandi suatu protein dengan 193 asam amino.<sup>21</sup> Namun, selama modifikasi pascatranslasional terjadi pemecahan asam-asam amino di 27 N-terminal dan arginin C-terminal sehingga struktur Epo matur hanya mengandung 165 asam amino (Gambar 2). Molekul Epo mengandung dua ikatan disulfida di antara asam amino 7 dan 161 serta asam amino 29 dan 33 untuk menstabilkan strukturnya.



Gambar 1 Regulasi gen eritropoetin (EPO) yang tergantung oksigen<sup>20</sup>



Gambar 2 Struktur eritropoetin<sup>10</sup>



Kehilangan salah satu ikatan berikut akan mengakibatkan hilangnya bioaktivitas Epo. Selain itu, molekul Epo memiliki tiga gugus gula terikat-N di posisi 24, 37, dan 83 serta satu gula terikat-O pada posisi 126.<sup>21</sup> Gula terikat-O tidak memiliki fungsi penting, tetapi gula terikat-N penting untuk stabilitas molekul Epo di sirkulasi.<sup>21</sup>

**Aktivasi Transkripsi Gen Epo**

Pada sel-sel hipoksik, heterodimer HIF-1 $\alpha\beta$  diaktivasi dan mengikat urutan konsensus HIF-1 di *enhancer* gen *Epo*. Di hilir sekuens ini, *hepatic nuclear factor* (HNF)-4 mengikat secara konstitutif pada 2 jajar (*tandem*) *hypoxia responsive element* (HRE) yang terpisah 2 *basepair* dengan HRE untuk HIF-1. HNF-4 juga berikatan dengan subunit HIF-1 $\beta$ . Baik subunit  $\alpha$  maupun  $\beta$  HIF-1 juga berikatan dengan aktivator transkripsional p300, sehingga menyediakan mekanisme interaksi dengan *transcription-initiating complex* (TIC) dan memicu transkripsi mRNA *Epo* (Gambar 3).

**Fungsi Eritropoetin**

Pada keadaan hipoksia berat, Epo dapat meningkat sampai 1000 kali lipat. Hormon ini kemudian bersirkulasi dalam darah mengikat reseptor-reseptor spesifik di sel-sel progenitor eritroid, memacu viabilitas, proliferasi dan diferensiasi prekursor-prekursor eritroid sehingga menghasilkan peningkatan sel darah merah. Peningkatan kapasitas oksigen darah yang bertambah

kemudian meningkatkan tekanan oksigen jaringan dan menjadi mekanisme umpan balik negatif terhadap produksi Epo.<sup>1,14</sup>

Pada orang dewasa, eritropoetin yang diproduksi di ginjal berfungsi sebagai pengatur produksi sel darah merah pada keadaan normoksia. Eritropoetin yang diproduksi di hati terlibat dalam produksi sel darah merah pada janin atau pada orang dewasa dalam keadaan hipoksia. Selain di dua organ tersebut, produksi Epo ternyata juga ditemukan di berbagai jaringan, antara lain di sistem saraf pusat dan organ reproduktif. Eritropoetin yang diproduksi di luar ginjal (dan hati) bekerja secara parakrin dan/atau autokrin, dan tidak tergantung pada sistem Epo endokrin untuk eritropoiesis.<sup>22</sup> Di sistem saraf pusat, produsen Epo adalah astrosit dan EpoR diekspresikan di neuron-neuron.<sup>23</sup> Penelitian memberi kesan bahwa Epo pada berbagai jenis sel berfungsi sebagai *modifier* apoptosis untuk melindungi sel dari potensi cedera baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga dianggap sebagai sitokin protektif jaringan.<sup>24</sup>

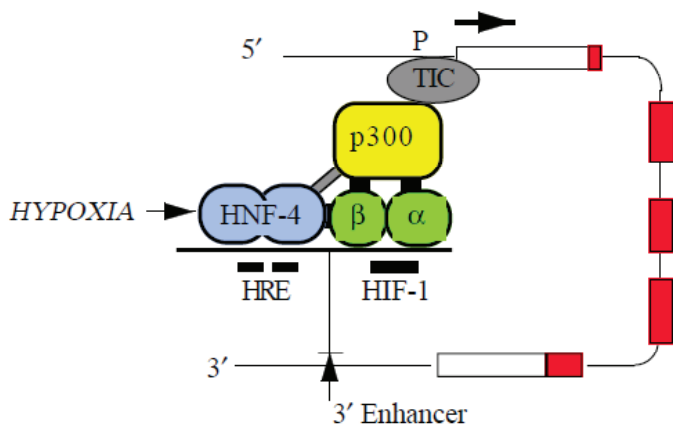
Sel-sel yang mengekspresikan EpoR antara lain sel-sel endotel vaskuler,<sup>25</sup> miosit jantung,<sup>26</sup> neuron,<sup>27,28</sup> dan makrofag.<sup>29</sup> Di luar fungsi eritropoiesis, Epo memperlihatkan aktivitas biologis yang bervariasi seperti proteksi terhadap cedera anoksik di otak<sup>30</sup> dan sistem kardiovaskuler,<sup>26,31</sup> stimulasi angiogenesis fisiologis pada sistem reproduksi

perempuan,<sup>32,12</sup> dan ketika penyembuhan luka.<sup>29</sup>

**Struktur Reseptor Eritropoetin (EpoR)**

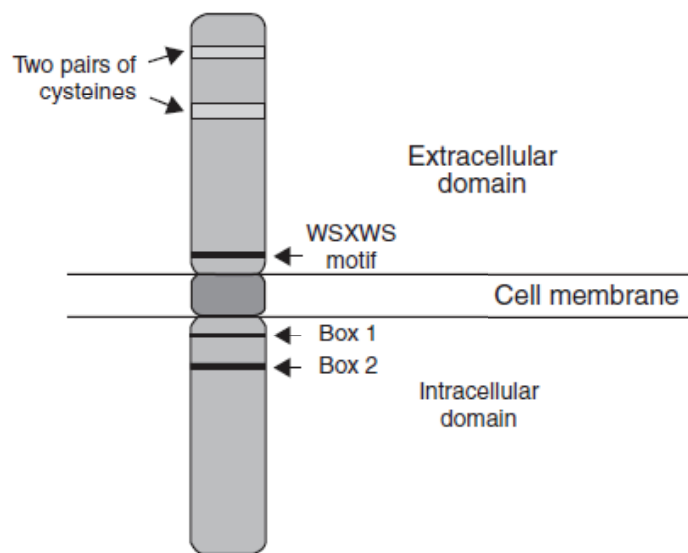
Reseptor Epo termasuk dalam superfamilia reseptor sitokin, yang meliputi faktor pertumbuhan hematopoetik lain seperti hormon pertumbuhan, prolaktin, trombo-poietin, dan sebagainya. Reseptor dalam famili ini memiliki ciri-ciri tertentu, yaitu *domain* pengikat ligan ekstraseluler dengan dua pasang gugus sistein motif WSXWS, satu *domain* transmembran, dan *domain* intraseluler tanpa aktivitas katalitik (Gambar 4).

Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa reseptor eritropoetin terdapat dalam beberapa bentuk. EpoR yang utuh dan fungsional di membran sel (F-EpoR) terdapat dalam bentuk homodimer. Bentuk ini adalah bentuk terbanyak yang ditemukan di sel-sel progenitor eritroid. Selain itu, EpoR pada sel-sel hematopoetik terdapat juga dalam dua isoform alternatif, yaitu isoform terpancung (*truncated*) atau T-EpoR di transmembran dan bentuk tersekresi (*secreted*) atau S-EpoR. Di luar reseptor-reseptor ini, ada bentuk EpoR lain, yang bergabung dengan  $\beta$ CR atau CD131 membentuk heteromultidimer, di sel-sel jaringan non-hematopoetik (Gambar 5). Reseptor ini diduga bertanggung jawab atas efek protektif jaringan terutama di otak dan susunan saraf.  $\beta$ CR adalah komponen



**Gambar 3** Model perakitan faktor-faktor transkripsi di regio 3' *enhancer* gen *Epo* untuk mengaktivasi transkripsi gen *Epo*<sup>2</sup>

**Keterangan:** Kotak merah: ekson gen *Epo*; HRE: *hypoxia-responsive element*; HNF-4: *hepatic nuclear factor-4*; HIF: *hypoxia-inducible factor-1*; P: *promoter*; TIC: *transcription initiating complex*.



**Gambar 4** Skema struktur reseptor eritropoetin<sup>32</sup>



reseptor bersama  $\beta$  pada reseptor-reseptor interleukin-3, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, dan interleukin-5.<sup>33</sup> Kompleks EpoR dan  $\beta$ CR memiliki afinitas terhadap Epo yang lebih rendah.<sup>34</sup>

**Mekanisme Aktivasi Reseptor Eritropoetin**

Reseptor Epo tidak memiliki aktivasi tirosin kinase intrinsik untuk mengaktifkan pensinyalannya. Dimerisasi reseptor terjadi ketika reseptor berikatan dengan Epo dan mengaktifkan diferensiasi eritroid intraseluler.<sup>21</sup> *Domain* sitoplasmik EpoR dapat

dibagi menjadi dua regio yang mana sekitar separuh *domain* sitoplasmik, yang berada dekat membran plasma, dibutuhkan untuk membangkitkan sinyal-sinyal proliferasi dan diferensiasi seperti induksi sintesis globin,<sup>36,37</sup> Sementara separuh lainnya dibutuhkan untuk menghentikan sinyal.

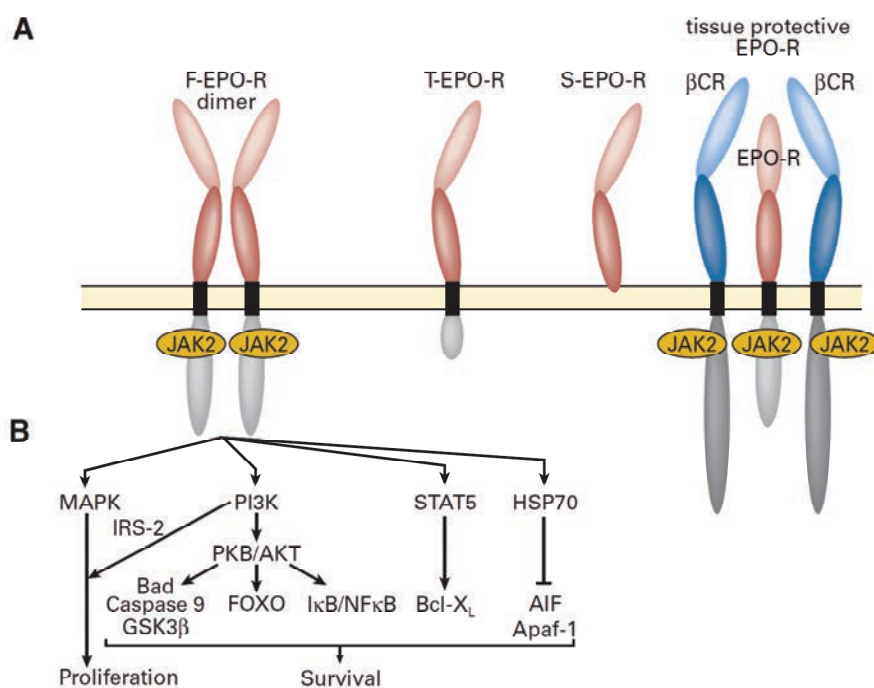
Langkah-langkah dalam aktivasi EpoR oleh Epo tampak pada **Gambar 6**. Langkah pertama aktivasi EpoR adalah dimerisasi, kemudian JAK2 kinase yang sudah ada sebelumnya di regio transmembran EpoR

diaktivasi dengan transfosforilasi. Setelah itu, terjadi fosforilasi gugus tirosin pada *domain* sitoplasmik EpoR sehingga menyediakan tempat berikatan protein-protein pensinyalan intraseluler yang memiliki domain *Src homology 2* (SH2).<sup>38</sup>

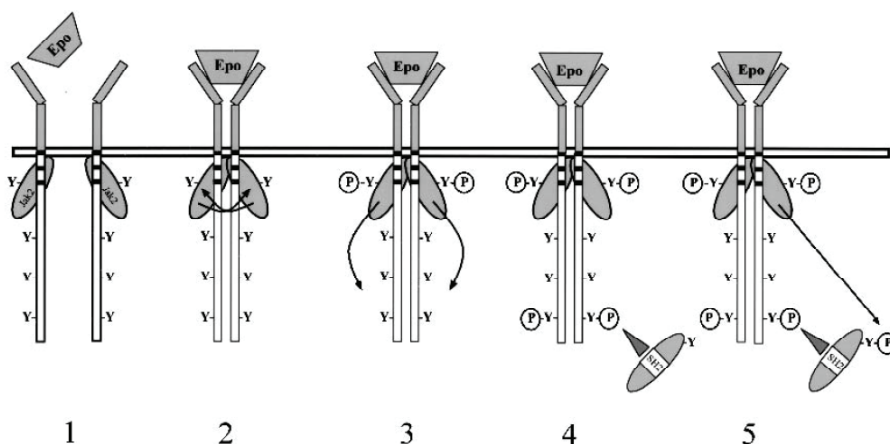
Pensinyalan Epo-EpoR mengaktifkan protein tirosin kinase non-reseptor yang berada di sitoplasma, yaitu JAK2 dan *signal transducer and activator of transcription* (STAT)5, yang diaktivasi dengan fosforilasi dan ditranslokasi ke nukleus, sehingga mengenali sekuens spesifik di regio promotor gen target, dan menginisiasi transkripsi.<sup>39</sup> Jalur pensinyalan sitosolik Epo melalui F-EpoR mengatur ketahanan hidup dan proliferasi sel. Terikatnya sebuah molekul Epo pada dimer F-EpoR di permukaan sel menyebabkan perubahan konformasi yang mengakibatkan transfosforilasi dan aktivasi JAK2, serta fosforilasi gugus residu tirosin di domain sitoplasmik EpoR oleh JAK2.<sup>40</sup> Untuk mengatur ketahanan hidup sel, kompleks EpoR/JAK2 memfosforilasi molekul STAT5 sehingga bertranslokasi ke nukleus dan memicu transkripsi gen antiapoptosis *Bcl-xL* (Gambar 7). Aktivasi EpoR/JAK2 juga mengaktifkan *heat shock protein* (Hsp) 70 yang kemudian mengikat dan meng-inaktifkan faktor-faktor proapoptotik seperti *apoptosis protease activating factor-1* (Apaf-1) dan *apoptosis-inducing factor* (AIF). Aktivasi jalur fosfatidilinositol-3-kinase (PI3K) menyebabkan fosforilasi protein kinase B (PKB atau AKT) yang memfosforilasi dan meng-inaktivasi regulator proapoptotik seperti *Bad*, *caspase 9* dan *GSK3 $\beta$* . PKB/AKT juga memfosforilasi *I $\kappa$ B* dan menyebabkan lepasnya *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) dan translokasinya ke nukleus di mana NF- $\kappa$ B dapat menjadi perantara transkripsi gen-gen antiapoptotik. Terakhir, PKB/AKT juga memfosforilasi faktor transkripsi FOXO, menghambat translokasinya ke inti sel dan ligan Fas dan Bim yang pro-apoptosis. Semua efek tersebut mengakibatkan peningkatan ketahanan hidup sel.

**Eritropoetin Plasma pada Pasien Kanker**

Pasien kanker mengalami gangguan respons eritropoetik terhadap anemia dan sebagian besar mengalami anemia normositik normokrom akibat efek kumulatif penyakit kronik. Selain itu, kehilangan darah, hemolisis, infiltrasi sel kanker ke sumsum tulang dan efek mielosupresif kemoterapi juga dapat



Gambar 5 Pensinyalan eritropoetin (Epo) dan Epo reseptor (EpoR)<sup>35</sup>



Gambar 6 Langkah-langkah aktivasi EpoR oleh Epo<sup>38</sup>

Keterangan: (Y) = gugus tirosin, (P) = fosforilasi



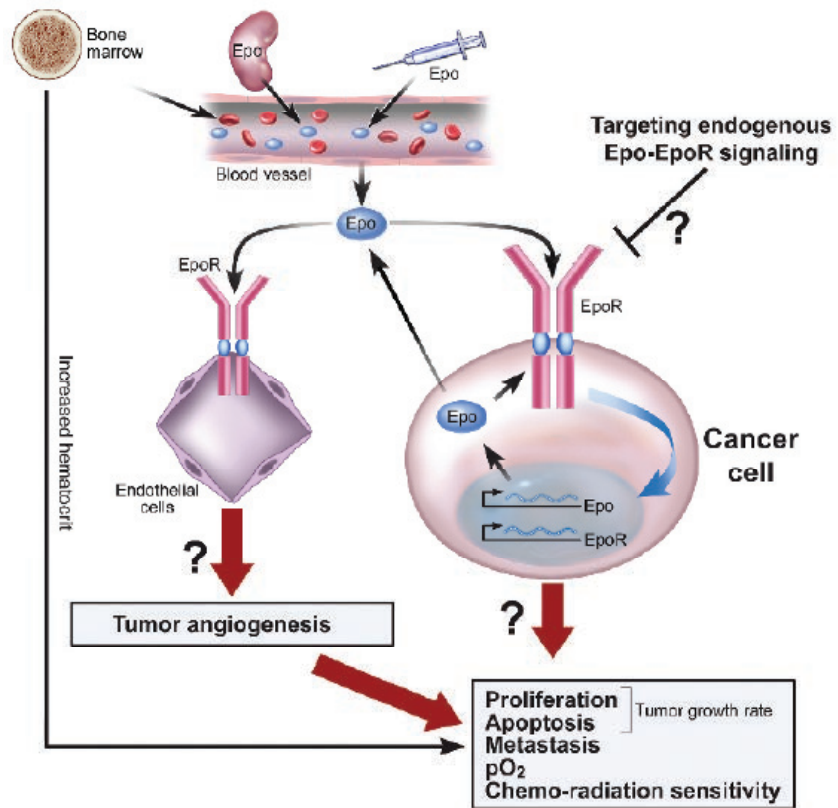
menimbulkan atau memperberat kondisi anemia. Hal tersebut dapat diperparah pada pasien yang mengalami defisiensi nutrisi seperti defisiensi besi, folat, dan B<sub>12</sub> akibat kankernya.

Pasien tumor padat umumnya memiliki kadar Epo yang rendah relatif terhadap konsentrasi hemoglobin, memberi kesan terjadinya gangguan mekanisme umpan balik yang normal untuk meningkatkan produksi Epo dalam kondisi hipoksia.<sup>42</sup> Namun, kadar eritropoetin yang tinggi tampak pada kanker payudara dibandingkan dengan payudara normal atau tumor jinak.<sup>43</sup>

**Eksresi Eritropoetin dan EpoR di Sel-Sel Kanker**

Dahulu diduga bahwa EpoR hanya terdapat pada sel-sel eritroid, tetapi kini telah diketahui bahwa EpoR terdapat di berbagai jenis sel non-eritroid dan juga pada sel-sel tumor. Beberapa studi mutakhir telah memperlihatkan ekspresi EpoR pada kultur sel tumor dan juga kanker primer. Tumor juga mengekspresikan transkrip mRNA sehingga memberi kesan terjadinya stimulasi pertumbuhan autokrin atau parakrin di sel-sel kanker. Ekspresi Epo pada sel-sel kultur tumor juga diinduksi oleh hipoksia.<sup>44</sup>

Ekspresi EpoR yang tinggi tampak pada kanker payudara dibandingkan payudara normal atau tumor jinak. Pulasan EpoR

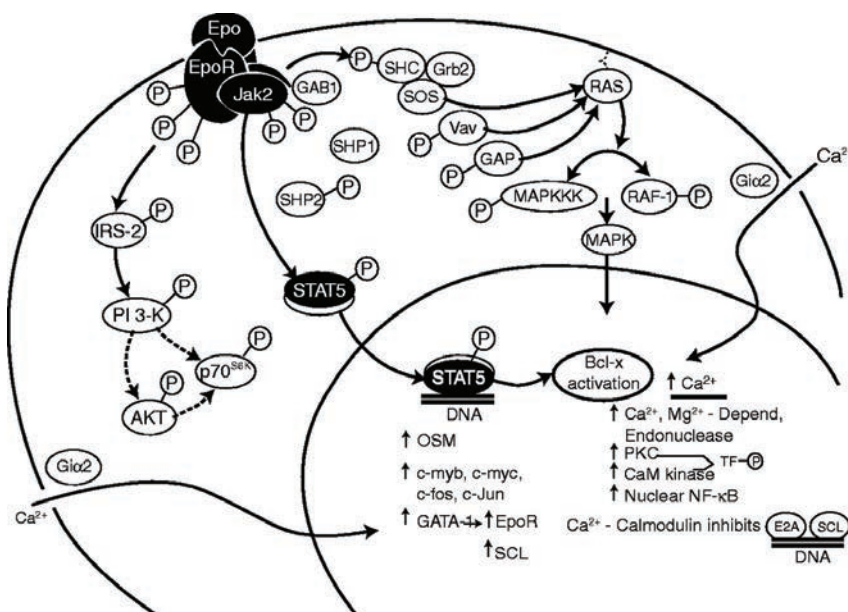


Gambar 8 Efek dan mekanisme pensinyalan Epo-EpoR<sup>45</sup>

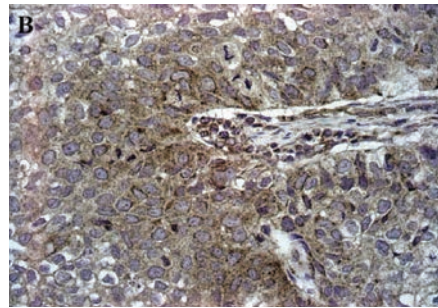
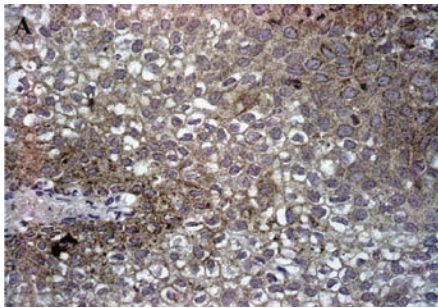
secara bermakna lebih banyak pada tumor dengan derajat histologi tinggi, invasi limfovaskuler positif, metastasis ke kelenjar getah bening, dan reseptor hormon negatif.<sup>43</sup> Selain itu, ekspresi EpoR di endotel pembuluh darah menunjukkan potensi efek

Epo pada lingkungan mikrotumor, seperti stimulasi angiogenesis. Sel-sel kanker dan endotel tumor mengekspresikan EpoR yang mirip dengan EpoR fungsional pada sel-sel eritroid. Aktivasi EpoR dapat distimulasi oleh Epo dari sirkulasi sistemik (dari ginjal atau sumber eksogen). Selain itu, ko-ekspresi Epo dan EpoR di sel-sel tumor serta ekspresi EpoR di sel-sel endotel pembuluh darah dapat membangkitkan jalur aktivasi autokrin dan parakrin (Gambar 8). Pensinyalan Epo-EpoR juga dikaitkan dengan berbagai aspek biologi tumor lainnya, yaitu proliferasi, apoptosis dan sensitivitas terhadap terapi kemoradiasi.

Ekspresi Epo dan EpoR juga ditemukan pada sel-sel kanker kepala dan leher yang berhubungan dengan keadaan hipoksia pada sel tumor. Ko-ekspresi Epo dan EpoR memberi kesan bahwa Epo endogen berperan sebagai faktor pertumbuhan autokrin atau parakrin di sel-sel kanker tersebut.<sup>46</sup> Ekspresi Epo dan EpoR juga ditemukan pada berbagai kanker lainnya, seperti *Non-Small Cell Lung Cancer*,<sup>47</sup> payudara,<sup>43</sup> serviks,<sup>48</sup> endometrium,<sup>49</sup> prostat,<sup>50</sup> dan melanoma.<sup>51</sup> Penelitian pada *xenograft* juga memberi kesan bahwa eritropoetin



Gambar 7 Jalur transduksi sinyal EpoR-JAK2/STAT5/Bcl-x<sup>1</sup>



Gambar 9 Pulasan EpoR di membran (A) dan sitoplasma (B), x400<sup>60</sup>

menstimulasi pertumbuhan dan ketahanan hidup sel-sel tumor.<sup>52</sup> Ekspresi Epo dan EpoR pada tumor merupakan bukti kuat adanya regulasi Epo dalam kondisi hipoksik dan jalur pensinyalan autokrin lokal untuk Epo dan EpoR di sel-sel kanker.<sup>53</sup> Ekspresi Epo dan EpoR tampaknya meningkat selama transformasi sel menjadi ganas. Suatu penelitian pada tumor payudara memperlihatkan bahwa ekspresi Epo dan EpoR negatif pada jaringan non-tumor, positif ringan pada duktus hiperplastik, dan positif kuat pada karsinoma duktal *in situ*, serta kanker payudara yang memberi kesan peran Epo dan EpoR untuk memenuhi kebutuhan oksigen serta nutrisi selama perkembangan tumor.<sup>54</sup> Perjalanan penyakit akan lebih buruk pada pasien kanker kepala dan leher yang C-20 positif dibandingkan pasien C-20 negatif, memberi kesan adanya pengaruh pensinyalan Epo/EpoR pada pasien-pasien tersebut.<sup>55</sup>

Ekspresi EpoR dapat diperiksa dengan *Western blot* dan imunohistokimia. Namun belakangan diketahui bahwa ekspresi EpoR secara imunohistokimia dengan antibodi komersial anti-EpoR (C-20, Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA) ternyata tidak spesifik untuk EpoR karena dapat mengikat berbagai protein lain, terutama *heat-shock protein-70* (Hsp-70).<sup>56-58</sup> Antibodi C-20 komersial ini dimaksudkan untuk mengikat asam amino C-terminal sitoplasmik EpoR, tetapi dapat mengikat Hsp-70, yang juga sering diekspresikan secara berlebihan pada sel-sel tumor.

Kontroversi pemeriksaan EpoR secara imunohistokimia didukung oleh temuan studi lain yang menggunakan antibodi perusahaan lain yang ditujukan pada asam amino N-terminal di domain ekstraseluler EpoR (ab10653; Abcam, Cambridge, UK dan E 4644 Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) untuk pemeriksaan *Western blot*. Keduanya

menghasilkan pita berukuran 65 dan 66 kDa saat diuji dengan *cell line* yang diketahui mengekspresikan EpoR, sedangkan antibodi C-20 menghasilkan pita berukuran 70-71 kDa yang sesuai dengan berat molekul Hsp-70.<sup>59</sup>

Masalah lain yang terungkap adalah bahwa pulasan EpoR (dengan antibodi non-spesifik tersebut) tidak berada di area hipoksik, yang dilihat dengan pulasan imunohistokimia *pimonidazole*. Selain itu, pulasan EpoR tidak hanya dijumpai di membran, tetapi juga di sitoplasma, sehingga interpretasinya dapat membingungkan.<sup>60</sup> Hal ini karena EpoR fungsional harus berada di membran sel.

Visualisasi EpoR secara *Western blot*, imunohistokimia atau dengan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* tidak dapat membuktikan aspek fungsional pensinyalan Epo/EpoR. Efek biologis Epo/EpoR pada tumor perlu dibuktikan dengan studi eksperimental, yaitu dengan *Epo-binding (ligand-binding) assay* pada sel-sel tumor utuh. Sejauh ini, studi *Epo-binding assay*

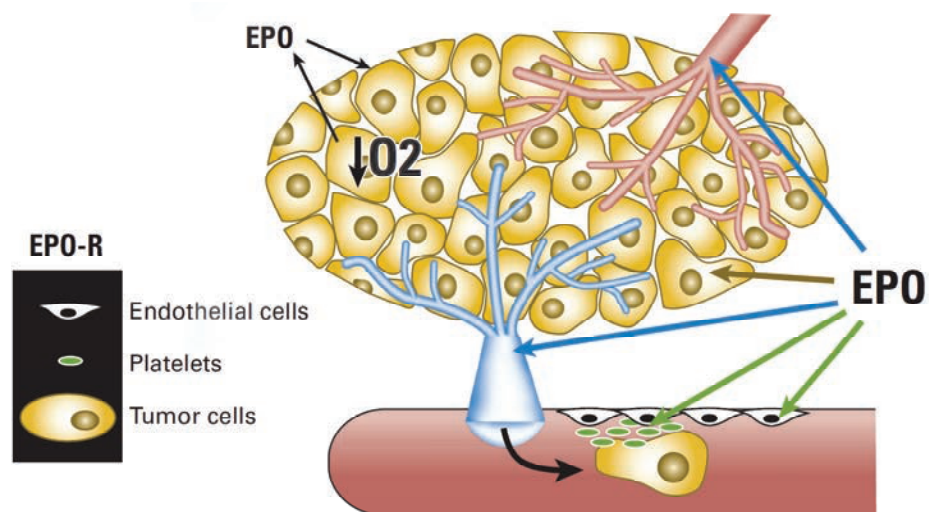
memperlihatkan bahwa afinitas terhadap Epo dan kadar EpoR di permukaan sel ternyata sangat rendah atau tidak ada.<sup>27,61</sup>

Karena bukti-bukti ilmiah saat ini tampaknya tidak mendukung efek biologis Epo/EpoR pada sel-sel tumor, maka dipikirkan mekanisme lain yang mungkin berperan terhadap progresivitas sel tumor setelah pemberian eritropoetin eksogen. Ekspresi EpoR tidak hanya terdapat di sel-sel kanker, tetapi juga di sel-sel endotel dan mungkin trombosit. Mekanisme kerja Epo pada progresivitas tumor mungkin melalui angiogenesis atau neovaskularisasi, selain proliferasi sel tumor secara langsung. Aktivasi sel-sel endotel dan trombosit di pembuluh darah dapat memicu pembentukan mikro-metastasis dan penyebarannya. Selain itu, di bagian tengah tumor, kondisi hipoksik yang terjadi dapat memicu ekspresi EpoR lebih banyak dan sekresi Epo oleh sel-sel tumor sehingga memicu efek Epo secara autokrin (Gambar 10).<sup>35</sup>

**Penggunaan Eritropoetin pada Pasien Kanker dalam Praktik Klinis**

Terlepas dari teori mengenai eritropoetin, *guideline* dari NCCN dan ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) tetap merekomendasikan penggunaan ESA pada pasien kanker.<sup>13,62</sup>

Dalam NCCN versi terkini disebutkan beberapa kategori tertentu sebagai pertimbangan pemberian eritropoetin, antara lain:<sup>13</sup>



Gambar 10 Kemungkinan peran Epo pada progresivitas tumor<sup>35</sup>



- Pasien kanker dan penyakit ginjal kronik
- Pasien yang menjalani terapi paliatif
- Pasien anemia yang mendapat kemo-terapi mielosupresif yang penyebab anemianya tidak teridentifikasi

Disebutkan pula bahwa analisis 8 studi pada pasien kanker menemukan adanya penurunan harapan hidup pada pasien yang mendapat eritropoietin untuk koreksi anemia dan target Hb > 12 g/dL.<sup>13</sup> Sementara itu, studi meta-analisis lain menunjukkan bahwa penggunaan ESA tidak mempengaruhi mortalitas atau progresivitas penyakit secara bermakna.<sup>13</sup>

Dalam *guideline* ASCO terkini (tahun 2010) disebutkan bahwa pada pasien yang menjalani kemoterapi mielosupresif dengan kadar Hb < 10 g/dL, klinisi dapat mempertimbangkan manfaat dan risiko penggunaan ESA dan membandingkannya dengan manfaat dan risiko transfusi.<sup>62</sup> ESA diberikan dengan dosis terendah yang masih memungkinkan, hingga mencapai tingkat Hb terendah untuk menghindari transfusi.<sup>62</sup>

Baik NCCN maupun ASCO memiliki perhatian yang sama pada keadaan trombosis.<sup>13,62</sup> Uji klinik awal ESA melaporkan bahwa target hematokrit yang tinggi (42 ± 3%) meningkatkan kejadian vaskuler (arteri dan vena).<sup>13</sup> Pasien dengan faktor risiko trombosis sebelumnya, berisiko mengalami trombosis pada penggunaan ESA.<sup>13,62</sup> Faktor risiko trombosis antara lain riwayat tromboemboli, mutasi yang diturunkan, hiperkoagulabilitas, peningkatan kadar trombosit sebelum kemoterapi, hipertensi, penggunaan steroid, pemanjangan imobilisasi, baru menjalani pembedahan, terapi tertentu multipel mieloma, dan agen hormonal.<sup>13</sup>

Selain itu, NCCN juga menambahkan perhatian pada keadaan hipertensi, bahwa tekanan darah harus terkontrol pada semua pasien sebelum memulai terapi ESA dan harus dipantau secara berkala.<sup>13</sup>

**Tabel 1** Perbandingan antara NCCN dan ASCO<sup>13,62</sup>

| Parameter                                     | NCCN  | ASCO  |
|---|---|---|
| Umum  | Perhatian khusus pada pasien dengan risiko trombosis, pemeriksaan & pemantauan tekanan darah, laporan kejang dan <i>pure red cell aplasia</i> | Perhatian khusus pada pasien dengan risiko tinggi tromboemboli    |
| Kadar Hb saat memulai ESA                     | Kurang dari 10 g/dL   | Kurang dari 10 g/dL   |
| Target  | Kurang dari 12 g/dL   | Hb terendah untuk menghindari transfusi (bervariasi antar pasien) |
| Penghentian terapi ESA jika tidak ada respons | 8-9 minggu tidak respons  | 6-8 minggu tidak respons  |

Terapi ESA membutuhkan setidaknya 2 minggu untuk dapat meningkatkan jumlah sel darah merah. Kadar Hb sebaiknya dipantau setiap minggu. Dosis diturunkan jika kadar Hb meningkat ≥ 1 g/dL dalam 2 minggu atau jika Hb mencapai kadar yang cukup untuk menghindari transfusi.<sup>13</sup>

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

1. Sel-sel tumor diketahui dapat memproduksi eritropoietin (Epo) yang bekerja secara autokrin atau parakrin.
2. Pengaruh Epo pada sel diperantarai oleh dimerisasi dan aktivasi reseptor eritropoietin (EpoR) di membran sel serta aktivasi jalur-jalur pensinyalan intraseluler, seperti JAK-2/STAT, Ras/MAPK, dan PI3-K.
3. Ekspresi EpoR dan aktivasi jalur pensinyalan Epo-EpoR masih merupakan kontroversi. Progresivitas kanker diduga terjadi akibat efek parakrin ke endotel dan trombosit, serta efek autokrin pada sel kanker yang menyebabkan proliferasi dan antiapoptosis.
4. Pedoman internasional (NCCN dan ASCO) masih merekomendasikan penggunaan ESA untuk pasien kanker dengan pembatasan-pembatasan tertentu.

### Saran

Diperlukan studi lebih lanjut tentang mekanisme pensinyalan eritropoietin (Epo) dan reseptor eritropoietin (EpoR) pada

pasien kanker di Indonesia. Selain itu, juga dibutuhkan penelitian untuk mendapatkan metode pemeriksaan EpoR di sel-sel kanker dan sel-sel lain di sekitarnya.

## DAFTAR SINGKATAN

|        |   |
|--------|---|
| APF    | <i>apoptosis-inducing factor</i>                        |
| APAF-1 | <i>Apoptotic protease activating factor-1</i>           |
| ASCO   | <i>American Society of Clinical Oncology</i>            |
| DNA    | <i>deoxyribonucleic acid</i>                            |
| Epo    | eritropoietin   |
| EpoR   | reseptor eritropoietin                                  |
| ESA    | <i>Erythropoiesis-Stimulating Agent</i>                 |
| FIH    | <i>factor inhibiting HIF-1</i>                          |
| HIF-1  | <i>hypoxia-inducible factor-1</i>                       |
| HNF-4  | <i>hepatic nuclear factor-4</i>                         |
| HRE    | <i>hypoxia-responsive element</i>                       |
| Hsp70  | <i>heat-shock protein-70</i>                            |
| JAK2   | <i>Janus kinase 2</i>                                   |
| KIE    | <i>kidney inducible element</i>                         |
| MAPK   | <i>mitogen-activated protein kinase</i>                 |
| NF-κB  | <i>nuclear factor kappa B</i>                           |
| NCCN   | <i>National Comprehensive Cancer Network</i>            |
| NRE    | <i>negative regulatory element</i>                      |
| PI3K   | <i>phosphatidylinositol 3OH-kinase</i>                  |
| PKB    | <i>protein kinase B</i>                                 |
| PKC    | <i>protein kinase C</i>                                 |
| RAS    | <i>rat sarcoma oncogene</i>                             |
| SRC    | <i>steroid receptor coactivator</i>                     |
| SH2    | <i>Src homology 2</i>                                   |
| STAT   | <i>signal transducer and activator of transcription</i> |
| TIC    | <i>transcription initiation complex</i>                 |
| VEGF   | <i>vascular endothelial growth factor</i>               |

## DAFTAR PUSTAKA

1. Krantz SB. Erythropoietin. *Blood* 1991;77:419-34.
2. Bunn HF, Gu J, Huang LE, Park JW, Zhu H. Erythropoietin: A model system for studying oxygen-dependent gene regulation. *J Exp Biol.* 1998;201:1197-201.
3. Bondurant MC, Koury MJ. Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. *Mol Cell Biol.* 1986;6:2731-3.
4. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Rev Cancer* 2003;3:721-32.
5. Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ. Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by in situ hybridization. *Blood* 1988;71:524-37.
6. Koury ST, Koury MJ, Bondurant MC, Caro J, Graber SE. Quantitation of erythropoietin-producing cells in kidneys of mice by in situ hybridization: Correlation with hematocrit, renal



- erythropoietin mRNA, and serum erythropoietin concentration. *Blood* 1989;74:645-51.
7. Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ, Semenza GL. Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization. *Blood* 1991;77:2497-503.
  8. Eckardt KU, Pugh CW, Meier M, Tan CC, Ratcliffe PJ, Kurtz A. Production of erythropoietin by liver cells in vivo and in vitro. *Ann NY Acad Sci*. 1994;718:50-60.
  9. D'Andrea AD, Zon LI. Erythropoietin receptor: Subunit structure and activation. *J Clin Invest*. 1990;86:681-7.
  10. Farrell F, Lee A. The erythropoietin receptor and its expression in tumor cells and other tissues. *Oncologist* 2004;9:18-30.
  11. Jelkmann W, Wagner K. Beneficial and omnious aspects of the pleiotropic action of erythropoietin. *Ann Hematol*. 2004;86:673-86.
  12. Henke M, Mattern D, Pepe M, Bezay C, Weissenberger C, Werner M, et al. Do erythropoietin receptors on cancer cells explain unexpected clinical findings? *J Clin Oncol*. 2006;24:4708-13.
  13. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology - v.2.2015. Cancer and Treatment-Related Anemia [Internet]. [cited 2014 Oct 13]. Available from: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/PDF/anemia.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/anemia.pdf).
  14. Jelkmann W. Erythropoietin: Structure, control of production, and function. *Physiol Rev*. 1992;72:449-89.
  15. Fandrey J. Oxygen-dependent and tissue-specific regulation of erythropoietin gene expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;286:R977-88.
  16. Miyake T, Kung CK, Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem*. 1977;252:5558-64.
  17. Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82:7580-4.
  18. Semenza GL, Neifelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:5680-4.
  19. Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood* 1999;94:1864-77.
  20. Stockman C, Fandrey J. Hypoxia-induced erythropoietin production: A paradigm for oxygen-regulated gene expression. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33:968-79.
  21. Sasaki R, Masuda S, Nagao M. Erythropoietin: Multiple physiological functions and regulation of biosynthesis. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000;64:1775-93.
  22. Sasaki R. Pleiotropic functions of erythropoietin. *Intem Med*. 2003;42:142-9.
  23. Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production: Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem*. 1994;269:19488-93.
  24. Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ*. 2004;11:537-44.
  25. Anagnostou A, Liu Z, Steiner M, Chin K, Lee ES, Kessimian N, et al. Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:3974-8.
  26. Wright GL, Hanlon P, Amin K, Steenbergen C, Murphy E, Arcasoy MO. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemia-reperfusion injury. *FASEB J*. 2004;18:1031-3.
  27. Masuda S, Nagao M, Takahata K, Konishi Y, Gallyas F Jr, Tabira T, et al. Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics. Comparison with receptor properties of erythroid cells. *J Biol Chem*. 1993;268:11208-16.
  28. Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Bauer C, et al. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:3717-20.
  29. Haroon ZA, Amin K, Jiang X, Arcasoy MO. A novel role for erythropoietin during fibrin-induced wound healing response. *Am J Pathol*. 2003;163:993-1000.
  30. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, et al. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:4635-40.
  31. Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K. Erythropoietin is a novel vascular protectant through activation of Akt1 and mitochondrial modulation of cysteine proteases. *Circulation* 2002;106:2973-9.
  32. Yasuda Y, Masuda S, Chikuma M, Inoue K, Nagao M, Sasaki R. Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis. *J Biol Chem*. 1998;273:25381-7.
  33. Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, Sfacteria A, Ghezzi P, Fratelli M, et al. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:14907-12.
  34. Brines M, Patel NSA, Villa P, Brines C, Mennini T, De Paola M, et al. Nonerythropoietic, tissue-protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:10925-30.
  35. Hadland BK, Longmore GD. Erythroid-stimulating agents in cancer therapy: potential dangers and biologic mechanisms. *J Clin Oncol*. 2009;27:4217-26.
  36. Ohashi H, Maruyama K, Liu YC, Yoshimura A. Ligand-induced activation of chimeric receptors between the erythropoietin receptor and receptor tyrosine kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:158-162.
  37. Maruyama K, Miyata K, Yoshimura A. Proliferation and erythroid differentiation through the cytoplasmic domain of the erythropoietin receptor. *J Biol Chem*. 1994;269:5976-80.
  38. Fisher JW. Erythropoietin: Physiology and pharmacology update. *Exp Bil Med (Maywood)*. 2003;228:1-14.
  39. Sawyer ST, Penta K. Association of JAK2 and STAT5 with erythropoietin receptors. Role of receptor phosphorylation in erythropoietin signal transduction. *J Biol Chem*. 1996;271:32430-7.
  40. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, Topham DJ, Marine JC, Teglund S, et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell* 1998;93:385-95.
  41. Weiss MJ. New insights into erythropoietin and epoetin alfa: Mechanisms of action, target tissues, and clinical applications. *Oncologist* 2003;8:18-29.
  42. Lappin TR, Maxwell AP, Johnston PG. EPO's alter ego: Erythropoietin has multiple actions. *Stem Cells* 2002;20:485-92.
  43. Acs G, Zhang PJ, Rebbeck TR, Acs P, Verma A. Immunohistochemical expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in breast carcinoma. *Cancer* 2002;95:969-81.
  44. Acs G, Acs P, Beckwith SM, Pitts RL, Clements E, Wong K, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in human cancer. *Cancer Res*. 2001;61:3561-5.
  45. Hardee ME, Arcasoy MO, Blackwell KL, Kirkpatrick JP, Dewhirst MW. Erythropoietin biology in cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12:332-9.
  46. Arcasoy MO, Amin K, Chou SC, Haroon ZA, Varia M, Raleigh JA. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in head and neck cancer: Relationship to tumor hypoxia. *Clin Cancer Res*. 2005;11:20-7.
  47. Dagnon K, Pacary E, Commo F, Antoine M, Bernaudin M, Bernaudin JF, et al. Expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in non-small cell lung carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2005;11:993-9.
  48. Acs G, Zhang PJ, McGrath CM, Acs P, McBroom J, Mohyeldin A, et al. Hypoxia-inducible erythropoietin signaling in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix



## TINJAUAN PUSTAKA



- and its potential role in cervical carcinogenesis and tumor progression. *Am J Pathol.* 2003;162:1789-806.
49. Acs G, Xu X, Chu C, Acs P, Verma A. Prognostic significance of erythropoietin expression in human endometrial carcinoma. *Cancer* 2004;100:2376-86.
  50. Arcasoy MO, Amin K, Vollmer RT, Jiang X, Demark-Wahnefried W, Haroon ZA. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in human prostate cancer. *Mod Pathol.* 2005;18:421-30.
  51. Kumar SM, Acs G, Fang D, Herlyn M, Elder DE, Xu X. Functional erythropoietin autocrine loop in melanoma. *Am J Pathol.* 2005;166:823-30.
  52. Yasuda Y, Fujita Y, Matsuo T, Koinuma S, Hara S, Tazaki A, et al. Erythropoietin regulates tumour growth of human malignancies. *Carcinogenesis* 2003;24:1021-9.
  53. Winter SC, Shah KA, Campo L, Turley H, Leek R, Corbridge RJ, et al. Relation of erythropoietin and erythropoietin receptor expression to hypoxia and anemia in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2005;11:7614-20.
  54. Pelekanou V, Kampa M, Kafousi M, Dambaki K, Darivianaki K, Vrekoussis T, et al. Erythropoietin and its receptor in breast cancer: Correlation with steroid receptors and outcome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:2016-23.
  55. Henke M, Pajonk F. In reply: Heat shock protein 70, erythropoietin, and cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:4326.
  56. Elliott S, Busse L, Bass MB, Lu H, Sarosi I, Sinclair AM, et al. Anti-Epo receptor antibodies do not predict Epo receptor expression. *Blood* 2006;107:1892-5.
  57. Jelkmann W, Laugsch M. Problems in identifying functional erythropoietin receptors in cancer tissue (Letter). *J Clin Oncol.* 2007;25:1627-34.
  58. Sizer KC. Heat shock protein 70, erythropoietin, and cancer (Letter). *J Clin Oncol.* 2007;25:4326.
  59. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A, Oliva A, Perrotta S. Erythropoietin receptors on cancer cells: a still open question (Letter). *J Clin Oncol.* 2007;25:1812-3.
  60. Hoogsteen IJ, Peeters WJ, Marres HA, Rijken PF, van den Hoogen FJ, van der Kogel AJ, et al. Erythropoietin receptor is not a surrogate marker for tumor hypoxia and does not correlate with survival in head and neck squamous cell carcinomas. *Radiother Oncol.* 2005;76:213-8.
  61. Sinclair AM, Rogers N, Busse L, Archibeque I, Brown W, Kassner PD, et al. Erythropoietin receptor transcription is neither elevated nor predictive of surface expression in human tumour cells. *Br J Cancer* 2008;98:1059-67.
  62. Rizzo JD, Brouwers M, Hurley P, Seidenfeld J, Arcasoy MO, Spivak JL, et al. American society of hematology/American society of clinical oncology clinical practice guideline update on the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer. *Blood* 2010;116(20):4045-59.



*Up date event Anda*

[www.kalbemed.com/Events.aspx](http://www.kalbemed.com/Events.aspx)