



C. CHIAMULERA
Università degli Studi di Verona

Corso di
“Farmacologia”
EPO

Capitolo 43 Conforti (Sorbona ed.)

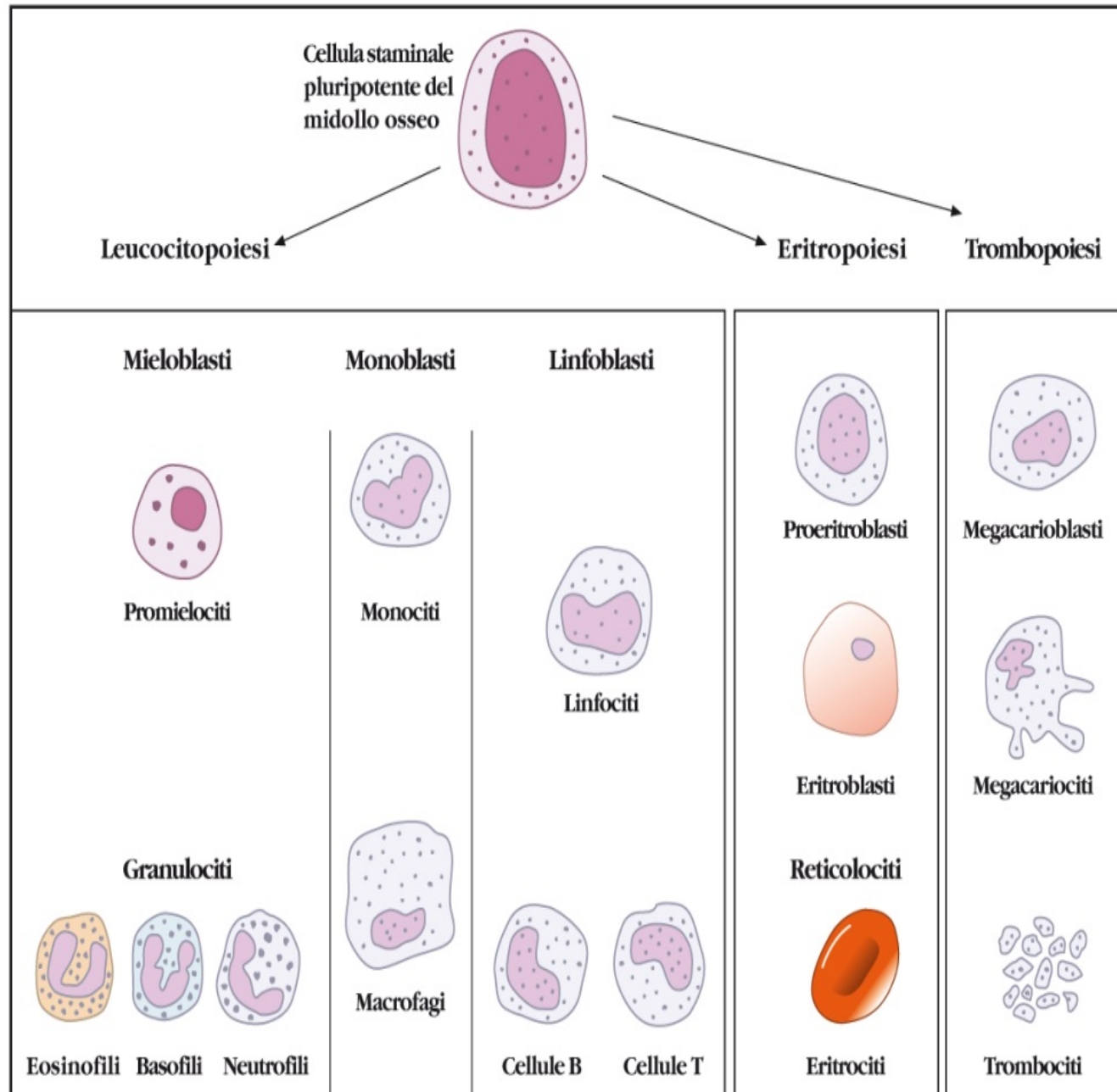


Figura 43.1. Schema dell'ematopoiesi e dei principali fattori di crescita e citochine coinvolte.

Tabella 43.1

CLASSIFICAZIONE DEI FARMACI ATTIVI SULL'EMOPOIESI
1. Fattori che aumentano la produzione di globuli rossi (Eritropoietine)
2. Fattori di crescita mieloidi (Fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi, fattore stimolante le colonie di granulociti)
3. Fattori di crescita trombopoietici (Interleuchina 11, Trombopoietina)
4. Farmaci efficaci nel trattamento delle anemie ipocromiche (Ferro, Rame, Piridossina o vitamina B6, Riboflavina, vitamina B2)
5. Farmaci per il trattamento delle anemie megaloblastiche (Acido folico, Vitamina B12)

Eritropoietina (EPO)

Come è noto i globuli rossi (GR) trasportano l'ossigeno ai tessuti e negli sport di resistenza, ad esempio ciclismo, sci di fondo, ecc., le richieste di ossigeno sono molto elevate

Da tempo, pertanto, sono state indagate strategie per aumentare la produzione dei GR in modo da migliorare la performance sportiva

La più recente strategia è basata sul ruolo dell'eritropoietina nello stimolare il midollo osseo a produrre globuli rossi (GR)

Come doping si usa la EPO ricombinante umana (rHuEPO) e sostanze affini (es. **darbepoietina**)

L'EPO ha una vita relativamente breve nell'organismo mentre il suo effetto stimolante può durare fino a due settimane

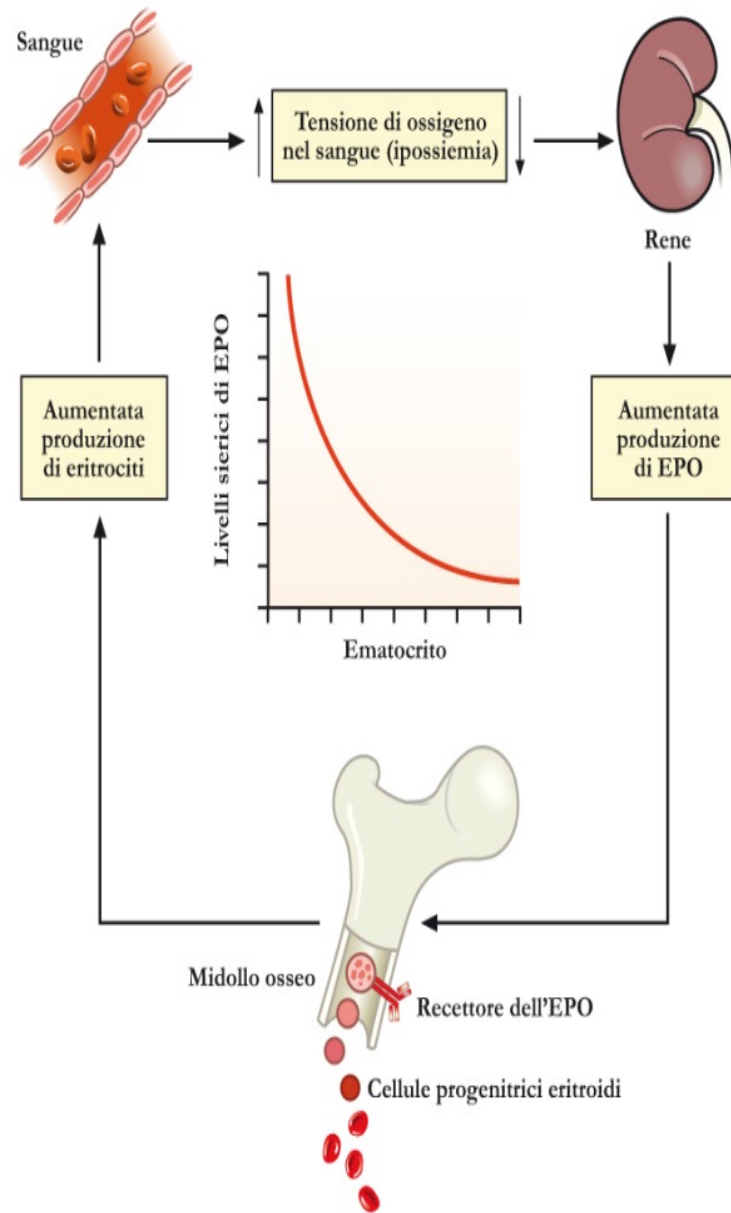
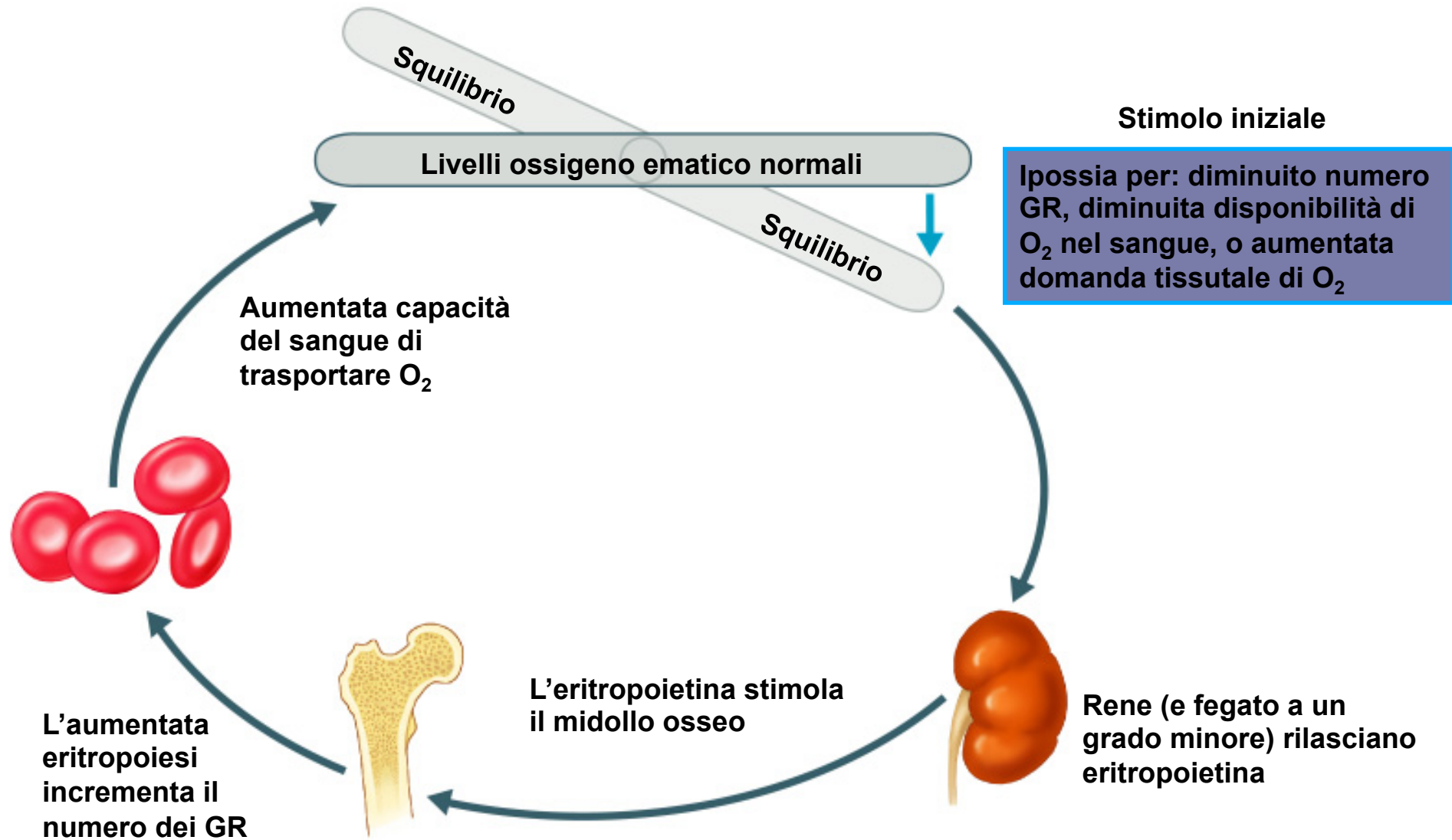


Figura 43.2. Rappresentazione schematica della regolazione della produzione di EPO da parte della tensione di ossigeno nel sangue.

Eritropoiesi



Eritropoietina umana

- L'eritropoietina è una proteina composta da 193 aminoacidi (ma i primi 27 sono scissi durante la secrezione)
- Viene prodotta principalmente dalle cellule interstiziali peritubulari del rene, sotto il controllo di un gene situato sul cromosoma 7
- Dopo la secrezione l'eritropoietina, a livello del tessuto emopoietico (midollo osseo), si lega ad un recettore (EPO-R) localizzato sulla superficie dei progenitori eritroidi e viene internalizzata
- In presenza di anemia o ipossiemia la sintesi di EPO cresce rapidamente di più di 100 volte e conseguentemente aumenta la sopravvivenza, proliferazione e maturazione delle cellule progenitrici midollari anche attraverso l'inibizione dell'apoptosi (morte cellulare programmata)

Eritropoietina umana

- I livelli normali di EPO nel sangue sono circa 2-25 mU/ml, ma possono aumentare di 100-1000 volte come risposta all'ipossia
- Il meccanismo a sensore d'ossigeno porta ad interrompere la produzione di EPO quando il numero dei GR e/o la fornitura di ossigeno ai tessuti ritorna all'equilibrio
- Il meccanismo a feedback assicura una produzione adeguata di GR per prevenire l'anemia e l'ipossia tissutale, ma non troppo elevata da portare a policitemia con eccessiva viscosità del sangue e conseguenti rischi cardiovascolari
- La sovrapproduzione di EPO che porta a policitemia (secondaria da distinguere dalla policitemia vera o primaria: disordine mieloproliferativo dove proliferano cloni, indipendenti dall'EPO, di cellule progenitrici con incremento sia di GR che di granulociti e piastrine) può derivare da patologie cardiache o respiratorie, dall'altitudine, da ostruzioni del flusso sanguigno al sito di produzione dell'EPO, da tumori produttori EPO
- Nella policitemia secondaria i livelli di EPO sono in genere elevati, ma possono anche essere nella norma per aumento del suo turnover

Eritropoietina umana

- E' noto che le differenze genetiche esistenti tra gli atleti possono essere un elemento alla base delle diverse capacità di prestazione
- Tra le possibili differenze genetiche alcune possono riguardare l'eritropoiesi in generale e specificatamente l'eritropoietina
- Un esempio è la storia del fondista finlandese Eero Mäntyranta, doppia medaglia d'oro alle Olimpiadi del 1964 ad Innsbruck
- Era nato con una mutazione genica dell'Epo (espressa a livello recettoriale) che aumentava del 25-50% la sua capacità di trasporto di O₂ con i GR
- Tale condizione para-fisiologica potrebbe essere riprodotta attraverso manipolazione genica

Eritropoietine esogene

Eritropoietina ricombinante umana (epoietina, rHuEPO)

Presenta solo lievi differenze (a livello delle catene di carboidrati) rispetto all'EPO fisiologica, che tuttavia si riflettono sul comportamento chimico e fisico della molecola, ad esempio vi sono differenze nella carica elettrica

Ai fini ergogenici la rHuEPO viene utilizzata con somministrazioni iniettabili ogni 2-3 gg, per 3-4 settimane, associata a preparati di Ferro. Infatti, In condizioni di stimolazione da eritropoietina, diventa necessario fare sintetizzare l'emoglobina negli atleti ad un ritmo molto più elevato che di norma e ciò necessita di un adeguato rifornimento di ferro per mantenere l'efficienza eritropoietica. Emivita e.v. 8,5 ore

Raggiunta la fase di mantenimento l'assunzione può avvenire a dosi più basse, di più difficile individuazione ai controlli antidoping

Darbepoietina

Più stabile dell'EPO, con emivita più prolungata (e.v. 25,3 ore) e maggiore efficacia; è più facilmente identificabile per caratteristiche strutturali diverse dal prodotto umano endogeno e per la minore clearance

EPO di terza generazione: Continuous erythropoietin receptor activator (CERA)

La CERA è una nuovissima molecola, sviluppata per il trattamento dell'anemia, che attiva i recettori dell'EPO innescando l'eritropoiesi. La sua emivita, decisamente superiore rispetto a quella dell'eritropoietina ma anche a quella della darbopoietina (circa 5-6 volte), consente di somministrarla 1-2 volte al mese. E' utilizzata solo in ambito ospedaliero.

Tabella 43.2. Agenti stimolanti l'eritropoiesi (da Moreno López R1, et al. World J Gastroenterol. 15: 4675–4685, 2009).

	Emivita (ore)		Frequenza di somministrazione	Dose iniziale	Livelli target
	Iv	sc			
<i>Eritropoietina</i> β	9	24	1-3 volte alla settimana	100-150 UI/ settimana	Emoglobina: 11-12 gr/100 ml (aumento di 0.5-1 gr/100 ml per settimana); ematocrito: 33- 36%.
<i>Eritropoietina</i> α	7	20	1-3 volte alla settimana	100-150 UI/ settimana	
<i>Darbopoietina</i> β	25	48	Una volta ogni 1-2 settimane	0.45 μg/kg / settimana	
<i>CERA</i>	133	137	Una volta ogni 2-4 settimane	0.6 μg/kg/ settimana	

Usi terapeutici dell'eritropoietina

(epoetina; Eprex[®], Globuren[®], Neorecormon[®];
darbepoetina: Aranesp[®], Nespo[®])

- Anemia in corso di insufficienza renale cronica
- Anemia da zidovudina (anti-HIV)
- Anemia "refrattaria"
- Anemia post-chemioterapia antitumorale
- Carenze patologiche di EPO
- Mieloma
- Sindromi mielodisplasiche

La ricerca sull' eritropoietina in rapido e continuo sviluppo

Prodotti che mimano l'attività dell'EPO

Piccoli peptidi o composti non peptidici che possono legarsi, attivandoli, ai recettori dell'EPO (Science 1996; 273:458. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96:12156)

Recentemente, ad esempio, in esperimenti in vitro, è stato dimostrato che l'emolinfa del baco da seta inibisce l'apoptosi di cellule che producono EPO incrementando la produzione dell'EPO di 5 volte (Biotechnol Bioeng 2005; 91:793)

I problemi dei test per l'EPO

Misure indirette per l'EPO

Misura della densità dei GR (ematocrito espresso in percentuale), dei livelli di emoglobina, conta dei reticolociti

Nel ciclismo misurazioni dell'ematocrito superiori al 50% portano alla sospensione. Valori superiori al 50% vengono ritenuti sospetti dal CIO

La Federazione Internazionale di Sci ha imposto un limite di emoglobina di 18,5 g/dL nell'uomo e di 16,5 g/dL nella donna, se riscontrati prima di una gara l'atleta non può partecipare per preservare la sua salute

Bisogna sottolineare che i valori di ematocrito ed emoglobina possono variare da atleta ad atleta e in risposta allo stesso esercizio. L'ideale è avere il profilo ematologico nel tempo di ciascun atleta

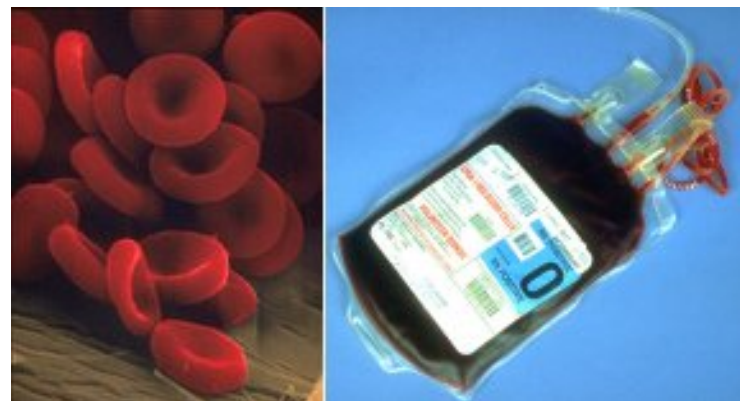
Reazioni avverse da eritropoietina esogena

- Ipertensione arteriosa (Incidenza 1-30%. Il meccanismo non è del tutto chiarito, l'EPO ha un'azione vasocostrittrice inoltre l'esposizione cronica provoca resistenza all'azione vasodilatatrice dell'ossido nitrico. Infine, l'EPO promuove la crescita delle cellule muscolari lisce dei vasi con rimodellamento vascolare e ipertrofia che può contribuire al mantenimento dell'ipertensione [Am J Kidney Dis 1999; 33:821-8])
- Dolore osseo (non grave, transitorio, incidenza elevata = 40%)
- Convulsioni (per rapido incremento viscosità del sangue e perdita vasodilatazione ipossica con conseguente aumento resistenze vascolari)
- Cefalea
- Fenomeni tromboembolici (EP, IMA, ictus), tutti legati all'iperviscosità ematica
- Anemia post-trattamento per diminuita produzione EPO endogena
- Aplasia pura della serie rossa (formazione anticorpi anti-EPO?)
- Disordini mieloproliferativi (studi su animali, trattamenti a lungo termine?)

Danni da eritropoietina come doping

- I dati sulle reazioni avverse dell'eritropoietina elencate in precedenza derivano quasi esclusivamente dai trattamenti terapeutici su pazienti con patologie sottostanti
- Non ci sono studi sul danno dell'eritropoietina usata come doping su atleti sani
- Uno studio su atleti a cui fu data EPO per 6 settimane ha evidenziato un significativo incremento della pressione sistolica in risposta ad esercizio sub-massimale
- Il numero di morti tra ciclisti belgi e olandesi tra il 1987 e il 1990 è stato messo in relazione all'uso di EPO (Gambrell e Lombardo. Drugs and doping: blood doping and recombinant human erythropoietin. In: Mellion, M.B. (ed.): Sports medicine secrets. Philadelphia: Hanley & Belfus, 1994, pp. 130-3)
- Non è sbagliato pensare che le reazioni avverse evidenziate nei pazienti possano verificarsi anche negli atleti sani anche se con un'incidenza inferiore

Doping ematico

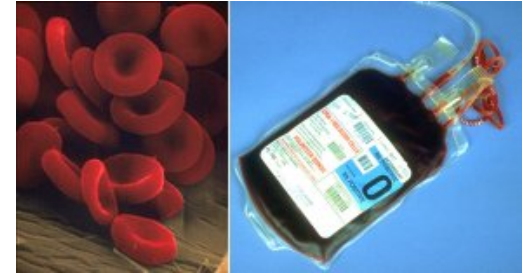


Prima dell'EPO si utilizzava la tecnica delle trasfusioni di sangue per incrementare il numero di globuli rossi

- L'EPO ha rimpiazzato le trasfusioni in quanto determina un maggiore aumento di GR. Negli ultimi tempi, tuttavia, ci sono segnali di un ritorno alle autotrasfusioni in quanto non individuabili nei test

Effetti simili a quelli dell'EPO e del doping ematico si possono ottenere anche con gli allenamenti in altura e con le tende ipo-ossigenate

Doping ematico



Due possibilità:

Doping ematico omologo (sangue proveniente da un'altra persona)

Sangue e sostituti plasmatici utilizzati in medicina

"Donor Doping" (generalmente compagni di squadra)

Doping ematico autologo (autotrasfusione)

Estrazione di es. 900 ml sangue - 5 sett. prima della gara

Infusione del sangue centrifugato (cellule impaccate) 1 o 2 giorni prima della gara

Con le trasfusioni si può incrementare la massa eritrocitaria del 20%

Vantaggi e svantaggi del doping ematico autologo

Vantaggi

“Nessun metodo di detenzione”

Evitare patologie tipo AIDS ed epatiti

Evitare reazioni da sangue non compatibile

Svantaggi

Diminuita performance durante

l'allenamento dopo l'estrazione del sangue

Vantaggi e svantaggi del doping ematico omologo

Vantaggi

Nessuna diminuzione della performance

Svantaggi

Possibilità di essere individuati!!!

(individuazione degli antigeni minori dei GR del donatore)

Contrarre malattie dal donatore

Reazioni da trasfusione