

# Azione dell'apelina e del recettore APJ sulla contrattilità miocardica e sul tono vasomotore

Gianni Losano, Claudia Penna, Sandra Cappello, Pasquale Pagliaro\*

Sezione di Fisiologia, Dipartimento di Neuroscienze, \*Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università degli Studi, Torino

**Key words:**  
Myocardial contraction;  
Nitric oxide.

**Apelin, an endogenous peptide, is the ligand of APJ receptors. Although initially it was identified in the gastrointestinal tract, later its presence was found in several organs and tissues. On the cardiovascular system apelin induces an increase in myocardial contractility and a reduction of vasomotor tone. While the increase in contractility seems to depend on an activation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchangers, vasodilation is attributed to a release of nitric oxide from the vascular endothelial cells.**

**Apelin-induced vasodilation leads to a reduction of mean filling pressure which in turn causes a decrease of afterload and preload. When apelin is given acutely, the decrease in preload favors the reduction of stroke volume and cardiac output in spite of an increased contractility. On the contrary, when the peptide is administered for 2 weeks, cardiac output increases significantly without the occurrence of cardiac hypertrophy. It is not excluded that hypertrophy might occur after a longer administration.**

(Ital Heart J Suppl 2005; 6 (5): 272-278)

© 2005 CEPI Srl

Ricevuto il 17 febbraio 2005; nuova stesura il 7 aprile 2005; accettato l'11 aprile 2005.

Per la corrispondenza:

Prof. Gianni Losano

Sezione di Fisiologia  
Dipartimento  
di Neuroscienze  
Università degli Studi  
Corso Raffaello, 30  
10125 Torino  
E-mail:  
gianni.losano@unito.it

## Generalità

Nel 1993 O'Dowd et al.<sup>1</sup> sono riusciti a clonare un gene che hanno chiamato APJ. La corrispondente proteina recettrice APJ, formata da 277 aminoacidi, presenta una stretta somiglianza con il recettore angiotensinico di tipo 1 (AT1), è accoppiata con le proteine G e possiede sette domini di transmembrana. In comune con il recettore AT1, la proteina APJ possiede il 31% degli aminoacidi. Tuttavia, a differenza del recettore AT1, il recettore APJ non lega l'angiotensina II. Poiché in un primo tempo non è stato trovato alcun ligando, APJ è stato considerato un recettore "orfano". Soltanto nel 1998 dallo stomaco dei bovini è stato isolato un ligando per il recettore APJ al quale è stato dato il nome di apelina<sup>2</sup>. Le preproteine di questo ligando sono risultate formate da 77 residui di aminoacidi con la sequenza dell'apelina situata nella regione C-terminale. Nel cervello del ratto è stato isolato un cDNA che codifica una proteina di 77 aminoacidi che è per l'82% uguale alla preproapelina umana<sup>3</sup>.

Dalla regione C-terminale sono state inizialmente isolate un'apelina<sup>13</sup> e un'apelina<sup>36</sup> distinte l'una dall'altra in rapporto al numero degli aminoacidi che le costituiscono<sup>4</sup>. Successivamente sono state isolate anche un'apelina<sup>12</sup> e un'apelina<sup>16</sup>.

Sia la sequenza che la distribuzione dell'mRNA per l'apelina hanno permesso di evidenziare una notevole somiglianza con l'angiotensina II<sup>3</sup>. Tenendo presente che il legame tra apelina e recettore APJ viene riconosciuto dall'acidificazione del mezzo extracellulare che esso provoca, sia l'apelina<sup>13</sup> che l'apelina<sup>36</sup> sono state poste a contatto con cellule esprimenti il recettore. È risultato che mentre l'acidificazione indotta dalla prima era transitoria, quella espressa dalla seconda era più duratura. Questo dato non è però da mettere in relazione con una maggiore associazione dell'apelina<sup>36</sup> con il recettore, quanto piuttosto con una sua più lenta dissociazione. Infatti, facendo competere le due forme non marcate con apelina<sup>13</sup> marcata con <sup>125</sup>I, l'apelina<sup>13</sup> si è dimostrata più attiva dell'apelina<sup>36</sup>, mentre il pretrattamento delle cellule con apelina<sup>36</sup> è stato in grado di ridurre la durata del legame del recettore APJ con l'isomero marcato più di quanto non avesse fatto l'apelina<sup>13</sup>. È interessante come l'azione della sostanza sulla acidificazione dell'ambiente extracellulare da parte delle cellule possa essere bloccata dall'inibizione della proteina Gi con la tossina della pertosse e dello scambiatore Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> con il metil-isobutil amiramide<sup>4</sup>.

L'espressione dell'mRNA per l'apelina è stata riscontrata in vari organi e tessuti,

quali ad esempio l'apparato gastrointestinale, il fegato, il sistema nervoso centrale, i reni, i polmoni, le ghiandole mammarie, il tessuto adiposo, i muscoli scheletrici e l'apparato cardiovascolare<sup>4,5</sup>. Nel ratto l'apelina, che è risultata espressa più nello stomaco che nell'intestino, è stata vista stimolare *in vitro* la proliferazione delle cellule delle ghiandole gastriche, mentre nel topo ha dimostrato di essere in grado di fare aumentare la secrezione di colecistochinina attraverso un meccanismo che vede coinvolte una *mitogen activated protein kinase* e una proteinchinasi C, senza però l'intervento di segnali intracellulari di  $Ca^{2+}$ <sup>6</sup>. Presente nel nucleo sopraottico dell'ipotalamo è stata vista inibire l'attività elettrica dei neuroni che producono l'ormone antidiuretico in modo da determinare aumento della diuresi<sup>7</sup>. Nella ghiandola mammaria del ratto femmina, l'mRNA per l'apelina aumenta in gravidanza e in prossimità del parto facendo altresì comparire la sostanza nel colostro<sup>8</sup>. Poiché l'apelina è stata trovata anche nel latte vaccino ed è noto che può parzialmente sopprimere la produzione di citochine che si ha in risposta al legame tra CD3 e recettori delle cellule T, si pensa che la sua ingestione sia in grado di modulare la risposta immunitaria nei neonati.

### Azione sul sistema cardiovascolare

Sul cuore l'apelina determina un notevole aumento della contrattilità, mentre sui vasi esercita una potente azione vasodilatatrice con conseguente ipotensione.

**Azione sulla contrattilità cardiaca.** Prima di prendere in esame l'azione dell'apelina sulla contrattilità cardiaca e considerare successivamente l'interazione tra l'azione sul cuore e quella sui vasi, è necessario ricordare la differenza tra semplici variazioni della forza (e dell'energia) di contrazione e variazioni della contrattilità o stato inotropo del cuore.

Aumenti della forza di contrazione sono rivelati dall'aumento della derivata  $dP/dt_{max}$ , ossia della velocità di salita della pressione ventricolare durante la sistole e della pressione sviluppata se il cuore pulsa in modo isovolumico, dell'aumento di  $dP/dt_{max}$  e del lavoro per battito se il cuore produce una eiezione ventricolare.

Aumenti della forza di contrazione del cuore possono avvenire sia in risposta ad aumenti della distensione delle fibre miocardiche a contrattilità costante secondo la legge di Starling, sia in dipendenza di aumenti della contrattilità senza che vi sia distensione delle fibre. Mentre nel primo caso ci troviamo di fronte al meccanismo di regolazione eterometrica, nel secondo abbiamo a che fare con un meccanismo di regolazione omeometrica. Se l'aumento della forza di contrazione è dovuto al meccanismo di regolazione eterometrica, la derivata  $dP/dt$  aumenta per aumento della sola dP, mentre se è dovuto ad un aumento della contrattilità secondo il meccanismo di regolazione

omeometrica, oltre che aumento della dP si ha anche riduzione di dt.

Nella regolazione eterometrica, la distensione delle fibre è dovuta ad un aumento del precarico, ossia del volume telediastolico ventricolare (VTDV) causato da aumentato ritorno venoso o dal precedente accumulo di un maggior residuo sistolico. Se il postcarico iniziale, ossia la pressione diastolica aortica presente all'inizio della frazione di eiezione ventricolare, è invariato e il VTDV è aumentato per un maggiore ritorno venoso, il cuore sviluppa un maggiore lavoro per battito attraverso un aumento della gettata sistolica contro un postcarico iniziale invariato. Se invece il postcarico iniziale è aumentato provocando un incremento del VTDV per accumulo di un maggior residuo sistolico, il lavoro per battito risulta pure aumentato a causa di una gettata sistolica invariata contro un postcarico iniziale aumentato. Nel primo caso la frazione di eiezione, ossia la percentuale di VTDV utilizzata nella gettata sistolica, rimane invariata, nel secondo caso risulta invece ridotta.

Nella regolazione omeometrica, invece, l'aumento della contrattilità in assenza di aumento del precarico è dovuto in genere ad una maggiore attività del simpatico o della concentrazione delle catecolamine circolanti. In questo caso la maggiore forza di contrazione sviluppata determina un aumento della gettata sistolica per un maggiore utilizzo del residuo sistolico che viene pertanto a diminuire. Ne consegue che, nell'aumento della forza di contrazione per migliorata contrattilità, la frazione di eiezione risulta più ampia. Lo studio dell'ansa pressione-volume o *pressure-volume loop* evidenzia chiaramente il valore della frazione di eiezione e del residuo sistolico. Esso è dunque l'unico approccio che realmente possa evidenziare un eventuale effetto inotropo positivo indipendentemente da variazioni del precarico e del postcarico.

Regolazione eterometrica e omeometrica possono intervenire in sequenza nell'insufficienza cardiaca nel tentativo di ripristinare una situazione di compenso.

L'azione dell'apelina sulla contrattilità miocardica è stata studiata sia in preparati di cuore isolato, sia in animali integri. In cuori di ratto isolati e perfusi, pilotati a frequenza costante e fatti contrarre in modo isovolumico, l'apelina<sup>16</sup> ha determinato un aumento dose-dipendente della pressione ventricolare sinistra sviluppata e della velocità massima di salita della pressione stessa o derivata  $dP/dt_{max}$ <sup>9</sup>. Anche gli incrementi della pressione sviluppata, indotti con l'attivazione del meccanismo di Starling da parte di un aumentato precarico, sono stati più evidenti nei cuori di animali trattati con apelina.

In esperimenti eseguiti da Berry et al.<sup>10</sup> su ratti integri, l'infusione di apelina<sup>16</sup> alla dose di 0.01  $\mu\text{g/l}$  e alla velocità di 0.05 ml/min ha fatto aumentare la massima pressione ventricolare sinistra raggiunta in sistole e la derivata  $dP/dt_{max}$  con raddoppio della gettata sistolica<sup>9</sup>. Poiché la gettata sistolica è aumentata senza che vi fosse un aumento del VTDV, gli autori hanno giustamente ritenuto che l'effetto dipendesse da un migliorato ino-

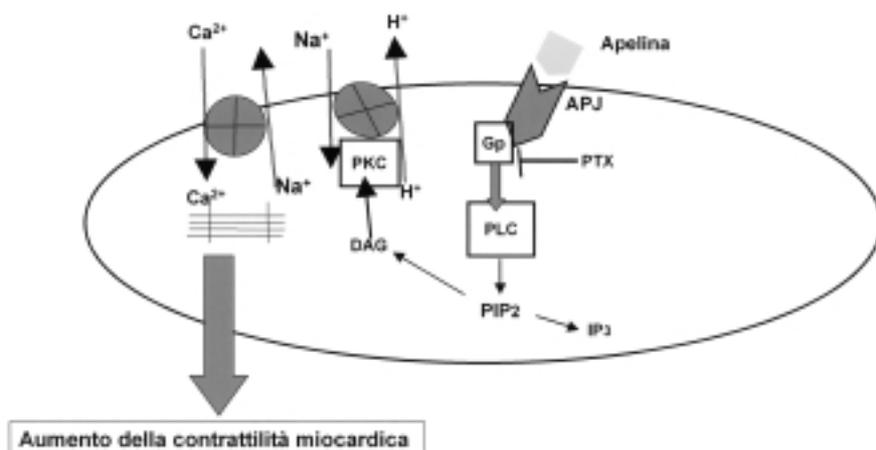
tropismo miocardico con utilizzazione di una parte del residuo sistolico, senza che fosse coinvolto il meccanismo di Starling. Lo stesso lavoro riporta anche i risultati di esperimenti analoghi su ratti ai quali 6 settimane prima era stata eseguita la legatura del ramo discendente della coronaria sinistra. In questi animali, sia la pressione sistolica che la derivata  $dP/dt_{max}$  risultavano diminuiti a causa della ipocontrattilità successiva all'infarto che la legatura aveva provocato. Anche in questi animali l'infusione di apelina<sup>16</sup> ha migliorato i parametri emodinamici facendo raddoppiare la gettata sistolica. Va detto tuttavia che l'aumento significativo della gettata sistolica non si è accompagnato ad un aumento corrispondente della gettata cardiaca. Gli autori hanno attribuito questa discrepanza ad una contemporanea riduzione della frequenza cardiaca. Il mancato aumento del VTDV in presenza di una riduzione della frequenza può sembrare un'evenienza singolare. Questa evenienza può essere attribuita al fatto che l'azione vasodilatatrice dell'apelina può avere comportato una riduzione del ritorno venoso<sup>11,12</sup>. A favore di un miglioramento della contrattilità gli autori adducono il fatto che in entrambi i gruppi di ratti è stato osservato un aumento della velocità di riduzione della pressione ventricolare ( $dP/dt_{min}$ ). Va segnalato infine come, a commento dei risultati ottenuti, Berry et al.<sup>10</sup>, pur non riportando dati sperimentali in proposito, facciano notare come l'azione sul cuore dell'apelina<sup>16</sup> a breve sequenza aminoacidica, pur meno duratura, sia stata più intensa di quella che avrebbe esplicato l'apelina<sup>36</sup> a lunga sequenza aminoacidica.

La riduzione della frequenza cardiaca nei ratti infartuati trattati con apelina<sup>16</sup> è da mettere in relazione ad un possibile aumento della pressione pulsatoria con incremento della stimolazione barorecettoriale. In animali con insufficienza ventricolare è, infatti, possibile che l'aumento della gettata sistolica da aumentata contrattilità e da ridotta impedenza aortica abbia favorito un

aumento della pressione pulsatoria in presenza di una pressione media invariata.

Per quel che riguarda le modalità con le quali l'apelina esercita la sua azione inotropica sul cuore, sulla base della notevole attenuazione dell'effetto ottenuto con il blocco specifico e separato della fosfolipasi C e della proteinchinasi C, si ritiene che i due enzimi siano entrambi coinvolti<sup>9</sup> (Fig. 1). La fosfolipasi C, infatti, dopo essere stata attivata dall'apelina, può agire sul fosfoinositol-difosfato determinando la formazione di diacilglicerolo. Questo attiverebbe una delle isoforme della proteinchinasi C, la quale a sua volta attiverebbe lo scambiatore  $Na^+/H^+$ , una proteina che rende possibile la fuoriuscita di  $H^+$  dalle cellule e il contemporaneo ingresso di  $Na^+$ . L'aumento del  $Na^+$  intracellulare, che in tal modo si verrebbe a determinare, attiverebbe lo scambiatore  $Na^+/Ca^{2+}$  con fuoriuscita di  $Na^+$  e ingresso di  $Ca^{2+}$ . Nel complesso si tratta di un meccanismo simile a quello che spiega l'azione inotropica dell'angiotensina II e delle endoteline quando agiscono sui recettori ETA<sup>13</sup>.

**Azione sul tono vasomotore.** Malgrado la somiglianza dell'apelina con l'angiotensina II, e del recettore APJ con il recettore per l'angiotensina, vari dati sperimentali attribuiscono all'apelina un'azione vasodilatatrice e di controregolazione nei confronti dell'angiotensina II<sup>3,14-16</sup>. La somministrazione per via endovenosa della sostanza nel ratto è stata, infatti, vista indurre un immediato abbassamento della pressione sistolica e diastolica persistente per parecchi minuti<sup>3</sup>. Ishida et al.<sup>14</sup> hanno osservato un effetto ipotensivo, sia nel topo normale che nel topo spontaneamente iperteso. Hanno pure osservato come in topi privi del recettore APJ la somministrazione di angiotensina II evochi una risposta ipertensiva assai maggiore di quella evocata in topi normali. Gli stessi autori hanno pure visto come, in ratti omozigoti per il recettore APJ e per quello all'angio-



**Figura 1.** Azione dell'apelina sulla contrattilità miocardica. L'apelina, legandosi al recettore APJ agisce sulla proteina G (Gp), sensibile alla tossina della pertosse (PTX), la quale attiva la fosfolipasi C (PLC). Questa agendo sul fosfatidil-inositol-difosfato (PIP2), determina la produzione di inositolo trifosfato (IP3) e di diacil-glicerolo (DAG), il quale attraverso la proteinchinasi C (PKC), attiva gli scambiatori  $Na^+/H^+$ - $Na^+/Ca^{2+}$ , determinando aumento del  $Ca^{2+}$  intracellulare e quindi della contrattilità.

tensina, la pressione basale fosse significativamente più elevata di quella presente in ratti privi dei recettori all'angiotensina.

Cheng et al.<sup>15</sup> hanno osservato come in ratti normali la sostanza riduca la pressione arteriosa senza influenzare la pressione media di riempimento del sistema cardiovascolare, mentre in ratti con blocco dei gangli simpatici e con pressione riportata alla norma per mezzo della noradrenalina, l'apelina, oltre a produrre una maggiore caduta della pressione, faccia pure diminuire la pressione media di riempimento. Sulla base dei dati ottenuti in presenza di blocco simpatico, gli autori concludono che l'apelina è in grado di ridurre anche la pressione venosa. Nel loro lavoro questi autori riportano pure un aumento significativo della frequenza cardiaca da 400 a 410 b/min negli animali senza blocco dei gangli simpatici. Il peptide farebbe invece variare in modo non significativo la frequenza da 406 a 409 b/min negli animali con blocco. Data la scarsa percentuale di aumento sembrerebbe ovvio ritenere che le variazioni di frequenza osservate nei ratti non trattati non abbiano alcun rilevante significato biologico. Va tuttavia tenuto presente che una diminuzione della pressione arteriosa non può non essere accompagnata da una ridotta stimolazione dei barorecettori e quindi da un aumento della frequenza.

In contrasto con le osservazioni in favore di un'azione vasodilatante della sostanza, stanno invece i risultati di Kagiyama et al.<sup>17</sup>, i quali osservarono invece un aumento dose-dipendente della pressione e della frequenza sia quando, in ratti svegli, iniettarono l'apelina<sup>13</sup> a 5 e 20 nmol nei ventricoli cerebrali, sia quando la iniettarono per via endovenosa a 20 e 50 nmol. Nel caso della somministrazione endovenosa l'effetto ottenuto era minore che nel caso della somministrazione intraventricolare, cosa che ha fatto pensare che il sistema nervoso fosse coinvolto nella risposta. A favore di questa ipotesi potrebbe essere il fatto che l'iniezione intraventricolare, ma non quella endovenosa, abbia prodotto un aumento del c-fos nel nucleo paraventricolare dell'ipotalamo. In realtà il significato di questo aumento non è di facile interpretazione se si pensa che, sempre nell'ipotalamo, l'apelina inibisce l'attività elettrica del nucleo sopraottico<sup>7</sup>. Per quel che riguarda l'aumento della pressione, in seguito ad iniezione endovenosa, non si deve dimenticare che l'effetto finale è sempre la risultante dell'azione dell'apelina sulla contrattilità e sul tono vasomotore.

L'azione vasodilatatrice dell'apelina è stata attribuita alla liberazione di monossido di azoto (NO). Gli studi di Tatemoto et al.<sup>18</sup> hanno infatti dimostrato come nel ratto anestetizzato l'ipotensione prodotta dall'apelina<sup>12</sup> e caratterizzata dall'aumento della concentrazione plasmatica dei nitriti e dei nitrati, non abbia luogo se l'animale viene pretrattato con un inibitore delle NO-sintetasi. È interessante come gli stessi autori abbiano visto la presenza dell'apelina nelle cellule degli endoteli vascolari, ossia in quelle cellule ricche di NO-sintetasi

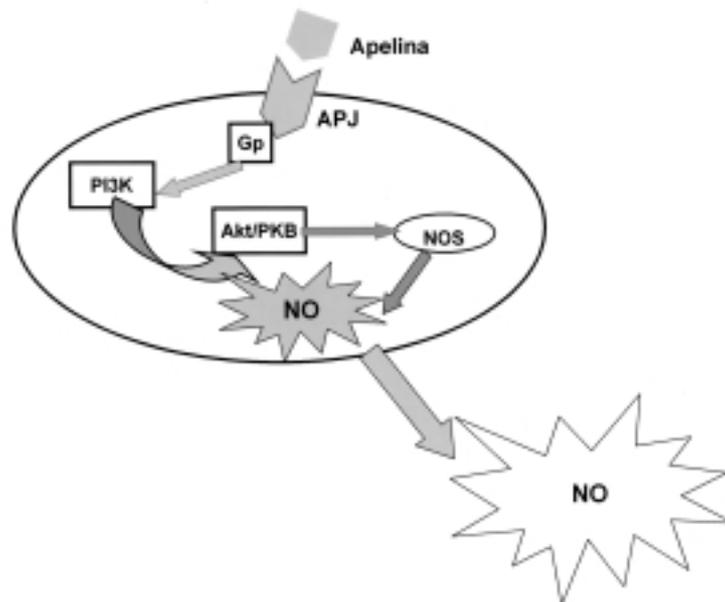
3. Nel topo la soppressione dell'ipotensione da apelina è stata ottenuta da Ishida et al.<sup>14</sup> sempre con l'inibizione della NO-sintetasi. La competizione che gli stessi autori hanno visto tra la vasodilatazione indotta dai recettori APJ e la vasocostrizione da angiotensina II, sarebbe quindi mediata da una maggiore o minore produzione di NO. Questi autori hanno anche evidenziato come, nelle cellule endoteliali del circolo polmonare del topo privo di recettori APJ, l'apelina non riesca ad attivare la NO-sintetasi. È verosimile che l'attivazione della NO-sintetasi da parte dell'apelina sia mediata da una proteina G di membrana attraverso l'attivazione della fosfo-inositolo-3-chinasi e quindi della Akt/proteinchinasi B (Fig. 2).

Per quel che riguarda gli effetti ipertensivi indotti dall'iniezione di apelina nei ventricoli cerebrali si può pensare che la sostanza, di cui è stata anche dimostrata un'azione sul nucleo paraventricolare, possa esercitare un'azione più estesa sull'ipotalamo, in modo da coinvolgerne la porzione posteriore in una risposta emodinamica per certi versi simile a quella che caratterizza la reazione di allarme e di difesa.

**Interazione tra l'azione sulla contrattilità cardiaca e sul tono vasomotore.** L'analisi separata degli effetti dell'apelina sul cuore e sui vasi non permette un'esauriente valutazione dell'attività complessiva della sostanza sul sistema cardiovascolare. Al momento esiste un solo lavoro che abbia preso in considerazione l'interazione tra azione miocardica e vascolare dell'apelina. In una recente ricerca Ashley et al.<sup>12</sup> hanno studiato nel topo integro anestetizzato le modalità con le quali il cuore risponde alle variazioni di precarico e di postcarico indotte dal peptide, che nello stesso tempo migliora la contrattilità. In questo studio sono stati presi in considerazione sia gli effetti della somministrazione acuta che cronica della sostanza.

Nel caso della somministrazione acuta, utilizzando la risonanza magnetica, gli autori hanno messo in evidenza come l'iniezione intraperitoneale di apelina<sup>13</sup> alla dose di 300 µg/kg di peso corporeo provochi un aumento significativo della frequenza cardiaca, una diminuzione significativa dell'area telediastolica con aumento non significativo della frazione di eiezione. La riduzione dell'area telediastolica, ossia del precarico, è un chiaro indice di un ridotto ritorno venoso da vasodilatazione, mentre l'aumento della frequenza può essere la conseguenza di una minore stimolazione barorecettoriale dovuta ad una caduta della pressione arteriosa che nel protocollo sperimentale impiegato non era stata peraltro misurata. Alla base invece dell'aumento, pur non significativo, della frazione di eiezione vi può essere sia l'aumento della contrattilità che la riduzione del postcarico.

Quando invece l'apelina<sup>13</sup> è stata somministrata con un'infusione di 20 min alla concentrazione 100 nM e alla velocità di 5 µl/min gli autori hanno utilizzato la *pressure-volume loop*. In tal modo hanno osservato co-

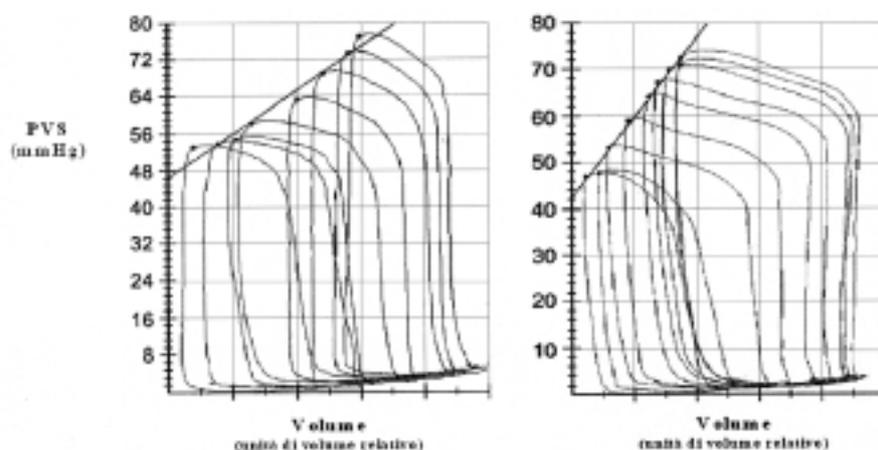


**Figura 2.** Produzione endoteliale di monossido di azoto (NO) per azione dell'apelina. Agendo sul recettore APJ e quindi sulla proteina G (Gp), l'apelina attiva la NO-sintetasi (NOS) attraverso la fosfo-inositol-3-chinasi (PI3K) e la Akt/proteinchinasi B (Akt/PKB).

me la sostanza produca una riduzione significativa della pressione telediastolica e della pressione massima sviluppata con riduzioni non significative della gettata sistolica e della gettata cardiaca attribuibili al minore precarico. Due famiglie di *loops* sono state ottenute, una nel controllo e una dopo apelina, regolando il precarico con vari gradi di costrizione della vena cava inferiore. Congiungendo i vari punti di pressione telesistolica (Fig. 3)<sup>12</sup> la linea indicante la relazione con il volume ventricolare è risultata più ripida per la famiglia di *loops* ottenuta dopo apelina, a dimostrazione di un aumento della contrattilità, presente malgrado l'azione concomitante di un ridotto precarico avesse impedito l'aumento della derivata  $dP/dt_{max}$ . In questi esperimenti-

ti la frequenza cardiaca, anziché un aumento, ha presentato una leggera riduzione non significativa. Nel complesso non si può escludere che il sempre modesto effetto evocato dalla sostanza sia dovuto alla competizione tra una minore stimolazione dei barorecettori e un'azione di rallentamento della frequenza di scarica del nodo seno-atriale di natura forse ipotalamica.

Nel caso della somministrazione cronica protratta per 2 settimane, anziché l'apelina<sup>12</sup> è stata utilizzata l'apelina<sup>13</sup>, che, pur avendo la stessa potenza della precedente, è più resistente al degrado da parte delle aminopeptidasi. In questi esperimenti l'infusione della sostanza mediante pompa sottocutanea alla dose di 2 mg/kg al giorno per 2 settimane, ha espletato un'azione inotropica positiva che



**Figura 3.** Famiglie di anse pressione-volume ottenute nel topo integro prima (a sinistra) e dopo (a destra) il trattamento con apelina. Si noti come le anse ottenute dopo il trattamento rivelino un aumento della gettata sistolica evidenziata da una maggiore differenza tra il volume telediastolico e quello telesistolico. Congiungendo per ciascuna famiglia di anse i vari punti di pressione telesistolica, la linea ottenuta, che indica la relazione con il volume ventricolare, è risultata più ripida per la famiglia di anse ottenuta dopo apelina, a dimostrazione di un aumento della contrattilità. PVS = pressione ventricolare sinistra. Da Ashley et al.<sup>12</sup>, modificata.

è stata evidenziata con lo studio della velocità di accorciamento circonferenziale, mentre non sono state osservate variazioni della frequenza cardiaca e solo una modesta riduzione non significativa della pressione arteriosa. La gettata cardiaca è risultata significativamente aumentata. All'autopsia infine non sono stati osservati segni di ipertrofia cardiaca. Evidentemente, in seguito a somministrazione per infusione protratta, l'effetto sulla contrattilità non è stato contrastato dalla riduzione del precarico ad opera di una vasodilatazione che sia stata in grado di causare una riduzione della pressione di riempimento del sistema circolatorio. Non si esclude che la mancanza di una riduzione significativa della pressione arteriosa sia dovuta alla dose impiegata che, nell'unità di tempo, è stata assai inferiore a quella utilizzata nelle somministrazioni acute.

## Conclusioni

Dalle ricerche che sono state condotte fino ad oggi, l'apelina risulta avere un'azione oltre che sul miocardio e sui vasi anche a livello del sistema nervoso centrale e del rene. Per quanto riguarda l'azione sul miocardio questa è di tipo inotropo positivo ed è stata attribuita all'attivazione dello scambiatore  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , che a sua volta attiva lo scambiatore  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  con il risultato di fare aumentare la concentrazione intracellulare di  $\text{Ca}^{2+}$ . L'azione vasodilatatrice sembra invece dipendere dal rilascio di NO, probabilmente ad opera delle cellule endoteliali<sup>15,19</sup>.

L'effetto inotropo positivo sembra dunque avvalersi di un meccanismo simile a quello utilizzato dall'angiotensina II e dall'endotelina, sostanze, tuttavia, che sui vasi esercitano un'azione costrittrice sempre attraverso gli stessi scambiatori responsabili dell'aumento della contrattilità. Va detto che l'endotelina può anche indurre una transitoria vasodilatazione, in quanto uno dei due tipi di recettori ai quali si lega (ETB) agisce inducendo la liberazione di NO. Poiché al momento è noto un solo tipo di recettore per l'apelina, è abbastanza singolare che la sostanza agisca in modo opposto sul miocardio e sui vasi, soprattutto se si tiene conto della somiglianza tra i recettori APJ e quelli per l'angiotensina II. Aumento della contrattilità o vasodilatazione caratterizza la stimolazione dei recettori  $\beta$  miocardici o coronarici da parte della noradrenalina, dove però il tipo di struttura (pompa del  $\text{Ca}^{2+}$  o canali per il  $\text{Ca}^{2+}$ ) attivata dalla proteinkinasi A sembra rendere ragione della disparità negli effetti. È verosimile che una più approfondita conoscenza della collocazione dei recettori e delle cascate di segnali intracellulari possa chiarire il perché dei risultati ottenuti con la somministrazione di apelina. Va infine tenuto presente che per una conoscenza esauriente del significato biologico della sostanza, è necessario chiarire quali siano i meccanismi che ne inducono la liberazione da parte dei vari organi e tessuti.

È stato suggerito che l'apelina possa avere un effetto terapeutico nell'insufficienza cardiaca. Anche se si

tratta di un'opinione che può avere qualche fondamento, vi sono almeno due ragioni che consigliano, almeno per il momento, una certa cautela: la prima è costituita dal fatto che la somministrazione acuta può determinare una riduzione della gettata cardiaca ogni volta che, come nell'insufficienza compensata, non si renda necessaria una riduzione del precarico; la seconda è che il meccanismo d'azione è troppo simile a quello dell'angiotensina II e dell'endotelina, le quali, seppure esplicano a breve termine un effetto adattativo, a lungo termine finiscono per avere un effetto maladattativo, cosicché anche i risultati ottenuti con la somministrazione cronica richiedono ancora molte accurate indagini. Infine, l'assenza di ipertrofia dopo 2 settimane di somministrazione cronica nel topo non esclude che la comparsa si manifesti dopo un periodo più lungo di trattamento.

In favore di un uso preventivo sta l'osservazione che l'attivazione dello scambiatore  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  avviene attraverso una cascata di segnali che vede partecipare la proteinkinasi C, la quale è noto essere coinvolta nella protezione miocardica da preconditionamento ischemico. Va detto tuttavia che un'eventuale azione protettiva può essere utilizzata nella pratica medica soltanto dopo che è stata messa a confronto con quella evocata da altri farmaci suggeriti dalla ricerca e dopo che sono stati esclusi effetti non voluti.

## Riassunto

L'apelina è un peptide endogeno che si può legare al recettore APJ. Riconosciuta inizialmente come presente nell'apparato gastroenterico, è in seguito risultata essere prodotta da vari organi e tessuti, tra i quali il sistema nervoso e l'apparato cardiovascolare. A carico di quest'ultimo apparato l'apelina esercita un'azione inotropica positiva sul cuore e un'azione dilatatrice sui vasi. Mentre l'azione inotropica positiva sembra dipendere da un'attivazione degli scambiatori  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  e  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , l'azione vasodilatatrice viene attribuita ad un rilascio di NO possibilmente da parte degli endoteli vascolari.

La vasodilatazione da apelina causa una riduzione della pressione di riempimento del sistema cardiovascolare e, conseguentemente, sia del postcarico che del precarico. Nei modelli sperimentali sottoposti a somministrazione acuta del peptide, la riduzione del precarico determina una tendenza alla diminuzione della gettata sistolica e della gettata cardiaca pur in presenza di un'aumentata contrattilità, mentre in quelli sottoposti a somministrazione cronica protratta per 2 settimane la gettata cardiaca è risultata significativamente aumentata. Nel caso della somministrazione cronica inoltre non è stata osservata ipertrofia. Non è esclusa tuttavia la possibilità che l'ipertrofia possa comparire dopo una somministrazione di maggiore durata.

*Parole chiave:* Contrazione miocardica; Ossido nitrico.

## Bibliografia

1. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136: 355-60.
2. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 471-6.
3. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of apelin, the ligand for APJ receptor. *J Neurochem* 2000; 74: 34-41.
4. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem* 2000; 275: 21061-7.
5. Kleinz MJ, Davenport AP. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regul Pept* 2004; 118: 119-25.
6. Wang G, Anini Y, Wei W, et al. Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 2004; 145: 1342-8.
7. De Mota N, Reaux-Le Goazigo A, El Messari S, et al. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10464-9.
8. Habata Y, Fujii R, Hosoya M, et al. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1452: 25-35.
9. Szokodi I, Tavi P, Földes G, et al. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002; 91: 434-40.
10. Berry M, Pirolli T, Jayasankar V, et al. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation* 2004; 11 (Suppl 1): II187-II193.
11. Losano GA. On the cardiovascular activity of apelin. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 8-9.
12. Ashley EA, Powers J, Chen M, et al. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 73-82.
13. Zolk O, Munzel F, Eschenhagen T. Effects of chronic endothelin-1 stimulation on cardiac myocyte contractile function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1248-H1257.
14. Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, et al. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem* 2004; 279: 26274-9.
15. Cheng X, Cheng XS, Pang CC. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 470: 171-5.
16. Pagliaro P, Penna C. Rethinking the renin-angiotensin system and its role in cardiovascular regulation. *Cardiovasc Drugs Ther*, in press.
17. Kagiya S, Fukuhara M, Matsumura K, Lin Y, Fujii K, Iida M. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul Pept* 2005; 125: 55-9.
18. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept* 2001; 99: 87-92.