

# Il ruolo dell'aldosterone nello sviluppo della fibrosi postinfartuale

Antonio Cittadini, Raffaella Serpico, Maria Gaia Monti, Luigi Sacca

Dipartimento di Medicina Clinica, Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Università degli Studi "Federico II", Napoli

## Key words:

Aldosterone; Fibrosis;  
Heart failure;  
Myocardial infarction.

Aldosterone was discovered in 1953, and until the beginning of the 1960s, when spironolactone was developed, it was the focus of considerable interest among the scientific community. The following 30 years represented a sort of Dark Age, interrupted by the Weber's classic studies. He first demonstrated the pivotal role of aldosterone in the promotion of cardiac hypertrophy and fibrosis and such an observation represented a solid background for the implementation of large survival trials, the RALES and the EPHEsus. These landmark studies showed that aldosterone receptor blockade prolongs survival in advanced and postinfarction heart failure, respectively. After a myocardial infarction, there is a significant upregulation of the local steroidogenic system in the area remote from the scar, that leads to a remarkable fibroblast activation, collagen deposition, and reactive fibrosis. Fibrosis in turn further impairs systolic and diastolic function, and induces electrical heterogeneity with attendant ominous arrhythmias. The following review will dwell upon the importance of fibrosis in postinfarction heart failure, the role of aldosterone, and the novel therapeutic approach based on mineralocorticoid receptor blockade.

(Ital Heart J 2005; 6 (Suppl 1): 43S-50S)

© 2005 CEPI Srl

## Per la corrispondenza:

Dr. Antonio Cittadini

Dipartimento di Medicina  
Clinica, Scienze  
Cardiovascolari  
ed Immunologiche  
Università degli Studi  
"Federico II"  
Via S. Pansini, 5  
80131 Napoli  
E-mail:  
antonio.cittadini@unina.it

## Introduzione

Uno dei maggiori progressi della ricerca cardiovascolare negli ultimi anni è stato rappresentato dalla scoperta di un sistema ormonale nel tessuto miocardico, ovvero la presenza in una cellula o in un gruppo di cellule di tutti gli elementi biochimici necessari per la sintesi di un ormone e dei suoi recettori. Tali sistemi locali suggeriscono, a loro volta, la possibilità di azioni autocrine e/o paracrine di un vasto repertorio di ormoni classicamente noti per la loro azione endocrina. Il cuore non è pertanto più considerato una semplice pompa muscolare, ma un vero e proprio organo endocrino, nello stesso tempo produttore e bersaglio di numerosi sistemi ormonali. Tra questi sistemi, quello steroidogenico è stato di recente caratterizzato a livello miocardico, incluso alcuni enzimi chiave nella sintesi di corticosterone ed aldosterone<sup>1</sup>. Inoltre è stato dimostrato che tale attività paracrina/autocrina si modifica significativamente in patologie cardiovascolari, in particolare nell'infarto del miocardio<sup>2</sup>. Lo scopo della presente rassegna è quello di rivedere le attuali conoscenze sulla fibrosi miocardica postinfartuale, la sua modulazione da parte dell'aldosterone, e sulla possibilità che il blocco recettoriale dell'aldosterone possa

migliorare la progressione del rimodellamento postinfartuale.

## Fibrosi miocardica

Il miocardio è composto da miocardiociti inglobati in una matrice extracellulare di fibre collagene<sup>3-5</sup>. Nonostante occupino la maggior parte dello spazio tissutale, i miocardiociti costituiscono solamente un terzo delle cellule miocardiche. Sono infatti i non miocardiociti a rappresentare i due terzi della popolazione cellulare, includendo cellule muscolari lisce endoteliali e vascolari, e fibroblasti localizzati negli spazi interstiziali e perivascolari. In situazioni di perturbata omeostasi, si determina un rimodellamento miocardico con eterogeneità tissutale per la sproporzionata crescita dei non miocardiociti rispetto ai miocardiociti e conseguente fibrosi<sup>3,4,6</sup>. La fibrosi consiste in un aumento della concentrazione delle fibre collagene che si verifica in risposta a numerosi stimoli come lo scompenso cardiaco, il diabete, l'ipossia, l'ipertensione arteriosa e l'infarto del miocardio<sup>6</sup>.

In generale, tali stimoli determinano sia ipertrofia miocardica (ovvero aumento del volume dei cardiomiociti) che fibrosi, anche se l'ipertrofia del miocardio può non

essere accompagnata da fibrosi. Negli atleti, ad esempio, la crescita dei miocardiociti e dei non miocardiociti risulta proporzionata, con conservazione dell'omogeneità tissutale. Tale ipertrofia adattativa contribuisce ad un miglioramento della performance cardiaca<sup>3,6</sup>.

Più frequentemente però, verosimilmente in seguito all'attivazione di "maladaptive pathways" molecolari, lo stimolo ipertrofico determina alterazioni della matrice extracellulare, in particolare cambiamenti nel volume, nella composizione e nella sua organizzazione. Numerosi studi hanno dimostrato che il deficit della funzionalità cardiaca si manifesta in seguito ad alterazioni nel "cross-linking" delle fibre collagene, caratterizzato da uno scivolamento delle fibre tra loro. Topi transgenici con alterazioni del "cross-linking" del collagene infatti non sono capaci di generare un'adeguata forza di contrazione cardiaca<sup>7</sup>. Fino a poco tempo fa si riteneva che le alterazioni del cuore scompensato consistessero in un semplice processo additivo di deposizione di collagene, e che la funzionalità miocardica si deteriorasse nel tempo per un'umentata sintesi di proteine costitutive della matrice extracellulare. In realtà, la regolazione della matrice extracellulare è un fenomeno dinamico altamente regolato coinvolgente sostanze stimolatrici ed inibitrici<sup>8</sup>.

Numerosi fattori contribuiscono a stimolare la produzione di collagene da parte dei fibroblasti superando l'azione dei naturali inibitori. Tali sostanze aumentano la loro azione dopo un danno ed inizialmente contribuiscono a mantenere l'omeostasi. I loro effetti includono l'aggregazione delle piastrine, la coagulazione, la vasoconstrizione, l'aumento della frequenza cardiaca e della contrattilità e la ritenzione del sodio urinario. Ricordiamo tra gli altri agenti umorali come l'angiotensina II, l'aldosterone, l'endotelina, il *transforming growth factor* (TGF), le catecolamine, o fattori emodinamici come il sovraccarico pressorio. Sostanze inibitrici hanno effetti biologici opposti ed includono le bradichinine, le prostaglandine, l'ossido nitrico ed i peptidi natriuretici. Anche l'azione delle metalloproteasi (MMP) contribuisce a influenzare il metabolismo del collagene. La perdita della regolazione reciproca che normalmente esiste tra fattori stimolanti ed inibenti induce un rimodellamento del tessuto connettivo<sup>3,8</sup>. Un eccesso di stimola-

tori, sia per un loro aumento in assoluto, che per una ridotta attività degli inibitori, comporta fibrosi e quindi ipertrofia patologica. Tutto questo si accompagna ad un'attivazione a lungo termine di effettori ormonali, come il sistema renina-angiotensina-aldosterone (SRAA), per una riduzione della perfusione renale dovuta ad un difetto di pompa cardiaca<sup>9,10</sup>. Quindi l'omogeneità tissutale cardiaca è mantenuta solo quando la crescita miocitaria si verifica in risposta ad un sovraccarico di volume o di pressione senza l'attivazione sostenuta del SRAA.

La fibrosi miocardica è attualmente considerata da molti studiosi il miglior marker di rimodellamento miocardico per la sua nota associazione a disfunzione prima diastolica poi sistolica, ed all'eterogeneità elettrica predisponente a pericolose aritmie e morte improvvisa<sup>6</sup>. Ricordiamo che il collagene di tipo I è una proteina molto rigida, con la stessa forza tensile dell'acciaio, e che studi sperimentali hanno dimostrato come un aumento della concentrazione di collagene del ventricolo sinistro di circa 2-3 volte si associa ad alterazioni prevalentemente diastoliche, laddove quando tale incremento supera le 3-4 volte vi è anche compromissione della funzione sistolica<sup>11,12</sup>.

La fibrosi che si forma in risposta all'infarto del miocardio presenta diverse peculiarità. In particolare essa coinvolge sia le aree infartuate che quelle lontane dall'infarto, rispettivamente denominate fibrosi riparativa e fibrosi reattiva<sup>6</sup> (Fig. 1). La prima si verifica in risposta alla perdita di tessuto miocardico (per necrosi, apoptosi, ischemia o senescenza) ed è prevalentemente interstiziale. La fibrosi reattiva si osserva anche in assenza della perdita cellulare, e consiste in una reazione all'infiammazione, è primariamente perivascolare, e si estende successivamente anche agli spazi interstiziali. Nel postinfarto la fibrosi reattiva e riparativa coesistono<sup>13</sup>. La fibrosi riparativa è organizzata come una cicatrice ed è circondata da fibrosi reattiva ed ipertrofia miocitaria compensatoria<sup>11,12</sup>. Il danno iniziale è associato a cellule dell'infiammazione, soprattutto macrofagi che producono TGF- $\beta$ 1, proteina in grado di trasformare i fibroblasti interstiziali in miofibroblasti, già rilevabili 4 giorni dopo il danno iniziale<sup>6</sup>. I miofibroblasti sono identificabili perché esprimono  $\alpha$ -actina e

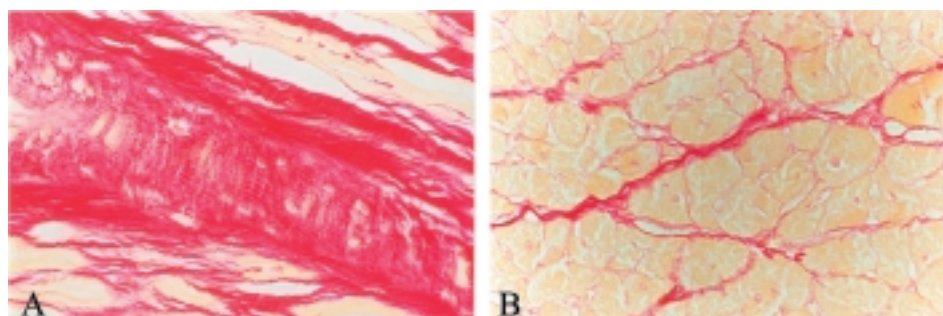


Figura 1. A: risposta locale alla perdita di tessuto miocardico (fibrosi riparativa); B: risposta fibrotica diffusa (fibrosi reattiva).

contengono l'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), un'alta densità di recettori per l'angiotensina II, varie forme di MMP, ed inibitori delle MMP. Sia il TGF- $\beta$ 1 che l'angiotensina II sono responsabili dell'accumulo di collagene. Le modificazioni iniziali includono una maggiore degradazione del collagene al centro dell'area ischemica, con il risultato di una diminuita concentrazione e disorganizzazione del network fibrillare. Questo processo è transitorio ed è dovuto soprattutto alle MMP1. Simultaneamente aumenta l'attività degli inibitori delle MMP e la deposizione di nuovo collagene di tipo I e III<sup>8-10</sup>. La cicatrice definitiva si forma varie settimane dopo l'infarto ed è composta per il 40% da collagene di tipo I, per il 35% dal tipo III, e per il 25% dal collagene di tipo V<sup>13</sup>. Anche le aree non infartuate sono coinvolte da questo processo fibrogenetico, per lo stress meccanico a cui sono sottoposte le pareti intorno alla cicatrice o per la diffusione dei segnali profibrogenetici<sup>13</sup>.

In tale intricato scenario, l'angiotensina II gioca un ruolo fondamentale agendo sia da fattore di crescita sia da potente vasocostrittore, ed i cui recettori si trovano sia sui miocardiociti che sui fibroblasti<sup>14</sup>. La sua azione coinvolge numerosi meccanismi, come la morte cellulare per la sua azione vasocostrittiva in risposta all'ischemia, un effetto trofico diretto sui miociti ed un effetto proliferativo sui fibroblasti dovuto all'attivazione del TGF- $\beta$ 1. La somministrazione cronica di angiotensina II ai ratti per 2 o 3 settimane comporta ipertensione arteriosa, ipertrofia del ventricolo sinistro e perdita miocitaria con conseguente fibrosi sia nel ventricolo destro che sinistro, nei due atri ed intorno all'aorta e all'arteria polmonare<sup>15</sup>. Inoltre, la somministrazione di dosi non ipertensivanti di angiotensina II comporta comunque fibrosi, non associata a necrosi miocitaria ma ad iperpermeabilità vascolare coronarica. Esperimenti su fibroblasti isolati hanno dimostrato la stimolazione diretta sulla fibrosi dell'angiotensina<sup>15</sup>.

### Ruolo dell'aldosterone

L'aldosterone è un ormone mineralcorticoideo isolato nel sangue e nelle urine già 50 anni fa. Le sue azioni includono l'assorbimento di sodio con eliminazione di potassio e magnesio a livello dell'epitelio di rene, intestino e ghiandole salivari<sup>16</sup>. La sua produzione è la tappa finale nell'attivazione del sistema renina-angiotensina, anche se è regolata da fattori diversi dal SRAA, ed è capace di indurre fibrosi in assenza dell'attivazione di questo sistema. Recettori per i glucocorticoidi e per i mineralcorticoidi sono stati riscontrati nel cuore sia dell'uomo che dei roditori, come anche gli enzimi deputati alla sintesi di questi ormoni, l'11 $\beta$ -idrossisteroidodeidrogenasi, e l'aldosterone-sintetasi, aventi la funzione di regolare le fasi finali di queste vie biosintetiche<sup>1</sup>. Il rapporto tra l'11 $\beta$ -idrossisteroidodeidrogenasi e l'aldosterone-sintetasi risulta a favore del primo, sia

nelle ghiandole surrenali, sia nel cuore; il contrario avviene invece nel cervello e nei vasi sanguigni. Questi enzimi risultano espressi già nei ratti dell'età di 2 mesi, servono per la produzione di aldosterone, corticosterone e deossicorticosterone. Essi sono influenzati dagli stessi stimoli delle ghiandole surrenali (sodio, potassio, angiotensina II ed ormone adrenocorticotropo), ma le concentrazioni plasmatiche e cardiache risultano regolate in maniera indipendente. La somministrazione cronica di aldosterone a ratti normali comporta ipertensione arteriosa e conseguente ipertrofia ventricolare sinistra<sup>17</sup>. È interessante notare come la necrosi cardiomiocitaria e la fibrosi coinvolgono entrambi gli atri ed i ventricoli, suggerendo l'attivazione di un processo che non è strettamente correlato al sovraccarico pressorio<sup>16</sup>.

Come accennato precedentemente, i recettori mineralcorticoidi sono presenti nei cardiomiociti, nelle cellule endoteliali e nei fibroblasti del cuore umano<sup>1,18</sup>. L'aldosterone si lega ed attiva questi recettori, con conseguente crescita e proliferazione dei fibroblasti ed aumento nella produzione di collagene. Tale effetto è indipendente dalle azioni dell'angiotensina II e della pressione sistolica ventricolare<sup>18,19</sup>. L'aldosterone promuove l'entrata del sodio nei fibroblasti attivando le pompe del sodio già esistenti e aumentando l'espressione e l'attività della Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase nel cuore<sup>20</sup>. La regolazione trascrizionale aldosterone-dipendente della Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase promuove la crescita di fibroblasti e la sintesi di collagene. L'aldosterone aumenta l'espressione genica del collagene fibrillare<sup>21</sup>. Ciò determina aumentata sintesi dell'mRNA codificante per la sintesi di collagene di tipo I e III e della relativa proteina<sup>21,22</sup>. Il collagene è sintetizzato nei fibroblasti come procollagene, che contiene estensioni polipeptidiche nelle porzioni terminali amino- e carbossi-. Tali peptidi sono rimossi dal procollagene da alcune proteinasi ed il collagene è poi integrato nelle fibrille in crescita. Alcuni di questi peptidi sono rilasciati nel sangue ed i loro livelli circolanti sono considerati marcatori di sintesi di collagene<sup>23</sup>. In particolare, alti livelli di questi peptidi sono correlati con la grandezza dell'infarto, con la disfunzione ventricolare sinistra e con la presenza di occlusione coronarica ed in generale anche a prognosi infau-  
sta<sup>24</sup>.

La produzione cardiaca di aldosterone così come i livelli plasmatici di aldosterone sono aumentati sia nello scompenso cardiaco che dopo infarto miocardico acuto, e si correlano alla severità della malattia<sup>16,20,25</sup>. Inoltre, malgrado la completa inibizione vascolare dell'ACE, i livelli circolanti di aldosterone rimangono elevati nello scompenso cardiaco cronico, fenomeno che suggerisce vie di produzione dell'aldosterone indipendenti dall'angiotensina II<sup>16,20</sup>. L'aldosterone contribuisce al rimodellamento postinfartuale non solo promuovendo la fibrosi che altera le proprietà meccaniche del miocardio, ma anche attraverso un'azione di ritenzione di sodio ed acqua, l'attivazione simpato-adrenergica e la disfunzione endoteliale.

Nella tabella I<sup>16</sup> sono schematizzati gli effetti avversi dell'aldosterone sull'apparato cardiovascolare.

### Studi sulla prevenzione della fibrosi postinfartuale in modelli sperimentali

A differenza di quanto è avvenuto con altri farmaci, quali ad esempio gli ACE-inibitori, che prima di essere testati nell'arena clinica avevano avuto una lunga fase di sperimentazione in modelli animali, nel campo degli inibitori recettoriali dell'aldosterone è avvenuto l'opposto. Grandi studi clinici di sopravvivenza come il RALES<sup>26</sup> (Randomized Aldactone Evaluation Study) e l'EPHESUS<sup>27</sup> (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study) hanno infatti documentato un inequivoco vantaggio della somministrazione di spironolattone nello scompenso cardiaco avanzato ed in quello postinfartuale, ed hanno rappresentato il punto di partenza di ricerche sperimentali di carattere "meccanicistico", ovvero volte all'identificazione dei meccanismi d'azione cellulare e molecolare dell'inibizione recettoriale dell'aldosterone. Si è avuto un fenomeno scientifico peculiare recentemente definito in un commento editoriale dal titolo "Aldosterone antagonism and myocardial infarction: from animals to man and back"<sup>28</sup>. Per tale motivo, gli studi sperimentali che hanno focalizzato sugli effetti dell'inibizione recettoriale dell'aldosterone nel post-infarto sono pochi e relativamente recenti. Nei prossimi paragrafi, passeremo brevemente in rassegna i più rilevanti studi condotti in questo settore.

**Tabella I.** Effetti avversi dell'aldosterone sull'apparato cardiovascolare.

---

Effetti avversi di aumentati livelli di aldosterone plasmatico
Ritenzione di sodio
Deplezione di potassio
Deplezione di magnesio
Potenziamento del sistema nervoso simpatico
Riduzione della compliance aortica e delle sue diramazioni
Disfunzione barocettoriale
Riduzione della variabilità della frequenza cardiaca
Maggiore incidenza di aritmie
Maggiore incidenza di mortalità per cause cardiache
Effetti dell'aldosterone sul rimodellamento ventricolare
Effetti meccanici dovuti a ritenzione di liquidi e ad aumentato stress della parete ventricolare
Attivazione dei fibroblasti secondaria a:
Attivazione dei fibroblasti dopo attivazione dei recettori per i mineralcorticoidi
Necrosi miocitaria dovuta all'azione dell'aldosterone
Attivazione della Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPasi-dipendente
Aumento della sintesi del collagene di tipo I e III
Aumento dei recettori per l'endotelina-1
Aumento dei recettori AT <sub>1</sub>
Aumento della produzione di transforming growth factor-β1 da parte dei macrofagi
Aumento della permeabilità vascolare

---

Da Khan e Mohaved<sup>16</sup>, modificata.

Il primo studio, considerato una pietra miliare, viene dal gruppo francese di Delcayre<sup>1</sup> che, dopo aver descritto l'esistenza di un funzionante sistema steroideo-cardiaco, dimostrò nel 1999 che l'infarto miocardico era associato ad attivazione tissutale-specifica della sintesi miocardica di aldosterone<sup>3</sup>. Tale aumento era mediato in grande misura dall'angiotensina II attraverso i recettori AT<sub>1</sub> ed era coinvolto nello sviluppo della fibrosi reattiva postinfartuale e nel controllo della concentrazione tissutale di norepinefrina. In particolare, infarti di piccola-media entità aumentavano l'espressione sia dell'enzima terminale della sintesi dell'aldosterone, che del corticosterone in associazione ad un significativo aumento della deposizione di collagene nell'area remota dall'infarto. Tali modifiche venivano completamente inibite dal losartan (AT<sub>1</sub>-inibitore) ed in misura minore dallo spironolattone<sup>3</sup>. Successivamente Bauersachs et al.<sup>29</sup> dimostrarono un'inaspettata interazione tra ACE-inibitori e spironolattone a basse dosi, che quando utilizzati in terapia combinata, inducevano un marcato aumento della natriuresi con riduzione significativa della pressione telediastolica ventricolare nello scompenso cardiaco sperimentale.

Un'ulteriore interessante caratteristica del blocco recettoriale dell'aldosterone fu messa in evidenza da Delyani et al.<sup>30</sup>, che sottoposero a trattamento con eplerenone, un bloccante "selettivo" (SARA) non ancora in uso in Italia, ratti con infarto miocardico, iniziando il trattamento alla terza, settima e ventottesima giornata dopo la procedura chirurgica di legatura della coronaria. Gli autori dimostrarono che l'eplerenone riduceva significativamente la fibrosi reattiva senza avere influenze negative su quella riparativa. Tale assenza di interferenza sul processo di cicatrizzazione postinfartuale appare molto promettente per un utilizzo clinico, in quanto si poteva ipotizzare che un'inibizione troppo precoce dei recettori dell'aldosterone potesse causare una mancata o incompleta "cicatrizzazione miocardica" con conseguente espansione dell'area infartuale. La riduzione della fibrosi reattiva inoltre si accompagnava ad un miglioramento della funzione diastolica investigata con le curve pressione-volume del ventricolo sinistro.

Un'altra ricerca sperimentale con eplerenone fu effettuata nello stesso periodo da Suzuki et al.<sup>31</sup>, i quali utilizzarono il modello dello scompenso cardiaco nel cane da microembolizzazione intracoronarica. Rispetto ai cani di controllo, la somministrazione di eplerenone, iniziata 2 settimane dopo la procedura chirurgica e continuata per 3 mesi, riduceva significativamente la dilatazione e la disfunzione ventricolare sinistra e l'aumento dello stress parietale telediastolico, e tali azioni si associavano ad una diminuzione del 28% dell'area trasversale dei cardiomiociti, del 37% della frazione volumetrica del collagene nelle aree di fibrosi reattiva e del 34% nelle aree di fibrosi riparativa.

Recentemente, il nostro gruppo ha studiato gli effetti del blocco recettoriale dell'aldosterone con o sen-

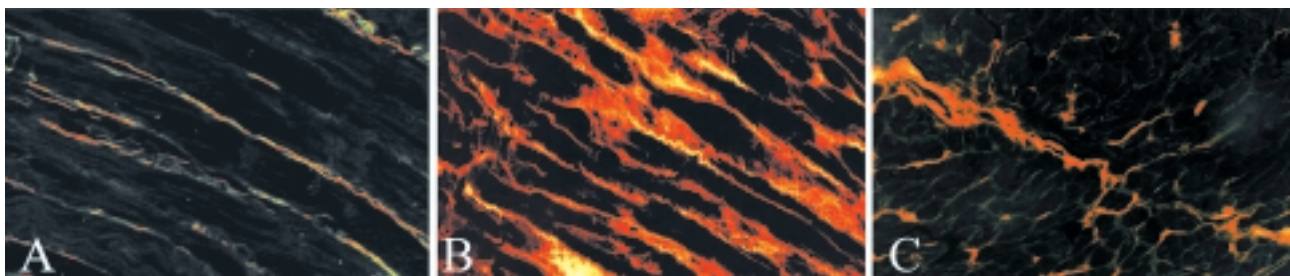
za terapia concomitante con farmaci ACE-inibitori nel modello dello scompenso cardiaco postinfartuale dovuto a legatura della coronaria sinistra, per rispondere ad una serie di quesiti ancora irrisolti quali l'impatto di tale approccio farmacologico sulle pressioni intraventricolari e sullo stress parietale, e sulla geometria ventricolare sinistra *in vivo*, sulla contrattilità intrinseca e sulla "stiffness" passiva del ventricolo sinistro, sulle aritmie ventricolari (in particolare sulla fibrillazione ventricolare) e sull'espressione miocardica di SERCA-2, proteina fondamentale nella patogenesi dello scompenso cardiaco. Tali quesiti nascevano tra l'altro dal fatto che lo studio RALES aveva dimostrato una riduzione significativa della morte improvvisa in pazienti trattati con spironolattone. In un primo studio, furono effettuate delle legature del ramo discendente anteriore della coronaria sinistra a ratti con un peso compreso tra 180 e 200 g, e dopo 1 giorno gli animali furono randomizzati a ricevere placebo o canrenone- $\gamma$ -ciclodestrina 8 mg/kg/die o canrenone- $\gamma$ -ciclodestrina 18 mg/kg/die<sup>32</sup>. Il canrenone è un prodotto metabolico attivo dello spironolattone e possiede una migliore cinetica rispetto allo spironolattone in quanto raggiunge gli stessi livelli circolanti con un dosaggio < 30%. Rispetto ai controlli, i ratti infartuati presentavano una significativa riduzione della pressione sistolica ventricolare sinistra ed elevate pressioni telediastoliche, il tutto associato ad un marcato aumento del collagene interstiziale e perivascolare. Nel gruppo trattato con alte dosi di canrenone si verificò un'importante riduzione della pressione sistolica e diastolica (-6 e -23% vs i controlli, rispettivamente), con marcata riduzione della fibrosi interstiziale e perivascolare (-47 e -34% vs i controlli, rispettivamente) (Fig. 2). Il gruppo trattato con basse dosi di canrenone non mostrò differenze rispetto al gruppo placebo<sup>11</sup>. Nel secondo studio, abbiamo valutato gli effetti del canrenone alla dose di 20 mg/kg/die, del ramipril 1 mg/kg/die, o di entrambi, in ratti con scompenso cardiaco pienamente sviluppato 1 mese dopo l'infarto sperimentale. Trenta giorni di terapia con canrenone hanno attenuato il rimodellamento ventricolare sinistro, con un miglioramento della funzione sistolica e diastolica ed una riduzione rimarchevole della fibrosi interstiziale e perivascolare fino al 76% rispetto ai controlli

e del contenuto miocardico di norepinefrina. Questi effetti risultavano aumentati dalla concomitante terapia con ramipril. Inoltre, dato questo inaspettato, i ratti trattati con canrenone presentavano un innalzamento significativo della soglia di fibrillazione ventricolare, ovvero una minore vulnerabilità aritmica<sup>33</sup>.

Da un punto di vista funzionale, la riduzione della fibrosi perivascolare comporta una migliore diffusione dell'ossigeno nelle zone lontane dall'infarto mentre la riduzione della fibrosi interstiziale determina una minore rigidità con un aumento della compliance ventricolare sinistra<sup>6</sup>. I meccanismi degli effetti sulla prevenzione della fibrillazione ventricolare sono invece poco chiari. Essi potrebbero dipendere in parte dalla riduzione del contenuto miocardico di norepinefrina, o da un effetto del canrenone sul rimodellamento elettrico del ventricolo sinistro, o dalla riduzione del sodio intracellulare che, attraverso lo scambiatore  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ , potrebbe ridurre anche il sovraccarico intracellulare di calcio, potente induttore di aritmie e di fibrillazione ventricolare.

Un messaggio importante di questo studio è anche quello di una sinergia estremamente favorevole tra ACE-inibitori e inibitori recettoriali dell'aldosterone. Infatti la loro associazione risultava maggiormente cardioprotettiva rispetto ai trattamenti singoli, combinando gli effetti antirimodellamento e sulla riduzione miocardica della norepinefrina di entrambi i farmaci con quelli sulla diminuita downregulation di SERCA-2 peculiari del ramipril, e sulla prevenzione della fibrillazione ventricolare del canrenone.

Tali effetti benefici dell'inibizione recettoriale dell'aldosterone sul rimodellamento ventricolare sinistro postinfartuale sono stati confermati successivamente da un gruppo tedesco, che ha utilizzato un simile disegno sperimentale ma sostituendo il canrenone con l'eplerenone, ed il ramipril con il trandolapril<sup>34</sup>. Anche in questo studio, il trattamento combinato risultava il più vantaggioso in quanto attenuava il rimodellamento ventricolare sinistro in misura superiore ai trattamenti con singoli farmaci, combinando sia effetti sulla prevenzione della fibrosi, che quelli di inibizione di ipertrofia "patologica", e modificando significativamente il "maladaptive pattern" molecolare tipico dello scompenso



**Figura 2.** Fibre collagene in aree remote dall'infarto in animali di controllo (A), animali infartuati (B), animali infartuati e trattati con canrenone- $\gamma$ -ciclodestrina (C). Colorazione Picrosirius Red fotografata al microscopio polarizzatore: collagene di tipo I in rosso, collagene di tipo III in verde-giallo (500 $\times$ ).

postinfartuale, prevenendo la downregulation di SERCA-2 e l'upregulation del fattore natriuretico atriale e della catena pesante della  $\beta$ -miosina<sup>34</sup>.

Recentemente, Mill et al.<sup>35</sup> hanno cercato di rispondere al quesito se la prevenzione della fibrosi reattiva postinfartuale indotta dallo spironolattone fosse mediata dall'"unloading" del ventricolo sinistro o fosse dovuta ad un effetto indipendente dal carico. Gli autori hanno comparato l'efficacia dello spironolattone rispetto al losartan (AT<sub>1</sub>-inibitore) e all'idralazina per 1 mese dopo l'induzione dell'infarto del miocardio. Alla fine del periodo di trattamento è stato misurato il contenuto di collagene mediante l'idrossiprolina ed inoltre sono stati studiati vari parametri emodinamici. L'aumento della pressione telediastolica tipico dello scompenso postinfartuale è stato prevenuto dal trattamento con losartan, ma è rimasto immutato sia dopo spironolattone che dopo idralazina. Cionondimeno, sia il losartan che lo spironolattone hanno prevenuto la deposizione di collagene nel miocardio sopravvissuto all'infarto, ed in particolare l'inibizione dell'AT<sub>1</sub> preveniva anche l'ipertrofia compensatoria del ventricolo destro e sinistro. Questi dati suggeriscono che lo spironolattone previene la proliferazione del collagene nel miocardio sopravvissuto mediante meccanismi che sono in gran parte indipendenti dalle condizioni emodinamiche cui sono sottoposte le camere cardiache.

Gli effetti molecolari dell'antagonismo recettoriale dell'aldosterone, in particolare sui fattori trascrizionali cardiaci, è stato il tema della ricerca di un gruppo giapponese in ratti con infarto miocardico sperimentale. Matsumoto et al.<sup>36</sup> hanno dimostrato che la prevenzione del rimodellamento ventricolare sinistro postinfartuale da parte dello spironolattone si associa alla riduzione dell'attività della proteina attivatrice AP-1 e del fattore nucleare-kappa B così come dell'upregulation degli mRNA codificanti per il fattore natriuretico atriale, il peptide natriuretico di tipo B, il collagene di tipo I e III. Tali effetti risultavano amplificati dalla contemporanea somministrazione dell'AT<sub>1</sub>-inibitore candesartan.

### Problemi aperti e direzioni future della ricerca

Le lezioni di fisiopatologia che possiamo trarre dagli studi passati in rassegna sono che l'inibizione recettoriale dell'aldosterone determina effetti benefici sul rimodellamento cardiaco postinfartuale. Il range d'azione è molto ampio e va dall'attenuazione della dilatazione ventricolare sinistra al miglioramento della funzione sistolica e diastolica. Inoltre tale approccio farmacologico è in grado di ridurre l'incidenza di aritmie potenzialmente mortali. Le basi fisiopatologiche di tali azioni sono molteplici e solo in parte conosciute, ed includono innanzitutto la prevenzione della fibrosi reattiva, ma anche la riduzione delle concentrazioni miocardiche di norepinefrina. Da un punto di vista molecolare l'inibizione recettoriale dell'aldosterone, in particolare

in combinazione con farmaci ACE-inibitori, attenua anche lo sviluppo del tipico "maladaptive pattern" dello scompenso cardiaco caratterizzato dalla downregulation di SERCA-2 e di ossido nitrico-sintetasi, ed upregulation della catena pesante della  $\beta$ -miosina, del fattore natriuretico atriale, e dei recettori AT<sub>1</sub><sup>6</sup>.

Una problematica fondamentale della terapia con inibitori recettoriali dell'aldosterone è se tutti gli effetti benefici documentati fino ad oggi siano dovuti solo alla regressione della fibrosi. Tale ipotesi non sembra plausibile. In particolare sono stati descritti effetti non genomici degli inibitori recettoriali, che si verificano dopo alcuni minuti dalla somministrazione del farmaco e non richiedono trascrizione proteica. Ad esempio, dati preliminari provenienti da questo laboratorio e da quello di Strömer, hanno dimostrato che l'applicazione acuta di canrenoato di potassio in modello murino *in vitro* di ischemia-riperfusion determina una significativa riduzione della perdita di funzione contrattile, e che questo si associa ad una riduzione del sovraccarico di calcio che tipicamente si verifica nei primi minuti di reperfusion (dati non pubblicati). Inoltre, l'eterogeneità elettrica tipica del rimodellamento cardiaco è dovuta non solo alla fibrosi ma anche ad un difetto dei cardiomiociti causato da un declino delle connessioni intercellulari. Infatti, nello scompenso postinfartuale, si verifica una riduzione delle "gap junctions" e della loro conduttanza, un aumento della resistenza di queste connessioni al flusso di corrente elettrica con riduzione anche della connessina 43, situazione incompatibile con la propagazione dell'impulso elettrico<sup>37</sup>. L'attivazione del SRAA sembra giocare un ruolo importante nell'inibizione delle connessioni intercellulari, ed è pertanto verosimile che l'inibizione recettoriale dell'aldosterone possa ripristinare la funzionalità delle "gap junctions" indipendentemente dall'effetto antifibrotico. Dobbiamo poi ricordare che l'effetto diuretico dello spironolattone e dei suoi metabolici od analoghi può direttamente migliorare la funzione cardiaca attenuando le pressioni di riempimento ventricolari. La verifica del meccanismo di prevenzione della morte improvvisa dell'inibizione recettoriale dell'aldosterone rappresenta senza dubbio una rilevante area di ricerca futura.

Altri campi da approfondire sono rappresentati dall'interazione dello spironolattone o dei suoi derivati con i betabloccanti e la digitale, farmaci comunemente utilizzati nello scompenso cardiaco cronico.

Ancora poco esplorati sono anche gli effetti antinfiammatori del blocco recettoriale dell'aldosterone, che potrebbero riservare interessanti sorprese alla luce dell'importanza che l'infiammazione riveste nella patogenesi delle malattie cardiovascolari, in particolare dell'aterosclerosi.

Infine, metodiche di biologia molecolare e di proteomica potrebbero identificare il pattern molecolare attivato dal blocco recettoriale dell'aldosterone, in particolare la sua possibile stimolazione di "pathways" intracellulari di sopravvivenza antiapoptotici.

## Riassunto

Dopo la sua scoperta avvenuta nel 1953, e quella del suo antagonista recettoriale, lo spironolattone, all'inizio degli anni '60, l'aldosterone ha avuto un lungo "periodo buio" durato circa 30 anni caratterizzato da uno scarso interesse da parte della comunità scientifica internazionale. Sono stati i classici studi di Weber che hanno consentito il riconoscimento del ruolo fondamentale dell'aldosterone nel promuovere l'ipertrofia e soprattutto la fibrosi miocardica. Successivamente, importanti studi clinici come il RALES e l'EPHESUS hanno dimostrato il vantaggio in termini di sopravvivenza dell'uso del blocco recettoriale dell'aldosterone nello scompenso cardiaco avanzato e postinfartuale, rispettivamente. In particolare in quest'ultima condizione, ricerche sperimentali hanno dimostrato che il cuore possiede intrinseche capacità di produzione locale di aldosterone attraverso un sofisticato sistema steroideogenico, che risulta attivato dopo infarto miocardico. Tale upregulation determina notevoli effetti sfavorevoli, in particolare fibrosi interstiziale nelle aree lontane dall'infarto, con conseguente alterazioni della funzione sistolica, diastolica e minacciose aritmie dovute ad eterogeneità elettrica. Questa breve rassegna esamina l'importanza della fibrosi nella fisiopatologia dello scompenso cardiaco postinfartuale, il ruolo dell'aldosterone e l'utilizzo del suo blocco recettoriale come una nuova strategia terapeutica.

**Parole chiave:** Aldosterone; Fibrosi; Infarto miocardico; Scompenso cardiaco.

## Bibliografia

- Silvestre JS, Robert V, Heymes C, et al. Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat. *Physiological regulation*. *J Biol Chem* 1998; 273: 4883-91.
- Sanderson JE. New treatments for myocardial fibrosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16: 181-2.
- Silvestre JS, Heymes C, Oubenaïssa A, et al. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation* 1999; 20: 2694-701.
- Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation* 2000; 102: 1342-5.
- Weber KT. Interstizio cardiaco. In: Poole-Wilson PA, Colucci WS, Massie BM, Chatterjee K, Coats AJ, eds. *Insufficienza cardiaca. Principi scientifici e pratica clinica*. Salerno: Momento Medico, 1997: 33-54.
- Capasso JM, Robinson TF, Anversa P. Alterations in collagen cross-linking impair myocardial contractility in the mouse heart. *Circ Res* 1989; 65: 1657-64.
- Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79: 215-62.
- Mann DL, Taegtmeier H. Dynamic regulation of the extracellular matrix after mechanical unloading of the failing human heart: recovering the missing link in left ventricular remodeling. *Circulation* 2001; 104: 1089-91.
- Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991; 83: 1849-65.
- Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 341-8.
- Capasso JM, Palackal T, Olivetti G, Anversa P. Left ventricular failure induced by long-term hypertension in rats. *Circ Res* 1990; 66: 1400-6.
- Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OH. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation* 1995; 91: 161-70.
- Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 1281-92.
- Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation* 1997; 96: 4065-82.
- Tan LB, Jalil JE, Pick R, Janicki JS, Weber KT. Cardiac myocyte necrosis induced by angiotensin II. *Circ Res* 1991; 69: 1185-95.
- Khan NU, Mohaved A. The role of aldosterone and aldosterone-receptor antagonists in heart failure. *Rev Cardiovasc Med* 2004; 5: 71-81.
- Sun Y, Ratajska A, Zhou G, Weber KT. Angiotensin-converting enzyme and myocardial fibrosis in the rat receiving angiotensin II or aldosterone. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 395-9.
- Zennaro MC, Farman N, Bonvalet JP, Lombes M. Tissue-specific expression of alpha and beta messenger ribonucleic acid isoforms of the human mineralocorticoid receptor in normal and pathological states. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1345-52.
- Robert V, Silvestre JS, Charlemagne D, et al. Biochemical determinants of aldosterone-induced cardiac fibrosis in rats. *Hypertension* 1995; 26 (Part 1): 971-8.
- Weber KT. Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med* 2001; 345: 1689-97.
- Horisberger JD, Rossier BC. Aldosterone regulation of gene transcription leading to control of ion transport. *Hypertension* 1992; 19: 221-7.
- Robert V, Van Thiem N, Cheav SL, Moaus C, Swynghedauw B, Delcayre C. Increased cardiac type I and III collagen mRNA in aldosterone-salt hypertension. *Hypertension* 1994; 24: 30-6.
- Diez J, Laviades C. Monitoring fibrillar collagen turnover in hypertensive heart disease. *Cardiovasc Res* 1997; 35: 202-5.
- Host NB, Jensen LT, Bendixen PM, Jensen SE, Koldkjaer OG, Simonsen FE. The aminoterminal propeptide of type III procollagen provides new information on prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995; 76: 869-73.
- Jalil JE, Doering CW, Janicki JS, et al. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res* 1989; 64: 1041-50.
- Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 709-17.
- Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study Investigators. *N Engl J Med* 2003; 348: 1309-21.

28. Solomon S, Pfeffer M. Aldosterone antagonism and myocardial infarction: from animals to man and back. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1674-6.
29. Bauersachs J, Fraccarollo D, Ertl G, Gretz N, Wehling M, Christ M. Striking increase of natriuresis by low-dose spironolactone in congestive heart failure only in combination with ACE inhibition: mechanistic evidence to support RALES. *Circulation* 2000; 102: 2325-8.
30. Delyani J, Robinson EL, Rudolph AE. Effect of a selective aldosterone receptor antagonist in myocardial infarction. *Am J Physiol* 2001; 281: H647-H654.
31. Suzuki G, Morita H, Mishima T, et al. Effects of long-term monotherapy with eplerenone, a novel aldosterone blocker, on progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with heart failure. *Circulation* 2002; 106: 2967-72.
32. Cittadini A, Casaburi C, Monti MG, et al. Effects of canrenone on myocardial reactive fibrosis in a rat model of postinfarction heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16: 195-201.
33. Cittadini A, Monti MG, Isgaard J, et al. Aldosterone receptor blockade improves left ventricular remodeling and increases ventricular fibrillation threshold in experimental heart failure. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 555-64.
34. Fraccarollo D, Galuppo P, Hildemann S, Christ M, Ertl G, Bauersachs J. Additive improvement of left ventricular remodeling and neurohormonal activation by aldosterone receptor blockade with eplerenone and ACE inhibition in rats with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1666-73.
35. Mill JC, Milanez M, de Resende MM, Gomez G, Leite CM. Spironolactone prevents cardiac collagen proliferation after myocardial infarction in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30: 739-44.
36. Matsumoto R, Yoshiyama M, Omura T, et al. Effects of aldosterone receptor antagonist and angiotensin II type I receptor blocker on cardiac transcriptional factors and mRNA expression in rats with myocardial infarction. *Circ J* 2004; 68: 376-82.
37. De Mello WC. Heart failure: how important is cellular sequestration? The role of the renin-angiotensin-aldosterone system. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 37: 431-8.