- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

Scompenso cardiaco refrattario. Antagonismo del fattore di necrosi tumorale-alfa e dell'endotelina nell'uomo: due promesse da mantenere

Marco Valgimigli, Roberto Ferrari, Serge Masson*, Roberto Latini*

*Cattedra di Cardiologia, Università degli Studi, Ferrara, e Centro di Fisiopatologia Cardiovascolare, IRCCS Fondazione S. Maugeri, Gussago (BS), *Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano*

Key words:
Congestive heart failure; Endothelins; Pulmonary hypertension.

Excessive biohumoral activation participates in the pathophysiology and progression of congestive heart failure (CHF). Pharmacological inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone and beta-adrenergic systems improves the mortality and morbidity of this disease. Among other detrimental molecules, two local factors, tumor necrosis factor (TNF)-α and endothelin (ET) both contribute to the worsening of CHF. TNF-α can induce many of the cellular modifications typically associated with CHF, such as myocyte death, interstitial tissue derangement and negative inotropism. On the other hand ET promotes vasoconstriction, and cell growth and proliferation. On the premise of some favorable experimental studies, selective antagonism of TNF-α or ET has been tested in clinical trials in order to control the progression of or even reverse CHF. However, contrasting results have been obtained so far with either approach, in accordance with other unfavorable data from animal models of heart failure. Etanercept (Enbrel, a recombinant dimer of two p75sTNFR molecules fused to the Fc fragment of human IgG1) has proved to be useful and effective in basic and animal experiments, while contrasting data have been reported on humans. The Randomized EtaNErcept Worldwide evALuation (RENEWAL) trial has recently been prematurely stopped due to impossibility of showing statistically significant results with the pre-specified sample size. Results of phase II to III clinical trials on different ET receptor antagonists in CHF have yielded conflicting results, so that none of the agents of this class have been labeled for CHF. The mechanisms by which TNF-α and ET might exert their negative biological actions are discussed together with an analysis of the possible reasons why they have failed so far in human CHF.

(Ital Heart J Suppl 2002; 3 (8): 793-803)

© 2002 CEPI Srl

Ricevuto l'1 luglio 2002; accettato l'8 luglio 2002.

Per la corrispondenza:
Prof. Roberto Ferrari
Cattedra di Cardiologia
Università degli Studi
c/o U.O. di
Cardiologia-UTIC
Arcispedale S. Anna
Corso Giovecca, 203
44100 Ferrara
E-mail: fri@unife.it

Premessa

L'iperattivazione neuroumorale è un fattore fondamentale di progressione dell'insufficienza cardiaca. Tale affermazione, che converge nella cosiddetta "ipotesi neurormonale", è sostenuta dall'osservazione che gli unici farmaci che riducono la mortalità del paziente con insufficienza cardiaca sono gli ACE-inibitori, i betabloccanti, gli inibitori dell'aldosterone e gli antagonisti recettoriali dell'angiotensina II. Lo sviluppo di queste due classi di farmaci appare come un processo lineare: dai risultati positivi sull'animale, a quelli nei trial clinici di fase II, fino a quelli di mortalità. Altre due classi di inibitori di sistemi bioumorali iperattivati nell'insufficienza cardiaca, le citochine e le endoteline (ET), sono state sperimentate sull'animale e in studi clinici. I risultati, sia degli studi sperimentali che di quelli clinici, non mostrano un quadro coerente: alcuni lavori riportano effetti protettivi, altri nessun effetto, altri effetti negativi. I due campi sono tuttora oggetto di ricerca attiva, che viene presentata in questa rassegna, discutendo in particolare i risultati contraddittori.

Antagonismo del fattore di necrosi tumorale-α

Introduzione. Le citochine sono costituite da proteine non strutturali, con peso molecolare estremamente variabile, da 8 a 40 000 Dalton. Originariamente, esse erano state battezzate con il nome di linfochine e monochine in virtù della loro presunta origine cellulare. Divenne tuttavia rapidamente chiaro che il termine citochine descriveva meglio tale famiglia di molecole, in quanto ogni cellula nucleata è in grado di sintetizzarle e di rispondere ad esse[1]. Tra le citochine più enigmatiche, che maggiormente hanno attirato l'interesse della ricer-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

ca di base negli ultimi anni, vi è il fattore di necrosi tumorale (TNF)-α. La prima descrizione della molecola risale al 1975, ad opera di Carswell et al.[1], i quali descrissero le proprietà di una sostanza a struttura sconosciuta in grado di essere indotta dall'endotossina e di causare necrosi delle cellule tumorali. Una decade più tardi, altri autori descrissero l'isolamento di una proteina indotta dall'endotossina, e la chiamarono cachetina, in quanto ritenuta responsabile della cachessia. La clonazione dei geni codificanti per la cachetina ed il TNF-α ha confermato l'identità della molecola[2,3].

Il TNF-α è apparso nelle letteratura cardiologica per la prima volta circa 10 anni fa, quando Levine et al.[4] ne ipotizzarono un ruolo nella genesi della cosiddetta cachessia cardiaca. Quest'ultima è una condizione comune a molte malattie terminali, tra cui quelle neoplastiche o infiammatorie croniche, caratterizzata da un prevalere delle fasi cataboliche su quelle anaboliche, con conseguente depauperamento delle riserve lipidiche e proteiche dell'organismo. Per la prima volta in letteratura, venne riportata una maggiore prevalenza di incremento dell'attività del TNF-α nei pazienti affetti da scompenso cardiaco rispetto ai soggetti di controllo. Gli autori conclusero che l'elevazione dell'attività del TNF-α nei pazienti affetti da scompenso cardiaco era associata alla presenza di cachessia, e che tale elevazione correlava con le fasi più avanzate della malattia, caratterizzate da una maggiore attività reninica plasmatica e da una maggiore prevalenza di iponatriemia.

L'associazione tra elevazione del TNF-α e stato cachettico venne poi ripetutamente confermata[5,6] ma malgrado il postulato iniziale, vi è oggi una crescente consapevolezza che il TNF-α possa in realtà esercitare un ruolo ben più ampio nella fisiopatologia della sindrome "scompenso cardiaco", rispetto al semplice determinismo della cachessia cardiaca. Il TNF-α è infatti elevato in pazienti senza evidenza di sindrome cachettica; correla scarsamente con le variabili emodinamiche sistemiche e distrettuali cardiache ed è strettamente associato alla classe funzionale di appartenenza.

Ruolo del fattore di necrosi tumorale-α nella progressione dello scompenso cardiaco. Il riscontro dell'associazione tra classe funzionale e livelli di TNF-α non costituisce di per sé una dimostrazione che questa citochina infiammatoria abbia un ruolo nella progressione della sindrome "scompenso cardiaco". Piuttosto, i livelli di TNF-α potrebbero costituire un marker di gravità della malattia. Una lunga serie di evidenze, che si sono andate via via accumulando in letteratura negli ultimi anni, tuttavia, depone fortemente per la possibilità che il TNF-α possa costituire un possibile meccanismo di automantenimento di danno cardiaco e di progressione della malattia cardiaca. L'iperespressione di TNF-α è di per sé stessa in grado di indurre in cuori di cavia perfettamente normali, una disfunzione ventricolare sinistra ingravescente, edema polmonare acuto e cardiomiopatia biventricolare con incremento generalizzato di apoptosi miocardica[7-9]. In colture di miociti di hamster, il TNF-α induce un effetto inotropo negativo proporzionale alla dose[10]. Tale effetto è immediato e completamente reversibile una volta rimossa la citochina. Inoltre, il TNF-α ed alcune altre citochine pro-infiammatorie sono in grado di indurre modificazioni cellulari tipiche del cuore scompensato, quali ad esempio la down-regulation della pompa calcica ATPasica del reticolo sarcoplasmatico[11], o il disaccoppiamento dei recettori beta-adrenergici dall'attivazione dell'AMP ciclico intracellulare[12]. L'infusione di TNF-α con attività farmacologica sovrapponibile a quella registrata in corso di scompenso cardiaco nell'uomo induce nel ratto un progressivo rimodellamento ventricolare sinistro. Tale effetto è rapidamente reversibile alla sospensione dell'infusione ed è associato all'attivazione delle metalloproteinasi, una famiglia di enzimi litici del connettivo, in grado di mediare il rimaneggiamento del tessuto interstiziale cardiaco[13]. Per approfondire ulteriormente il ruolo delle citochine infiammatorie nello scompenso cardiaco e per dare "sostanza sperimentale" all'ipotesi citochinica nella disfunzione ventricolare sinistra cronica, è stata recentemente messa a punto una linea di topi transgenici in grado di iperesprimere selettivamente a livello cardiaco il TNF-α. Tali topi ricapitolano le caratteristiche peculiari dello scompenso cardiaco dell'uomo, quali una dilatazione di tutte le quattro camere cardiache, ipertrofia dei miociti, infiltrati interstiziali, rimaneggiamento dell'interstizio con un progressivo rimodellamento ventricolare sinistro, una ridotta risposta alla stimolazione dei recettori beta e soprattutto una ridotta sopravvivenza[14].

L'iperespressione del TNF-α da parte dei miociti è stata inoltre suggerita come il "link" tra l'evento ischemico acuto, costituito dalla necrosi miocardica, e la progressione della cardiopatia attraverso il rimodellamento delle zone sane del cuore ed il rimaneggiamento dell'interstizio cardiaco. È stato, infatti, dimostrato a livello sperimentale che, in seguito ad infarto, il tessuto cardiaco di ratto iperesprime l'mRNA del TNF-α non solo nelle zone peri ed intrainfartuali, ma anche nelle zone remote rispetto all'evento ischemico-necrotico[15]. Sorprendentemente, non solo le cellule infiammatorie infiltrate partecipano a tale iperespressione, ma i miociti stessi up-regolano persistentemente sia la molecola che i recettori per il TNF-α, dimostrando come le vie di traduzione del segnale per il TNF-α rimangano intatte all'aumentare dell'espressione della molecola.

Di pari passo con la ricerca di base, nel corso degli ultimi 10 anni, si sono accumulate evidenze sul ruolo prognostico della concentrazione plasmatica del TNF-α nell'uomo. La prima dimostrazione che il sistema del TNF-α possa costituire un parametro prognosticamente rilevante nei pazienti con scompenso cardiaco di grado avanzato, è comparsa nel 1995[16]. Tale studio si era concentrato su un gruppo di pazienti affetti da scompenso cardiaco in classe funzionale NYHA II e IV. In esso si dimostra, per la prima volta, la superiorità del

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

dosaggio dei recettori solubili circolanti del TNF-α rispetto alla determinazione del TNF-α stesso. Tale dato è stato successivamente confermato da studi dotati di maggior potenza statistica. In un gruppo di 152 pazienti affetti da scompenso cardiaco a varia eziologia, il livello ematico del recettore 1 del TNF-α è emerso come il fattore prognostico di maggior impatto, indipendente dalla classe NYHA di appartenenza, dalla frazione di eiezione, dal consumo massimo di ossigeno e dalla presenza di cachessia[17]. Analogamente, in un sottostudio del Vesnarinone trial (VEST), su una popolazione di 384 pazienti affetti da scompenso cardiaco avanzato (classe NYHA III-IV), solo i livelli del recettore 2 per il TNF-α, la frazione di eiezione e la classe NYHA sono risultati predittori indipendenti di mortalità[18].

Ad ulteriore supporto dell'importanza dei livelli di citochine pro-infiammatorie in corso di scompenso cardiaco, c'è, inoltre, la recente scoperta che la modulazione farmacologica mediante betabloccanti è in grado di ridurre i livelli di citochine pro-infiammatorie ed aumentare contemporaneamente i livelli di citochine antinfiammatorie[19].

Complessivamente, questa serie di evidenze ha indotto a pensare che i livelli di alcune citochine pro-infiammatorie, ed in particolare del TNF-α, possano avere un ruolo nel mantenimento della sindrome "scompenso cardiaco", e che, in accordo all'ipotesi citochinica della malattia, essi possano costituire un vero e proprio target terapeutico ai fini della modulazione della progressione della cardiopatia.

Modulazione del fattore di necrosi tumorale-α mediante strategie atte a ridurne la produzione cellulare. Una tra le prime strategie perseguite al fine di ridurre la produzione cellulare di TNF-α, poggia sull'osservazione che agenti in grado di aumentare i livelli intracellulari di AMP ciclico (ad esempio pentossifillina, amrinone, milrinone, adenosina e dobutamina) prevengano l'accumulo dell'mRNA del TNF-α, mediante il blocco trascrizionale della proteina[20,21]. Ciò ha portato ad ipotizzare che uno dei meccanismi di beneficio legati all'infusione intermittente di dobutamina in corso di scompenso cardiaco fosse dovuto alla riduzione dei livelli ematici di TNF-α[22]. Tuttavia dati recenti dimostrano come di fatto l'infusione di dobutamina in pazienti affetti da scompenso cardiaco in fase avanzata non fosse associata ad una riduzione significativa dei livelli di TNF-α[23]. Risultati più incoraggianti sono stati riportati mediante l'utilizzo di adenosina[24]. Quest'ultima si è rivelata in grado di bloccare la sintesi di TNF-α indotto da stimolo mediante lipopolisaccaride su culture di miociti umani. Tuttavia tale effetto era evidente solo qualora la coltura cellulare fosse pre-trattata con adenosina. Inoltre, la somministrazione di adenosina è in grado di determinare una riduzione della produzione di TNF-α *in vivo* in un modello di ischemia-riperfusione[25]. Più recentemente, è stato riportato l'effetto della pentossifillina in pazienti con scompenso cardiaco in classe NYHA II e III. I pazienti erano sottoposti a terapia standard con digitale, diuretico e ACE-inibitore[26]. Dopo 6 mesi di terapia con pentossifillina i pazienti hanno mostrato una riduzione dei livelli di TNF-α rispetto ai controlli ed un miglioramento della classe funzionale e della frazione di eiezione, senza modificazioni dei volumi cardiaci. Quattro pazienti sono andati incontro a decesso nel gruppo placebo, mentre nel gruppo trattato con pentossifillina nessun paziente è deceduto. L'esiguo numero di pazienti arruolati, 14 per braccio, impone tuttavia particolare cautela nell'interpretare questi risultati. Inoltre, a questa prima serie di risultati, non hanno fatto seguito, ad oggi, altre documentazioni sull'utilizzo della pentossifillina come immunomodulatore.

Modulazione del fattore di necrosi tumorale-α mediante strategie atte a ridurne l'attività biologica. *Evidenze sperimentali.* La molecola anti-TNF-α maggiormente studiata negli ultimi anni è l'etanercept (Enbrel, Immunex Corp., Seattle, WA, USA). Essa è costituita da una proteina chimerica di fusione composta dalla porzione extracellulare del recettore p75 del TNF-α (tipo 2) fuso in duplicato alla porzione Fc di una molecola IgG1. I primi studi hanno dimostrato la capacità di tale molecola di revertire l'effetto inotropo negativo del TNF-α sui miociti in cultura[27]. Più recentemente, nel modello di scompenso cardiaco indotto dall'infusione continua di TNF-α, l'iniezione sottocute di etanercept si è dimostrata in grado di migliorare significativamente la contrattilità ventricolare sinistra dopo sole 24 ore e di riportare la frazione di accorciamento ai livelli basali solo dopo 48 ore dalla singola somministrazione[13]. Al contrario, la somministrazione di etanercept non è stata in grado di influire sul progressivo rimodellamento ventricolare sinistro indotto dal TNF-α. Un approccio alternativo è stato perseguito da Kubota et al.[28]. Gli autori hanno infettato topi transgenici iperesprimenti il gene del TNF-α con un adenovirus geneticamente modificato, privato della capacità di replicarsi e contenente un gene codificante la porzione extracellulare del recettore p55 del TNF-α, coniugato con la catena pesante dell'immunoglobulina IgG di ratto. Una volta inoculato, il virus infettava rapidamente gli epatociti di ratto i quali finivano per sintetizzare e rilasciare in circolo la molecola anti-TNF-α. Tale strategia si è rivelata in grado di ridurre significativamente l'infiltrato flogistico interstiziale miocardico e la dilatazione ventricolare, ma non l'ipertrofia ventricolare sinistra, né l'iperespressione di alcuni geni tipicamente associati alla disfunzione ventricolare sinistra come il fattore natriuretico atriale. Per quanto interessante, inoltre, l'utilizzo di un vettore virale per veicolare il farmaco in circolo ha un'utilità limitata nel tempo, poiché dopo un paio di mesi non rimane traccia della molecola espressa dal virus. Ciò è stato messo in relazione con la risposta immunitaria dell'ospite. Per superare tale limita-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

zione, gli stessi autori hanno recentemente verificato l'effetto della somministrazione diretta di un anticorpo chimerico ratto/topo con attività neutralizzante contro il TNF-α (cV1q) (Centocor) sulla medesima linea di topi trans-genici per il gene del TNF-α[29]. In questo modello sperimentale la molecola in studio è stata in grado di ripristinare sia la normale contrattilità miocardica che la normale risposta all'infusione di catecolamine. Tuttavia tale strategia anti-TNF-α ha solo parzialmente ridotto la progressione al rimodellamento ventricolare sinistro e per nulla modificato il grado di ipertrofia miocardica.

Evidenze nell'uomo. L'utilizzo dell'etanercept rappresenta allo stato attuale l'unica terapia anti-TNF-α che sia stata sottoposta a validazione clinica mediante trial nell'uomo. Il razionale legato all'utilizzo della molecola consiste nel fatto che il TNR-R75 è dei due recettori quello a maggior affinità nel confronti del TNF-α. Esso si legherebbe pertanto al TNF-α circolante ed impedirebbe il legame di quest'ultimo con i recettori di membrana. La fusione dei recettori con la porzione Fc dell'anticorpo è finalizzata ad aumentare l'emivita del farmaco.

La prima validazione della sicurezza ed efficacia del farmaco è apparsa nel 1999[30]. Gli autori hanno testato l'effetto della singola somministrazione sottocute, dopo 1, 2, 7 e 14 giorni, in pazienti con scompenso cardiaco in classe funzionale NYHA IV. Lo studio prevedeva l'arruolamento di 18 pazienti, 6 nel gruppo placebo e 12 in quello di controllo, quest'ultimo diviso in sottogruppi per testare l'effetto della somministrazione singola di diverse dosi di Enbrel (1, 4 e 10 mg/m^2). Nei soli gruppi che ricevevano la dose 4 e 10 mg/m^2 è stato registrato un miglioramento della frazione di eiezione, del "6 minute walking test" e della qualità di vita. Non sono inoltre stati riportati effetti collaterali. Più recentemente, sono stati riportati dati relativi a 47 pazienti in classe NYHA III-IV[31]. I soggetti in studio sono stati sottoposti, 2 volte alla settimana, a somministrazione di 5 o 12 mg/m^2 o placebo per 3 mesi. Tali dosi erano state suggerite sia dal precedente studio di "dose-finding" in singola somministrazione, sia dalle esperienze accumulate con tale farmaco nel campo dell'artrite reumatoide. Il profilo di "safety" riportato nello studio mostrava solo un 10% di reazioni locali all'iniezione del farmaco, spontaneamente reversibili, mentre non sono stati riportati effetti emodinamici né altri tipi di effetti collaterali. A 3 mesi è stato osservato un incremento dose-dipendente della frazione di eiezione ed una riduzione dei volumi ventricolari sinistri nei pazienti trattati rispetto al placebo. Al contrario, al termine del follow-up, il lieve miglioramento della classe funzionale dei pazienti trattati non è risultato statisticamente significativo.

Tali risultati preliminari hanno successivamente indotto a sperimentare la terapia immunomodulante con Enbrel in trial dotati di una popolazione campionaria adeguata a fornire risposte in termini di mortalità e morbilità. Si è dunque assistito all'allestimento di due grandi studi internazionali multicentrici: il Randomized Etanercept North American Strategy AntagoNism of CytokinEs (RENAISSANCE), condotto negli stati del Nord America, ed il Research into Etanercept CytOkine antagonism in VEntriculaR dysfunction (RECOVER), condotto in Europa. I dati desunti dai due singoli trial sarebbero poi stati riuniti nel Randomized EtaNErcept Worldwide evALuation (RENEWAL) trial.

Tali trial sono stati interrotti il 1° aprile 2001 dalla casa farmaceutica produttrice del farmaco per l'impossibilità, con la prevista dimensione campionaria, di mostrare effetti significativi.

Quale futuro per l'antagonismo del fattore di necrosi tumorale-α in corso di scompenso cardiaco? I dati deludenti provenienti dalle sperimentazioni sull'antagonismo del TNF-α nell'uomo hanno di fatto raffreddato gli entusiasmi precedentemente scaturiti dalle ricerche di base. Il fallimento del primo trial multicentrico sull'etanercept rende poco probabile che trial simili sulla stessa molecola verranno riprogettati in futuro.

Allo stato attuale delle conoscenze, il destino dell'antagonismo del TNF-α è verosimilmente "appeso" alla dimostrazione che i risultati negativi ottenuti con l'etanercept siano conseguenti ad un limite intrinseco della molecola ad inibire il sistema citochinico pro-infiammatorio.

Dei due recettori, p55 (tipo 1) e p75 (tipo 2), che mediano l'azione cellulare del TNF-α, è principalmente il primo a trasdurre la maggior parte delle azioni considerate deleterie in corso di scompenso cardiaco[32]; al contrario, il recettore p75 potrebbe paradossalmente mediare azioni protettive.

L'etanercept si lega al TNF-α circolante e ne impedisce qualunque legame recettoriale, per cui ipoteticamente inibire selettivamente il recettore p55 potrebbe portare a migliori risultati sul piano terapeutico.

Analizzando i dati prodotti dalle sperimentazioni pre-cliniche sull'etanercept, appare chiaro come la molecola eserciti un effetto di antagonismo solamente parziale nei confronti del TNF-α. In modelli sperimentali puri di scompenso cardiaco indotti dall'incremento del TNF-α, come nel caso di animali transgenici o in cui la cardiopatia era stata indotta dall'infusione cronica di TNF-α esogeno, l'etanercept in realtà non ha mai antagonizzato completamente tutti gli effetti dell'incremento di tale citochina. L'azione dell'etanercept appare rilevante nel controllo della componente infiammatoria della cardiopatia, comportando una netta riduzione dell'infiltrato flogistico, mentre non è stato mai documentato un effetto di controllo dell'ipertrofia miocardica indotta dal TNF-α. È stato ipotizzato che ciò possa dipendere dall'incapacità dell'etanercept di inibire completamente l'effetto dell'incremento del TNF-α e che possa persistere un'azione tonica pro-infiammatoria nonostante l'antagonismo mediato dal farmaco. Dati

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

preliminari sulla mancanza di efficacia da parte dell'etanercept[33] in malattie infiammatorie pure, come il morbo di Crohn, dove le precedenti strategie anti-TNF-α avevano prodotto una significativa riduzione della severità e acuzie della malattia[34], avvalorano, seppur indirettamente, tale ipotesi di lavoro.

Da ultimo, l'inibizione selettiva del TNF-α potrebbe non essere sufficiente a contrastare l'attivazione del network citochinico pro-infiammatorio. Il TNF-α potrebbe in realtà costituire uno dei mediatori citochinici di danno cardiovascolare, ma non il solo. Seppur in quantità più limitata rispetto al TNF-α, si sono accumulate in letteratura evidenze di un ruolo altrettanto deleterio di numerose altre sostanze, tra cui l'interleuchina-6, l'interleuchina-1β, l'interleuchina-2, l'interleuchina-8, il "leukemia inhibiting factor" e la cardiotrofina 1[35-42]. Queste sostanze sono prodotte sia a causa dell'elevazione del TNF-α, sia a monte della cascata di attivazione citochinica, per cui l'antagonismo selettivo nei confronti del TNF-α potrebbe non essere sufficiente a spegnere l'attivazione a catena di tali mediatori. Le sperimentazioni su animali condotte con l'utilizzo dell'etanercept ed altri antagonisti selettivi del TNF-α, in effetti, hanno riportato dati contrastanti sull'effetto di tale inibizione nei confronti di altre citochine pro-infiammatorie, quali l'interleuchina-1β[28,29].

Inoltre, è possibile che l'effetto dell'antagonismo selettivo nei confronti del TNF-α possa essere diverso nei pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa primitiva rispetto a quelli con altre forme secondarie. Sebbene non esistano in letteratura evidenze che le forme primitive abbiano un pattern di elevazione citochinica circolante diversa dai pazienti affetti da cardiopatia post-ischemica[39], l'effetto differenziale di altri farmaci ad azione "biologica" come i betabloccanti, nelle forme primitive da quelle secondarie, suggerisce cautela nel raggruppare, come è stato fatto sino ad ora, pazienti con scompenso cardiaco di qualunque natura eziologica.

Conclusioni. Negli ultimi 10 anni una grande mole di dati è stata prodotta a favore del ruolo del TNF-α nell'induzione e mantenimento della sindrome dello scompenso cardiaco. In accordo all'ipotesi citochinica, l'elevazione delle citochine pro-infiammatorie è in grado di esercitare un ruolo miocardio-tossico diretto. Da ciò deriva il postulato che ogni meccanismo in grado di ridurre le concentrazioni tissutali e plasmatiche di tali molecole produce un effetto favorevole in corso di scompenso cardiaco. Questo è stato dimostrato solo a livello sperimentale, sia *in vitro* che *in vivo*, ma non nell'uomo. È verosimile che ciò sia dovuto alla non completa efficacia dei metodi con cui, sino ad ora, è stata perseguita l'inibizione delle citochine pro-infiammatorie. Metodi alternativi di antagonismo del TNF-α nell'uomo saranno pertanto benvenuti per soddisfare, in accordo ai postulati di Koch, il nesso di causa ed effetto tra TNF-α e scompenso cardiaco congestizio.

Antagonismo dell'endotelina

Il sistema endotelina. Dall'identificazione negli anni '80 di un nuovo peptide vasocostrittore derivato da cellule endoteliali[43,44], le conoscenze sul ruolo dell'ET nella fisiopatologia dello scompenso cardiaco sono notevolmente cresciute, fino a disporre di farmaci che bloccano specificamente i suoi recettori. La famiglia delle ET comprende quattro peptidi (ET-1, ET-2, ET-3 e ET-4) composti da 21 residui aminoacidici. Provengono dalla scissione di un precursore iniziale (preproendotelina) in Big-ET e successivamente dall'azione di un enzima di conversione (ECE). I peptidi ET vengono prodotti principalmente dalle cellule endoteliali e della muscolatura liscia dei vasi e, anche se in quantità minore, dai cardiomiociti e dalle cellule infiammatorie. L'isoforma prevalente a livello del sistema cardiovascolare è l'ET-1. Diversi fattori stimolano la sintesi e il rilascio di ET-1, fra i quali lo "shear stress" sulla parete dei vasi, altri peptidi vasocostrittori (angiotensina II) citochine pro-infiammatorie (TNF-α, interleuchina-1 e -2) e fattori di crescita (transforming growth factor-β). ET-1 è aumentata anche in condizioni di elevato rischio cardiovascolare, come obesità, età avanzata, ipercolesterolemia, ed iperglicemia. Al contrario, l'ossido nitrico, le prostacicline, i peptidi natriuretici e gli estrogeni inibiscono la sintesi di ET[45].

L'endotelina contribuisce a mantenere il tono vascolare basale, aumenta la contrattilità miocardica, influenza il sistema nervoso centrale e autonomo, favorisce la crescita e la proliferazione cellulare (cellule muscolari lisce vascolari). L'ET-1 esercita i suoi principali effetti vascolari – vasocostrizione e proliferazione cellulare – mediante interazione con due tipi di recettori, ET_A e ET_B. Nei vasi, il recettore ET_A è localizzato sulle cellule della muscolatura liscia, dove tramite attivazione di una fosfolipasi C, innesca accumulo di calcio intracellulare e vasocostrizione. La sua affinità per ET-1 e ET-2 è più di 100 volte superiore a quella per ET-3. Il recettore ET_B ha un'affinità simile per le tre isoforme dell'ET ma esercita una funzione opposta a seconda delle cellule in cui viene espresso: l'ET si lega ai recettori ET_B alla superficie delle cellule endoteliali dove stimola la produzione di ossido nitrico, che tramite la produzione di GMP ciclico nelle cellule della muscolatura liscia espleta un effetto miorilassante. Inoltre, l'ET può attivare direttamente recettori ET_B alla superficie delle cellule della muscolatura liscia e indurre una vasocostrizione, simile a quella mediata dai recettori ET_A. Il dualismo d'azione dei recettori ET_B e la selettività dei recettori ET_A e ET_B per le diverse isoforme dell'ET spiegano lo sviluppo di antagonisti recettoriali misti ET_A/ET_B. Tuttavia, bloccare i recettori ET_B significa anche ridurre sia l'eliminazione polmonare dell'ET (e dunque aumento dei livelli circolanti), che il suo possibile effetto miorilassante.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

Endotelina circolante come indicatore di gravità dell'insufficienza cardiaca. Per interpretare il significato e l'uso come indicatore di gravità dell'ET nello scompenso occorre fare due premesse, una biologica e l'altra analitica.

La maggior parte dell'ET viene secreta dall'endotelio verso le cellule muscolari lisce in modo paracrino, e solo una piccola frazione del peptide viene rilasciata nel lume vascolare. Quindi le concentrazioni del peptide o del suo precursore (Big-ET) misurate nel plasma, rappresentano solo una piccola quota dell'ET prodotta.

Non vi è ad oggi un metodo analitico di riferimento accettato da tutti per la determinazione delle concentrazioni plasmatiche di ET; questo spiega l'ampio range riportato in letteratura, anche in soggetti sani: da 0.25 a 120 pg/ml per l'ET-1! (peso molecolare di 2492 Dalton)[46,47].

Le concentrazioni plasmatiche di ET e di Big-ET aumentano con la gravità dei sintomi (classe funzionale NYHA) nei pazienti con insufficienza cardiaca[48,49]. Oltre a riflettere una reale attivazione della secrezione di ET, questo aumento potrebbe esser spiegato da differenze nella clearance del peptide e/o nel suo metabolismo. Le concentrazioni plasmatiche di ET-1 (n = 1934) e di Big-ET-1 (n = 2359), insieme ad altri marcatori bioumorali, sono state misurate all'ingresso nei pazienti con insufficienza cardiaca arruolati nello studio Val-HeFT[50]. Le concentrazioni erano significativamente più elevate nei pazienti in classe NYHA III-IV rispetto ai pazienti in classe NYHA II, e nei pazienti con ventricolo sinistro più dilatato o frazione di eiezione minore[51].

Perché bloccare i recettori dell'endotelina? I recettori ET_A e ET_B mediano effetti in parte opposti a livello vascolare. Sono disponibili antagonisti recettoriali selettivi (ET_A o ET_B) e misti (ET_A + ET_B). Il blocco dei recettori ET_B riduce l'eliminazione polmonare dell'ET e la vasodilatazione mediata dall'ossido nitrico, effetti potenzialmente indesiderati (i topi knockout per i recettori ET_B sviluppano ipertensione). Gli studi sia sperimentali che clinici suggeriscono che il beneficio terapeutico a livello cardiaco, quando esiste, sia principalmente imputabile al blocco dei recettori ET_A.

Le evidenze emerse dagli studi sperimentali. In modelli sperimentali di insufficienza cardiaca, l'espressione cardiaca dell'ET (messaggero e proteina), dei suoi due recettori (ET_A e ET_B), ed i livelli circolanti di ET aumentano[52-57]. Non è ancora del tutto chiaro quale delle cellule che compongono il miocardio sia responsabile dell'aumentata espressione dei recettori per l'ET (cellule endoteliali dei grossi vasi o della microvascolatura, cardiomiociti?), né la natura dello stimolo a produrre l'ET ("shear stress", stress meccanico, ipossia, altri peptidi vasocostrittori, fattori di crescita, o citochine pro-infiammatorie).

I primi studi sperimentali di efficacia di antagonisti recettoriali selettivi ET_A in modelli di insufficienza cardiaca hanno dimostrato un miglioramento della sopravvivenza, della funzione e del rimodellamento del ventricolo sinistro[55]. In modelli di scompenso da tachicardia ventricolare prolungata indotta da pacing, la frazione di accorciamento, la dilatazione ventricolare, l'emodinamica sistemica e polmonare e la risposta inotropa al calcio extracellulare di cardiomiociti isolati vengono migliorate da un trattamento con un altro antagonista selettivo ET_A[58,59]. Tuttavia, dati pubblicati più recentemente contrastano con le osservazioni precedenti. Ad esempio, la somministrazione per 8 settimane di un antagonista recettoriale selettivo ET_A, iniziato 3 ore dopo legatura permanente dell'arteria coronaria, provoca un aumento significativo del volume ventricolare sinistro in ratti con infarto esteso[60]. Inoltre, non si sono riscontrati miglioramenti significativi del rimodellamento ventricolare dopo infarto in ratti trattati con un altro antagonista recettoriale selettivo ET_A, che risultava invece aggravare l'espansione acuta dell'infarto[61].

Gli studi sperimentali citati in precedenza valutavano l'efficacia di antagonisti specifici ET_A, che non interferiscono con i meccanismi di eliminazione polmonare dell'ET e di vasodilatazione, a carico dei recettori endoteliali ET_B. Il ruolo dei recettori ET_B nella fisiopatologia dello scompenso non è semplice da delineare poiché questi recettori, oltre a mediare il rilassamento delle cellule muscolari lisce, sono anche presenti in alcuni distretti vascolari dove inducono una costrizione. Ad esempio, in un modello sperimentale di scompenso da tachicardia prolungata da pacing, la somministrazione di un antagonista recettoriale selettivo ET_B ha evidenziato come i recettori ET_B abbiano un effetto globale di vasodilatazione[62]. In un altro modello di insufficienza da infarto, la somministrazione prolungata di un antagonista selettivo ET_B non modificava la pressione arteriosa dei ratti, suggerendo quindi un'assenza di controllo del tono vasomotore da parte dei recettori ET_B in queste condizioni[63]. È quindi possibile che la vasodilatazione mediata dai recettori ET_B sia ridotta nello scompenso, a seguito di una disfunzione endoteliale oppure da una semplice diminuzione del numero e/o della funzionalità di questi recettori. Il controllo del tono vascolare da parte dei recettori ET_B dipende inoltre dal distretto dall'organo considerati.

Gli effetti cronici di antagonisti recettoriali misti ET_A/ET_B sono stati valutati in modelli di insufficienza cardiaca dopo infarto nel ratto. In sintesi, questi farmaci provocano una riduzione delle pressioni sistemiche e ventricolari, una riduzione della dilatazione e dell'ipertrofia del ventricolo sinistro ed un miglioramento della funzione cardiaca[64-66]. Tuttavia, uno studio più recente ha dimostrato che il trattamento a lungo termine (10 giorni) di ratti con infarto da legatura permanente dell'arteria coronaria, con un antagonista recettoriale misto (ET_A + ET_B) riduce notevolmente la sopravvivenza, e provoca un peggioramento della dilatazione e della funzione ventricolare rispetto a ratti non trattati[67]. Gli

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

antagonisti misti si sono dimostrati efficaci in modelli di ipertensione polmonare[68].

In analogia con quanto fatto per l'angiotensina II, un inibitore selettivo (SLV 306) dell'ECE è stato valutato in un modello di infarto miocardico nel ratto, senza però dimostrare un effetto sensibile sul rimodellamento ventricolare[69]. Un antagonista recettoriale ET_A ed un inibitore dell'ECE sono stati confrontati in un modello di scompenso da tachicardia ventricolare prolungata indotta da pacing[70]: mentre l'antagonista recettoriale presentava un vantaggio sull'inibitore dell'ECE per quanto riguarda la vasodilatazione sistemica e renale, quest'ultimo riduceva in modo più efficace l'attivazione neurormonale (peptide natriuretico atriale, renina, angiotensina II e aldosterone circolanti).

Le evidenze cliniche. Esistono varie ragioni che possono rendere il sistema delle ET un target terapeutico nello scompenso cardiaco. Una in particolare è che l'aumento delle resistenze periferiche è una caratteristica fondamentale dello scompenso cardiaco e che ET-1 contribuisce ad esso[71], insieme ad altre molecole con attività vasocostrittrice (ad esempio angiotensina II, noradrenalina). L'ET-1 ha anche un effetto, probabilmente di minore rilevanza fisiopatologica, sulla contrattilità miocardica, differente a seconda che si studi un cuore sano o insufficiente. Infatti, nel cuore malato riduce la contrattilità, mentre l'aumenta nel sano.

Sulla base del ruolo dell'ET nella fisiopatologia dello scompenso cardiaco, sono stati sintetizzati farmaci in grado di ridurre l'iperattivazione del sistema ET. Due tipi di composti sono stati sintetizzati e utilizzati, gli antagonisti recettoriali e gli inibitori dell'ECE. In linea con l'approccio neurormonale alla terapia dello scompenso, sono state sintetizzate altre molecole con azioni miste, che combinano cioè il blocco dell'ECE con quello dell'endopeptidasi neutra (responsabile del catabolismo dei peptidi natriuretici) e/o quello dell'ACE. Sono in corso anche su queste nuove molecole studi sperimentali per verificare se un blocco simultaneo della sintesi di neurormoni diversi offre vantaggi rispetto al blocco specifico di una sola via biosintetica.

Anche se sperimentalmente i recettori ET_A e ET_B mediano azioni contrastanti (ad esempio vasocostrizione/vasodilatazione), nella terapia dello scompenso vengono sperimentati sia bloccanti ET_A selettivi, che ET_A/ET_B misti. Entrambi i composti mostrano un profilo d'azione emodinamica favorevole, non dissimile da molti altri farmaci proposti/usati nello scompenso: riduzione della pressione arteriosa, riduzione delle resistenze periferiche e polmonari, aumento della portata cardiaca.

Trial clinici di fase II e III sono stati condotti o sono in corso per vari bloccanti e per un ECE (Tab. I). I risultati su tollerabilità ed efficacia non sono sempre favorevoli, in analogia con le osservazioni sperimentali.

I farmaci più studiati sono i bloccanti ET_A/ET_B, e tra questi il bosentan, con il quale era iniziato un trial di mortalità, il Research on Endothelin Antagonism in Chronic Heart Failure (REACH-1)[72]. Questo studio è stato interrotto prematuramente per un eccesso di segnalazioni di tossicità epatica nel gruppo bosentan. L'eccesso di reazioni indesiderate è stato attribuito alla dose troppo elevata di 1 g/die di bosentan e quindi è iniziato un nuovo trial con dosi più basse di 50-100 mg/die, l'Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure (ENABLE).

Il tezosentan, un altro bloccante ET_A/ET_B, ha migliorato l'emodinamica rispetto al placebo in 292 pazienti (RITZ-2) che presentavano scompenso cardiaco acuto. Gli effetti indesiderati associati al tezosentan erano principalmente cefalea e ipotensione sintomatica[73].

I risultati di uno studio più ampio, il RITZ-1, su 669 pazienti con insufficienza cardiaca cronica sono stati neutri sia per l'endpoint primario, miglioramento della dispnea, che per quelli secondari, morte o peggioramento dello scompenso. Tra gli effetti indesiderati sono stati riportati cefalea, ipotensione, scompenso cardiaco, nausea, disfunzione renale fino a insufficienza.

Un altro bloccante ET_A/ET_B, l'enrasentan, verrà probabilmente ritirato dall'azienda produttrice dopo che uno studio su 419 pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica (Enrasentan Cooperative Randomized Evaluation-ENCOR) si è concluso con un risultato negativo sull'efficacia (endpoint combinato clinico sul grado di insufficienza cardiaca) e sfavorevole sulla tollerabilità. Infatti, nel gruppo enrasentan si sono registrati più episodi di peggioramento dello scompenso, più decessi e più effetti indesiderati[74]. I risultati negativi con l'enrasentan suggeriscono che i bloccanti di ET_1 misti non sono dei buoni candidati nella terapia dello scompenso cardiaco.

Un bloccante selettivo ET_A, il darusentan, ha ridotto la pressione arteriosa, senza aumentare la frequenza cardiaca, in 392 pazienti con ipertensione lieve-moderata nello studio Hypertension, Endothelin Antagonist Treatment 1 (HEAT-1). Gli effetti indesiderati attribuiti al darusentan, in particolare le vampate di rossore e l'edema periferico, dipendevano dalla dose[75]. È in corso uno studio di fase II sul darusentan nello scompenso cardiaco.

Nonostante questi agenti siano stati studiati in campo cardiovascolare, soprattutto nello scompenso cardiaco e nell'ipertensione, sta emergendo una nuova indicazione, l'ipertensione polmonare. In un trial di fase II su 32 pazienti con ipertensione polmonare primaria o da scleroderma, il bosentan ha aumentato la tolleranza allo sforzo e migliorato il quadro emodinamico rispetto al placebo[76].

Il sitaxsentan (bloccante ET_A) ha dimostrato effetti emodinamici favorevoli in 48 pazienti in classe NYHA III-IV con ipertensione polmonare[77]. Un trial più ampio di fase III è in corso in 180 pazienti con ipertensione polmonare, il Sitaxsentan To Relieve ImpaireD Exercise in pulmonary hypertension (STRIDE).

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

Tabella I. Antagonisti recettoriali dell'endotelina e inibitori dell'enzima di conversione dell'endotelina in sviluppo clinico.

Composto	Nome	Industria farmaceutica	Selettività	Indicazioni	Studi clinici (≥ fase II)	Commenti
RO 470203	Bosentan	Roche, Actelion	ET_A/ET_B	SC	Fase III	Trial di mortalità REACH-1 per tossicità epatica, nuovo trial ENABLE concluso con 1500 pazienti
				Ipertensione polmonare	Pre-registrazione	Trial BREATHE-1 concluso con 213 pazienti con ipertensione polmonare
SB 217242	Enrasentan	GlaxoSmithKline	ET_A/ET_B	SC	Fase III	Trial ENCOR ha dimostrato inefficacia ed eccesso di reazioni avverse in 419 pazienti
TBC 11251	Sitaxsentan sodio	Texas Biotechnology	ET_A	SC	Fase II	
				Ipertensione polmonare	Fase III	Trial STRIDE in 180 pazienti
LU 135252	Darusentan	Knoll	ET_A	SC	Fase II	
				Ipertensione	Fase II	Trial HEAT-1 in 392 pazienti ipertesi
J 104132		Banyu	ET_A/ET_B	SC	Fase II	
RO 610612	Tezosentan	Roche, Actelion	ET_A/ET_B	SC acuto	Fase III	RITZ 1-4
				Ipertensione	Fase II	
SLV 306		Solvay	NEPi/ECEi	SC	Fase II	

SC = scompenso cardiaco; ECEi = inibitore dell'enzima di conversione dell'endotelina; ET = endotelina; NEPi = inibitore dell'endopeptidasi neutra.

I risultati positivi in questa patologia non frequente, ma grave e senza terapie croniche efficaci disponibili costituiranno la base per una richiesta di registrazione alla Food and Drug Administration per questa indicazione.

Conclusioni. Occorrerà attendere la conclusione dei trial in corso e nuovi trial prima di poter stabilire quale sia e se ci sia una collocazione degli inibitori dell'ET tra gli inibitori dell'attivazione neurormonale nella terapia delle malattie cardiovascolari e dello scompenso cardiaco in particolare.

Riassunto

L'iperattivazione neuroumorale contribuisce alla fisiopatologia ed alla progressione dell'insufficienza cardiaca. L'uso degli inibitori farmacologici dei sistemi renina-angiotensina-aldosterone e beta-adrenergici migliora la mortalità e la morbidità di questa malattia. Tra le molecole con effetti deleteri, il fattore di necrosi tumorale (TNF)-α e l'endotelina (ET) partecipano al peggioramento dello scompenso. Il TNF-α oltre ad esercitare un effetto inotropo negativo può portare a modificazioni fenotipiche tipicamente osservate nello scompenso, ovvero la morte dei cardiomiociti, e la disorganizzazione dell'interstizio. L'ET favorisce la vasocostrizione, la crescita e la proliferazione cellulare. Sulla base di effetti favorevoli osservati in studi sperimentali, la capacità di rallentare la progressione dell'insufficienza cardiaca degli inibitori selettivi per il TNF-α o per l'ET è stata valutata in studi clinici. I risultati ottenuti finora mostrano un quadro contrastante, che coincide con alcune osservazioni negative in modelli animali di scompenso. L'etanercept (Enbrel, un dimero ricombinante formato da due molecole di TNFR p75s fuse al frammento Fc dell'IgG1 umana) risulta utile ed efficace in modelli preclinici, ma più deludente nell'uomo. Uno studio clinico (Randomized EtaNErcept Worldwide evAluation-RENEWAL) è stato interrotto prematuramente poiché non si poteva evidenziare nessun beneficio statisticamente provato su un numero pre-specificato di pazienti. I risultati contrastanti emersi da studi clinici di fase II o III con vari antagonisti recettoriali dell'ET nell'insufficienza cardiaca, fanno sì che nessuno dei farmaci di questa classe abbia ricevuto l'approvazione per l'indicazione della terapia dello scompenso, mentre il bosentan è stato recentemente approvato per il trattamento dell'ipertensione polmonare dalla Food and Drug Administration. In questa rassegna verranno discussi i meccanismi attraverso i quali il TNF-α e l'ET esercitano effetti dannosi, e alcune ipotesi per spiegare il fallimento degli antagonisti di queste due molecole nel trattamento clinico dello scompenso.

Parole chiave: Endoteline; Insufficienza cardiaca congestizia; Ipertensione polmonare.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

Bibliografia

1. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc Natl Acad Sci USA 1975; 72: 3666-70.
2. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. J Exp Med 1985; 161: 984-95.
3. Pennica D, Hayflick JS, Bringham TS, et al. Cloning and expression in E. coli of the cDNA for murine tumor necrosis factor. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 6060-4.
4. Levine B, Kalman J, Mayer L, et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. N Engl J Med 1990; 323: 236-41.
5. McMurray J, Abdullah I, Dargie HJ, Saphiro D. Increased concentrations of tumor necrosis factor in cachectic patients with severe chronic heart failure. Br Heart J 1991; 66: 356-8.
6. Dukta DP, Elborn JS, Delamere F, et al. Tumor necrosis factor α in severe congestive cardiac failure. Br Heart J 1993; 70: 141-3.
7. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, et al. The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. N Engl J Med 1989; 321: 280-7.
8. Hegewisch S, Weh HJ, Hossfeld DK, et al. TNF-induced cardiomyopathy. Lancet 1990; 2: 294-5.
9. Millar AB, Singer M, Meager A, et al. Tumor necrosis factor in bronchopulmonary secretions of patients with adult respiratory syndrome. Lancet 1989; 2: 712-3.
10. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, et al. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. Science 1992; 257: 387-9.
11. McTiernan CF, Lemster BH, Frye CS, et al. Interleukin 1β inhibits phospholamban gene expression in cultured cardiomyocytes. Circ Res 1997; 81: 493-503.
12. Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, et al. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 6753-7.
13. Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. Circulation 1998; 97: 1382-91.
14. Kubota T, McTiernan CF, Frye CS, et al. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-α. Circ Res 1997; 81: 627-35.
15. Irwin MW, Mak S, Mann DL, et al. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor-α in postinfarction dysfunctional myocardium. Circulation 1999; 99: 1492-8.
16. Ferrari R, Bachetti T, Confortini R, et al. Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. Circulation 1995; 92: 1479-86.
17. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. Circulation 2000; 102: 3060-7.
18. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, et al. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure. An analysis of the cytokine database from the vesnarinone trial (VEST). Circulation 2001; 103: 2055-9.
19. Ohtsuka T, Hamada M, Hiasa G, et al. Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2001; 37: 412-7.
20. Zabel P, Greinert U, Entzian P, et al. Pentoxifylline on circulating cytokines (TNF and IL-6) in severe pulmonary tuberculosis. In: Fiers W, Buurman WA, eds. Tumor necrosis factor: molecular and cellular biology and clinical relevance. Basel: S. Karger, 1993: 178-81.
21. Wagner DR, Combes A, McTiernen CF, et al. Adenosine inhibits lipopolysaccharide-induced cardiac expression of tumor necrosis factor-α. Circ Res 1998; 82: 47-56.
22. Leier CV, Huss P, Lewis RP, et al. Drug-induced conditioning in congestive heart failure. Circulation 1982; 65: 1382-7.
23. Milani RV, Mehra MR, Endres S, et al. The clinical relevance of circulating tumor necrosis factor-α in acute decompensated chronic heart failure with cachexia. Chest 1996; 110: 992-7.
24. Wagner DR, McTiernan CF, Sanders VJ, et al. Adenosine inhibits lipopolysaccharide-induced secretion of tumor necrosis factor-α in the failing human heart. Circulation 1998; 97: 521-4.
25. Meldrum DR, Cain BS, Cleveland JC, et al. Adenosine decreases post-ischemic cardiac TNF-α production: anti-inflammatory implications for preconditioning and transplantation. Immunology 1997; 92: 472-7.
26. Sliwa K, Skudicky D, Candy G, et al. Randomised investigation of effects of pentoxifylline on left ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. Lancet 1998; 351: 1091-3.
27. Mohler KM, Torrance DS, Smith CA, et al. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. J Immunol 1993; 151: 1548-61.
28. Kubota T, Bounoutas GS, Miyagishima M, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor abrogates myocardial inflammation but not hypertrophy in cytokine-induced cardiomyopathy. Circulation 2000; 101: 2518-25.
29. Kadokami T, Frye C, Lemster B, et al. Anti-tumor necrosis factor-α antibody limits heart failure in a transgenic model. Circulation 2001; 104: 1094-7.
30. Deswal A, Bozkurt B, Seta Y, et al. Safety and efficacy of a soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel, etanercept) in patients with advanced heart failure. Circulation 1999; 99: 3224-6.
31. Bozkurt B, Torre-Amione G, Warren MS, et al. Results of targeted anti-tumor necrosis factor therapy with etanercept (Enbrel) in patients with advanced heart failure. Circulation 2001; 103: 1044-7.
32. Ferrari R. Tumor necrosis factor: a double facet cytokine. Cardiovasc Res 1998; 37: 554-9.
33. Sandborn W, Hanauer SB, Katz S, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of subcutaneous etanercept (p75 soluble tumor necrosis factor: Fc fusion protein) in the treatment of moderate to severe Crohn's disease. (abstr) Gastroenterology 2001; 120 (Suppl 1): A20.
34. D'Haens G, Van Deventer S, Van Hogezand R, et al. Endoscopic and histological healing with infliximab anti-tumor necrosis antibodies in Crohn's disease: a European multicenter trial. Gastroenterology 1999; 116: 1029-34.
35. Roig E, Orus J, Parè C, et al. Serum interleukin-6 in congestive heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. Am J Cardiol 1998; 82: 688-90.
36. Wollert K, Taga T, Saito M, et al. Cardiotrophin-1 activates a distinct form of cardiac muscle cell hypertrophy. J Biol Chem 1996; 271: 9535-45.
37. McGowan GA, Mann DL, Kormos RL, Feldman AM, Murali S. Circulating interleukin-6 in severe heart failure. Am J Cardiol 1997; 79: 1128-31.
38. Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, et al. Interleukin-6

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure. J Am Coll Cardiol 1998; 31: 391-8.
39. Munger MA, Johnson B, Amber IJ, et al. Circulating concentrations of proinflammatory cytokines in mild or moderate heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. Am J Cardiol 1996; 77: 723-7.
40. Deliargyris EN, Raymond RJ, Theoharides TC, et al. Sites of interleukin 6 release in patients with acute coronary syndromes and in patients with congestive heart failure. Am J Cardiol 2000; 86: 913-8.
41. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. N Engl J Med 1999; 341: 1276-83.
42. Latini R, Bianchi M, Correale E, et al. Cytokines in acute myocardial infarction: selective increase in circulating tumor necrosis factor, its soluble receptor and interleukin-1 receptor antagonist. J Cardiovasc Pharmacol 1994; 23: 1-6.
43. Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. Am J Physiol 1985; 248: C550-C556.
44. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988; 332: 411-5.
45. Spieker LE, Noll G, Ruschitzka FT, Lüscher TF. Endothelin receptor antagonists in congestive heart failure: a new therapeutic principle for the future? J Am Coll Cardiol 2001; 37: 1493-505.
46. Battistini B, D'Orléans-Juste P, Sirois P. Endothelins: circulating plasma levels and presence in other biological fluids. Lab Invest 1993; 60: 600-28.
47. Loffler BM, Maire JP. Radioimmunological determination of endothelin peptides in human plasma: a methodological approach. Endothelium 1994; 1: 273-86.
48. McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. Plasma endothelin in chronic heart failure. Circulation 1992; 85: 1374-9.
49. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, et al. Endothelin in human congestive heart failure. Circulation 1994; 89: 1580-6.
50. Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. N Engl J Med 2001; 345: 1667-75.
51. Latini R, Anand I, Masson S, et al. CHF severity and neurohormonal activation in a large international population with chronic heart failure enrolled in Val-HeFT. (abstr) J Am Coll Cardiol 2001; 37: 148A.
52. Margulies KB, Hildebrand FJ, Lerman A, Perrella MA, Burnett JJ. Increased endothelin in experimental heart failure. Circulation 1990; 82: 226-30.
53. Loffler BM, Roux S, Kalina B, Clozel M, Clozel JP. Influence of congestive heart failure on endothelin levels and receptors in rabbits. J Mol Cell Cardiol 1993; 25: 407-16.
54. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, et al. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure. Marked increase in endothelin-1 production in the failing heart. Circulation 1996; 93: 1214-22.
55. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. Nature 1996; 384: 353-5.
56. Øie E, Vinge LE, Tonnessen T, et al. Transient, isopeptide-specific induction of myocardial endothelin-1 mRNA in congestive heart failure in rats. Am J Physiol 1997; 273: H1727-H1736.
57. Picard P, Smith PJ, Monge JC, et al. Coordinated upregulation of the cardiac endothelin system in a rat model of heart failure. J Cardiovasc Pharmacol 1998; 31: S294-S297.
58. Spinale FG, Walker JD, Mukherjee R, et al. Concomitant endothelin receptor subtype-A blockade during the progression of pacing-induced congestive heart failure in rabbits. Beneficial effects on left ventricular and myocyte function. Circulation 1997; 95: 1918-29.
59. Borgeson DD, Grantham JA, Williamson EE, et al. Chronic oral endothelin type A receptor antagonism in experimental heart failure. Hypertension 1998; 31: 766-70.
60. Hu K, Gaudron P, Scmidt TJ, Hoffmann KD, Ertl G. Aggravation of left ventricular remodeling by a novel specific endothelin ET_A antagonist EMD94246 in rats with experimental myocardial infarction. J Cardiovasc Pharmacol 1998; 32: 505-8.
61. Pfeffer JM, Finn PV, Zornoff LAM, Pfeffer MA. Endothelin-A receptor antagonism during acute myocardial infarction in rats. Cardiovasc Drugs Ther 2000; 14: 579-87.
62. Wada A, Tsutamoto T, Fukai D, et al. Comparison of the effects of selective endothelin ET_A and ET_B receptor antagonists in congestive heart failure. J Am Coll Cardiol 1997; 30: 1385-92.
63. Mulder P, Boujedaini H, Richard V, et al. Selective endothelin-A versus combined endothelin-A/endothelin-B receptor blockade in rat chronic heart failure. Circulation 2000; 102: 491-3.
64. Teerlink JR, Loffler BM, Hess P, Maire JP, Clozel M, Clozel JP. Role of endothelin in the maintenance of blood pressure in conscious rats with chronic heart failure. Acute effects of the endothelin receptor antagonist Ro 47-0203 (bosentan). Circulation 1994; 90: 2510-8.
65. Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilatation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction. Possible involvement of myocardial endothelin system in ventricular remodeling. Circulation 1997; 96: 3963-7.
66. Øie E, Bjonerheim R, Groggard H, et al. ET-receptor antagonism, myocardial gene expression and ventricular remodeling during CHF in rats. Am J Physiol 1998; 275: H868-H877.
67. Nguyen QT, Cernacek P, Sirois MG, et al. Long-term effects of nonselective endothelin A and B receptor antagonism in postinfarction rats. Importance of timing. Circulation 2001; 104: 2075-81.
68. Jasmin JF, Lucas M, Cernacek P, Dupuis J. Effectiveness of a nonselective $ET_{A/B}$ and a selective ET_A antagonist in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. Circulation 2001; 103: 314-8.
69. Martin P, Tzanidis A, Stein-Oakley A, Krum H. Effect of highly selective endothelin-converting enzyme inhibitor on cardiac remodeling in rats after myocardial infarction. J Cardiovasc Pharmacol 2000; 36: S367-S370.
70. Wada A, Tsutamoto T, Ohnishi M, et al. Effects of a specific endothelin-converting enzyme inhibitor on a cardiac, renal and neurohumoral functions in congestive heart failure. Comparison of effects with those of endothelin A receptor antagonism. Circulation 1999; 99: 570-7.
71. Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P, et al. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. Lancet 1995; 346: 732-6.
72. Packer M, Swedberg K, McMurray JJV, for the REACH-1 Investigators. Multicentre, double-blind, placebo-controlled study of long-term endothelial blockade with bosentan in chronic heart failure: results of the REACH trial. (abstr) Eur Heart J 1999; 20: S95.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.204 Sat, 12 Jul 2025, 04:39:55

73. Torre-Amione G, Young JB, Colucci W, et al. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study of the efficacy and safety of tezosentan in patients with acute decompensated heart failure (RITZ-2). J Am Coll Cardiol 2001; 38: 606-7.
74. Abraham WT, Ascheim D, Demarco T, et al. Effects of enrasentan, a non selective endothelin receptor antagonist, in class II to III heart failure: results of the Enrasentan Cooperative Randomized (ENCOR) Evaluation. (abstr) J Am Coll Cardiol 2001; 38: 612.
75. Nakov R, Pfarr E, Eberle S. Dose-response, efficacy and safety of the endothelin-A receptor antagonist LU 135252 compared with placebo in patients with moderate hypertension. The HEAT study: Hypertension, Endothelin Antagonist Treatment. (abstr) Am J Hypertens 2001; 14: 96.
76. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, et al. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study. Lancet 2001; 358: 1119-23.
77. Givertz MM, Colucci WS, LeJemtel TH, et al. Acute endothelin A receptor blockade causes selective pulmonary vasodilation in patients with chronic heart failure. Circulation 2000; 101: 2922-7.