

FIGURE 1

Schematic illustration of the renin–angiotensin system (RAS). The ACE2–Ang-(1–7)–Mas axis (green lines) counterbalances the harmful effects of the ACE1–Ang II–AT1 axis (red lines). ACE: angiotensin-converting enzyme; APA: aminopeptidase A; APM: aminopeptidase M; AT1: angiotensin type-1 receptor; AT2: angiotensin type-2 receptor; AT4: angiotensin type-4 receptor; Mas: Mas receptor; MrgD: Mas-related G protein coupled receptor; MLDAD: mononuclear leukocyte-derived aspartate decarboxylase. *Da Christophe Guignabert, Frances de Man, Marc Lombès European Respiratory Journal 2018*

Quando il flusso sanguigno renale è ridotto, le cellule juxtaglomerulari nei reni secernono renina, una proteasi aspartilica, nella circolazione che scinde l'angiotensinogeno circolante prodotto dal fegato per formare il decapeptide inattivo Ang I (Ang- (1–10)) dall'amino-terminale porzione della proteina. Quindi, il dipeptide C-terminale di Ang I è prevalentemente suddiviso da ACE (noto anche come ACE1, una grande proteina di 200 kDa) che si trova principalmente sulla superficie endoteliale dei vasi polmonari, dando origine al peptide bioattivo Ang II (Ang- (1-8)). Tuttavia, Ang I è anche noto per essere un substrato di numerosi altri enzimi, come le catepsine D e G, l'attivatore del plasminogeno della tonina e dei tessuti che può anche formare questo principale effettore attivo del classico RAS, Ang II (e dei suoi peptidi derivati attivi). Quando viene prodotto Ang II, si lega al recettore accoppiato con proteina G AT1 che è noto per innescare una vasta gamma di effetti biologici tra cui secrezione di aldosterone, ritenzione di sale e acqua, infiammazione e potente vasocostrizione arteriolare. Mentre la maggior parte delle azioni Ang II sono mediate tramite AT1, la capacità di un altro recettore AT2 associato alla proteina G di legare Ang II porta alla vasodilatazione anziché alla vasocostrizione e rappresenta quindi la prima via nota controbilanciata del RAS. Inoltre, la scoperta che questi tagli proteolitici possono verificarsi anche al di fuori della circolazione sanguigna in una serie di sistemi

RAS intrinseci specifici del tessuto ha portato al concetto di RAS tissutale in grado di controllare in modo indipendente e locale il sistema circolante mediando diverse funzioni fisiologiche. Dalla sua identificazione nel 2000 la carbossipeptidasi ACE2 ha anche ricevuto un crescente interesse in diversi contesti di malattia e attualmente rappresenta il secondo percorso di RAS controbilanciato. ACE2, che condivide circa il 61% della sequenza omologica con i domini catalitici del suo omologo ACE1, idrolizza principalmente Ang II in due prodotti biologicamente attivi della cascata RAS, ovvero Ang- (1-9) e Ang- (1-7) con alta efficienza. Infatti, sia Ang- (1-9) che Ang- (1-7) promuovono la vasodilatazione e diminuiscono la crescita cellulare e le risposte infiammatorie (figura 1). Rispetto ad ACE1, ACE2 mostra uno schema di distribuzione più limitato, principalmente nel cuore, nei reni e nei polmoni. Numerosi studi recenti hanno messo in evidenza la disregolazione del RAS circolante e dei tessuti locali con un rapporto ACE / ACE2 squilibrato nei pazienti con alcune patologie polmonare (es ipertensione arteriosa polmonare). Tuttavia, il meccanismo attraverso il quale ACE2 svolge un ruolo nella malattia polmonare infiammatoria non è stato chiaramente identificato. Infatti, ACE2 è un enzima multifunzionale con diverse azioni non enzimatiche. Così come non è chiaro il ruolo di ACE2 sull'adattamento ventricolare destro, sebbene sia stato anche dimostrato che l'ACE2 umano ricombinante migliora la funzione ventricolare destra in un modello di sovraccarico di pressione. Interessante invece ai fini della comprensione dell'evoluzione del Covid è che l'estradiolo, tramite ER α , è un noto modulatore del recettore ACE / ACE2 e AT1 / AT2 e il rapporto che lega Ang II a IL6 poiché dato che Ang II potrebbe indurre l'interleuchina (IL) -6 attraverso un meccanismo dipendente dal recettore dei mineralcorticoidi (MR), gli antagonisti e gli agenti dei MR che colpiscono IL-6 o il suo recettore IL6R, rappresentano anche una strategia terapeutica alternativa

Ruolo del sistema renina-angiotensina aldosterone: aspetti fisiopatologici e farmacologici- Borghi- Position Paper SIIA

La *renina* venne indicata, già alla fine del XIX secolo, come fondamentale regolatore della pressione arteriosa ed ancora oggi è oggetto di significative ricerche sia in campo pre-clinico che clinico. Il sistema renina-angiotensina-aldosterone rappresenta, infatti, uno dei principali meccanismi di regolazione della pressione arteriosa e come tale è implicato nella patogenesi di molteplici patologie cardiovascolari, in primo luogo dell'ipertensione arteriosa e dell'insufficienza cardiaca. Numerosi sono i componenti di tale sistema: la renina, la prorenina, l'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), l'angiotensinogeno, l'angiotensina I e l'angiotensina II; quest'ultima rappresenta l'effettore finale del sistema renina angiotensina ed esercita i suoi effetti sull'apparato cardiovascolare mediante il legame con specifici recettori, di cui si conoscono quattro sottotipi: AT1, AT2, non AT1/non AT2, AT4. La prima tappa della cascata enzimatica che porta alla produzione di angiotensina II consiste nella conversione dell'*angiotensinogeno* ad angiotensina I, ad opera dell'enzima proteolitico renina. La seconda tappa del processo prevede la conversione dell'angiotensina I ad angiotensina II, mediante una reazione catalizzata

dall'ACE. La renina e l'ACE rappresentano, pertanto, due attori principali del sistema renina-angiotensina. La renina è una glicoproteina (peso molecolare 35 000-40 000 Dalton) appartenente alla classe enzimatica delle aspartil proteasi, così chiamate per la presenza di due residui di acido aspartico a livello del sito attivo ed intimamente coinvolti nella reazione proteolitica. Viene sintetizzata, accumulata e secreta a livello delle cellule mioepiteliali dell'apparato juxtaglomerulare del nefrone; origina inizialmente dalla pre-prorenina dalla quale viene rimosso un peptide che subisce un processo di glicosilazione durante il trasporto nel reticolo endoplasmatico rugoso per essere trasformata in *prorenina*. Quest'ultima può, dunque, essere

secreta direttamente dall'apparato del Golgi oppure può essere immagazzinata in granuli ed essere successivamente secreta in seguito a stimoli di varia natura.

Recenti evidenze scientifiche hanno dimostrato non solo che la prorenina possiede attività enzimatica propria, mediante il legame ad un proprio specifico recettore, ma che essa esercita anche effetti biologici indipendenti dalla suddetta attività enzimatica, esitando in ipertrofia cellulare e fibrosi. Un'ulteriore considerazione sulla prorenina, derivante dai recenti lavori in letteratura, riguarda il potenziale ruolo di marker che essa eserciterebbe nelle complicanze microvascolari del diabete. La prorenina ematica, infatti, risulta aumentata in pazienti con diabete mellito di tipo 1 e 2 con maggiore tendenza allo sviluppo di microalbuminuria, potendo quindi rappresentare un fattore predittivo di progressione del danno microvascolare renale. La prorenina viene, successivamente, convertita in renina mediante un ulteriore taglio enzimatico di un peptidedi 43 aminoacidi, che può avvenire a livello delle cellule juxtaglomerulari o, più frequentemente, a livello del letto vascolare. Diversi meccanismi e sistemi recettoriali concorrono alla *regolazione della secrezione di renina*: barocettori, recettori neurosensoriali che rispondono a variazioni pressorie del sistema cardiovascolare, inducono, mediante un meccanismo di feedback negativo, una riduzione del rilascio di renina in risposta ad un aumento della pressione arteriosa; chemocettori, situati lungo il tubulo distale del nefrone, sensibili alla concentrazione del Na⁺ nella preurina, determinano un aumento della liberazione di renina in relazione ad aumenti della concentrazione di Na⁺ nel tubulo prossimale renale. Anche il sistema adrenergico partecipa alla regolazione della liberazione di renina; il legame dei recettori beta-1 adrenergici ai loro agonisti, in particolare all'adrenalina, determina un incremento del rilascio di renina, al contrario, il legame agli agenti betabloccanti inibisce la liberazione di renina, così come inibente e anche la stimolazione di recettori alfa-2 adrenergici, attraverso farmaci come la clonidina. Analogamente a quanto osservato per la prorenina, anche la renina possiede effetti biologici indipendenti dalla sua attività enzimatica; in studi condotti su cellule mesangiali in coltura, infatti, il legame della renina al proprio recettore produceva un incremento del TGF- β , fattore di crescita capace di controllare la proliferazione e la differenziazione cellulare, indipendente dall'inibizione esercitata dai farmaci ACE-inibitori. Oltre ai suddetti effetti biologici, l'azione enzimatica della renina all'interno del sistema renina-angiotensina si estrinseca nella conversione dell'angiotensinogeno in *angiotensina I*; quest'ultima e substrato dell'ACE, l'enzima coinvolto nella seconda tappa del processo produttivo che conduce alla formazione di angiotensina II. Tale enzima idrolizza un dipeptide dalla zona carbossiterminale dell'angiotensina I ed è quindi definito come una dipeptidil carbossipeptidasi. L'ACE è una glicoproteina ad elevato peso molecolare (135 000-150 000 Dalton) che contiene approssimativamente il 25% di carboidrati ed un atomo di zinco, indispensabile per la sua attività enzimatica. Il polmone è la sede principale in cui si localizza l'enzima, ma esso è stato riscontrato anche a livello del fegato, rene, letto vascolare sistemico, ileo, diaframma, corpo striato, ipofisi e testicoli, mentre solo una piccola quota dell'enzima è presente in forma libera nel plasma. L'ACE è coinvolto anche nel metabolismo degradativo della bradichinina, potente peptide ad attività vasodilatatrice. L'inibizione farmacologica dell'ACE determina un aumento dei livelli circolanti di bradichinina, la quale, interagendo con i propri recettori di tipo B2 endoteliali, provoca la liberazione di potenti agenti vasodilatanti quali la prostaciclina I₂ (PGI₂), la prostaglandina E₂ (PGE₂) e l'ossido nitrico (NO). Questo meccanismo è ritenuto partecipare all'effetto ipotensivante degli ACE-inibitorie, inoltre, può essere considerato responsabile, insieme ad altri meccanismi, della comparsa di tosse in corso di trattamento con tali farmaci. La reazione di conversione da angiotensina I in *angiotensina II*, mediata dall'ACE, non è l'unica via biosintetica conosciuta per la formazione di angiotensina II. Attualmente si ipotizza anche un *pathway alternativo*, che prevede una prima tappa in cui l'angiotensina I subisce l'azione di una aminopeptidasi, che la trasforma in des-acido-1-aspartico-angiotensina I, e una seconda tappa in cui quest'ultimo è trasformato dall'ACE in angiotensina II. In aggiunta, altri *enzimi non ACE* possono prendere

parte alla trasformazione di angiotensina I in angiotensina II, fra questi, i più importanti sono rappresentati dalle chimesi dell'apparato cardiovascolare, dal sistema enzimatico CAGE (enzima generante angiotensina II chemiostatico-sensibile) e da diverse endopeptidasi che possono generare non solo angiotensina II, ma anche altri frammenti angiotensinici come l'angiotensina III o IV. Risulta evidente che l'esistenza di tali vie alternative rappresenti un limite di efficacia biologica e clinica dell'ACE-inibizione. Relativamente alle attività di questi frammenti angiotensinici, è stato osservato che l'angiotensina IV, formata dall'angiotensina III per azione dell'aminopeptidasi M, esercita potenti effetti sulla memoria e la cognizione. Le azioni centrali e periferiche dell'angiotensina IV sono mediate da specifici recettori identificati come aminopeptidasi di membrana regolate dall'insulina (*insulin-responsive aminopeptidase*, IRAP), altresì conosciuti come recettori AT4. Il legame dell'angiotensina IV ai propri recettori esercita un effetto inibitorio sull'attività catalitica degli IRAP stessi e consente l'accumulo di diversi neuropeptidi legati al potenziamento della memoria.

Altre attività conseguenti al legame dell'angiotensina IV con i propri recettori includono la vasodilatazione renale, la natriuresi e il rimodellamento della matrice extracellulare.

Dalla via biosintetica principale mediata dall'ACE, così come da vie alternative, si genera, come detto in precedenza, l'angiotensina II, che regola l'omeostasi cardiovascolare modulando i propri effetti attraverso il legame con specifici siti recettoriali; i *recettori dell'angiotensina II* finora identificati sono quattro: il *recettore AT1*, recettore transmembranico accoppiato a proteine G, e implicato nelle principali azioni fisiopatologiche dell'angiotensina; è situato a livello delle fibrocellule muscolari lisce delle arteriole, del rene, della zona glomerulare del surrene, del fegato, del polmone, del cervello, del cuore e dell'utero. Agisce attraverso un meccanismo trasduzionale che coinvolge il fosfatidilinositolo difosfato (PIP2), con formazione di IP3 e aumento della concentrazione di Ca²⁺. Gli effetti del legame dell'angiotensina II sui recettori AT1 possono essere divisi in effetti a breve e a lungo termine. Gli effetti a breve termine, mediati dal recettore AT1, coinvolgono la vasocostrizione arteriolare, la ritenzione idrosalina, dovuta ad un aumento della produzione liberazione di aldosterone, ed il rilascio di catecolamine.

La risposta lenta coinvolge il rimodellamento strutturale ed induce aumento della pressione glomerulare, ipertrofia vascolare e ipertrofia miocardica. Questi effetti possono, pertanto, determinare nel lungo periodo nefropatia, danno endoteliale con aumento della risposta infiammatoria vasale e aterosclerosi e, infine, rimodellamento negativo cardiaco; il cambiamento conformazionale della struttura cardiaca è caratterizzato da una dilatazione della camera ventricolare sinistra che può, in ultimo, condurre a insufficienza cardiaca; il *recettore AT2*, anch'esso associato a proteine G, è distribuito a livello del surrene, dell'utero, del cervello, dei tessuti mesenchimali (feto), dei cardiomiociti, delle cellule endoteliali e dei fibroblasti. Il suo meccanismo di trasduzione si esplica attraverso una riduzione dei livelli di GMPc; benché le azioni mediate dal recettore AT2 non siano completamente note, è stato dimostrato che la sua attivazione determini effetti sul sistema vascolare opposti a quelli mediati dal recettore AT1. È stato osservato, infatti, un suo ruolo nella vasodilatazione anche attraverso la formazione di PGI₂, PGE₂ e NO, che contribuiscono alla riduzione della pressione arteriosa, e nel miglioramento della funzione cardiaca. Inoltre, esso è implicato anche nella modulazione dei canali ionici neuronali e nella inibizione della proliferazione cellulare. Oltre ai recettori AT1 e AT2, l'angiotensina II può legare anche altri due sottotipi recettoriali, i recettori non AT1/non AT2 e i recettori AT4, non ancora del tutto caratterizzati da un punto di vista funzionale; il *recettore non AT1/non AT2*, precedentemente noto come AT3, è localizzato a livello neuronale, ed è caratterizzato da un meccanismo di trasduzione correlato all'aumento del GMPc. L'attivazione di tale recettore determina la produzione di NO ed è responsabile dello sviluppo neuronale; infine, il *recettore AT4* è distribuito a livello della corteccia surrenalica, dei vasi sanguigni e di aree cerebrali con funzioni sensitive e motorie; esso svolge un ruolo nella regolazione del flusso ematico, nell'inibizione del riassorbimento del sodio, nei processi di

memorizzazione e nella vasodilatazione. E' importante sottolineare che l'angiotensina II non e l'unico prodotto che si genera dall'angiotensina I; quest'ultima, infatti, può anche essere metabolizzata ad angiotensina 1-7 attraverso l'enzima ACE 2 umano.

Quest'ultimo è una carbossipeptidasi composta da 805 aminoacidi e ha una breve sequenza di segnale; contiene un singolo dominio catalitico identico per il 42% ai due domini catalitici dell'ACE. Il substrato preferenziale dell'ACE 2 è l'angiotensina II, alla quale si lega con un'affinità circa 400 volte maggiore rispetto all'angiotensina I, determinando la formazione di angiotensina 1-7. L'ACE 2 può anche catalizzare la reazione di conversione dell'angiotensina I in angiotensina 1-9, la quale viene poi successivamente convertita in angiotensina 1-7 dall'ACE. In maniera simile, endopeptidasi plasmatiche possono convertire l'angiotensina I in angiotensina 1-7.

Il significato fisiologico dell'ACE 2 è ancora incerto; esso potrebbe operare come meccanismo controregolatore che si oppone agli effetti dell'ACE. L'ACE 2 regola, infatti, i livelli di angiotensina II e ne limita gli effetti convertendola ad angiotensina 1-7. L'angiotensina 1-7 è pleiotropica, così come l'angiotensina II, e può influenzare le funzioni di molti organi e sistemi. I suoi effetti sono mediati da uno specifico recettore Mas-1. Il proto-oncogene Mas codifica per questo recettore orfano che agisce con un meccanismo trasduzionale mediato da una proteina G. Attraverso il legame a tale recettore, l'angiotensina 1-7 induce vasodilatazione, natriuresi e diuresi. Si ritiene, pertanto, che l'asse ACE 2-angiotensina 1-7-Mas-1 abbia la funzione di controbilanciare gli effetti di vasocostrizione e ritenzione idrosalina mediati dall'asse classico ACE-angiotensina II-aldosterone. Recenti evidenze in letteratura hanno dimostrato che l'angiotensina 1-7 può formarsi anche per azione della neprilisina. Quest'ultima è una metalloproteasi di membrana di tipo 2, zinco-dipendente, caratterizzata da una distribuzione ubiquitaria. E' presente principalmente a livello renale, ma è anche ampiamente rappresentata a livello del tessuto cardiovascolare e in altri tessuti. La funzione biologica più importante della neprilisina è l'idrolisi dei peptidi natriuretici atriali; tuttavia, esistono molteplici altri substrati di tale enzima tra cui la sostanza P, le chinine, i peptidi oppioidi, la proteina beta-amiloide, le encefaline, la gastrina e, inoltre, l'angiotensina I e II. E' stato dimostrato che il ruolo della neprilisina all'interno del sistema renina-angiotensina sia quello di convertire l'angiotensina I in angiotensina 1-7 e di idrolizzare l'angiotensina II. La principale via di degradazione dell'angiotensina rimane, comunque, quella mediata dalle aminopeptidasi. Il principale prodotto del metabolismo dell'angiotensina II, a seguito dell'attività aminopeptidasica, è l'angiotensina III. Qualitativamente, gli effetti dell'angiotensina III sono simili a quelli dell'angiotensina II, entrambi stimolano la secrezione di aldosterone con eguale potenza; l'angiotensina III, tuttavia, ha una potenza del 25% e del 10% ridotta se confrontata con l'angiotensina II rispettivamente nell'indurre un aumento della pressione arteriosa e nella stimolazione della midollare del surrene. Sia l'angiotensina I che l'angiotensina II vengono, infine, inattivate dalle angiotensinasi, un termine che comprende endopeptidasi, carbossipeptidasi e varie altre peptidasi coinvolte nella degradazione ed inattivazione di tali composti e dei peptidi dell'angiotensina. Nel complicato processo di regolazione dell'omeostasi pressoria, il sistema renina-angiotensina interagisce unitamente a numerosi altri sistemi (sistema nervoso simpatico, prostaglandinico, dopaminergico e serotoninergico) e mediatori (peptidi natriuretici atriali, endotelina e NO) nella modulazione della pressione arteriosa. I farmaci che interagiscono sul sistema renina-angiotensina, modulandone le azioni, possono agire su diverse tappe del sistema. Da un punto di vista clinico, le classi di farmaci maggiormente utilizzati agiscono principalmente su quattro livelli:

- inibizione della liberazione di renina (*betabloccanti, alfa-2 adrenergici stimolanti*);
- inibizione dell'enzima ACE che trasforma l'angiotensina I in angiotensina II (*ACE-inibitori*);

- antagonismo dei recettori di tipo AT1 dell'angiotensina II (*sartani*);
- inibizione della renina (*inibitori diretti della renina*).

2- Enrico Bologna

Specialista in Medicina Interna, Gastroenterologia e Patologia generale.

Già Primario Ospedale Fatebenefratelli, Isola Tiberina, Roma.

Libero docente in Patologia Medica, Università di Roma "Sapienza"

In una visione classica il Sistema Renina-Angiotensina (Renin Angiotensin System, RAS) è costituito dalla Prorenina, prodotta da vari tessuti (surrene, ovaia, testicolo, placenta e retina), che nelle cellule renali iuxtaglomerulari subisce una scissione proteolitica con rimozione di 43 aminoacidi dando luogo all'enzima aspartil-proteasi Renina; questa scinde una alfa-2 globulina costituita da 452 aminoacidi prodotta dal fegato, l'Angiotensinogeno, a formare un decapeptide inattivo denominato Angiotensina I (Ang I) che è successivamente scisso da un enzima di conversione (Angiotensin Converting Enzyme, ACE) a formare l'octapeptide attivo Angiotensina II (Ang II). Gli effetti più noti di Ang II dipendono dal suo legame al recettore AT1 (AT1R). Questo appartiene alla famiglia dei recettori transmembrana accoppiati a proteine G (G Protein Coupled Receptor, GPCR), che rispondono al contatto con molecole extracellulari attivando la trasduzione di segnali che determinano risposte cellulari. Il legame di Ang II ad AT1-R determina l'emissione di molteplici segnali che provocano l'attivazione del fattore nucleare NF κ B, mediatore ubiquitario di risposte di tipo infiammatorio comprendenti fra l'altro la liberazione di proteine di adesione (VCAM-1, ICAM-1, MCP-1, E-selectin); altre conseguenze di questo legame sono la produzione di specie reattive dell'ossigeno, l'ipertrofia dei miociti vascolari con costrizione arteriosa, l'aumento della pressione arteriosa e l'induzione di insulinoresistenza. Dall'attivazione di AT1-R dipende anche l'espressione di recettori delle LDL ossidate (Lecitin-like OX LDL receptor, LOX) e la liberazione di citochine e della Matrix MetalloProteinase (MMP), ritenuta la principale responsabile dell'instabilità delle placche ateromasiche.

Sul rene il legame di Ang II ad AT1-R provoca attivazione dei canali del calcio voltaggio-dipendenti con contrazione arteriolare generalizzata, che è particolarmente intensa a carico delle arteriole efferenti; determina inoltre riduzione del flusso midollare. Queste alterazioni modificano l'equilibrio delle forze di Starling determinando aumento del riassorbimento idrosalino.

Nel sistema nervoso centrale il RAS esercita, in modo indipendente dal RAS sistemico, un ruolo di grande rilievo sulle funzioni cardiovascolari influenzando il sistema nervoso autonomo, la sensibilità barorecettoriale, la liberazione di vasopressina, la sete e la ricerca del sale. Ang II agisce anche come neuropeptide aumentando, attraverso il legame agli AT1-R, l'eccitabilità dei neuroni dei centri regolatori dell'ipotalamo e del mesencefalo. Inoltre, le alterazioni circolatorie indotte da Ang II e la produzione di specie reattive dell'ossigeno determinano una serie di effetti sfavorevoli fra cui disfunzione endoteliale con riduzione delle cellule progenitrici endoteliali, riduzione della vasodilatazione flusso-mediata, alterazione del *coupling* neurovascolare, aumento della permeabilità della barriera emato-encefalica, infiammazione e ipertrofia vascolare. Queste alterazioni determinano ischemia cerebrale e predispongono all'ictus e alla demenza.

L'attivazione dei recettori AT1 ad opera di Ang II è condizionata da variabili genetiche, fisiologiche e farmacologiche. Per quanto riguarda le prime, il gene umano di ACE, posto sul cromosoma 17, è soggetto a polimorfismi per Inserimento (allele-I) o Delezione (allele-D), quindi con possibilità di tre genotipi: DD, ID, II.

La concentrazione plasmatica e tissutale (in particolare cardiaca) di ACE, e la conseguente produzione di Ang II, è 1,5 – 3 volte più elevata nei soggetti con il genotipo DD rispetto a quelli con genotipo II; aumenti di entità intermedia si rilevano per il genotipo ID. Questi rilievi concordano con l'osservazione che, in soggetti normotesi, l'affetto acuto di un ACE-inibitore è significativamente maggiore e più protratto in presenza di ACE genotipo II.

Numerose ricerche hanno dimostrato che la presenza di genotipo ACE DD si associa a dilatazione e rimodellamento ventricolari postinfartuali, ipertrofia ventricolare sinistra in soggetti ipertesi, ipertrofia ventricolare sinistra in soggetti con cardiomiopatia ipertrofica, ipertrofia ventricolare sinistra da allenamento sportivo, ridotta sopravvivenza e maggior massa ventricolare in soggetti con insufficienza cardiaca da cardiomiopatia dilatativa idiopatica, maggior rischio di cardiomiopatia negli etilisti, maggior rischio aterosclerotico in soggetti diabetici e dislipidemicici. Infine, l'espressione dei recettori AT1 è influenzata da vari fattori endogeni ed esogeni: è favorita da LDL, Insulina, Progesterone, ed Eritropoietina mentre è ostacolata da Angiotensina II, Interferone γ , Estrogeni, Vitamina A, EGF, PDGF, Ormone tiroideo, NO e Statine.

Agli effetti dell'attivazione di AT1-R si contrappongono quelli conseguenti all'attivazione che Ang II svolge nei confronti dei recettori AT2, anch'essi appartenenti ai GPCR e costituiti da una sequenza aminoacidica che ripete per il 34% quella degli AT1-R umani e per circa l'80% quella degli AT1-R dei roditori, aspetto questo che conferisce particolare valore agli studi sperimentali condotti su questi animali.

Il legame di Ang II agli AT2-R induce vasodilatazione (via BK, NO, cGMP), stimola fosfatasi inibitorie di ATR-1, contrasta il *signaling* infiammatorio di AT1-R, inibisce la crescita cellulare, ostacola il rimodellamento vascolare e interviene favorevolmente nella differenziazione neuronale. E' interessante rilevare che i recettori AT2 presentano una concentrazione particolarmente elevata nel sistema nervoso centrale, il cui sistema RAS è indipendente da quello periferico e in cui i livelli di Ang II sono più elevati di quelli rilevati nel sangue circolante. Questi recettori sono presenti in aree preposte al controllo del bilancio idro-elettrolitico, della secrezione di Vasopressina, del sistema autonomo e delle attività cognitive, comportamentali e motorie. In particolare, i recettori AT2 intervengono in varie funzioni cerebrali svolgendo attività protettiva soprattutto in rapporto a malattie neurodegenerative (Alzheimer, Parkinson), epilessia, diabete mellito e sindrome metabolica. L'attività protettiva dei recettori AT2 ha trovato conferma sperimentale nella capacità di un agonista ("Composto 21") di ridurre i danni vascolari e la fibrosi in ratti spontaneamente ipertesi.

Il blocco farmacologico di RAS può essere effettuato a più livelli con molecole che inibiscono la Renina (Aliskiren), l'ACE (ACE-inibitori) o il recettore AT1 (Angiotensin Receptor Blocker, ARB). Ma la somministrazione associata di un ACE inibitore (Ramipril) e di un ARB (Telmisartan) non ha determinato vantaggi in soggetti vasculopatici o diabetici con danno d'organo, come dimostrato dallo Studio ONTARGET. Inoltre tentativi di associare un inibitore diretto della renina (Aliskiren) con un ACE inibitore o con un ARB sono risultati in un peggioramento della prognosi di pazienti diabetici, come osservato nello Studio ALTITUDE. Sulla base di un'ampia meta-analisi l'EMA (European Medicines Agency) ha avviato nel 2013 una rivalutazione della pratica di associare medicinali che bloccano a diversi livelli il RAS nel trattamento della ipertensione e della insufficienza cardiaca congestizia. Per quanto riguarda il blocco isolato della renina, nello Studio ALPINE, presentato al meeting 2013 della American Society of Hypertension, il trattamento per 36 settimane con Aliskiren di pazienti con ateromasia aortica è stato seguito da un significativo aumento volumetrico delle placche aortiche rispetto ai controlli, mentre nessuna variazione è stata rilevata in pazienti trattati con ACEi o ARB. Questo sorprendente risultato contrasta con le dimostrazioni di effetto protettivo di Aliskiren nei confronti del processo aterosclerotico. Si deve però considerare che queste ultime dimostrazioni, tutte derivanti da studi sperimentali su animali, sono state effettuate su fasi precoci dell'aterosclerosi

sperimentalmente indotta e quindi in condizioni completamente differenti rispetto allo studio ALPINE, che è stato condotto su lesioni aterosclerotiche umane in stato avanzato.

Un altro aspetto di grande interesse emerso dallo studio ALPINE è rappresentato dal netto aumento della Leptina osservato nei pazienti trattati con Aliskiren. Molti studi hanno dimostrato che Leptina è un predittore indipendente di eventi acuti coronarici e cerebrali; è stato anche osservato che i livelli di Leptina si riducono a seguito di trattamento con ACE-inibitori o ARB, mentre non si modificano in misura significativa per effetto di calcio-antagonisti o di statine¹⁷.

Questi risultati, insieme a nuove acquisizioni provenienti dalle ricerche di base, dimostrano la grande complessità degli effetti dei vari componenti del RAS in molti tessuti, in buona parte spiegabili con le potenzialità pleiotropiche tipiche dei GPCR. Tale complessità ha trovato una possibile spiegazione nella scoperta di prodotti di degradazione di Ang II come Ang 2-8 (Ang III) e Ang 3-8 (Ang IV) e nella successiva identificazione di altri peptidi biologicamente attivi derivati da Ang II come Ang 1-9 e Ang 1-7 così come di altri recettori oltre ad AT2-R come AT3-R, AT4-R (o Insulin Regulated Aminopeptidase, IRAP) e Mas. Sono stati inoltre identificati numerosi altri enzimi responsabili della scissione di peptidi quali catepsine, callicreina, pepsina, TPA, chimasi e le aminopeptidasi A e N, da cui dipende la produzione di Ang III e Ang IV; maggiore interesse riveste la carbossipeptidasi ACE2, da cui dipende la produzione di Ang 1-7.

In conseguenza di queste acquisizioni il concetto secondo cui Ang II è il principale peptide effettore del RAS e che il suo ruolo primario è rappresentato dall'attività regolatoria sul tono arterioso è attualmente da ritenersi superato; il RAS deve invece essere considerato come un sistema altamente complesso che influenza con molteplici meccanismi e con effetti spesso contrastanti non solo il sistema cardiovascolare, i reni e i surreni, ma anche altre strutture fra cui il sistema nervoso e il midollo emopoietico.

Tra i peptidi derivanti dalla scissione di Ang II particolare interesse è stato sollevato dall'eptapeptide Ang (1-7), prodotto dall'azione di ACE2 su Ang I (via Angiotensina 1-9) e da Ang II. Ang (1-7), inizialmente considerato come un derivato inattivo di Ang II, si è rivelato come un importante componente del RAS; esso infatti agisce sul recettore Mas, la cui attivazione svolge effetti opposti a quelli determinati dal recettore AT1: esso infatti provoca vasodilatazione liberando NO e prostaciclina e contrasta le attività mitogene, procoagulanti, aritmogene, sodioritensive e antidiuretiche di Ang II. In ratti con deficit geneticamente indotto del recettore Mas si osservano importanti modificazioni fenotipiche, quali disfunzione endoteliale, alterazioni della pressione arteriosa e dei baroriflessi, fibrosi cardiaca, trombofilia e alterazioni simil-sindrome metabolica. Nell'animale la presenza del recettore Mas è particolarmente rilevante nel sistema nervoso centrale, in corrispondenza di aree coinvolte nel controllo di funzioni cardiovascolari oltre che di funzioni comportamentali. Si può fra l'altro ritenere che una parte degli effetti favorevoli svolti dagli ACE-inibitori dipenda dalla maggior produzione di Ang (1-7) resa possibile dal maggior accumulo di Angiotensinogeno.

Indipendentemente dall'intervento del recettore Mas, inoltre, Ang (1-7) potenzia l'attività di bradichinina e antagonizza l'effetto ipertrofizzante di Ang II esercitando una ampia azione inibente l'adesione di cellule all'endotelio e quindi una potente attività antiaterogena e vasoprotettrice.

Alla identificazione delle molteplici azioni protettive svolte da Ang (1-7) si è aggiunta la dimostrazione sperimentale della capacità di AVE 0991, agonista non peptidico che mima gli effetti di Ang (1-7), di prevenire l'aterosclerosi sperimentale. In studi successivi è stato dimostrato che AVE 0991 inibisce l'espressione di NADPH indotta dal legame di Ang II al recettore AT1, con conseguente blocco della produzione di ROS e mantenimento della produzione di NO; AVE 0991 inoltre riduce l'espressione di molecole infiammatorie da parte di macrofagi e di T-linfociti con conseguente riduzione della concentrazione plasmatica di IL-6, IL-12, SAA e MCP-1. Di questo agonista è in corso di valutazione l'impiego su stent.

Gli effetti benefici dell'attivazione del recettore Mas hanno trovato conferma in uno studio condotto su un altro agonista di questo recettore, CGEN-856S, che si è dimostrato capace di contrastare efficacemente l'infarto miocardico sperimentale e il rimodellamento cardiaco.

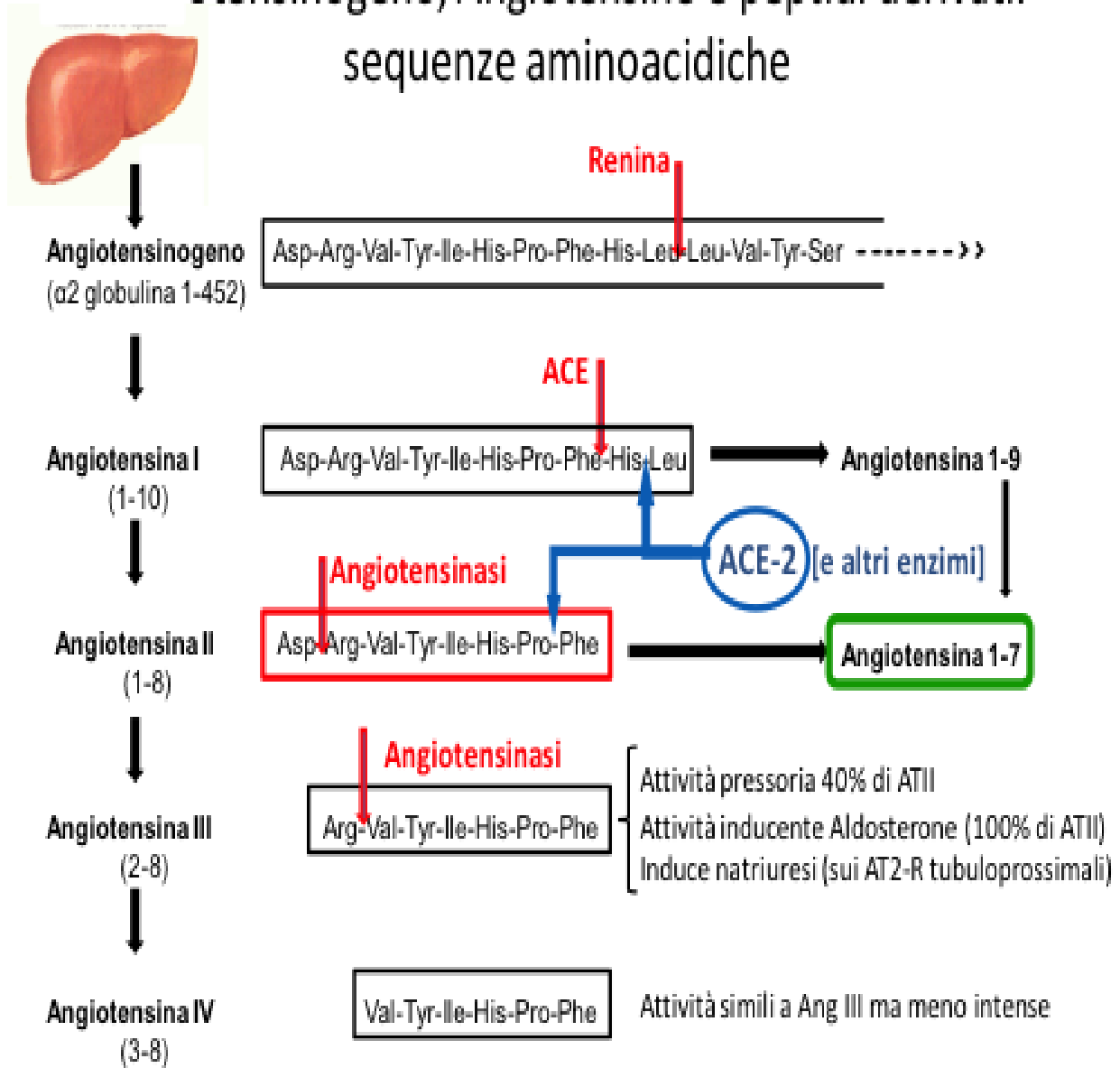
Considerando l'esistenza di due tipi di ACE e di due mediatori derivati dall'angiotensinogeno, Ang II e Ang (1-7), il RAS viene attualmente concepito come un sistema costituito da due vie contrapposte: ACE – Ang II – AT1R e ACE2 – Ang (1-7) – Mas (Tab. 2). Ang (1-7) viene prodotta ad opera di ACE2 sia da Ang I sia, molto più efficacemente, da Ang II. Durante trattamento con ARBs una quota maggiore di Ang II può essere resa disponibile per attivare i recettori AT2 o per essere convertita in Ang (1-7). I farmaci ACEi determinano un aumento della concentrazione plasmatica di Ang (1-7) di circa 10 volte, e questo potrebbe essere un meccanismo che contribuisce agli effetti benefici di questi farmaci. D'altra parte l'espressione di mRNA codificante per ACE2 aumenta di 5 volte in corso di trattamento con ACEi e di 3 volte durante trattamento con ARB.

L'asse Ang II – Ang (1-7) – Mas è attualmente oggetto di ricerca per l'individuazione e la sperimentazione di molecole in grado di stimolarne l'attivazione.

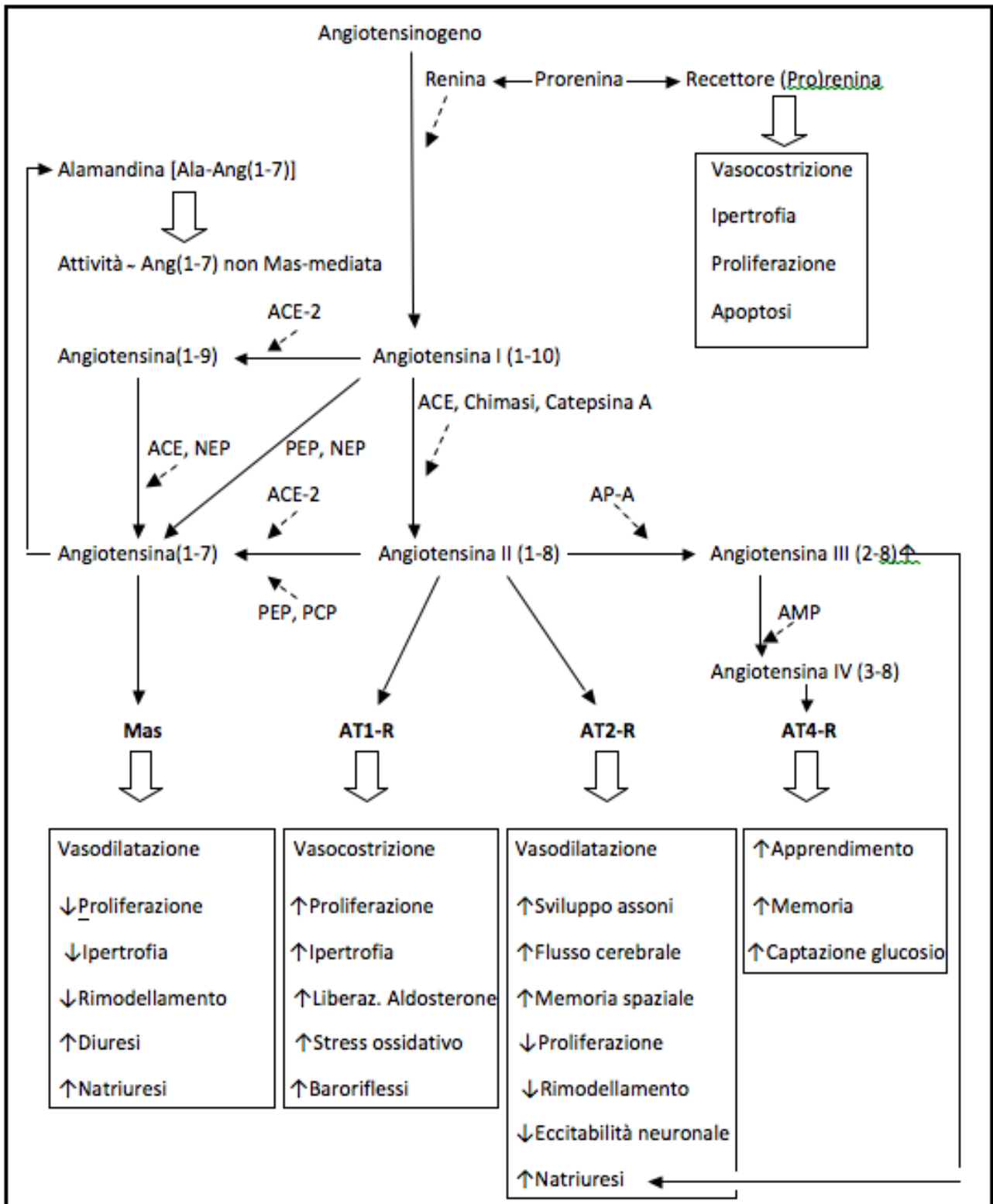
Ang III è attualmente considerata come la principale attivatrice di AT2R nel tubulo prossimale, dove media l'effetto natriuretico.

Ed è recentissima l'identificazione, nel sangue umano e di roditori, di un eptapeptide che differisce dalla Angiotensina (1-7) per l'aminoacido in posizione 1 (alanina in luogo di acido aspartico) e che esercita azioni analoghe a quelle di Angiotensina (1-7). Questo peptide sarebbe prodotto nel miocardio e la sua attività non appare mediata dal recettore Mas. Un ultimo aspetto che merita di essere segnalato riguarda l'esistenza e le potenzialità dei recettori della prorenina, identificati circa 10 anni fa nelle cellule mesangiali umane. Tali recettori, denominati (pro)renin receptor, (P)RR in quanto capaci di legarsi tanto a Prorenina quanto a Renina, sono presenti sia alla superficie cellulare sia nei compartimenti intracellulari, soprattutto perinucleari. L'affinità di Prorenina per i PRR è 3-4 volte maggiore di quella di Renina; è pertanto verosimile che Prorenina possa agire soprattutto nei tessuti in sede sia intra- sia extracellulare, dove può raggiungere concentrazioni sufficientemente elevate da attivare segnali dipendenti e indipendenti da Ang II. All'attività dei (P)RR può in ipotesi essere attribuita la responsabilità dei già ricordati effetti sfavorevoli inattesi in risposta alla somministrazione di Aliskiren, che inibendo la formazione di Renina può determinare accumulo di Prorenina e conseguente attivazione dei PRR. In accordo con questa ipotesi sta la recente osservazione che la sovraesposizione sperimentalmente indotta del (P)RR determina nel ratto fibrosi e disfunzione cardiaca, effetto questo che non appare mediato dall'intervento di Ang II, poiché non viene ridotto dal blocco farmacologico degli AT1-R.

Angiotensinogeno, Angiotensine e peptidi derivati: sequenze aminoacidiche



Tab. 1



Tab. 2 (Modif da ¹¹) **ACE:** Angiotensin Converting Enzyme; **PEP:** Phospho Enol Pyruvate; **NeP:** Neutral EndoPeptidase; **AP-A:** Aminopeptidase-A; **AMP:** Adenosine Mono Phosphate; **PCP:** PolyCarboxyl Peptidase.

ACE2 è localizzato sul cromosoma X