

Gli antagonisti dei recettori AT1

Nella storia del SRA, la sintesi degli antagonisti dei recettori AT1 può essere considerata nello stesso tempo come un punto di arrivo ed un punto di partenza, perché essa ha sicuramente contribuito a rendere più efficace e razionale il trattamento di numerose patologie, ma – proprio per i risultati ottenuti, spesso inaspettati – ha dato anche il via a nuove ricerche, necessarie per chiarire il meccanismo con cui funzionano realmente questi antagonisti: essi infatti si sono dimostrati efficaci non solo nella IA e nello scompenso cardiaco (cioè in condizioni in cui è sicuramente coinvolto il SRA) (Pitt 2002; Ruddy e Kostis 2005), ma anche in altre patologie, che non appaiono legate in via primitiva ad un disordine di questo sistema, come lo *stroke*, l'aterosclerosi, la nefropatia diabetica, il decadimento delle funzioni cognitive e perfino di quelle sessuali (Koh e coll. 2003; Sierra e de la Sierra 2005).

In realtà, risultati soddisfacenti per il trattamento di alcune di queste patologie erano stati già ottenuti con gli ACEI (Gohlke e Scholkens 2004), ma il proseguire delle esperienze aveva dimostrato che questi farmaci hanno anche delle limitazioni, intrinseche al loro meccanismo d'azione, perché:

- a) riducono la sintesi dell'Angiotensina II, ma non la inibiscono completamente, per l'esistenza di vie alternative ad essa (Urata e coll. 1996);
- b) il blocco competitivo dell'ACE prodotto da questi farmaci può, a lungo andare, essere superato da un aumento dell'Angiotensina I, con conseguente incremento dell'Angiotensina II, per cui i livelli plasmatici di quest'ultima ritornano ai livelli precedenti il trattamento, specie se esso è prolungato nel tempo (Abdel-Ramhan e coll. 1993);
- c) l'ACE non è un enzima specifico ma agisce su diversi substrati, tra i quali la BK, che non essendo più inattivata dall'enzima per effetto dell'ACE-inibizione, aumenta; ciò potenzia la caduta pressoria prodotta da questi farmaci, ma aumenta anche la possibilità di effetti indesiderati, come la tosse e l'edema angioneurotico (Fletcher e Dollery 1993).

Il razionale per la sintesi di nuovi farmaci, capaci di inibire il SRA in maniera più completa degli ACEI e senza produrre i loro effetti collaterali, nasce appunto da queste considerazioni. Nel corso degli anni sono stati così sintetizzati prima gli inibitori della Renina, che per il loro scarso assorbi-

mento orale e per la brevità dell'azione si sono però dimostrati inizialmente poco efficaci (solo recentemente, uno di essi – l'aliskiren – ha dato risultati più promettenti); poi sono stati sintetizzati gli antagonisti peptidici dei recettori AT1, scarsamente maneggevoli perché capaci di agire anche come agonisti ed, infine, gli antagonisti non peptidici di questi recettori, che tuttora restano il mezzo più efficace e meglio tollerato per inibire la maggior parte degli effetti emodinamici e sistemici prodotti dall'Angiotensina II.

Ipotizzata già diversi anni fa da Skeggs e coll. (1956), la possibilità d'inibire i recettori AT1, responsabili della maggior parte di questi effetti, si è concretizzata diversi anni più tardi, con la sintesi di alcuni derivati benzilimidazolici dell'acido-5-acetico, in grado di antagonizzare la contrazione prodotta dall'Angiotensina II in segmenti di aorta di coniglio e di ridurre la PA nei ratti ipertesi (Furakawa e coll. 1982).

Una più attenta valutazione farmacologica di due di questi composti – S8307 e S8308 – condotta negli anni '80 nei laboratori DuPont-Merck, confermò che essi potevano antagonizzare l'Angiotensina II in maniera selettiva; tuttavia, la loro azione era debole e della durata massima di 30 min., in quanto le loro ridotte dimensioni non permettevano di legarsi in modo efficace ai recettori AT1 (Timmermans e coll. 1993).

Partendo dal prototipo S8307, nei laboratori DuPont-Merck furono pertanto sintetizzati numerosi altri composti di dimensioni progressivamente maggiori, fino ad ottenere, attraverso successive modifiche strutturali, prima l'EXP7711, dotato di buona attività anche quando somministrato per via orale, e successivamente un altro composto, di dimensioni appropriate al recettore AT1 e dotato di un maggiore lipofilia, il cui sale potassico fu denominato DuP753 dal gruppo DuPont e MK954 da quello Merck, ed al quale fu dato il nome di Cozaar o Losartan (Timmermans 2001). Come hanno confermato le numerose esperienze condotte sia *in vitro* che *in vivo*, questo farmaco è attivo per via orale, ha per i recettori AT1 un'affinità alcune migliaia di volte superiore a quella del composto S8307, inibisce la maggior parte delle risposte all'Angiotensina II mediate da essi e non ha praticamente alcuna affinità per i recettori AT2 o per quelli di altri sistemi biologici, come dimostra la sua incapacità di modificare la risposta contrattile dell'aorta di coniglio alla NA, alla BK ed alla Serotonina (Wong 1999b) e c); Ruddy e Kostis 2005).

Una volta aperta la strada, in pochi anni al Losartan si sono aggiunti altri antagonisti dei recettori AT1, la maggior parte dei quali nati da modifiche della struttura del farmaco capostipite ed altri con struttura diversa (Fig. 25). Di essi, alcuni sono già commercializzati (Valsartan, Irbesartan, Candesartan, Eprosartan e Telmisartan) ed altri sono in fase di approvazione o di sperimentazione.

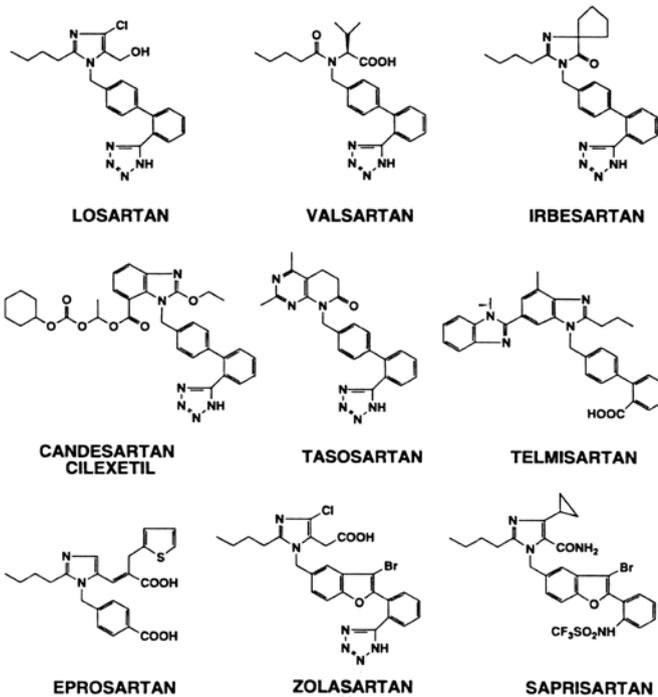


Fig. 25. Gli antagonisti non peptidici dei recettori AT1 (Da: Timmermans 2001, con autorizzazione)

11.1 - La farmacocinetica degli AT1-Antagonisti

Il capostipite di questa classe di farmaci e tuttora punto di riferimento per le ricerche su di essi, è il Losartan. Assorbito rapidamente dopo somministrazione orale (il picco della concentrazione plasmatica è raggiunto entro 1 h), esso ha una emivita relativamente breve (da 1.5 a 2.5 h) ed una biodisponibilità di circa il 33%. Esso compete con il legame dell'Angiotensina II per il recettore AT1, con una concentrazione inibitrice media (IC₅₀) di 17-20 nmol/L e produce un blocco sormontabile della risposta contrattile al polipeptide (Wong e coll. 1990a; Chiu e coll. 1991).

Dopo essere stato assorbito mediante gli enzimi 2C9 e 3A4 (che determinano la bioossidazione del suo gruppo idrossimetilico localizzato sull'anello imidazolico), circa il 14% del Losartan è metabolizzato in un composto da 10 a 30 volte più attivo, l'EXP3174 (Wong e coll. 1990b; Lo e coll. 1995b; Maillard e Burnier 2004), che blocca in maniera insormontabile la risposta pressoria all'Angiotensina II. Il picco della concentrazione plasmatica di questo metabolita compare nel giro di 3-4 ore, la sua elimina-

zione è lenta (l'AUC è 4-8 volte maggiore di quella del Losartan) e la sua emivita è di 6-9 ore (Lo e coll. 1995b). I suoi livelli raggiungono il picco della concentrazione quando la molecola di origine sta già scomparendo dal plasma e persistono per un tempo più lungo, fino a 24 h. La trasformazione del Losartan in un metabolita più attivo non si verifica in quella piccola percentuale di soggetti che mancano degli enzimi necessari per la conversione (Lo e coll. 1995b).

Entrambi i composti – Losartan ed EXP3174 – presentano un elevato legame proteico (rispettivamente 98.7 e 99.8%), che comunque non impedisce loro di raggiungere concentrazioni plasmatiche farmacologicamente efficaci. Queste concentrazioni non subiscono variazioni significative nell'insufficienza renale lieve o moderata o nell'insufficienza epatica, e soltanto in quest'ultimo caso può essere opportuna una riduzione delle dosi.

Meno del 4% del Losartan è eliminato come tale per via renale, mentre il suo metabolita attivo è eliminato in parti uguali dal rene e dal fegato. Il cibo non sembra interferire con il suo assorbimento. Nessuna interferenza è stata osservata con la farmacocinetica della digossina o del warfarin. La contemporanea somministrazione di cimetidina determina un aumento di circa il 20% dell'AUC per il Losartan, ma nessuna modifica di essa per l'EXP3174 (Ruddy e Kostis 2005).

Il Valsartan – che per espletare la sua azione non ha bisogno di essere convertito in un metabolita attivo (de Gasparo 2004) – è un composto non eterociclico, che per la sua struttura diacidica somiglia all'EXP3174. *In vitro*, blocca il recettore AT1 in maniera insormontabile, con una IC50 di 2.7 nmol/L (Criscione e coll. 1995), ha una biodisponibilità di circa il 25%, un volume di distribuzione piuttosto ridotto (circa 17 L) e raggiunge il picco della concentrazione plasmatica nel giro di 2-4 ore. Questa concentrazione aumenta anche del doppio nella colelitiasi e nelle gravi malattie epatiche, che rappresentano pertanto una controindicazione all'uso del farmaco (Brookman e coll. 1997); si riduce, invece, fino al 50% in caso di somministrazione con il cibo ed è piuttosto variabile nell'anziano. Il suo legame proteico è elevato (95%), la sua eliminazione avviene per l'80% attraverso il tratto gastroenterico in forma immodificata e soltanto un 10% della dose è metabolizzato a Valeril 4-idrossivalsartan. Non sono state evidenziate interazioni con atenololo, cimetidina, digossina o warfarin.

L'Irbesartan, che è un derivato imidazolico con una catena laterale bifenil-tetrazolica, ha una significativa affinità per il recettore AT1, del quale blocca in modo insormontabile il legame con l'Angiotensina II, con una IC50 di 1.7 nmol/L (Cazaubon et al. 1993). Il suo legame proteico è di circa

il 90%, la sua biodisponibilità è relativamente alta (60-80%) e non è compromessa dall'assunzione di cibo; il picco plasmatico è raggiunto nel giro di 1.5-2 h. dopo somministrazione orale e la sua emivita è compresa tra le 11 e le 15 ore (Brunner 1997).

L'Irbesartan è metabolizzato per ossidazione e glicuronazione ad opera dell'isoenzima 2C9, è eliminato con la bile per il 75% circa e, per il resto, per via renale. Non sono stati evidenziati fenomeni di accumulo in caso d'insufficienza epatica o renale, né fenomeni d'interferenza con altri farmaci (digossina, warfarin, nifedipina, idroclorotiazide). Nell'anziano l'AUC e la Cmax sono aumentate di circa il 20-50% (Ruddy e Kostis 2005).

Il Candesartan Cilexetil (TCV-116) è un derivato bifenil-imidazolico che – similmente al Losartan – contiene una molecola tetrazolica, una catena laterale lipofila ed un gruppo carbossilico (Ruddy e Kostis 2005).

È un profarmaco con minima affinità per il recettore AT1, ma durante l'assorbimento intestinale viene convertito in un composto attivo – il Candesartan, che blocca il recettore in maniera insormontabile e si dissocia lentamente da esso (Ojima e coll. 1997). In volontari sani, dopo una dose orale di 4-16 mg, il picco della concentrazione plasmatica compare nel giro di 4-5 h., entro un tempo anche più breve dopo un pasto grasso (Van Lier e coll. 1997). L'emivita è di circa 9 h., ed è più lunga nell'anziano. Il volume di distribuzione dopo una singola dose ev di 8 mg è di circa 0.1 L/kg; tale valore piuttosto basso è dovuto al suo elevato legame proteico (99.4-99.8%). La biodisponibilità del farmaco non appare compromessa dall'ingestione di cibo. La maggior parte di esso è eliminato con le urine come Candesartan e solo il 40% attraverso la bile. Il suo profilo farmacocinetico non appare modificato nell'insufficienza epatica, mentre in caso di compromissione renale, l'AUC, la Cmax e l'emivita tessutale aumentano significativamente, per cui in queste condizioni è opportuno ridurre la dose (de Zeeuw e coll. 1997). Un aumento della biodisponibilità e della Cmax è stato osservato dopo contemporanea somministrazione di idroclorotiazide, mentre la concentrazione di warfarin si riduce in misura non significativa.

L'Eprosartan è l'unico AT1-antagonista non tetrazolico non bifenilico ed è caratterizzato dalla presenza di un acido p-carbossilico sull'anello N-benzenico, da un anello tienilico e da due gruppi acidi (Blum e coll. 1999). *In vitro* si comporta come un antagonista sormontabile, che nelle arterie mesenteriche di ratto inibisce il legame dell'Angiotensina II con il recettore AT1 con una IC50 di 1.5 nmol/L (McClellan e Balfour 1998b). La sua biodisponibilità, minore di quella degli altri antagonisti (13-15%), è limitata da un assorbimento orale incompleto ed aumenta con l'età.

Dopo una dose di 100-800 mg, il picco della concentrazione compare nel

giro di 1-3 h. e si riduce del 25% dopo assunzione di cibo, che determina un ritardo dell'assorbimento di circa 1.5 h. (Tenero e coll. 1998). L'emivita è di circa 5-7 h., per cui secondo qualche autore esso dovrebbe essere somministrato in due dosi quotidiane; tuttavia, uno studio condotto con varie modalità di somministrazione non ha evidenziato alcuna differenza tra una e due dosi giornaliere (Hedner e Himmelmann. 1999).

Essendo un farmaco attivo di per sé, l'Eprosartan non è metabolizzato dal sistema CYP-450 (e, quindi, non interagisce con la somministrazione di warfarin). Il suo legame con le proteine è elevato (98%), ma anche questa caratteristica non interferisce con l'attività anticoagulante del warfarin (Blum e coll. 1999). La sua concentrazione aumenta in caso di grave compromissione renale ed epatica. Circa il 90% della dose è eliminato con le feci e circa il 10-20% è escreto in forma glicuronata (Tenero e coll. 1998).

Similmente all'Eprosartan anche il Telmisartan manca della componente tetrazolica, ma contiene un gruppo benzilimidazolico (Maillard e Burnier 2004). Come il Candesartan, è un antagonista insormontabile, ed essendo più lipofilo degli altri AT1RA, anche la sua penetrazione nei tessuti è maggiore (Wienen e coll. 2000). La biodisponibilità è dose-dipendente e varia dal 30 al 60%, il suo legame proteico è elevato (maggiore del 99.5%) e così pure il suo volume di distribuzione (circa 500 L). Circa la metà della dose somministrata è assorbita e dopo una dose orale di 40 mg la Cmax compare nel giro di 0.5-1 h. La sua emivita è di circa 24 h (Mc Clellan e Markham 1998a). Il cibo riduce la AUC in misura variabile dal 6 al 20%. Non essendo un profarmaco, il Telmisartan va incontro a minime trasformazioni e circa il 97% della dose somministrata viene eliminata immodificata con la bile, per cui la sua somministrazione nei pazienti con insufficienza epatica va fatta con prudenza. Un aumento della digossinemia è stato osservato in caso di contemporanea somministrazione dei due farmaci; viceversa, la concentrazione di warfarin è diminuita (Mc Clellan e Markham 1998a).

L'Olmesartan medoxomil è anch'esso un profarmaco caratterizzato da una molecola esterificata che, dopo l'assorbimento, viene trasformata nel metabolita attivo Olmesartan, che funziona come un antagonista insormontabile. *In vitro* la sua affinità per il recettore AT1 del surrene dei bovini è paragonabile a quella degli altri antagonisti (IC50 80 nmol/L). La sua emivita è simile a quella del Candesartan (Brunner e coll. 2002) e la sua biodisponibilità è di circa il 26%.

11.2 - La farmacodinamica degli antagonisti dei recettori AT1

Anche se le differenze strutturali esistenti fra questi farmaci possono dar luogo a risposte farmacocinetiche diverse, le ricerche *in vitro* ed *in vivo* suggeriscono che questi risultati non possono essere trasferiti automaticamente alla farmacodinamica e che, invece, è necessaria una certa prudenza nella loro interpretazione (Gansevoort e de Zeeuw 2000). Altrettanto prudente deve essere anche la valutazione dei dati basati sull'emivita di questi farmaci, di solito considerata un valido parametro per accertare la loro maggiore o minore efficacia, perché numerosi dati dimostrano che in realtà essa ha un valore piuttosto approssimativo e che invece la durata della caduta pressoria prodotta da essi è un mezzo di valutazione più valido. Neanche la concentrazione plasmatica appare d'altronde un elemento attendibile, dal momento che se l'antagonista ha una notevole affinità per il recettore oppure modifica in modo irreversibile la sua struttura e le sue funzioni, i suoi effetti possono essere ancora presenti anche se questa concentrazione si è ridotta (Gansevoort e de Zeeuw 2000).

L'esempio del Losartan è dimostrativo. Se si confronta la sua emivita con quella degli altri AT1RA, essa appare infatti soltanto di 2.1 h., mentre quella del Telmisartan è di circa 20 h.; quindi, stando a questi dati, anche la sua durata d'azione dovrebbe essere molto breve.

La realtà tuttavia è molto più complessa perché, non essendo un farmaco, il Losartan è attivo già di per sé, anche se in misura minore rispetto al suo metabolita EXP3174. La sua emivita andrà quindi sommata a quella del metabolita e la durata dell'effetto risulterà dalla somma di quella relativa a ciascuno dei due composti (Gansevoort e de Zeeuw 2000).

Un altro elemento da tenere presente riguarda la farmacocinetica di questo AT1RA. I dati relativi ad esso sono stati ottenuti, infatti, dopo una singola somministrazione, generalmente *ev*, mentre nella pratica clinica il farmaco è somministrato per via orale e per tempi più lunghi, e ciò fa sì che la formazione del metabolita attivo si verifichi più lentamente, per cui anche la sua emivita sarà più lunga rispetto alla somministrazione *ev*; allo stesso modo, più lunga sarà la durata dell'effetto prodotto da una singola dose (Timmermans e coll. 1995): in ratti infusi con 10 ng/kg di Angiotensina II per 21 gg., che al 17° giorno dell'infusione avevano ricevuto un bolo di Losartan (10 mg/kg), Laragh e coll. (Hu e coll. 1999) hanno osservato, infatti, già 2 h. dopo la somministrazione dell'antagonista, l'azzeramento della risposta pressoria all'agonista e la sua lenta ricomparsa solo nei giorni successivi, con il ritorno ai valori pressori di partenza soltanto al 5° giorno.

Indipendentemente dalle differenze nella loro struttura, tutti gli antagonisti dei recettori AT1 hanno in comune la proprietà di legarsi ad

essi in maniera selettiva e reversibile, mentre mostrano un'affinità ridotta o del tutto assente per i recettori AT2 (Timmermans e coll. 1993).

Lo studio delle risposte vasocostrittrici *in vitro* (aorta di coniglio) e di quelle pressorie *in vivo*, ha dimostrato che in base alle modifiche della curva dose/risposta all'Angiotensina II che essi producono, gli AT1-antagonisti possono essere divisi in due gruppi (Vanderheyden e coll. 1999 e 2000a; de Gasparo 2004):

- a) gli antagonisti sormontabili, così definiti perché il loro legame con il recettore AT1 può essere spiazzato da una dose sufficientemente elevata dell'agonista. I farmaci di questo gruppo producono uno spostamento parallelo verso destra della curva dose/risposta all'Angiotensina II, ma non modificano la risposta massimale e si dissociano più rapidamente dal sito di legame;
- b) gli antagonisti insormontabili, cosiddetti perché il loro legame con il recettore non può essere impedito da un aumento della dose dell'agonista. Essi spostano verso destra in maniera non parallela la curva dose/risposta, attenuano oppure aboliscono la risposta massimale all'Angiotensina II e si dissociano più lentamente dal recettore. Pur essendo di più lunga durata, anche questa interazione è comunque reversibile.

Secondo Vanderheyden (Vanderheyden e coll. 1999), alcuni di questi AT1RA (Valsartan, Telmisartan e Irbesartan) costituirebbero invece un gruppo di tipo misto, per la loro capacità di legarsi al recettore AT1 sia con un'alta affinità ed una lenta dissociazione, sia con una bassa affinità ed una più rapida dissociazione. La proporzione dei siti legati strettamente o labilmente all'antagonista determinerà il tipo di curva dose/risposta: di conseguenza, più alta sarà la costante di dissociazione dei siti legati strettamente all'antagonista, maggiore sarà la diminuzione della risposta massimale (Vanderheyden e coll. 2000a e b).

La riduzione della risposta all'Ang II e della sintesi di IP prodotta dagli antagonisti insormontabili nelle CML può essere, comunque, annullata in misura dose-dipendente dalla contemporanea somministrazione di un antagonista sormontabile (Losartan); quindi, questi ultimi sono capaci di contrastare quelli insormontabili nella inibizione della risposta massimale all'Angiotensina II (Wong e Timmermans 1991).

Poiché la loro efficacia non diminuisce aumentando la concentrazione dell'agonista, gli antagonisti insormontabili dovrebbero avere dei vantaggi rispetto a quelli sormontabili, tuttavia le esperienze precliniche e cliniche dimostrano che in realtà l'efficacia di tutti questi composti è sovrapponibile (Timmermans 2001).

Secondo Vauquelin e coll. (2001), anche i termini di antagonisti competitivi e non competitivi, usati per indicare rispettivamente gli antagonisti sormontabili ed insormontabili, dovrebbero essere evitati, dal momento

che essi si riferiscono a due diverse condizioni sperimentali e, pertanto, non sono sinonimi. Per stabilire se un antagonista è sormontabile o insormontabile, i preparati cellulari vengono infatti prima incubati con l'antagonista e poi esposti all'agonista, per cui la comparsa di una depressione della risposta massimale all'Angiotensina II esprimerà soltanto l'incapacità di quest'ultima di opporsi all'azione dell'antagonista, che sarà definito insormontabile. Viceversa, la natura competitiva o non competitiva di un antagonista è valutata in condizioni diverse, perché il ligando e l'antagonista sono somministrati contemporaneamente, cioè essi sono co-incubati (Vauquelin e coll. 2001).

Le ricerche di Fierens e coll (1999) e di Vanderheyden e coll (2000b), hanno dimostrato che, anche se alcuni AT1RA sono sormontabili ed altri insormontabili, essi sono comunque tutti antagonisti competitivi e competono con l'Angiotensina II a livello del recettore secondo la legge dell'azione di massa.

11.3 - Gli effetti prodotti dagli antagonisti del recettore AT1

La maggior parte di questi effetti sono dovuti al blocco dei recettori AT1, ma numerose evidenze dimostrano che alcuni di essi sono prodotti con altri meccanismi, indipendenti da questo blocco e/o dalla riduzione dei livelli pressori (Ohlstein e coll. 1992; de Gasparo 2004) (v. Cap. 12).

A livello del SRA, il blocco dei recettori AT1 determina un aumento dose-dipendente della R, dell'Angiotensina I e dell'Angiotensina II, per la rimozione del *feedback* negativo normalmente esistente tra quest'ultima e la R (Abdel-Rahman e coll. 1993). In uno studio condotto mediante somministrazione di Losartan a dosi diverse (5, 10, 20 e 40 mg) per 8 gg. in volontari sani, Christen e coll. (1991) hanno osservato un aumento della PRA e dell'Angiotensina II già 6 h. dopo la dose di 20 mg, che diventava anche più significativo all'8° giorno (Fig. 26).

A livello sistemico, gli effetti più importanti prodotti da questi farmaci sono:

- a) l'inibizione della risposta pressoria all'Angiotensina II;
- b) la riduzione dei livelli pressori nell'animale e nell'uomo iperteso;
- c) il miglioramento della IVS e delle alterazioni strutturali dei vasi;
- d) il miglioramento della funzione renale.

a) L'inibizione della risposta pressoria all'Angiotensina II

La capacità degli AT1RA di inibire la risposta pressoria all'Angiotensina II esogena è stata dimostrata in diverse specie animali (ratti normotesi, ratti SHR, cani normotesi e cani Na-depleti) (Timmermans 2001).

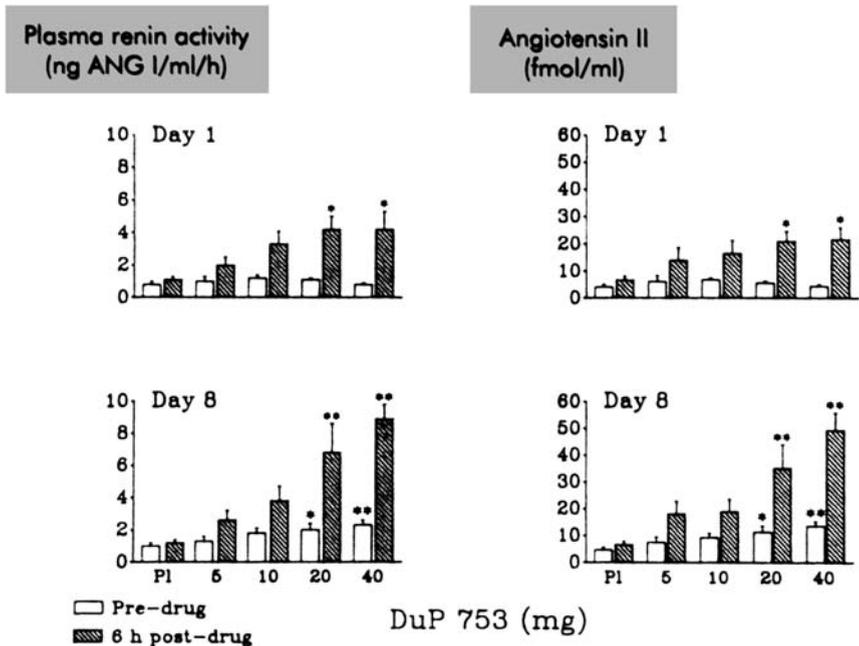


Fig. 26. L'aumento della PRA e dell'Angiotensina II prodotto da dosi crescenti di DuP753 (Modificata da: Christen e coll. 1991)

Nell'uomo (volontari sani a dieta di Na libera), dopo dosi singole di 10, 20 e 40 mg di DuP 753, l'inibizione dell'aumento della PAS prodotto da una dose di Angiotensina I ev, compare rispettivamente 7, 5 e 3 h. dopo la somministrazione del farmaco. Un'attenuazione della risposta al polipeptide è ancora evidente 24 h. dopo una dose singola di 20 e 40 mg (Christen e coll. 1991).

Più recentemente, un confronto tra Losartan (50 mg), Valsartan (80 mg) ed Irbesartan (180 mg) ha dimostrato che, 4 h. dopo la somministrazione di ciascuno di questi farmaci, l'aumento della PA prodotto dall'Angiotensina II era inibito per il 43% dal Losartan, per il 51% dal Valsartan e per l'88% dall'Irbesartan (Mazzolai e coll. 1999). Calcolando, oltre all'entità dello spostamento verso destra della curva dose/risposta all'Angiotensina II, anche la dose necessaria per raddoppiare l'entità di questo spostamento, Belz e coll. (2000) hanno dimostrato che la dose media necessaria per produrre questo effetto era per il Valsartan, l'Irbesartan, il Losartan ed il Candesartan, rispettivamente di 16, di 18, di 19 e 22 mg, quindi non diversa in maniera significativa.

b) La riduzione dei livelli pressori nell'animale e nell'uomo

La capacità dei diversi AT1RA di ridurre i livelli pressori è stata dimostrata sia nell'uomo iperteso che nell'animale con vari modelli di ipertensione sperimentale (I. renale, genetica, da fruttosio, da freddo), con risultati particolarmente significativi nelle ipertensioni ad alta R (Lacour e coll. 1994; Timmermans e Smith 1996).

Nei ratti con IRV (2K-1c) ed in quelli SHR, il Losartan alla dose di circa 10 mg/kg/die *per os* riduce i livelli pressori già dopo le prime 24 ore (Wong e coll. 1990a e b) e gli stessi risultati sono stati ottenuti anche con il Candesartan Cilexetil. Alla sospensione del trattamento, la pressione di questi animali ritorna lentamente ai livelli di partenza senza fenomeni di *rebound* (Timmermans e Smith 1996). Similmente agli ACEI, anche gli AT1RA appaiono scarsamente efficaci quando il SRA è soppresso o quando il bilancio sodico è positivo (ipertensione DOCA + sale) (Wong e coll. 1990c). Dosi di Losartan comprese tra 1 e 10 mg/kg, somministrate per bolo in ratti normotesi con normale PRA, sono prive di effetti sui livelli pressori oppure producono soltanto una riduzione lieve e transitoria di essi. Se però questi animali vengono pretrattati con Furosemide, il farmaco riduce la componente pressoria legata all'aumento della PRA che si verifica per effetto della deplezione sodica (Timmermans 2001).

Una riduzione dose-dipendente della PAS e della PAD è stata osservata in volontari normotesi Na-depleti (40 mml di Na/die) dopo somministrazione di dosi crescenti di Losartan (5, 10, 20, 50 e 100 mg), con una caduta pressoria significativa dopo dosi di 50 e 100 mg; nessun effetto è stato, invece, osservato nei soggetti tenuti a dieta ipersodica (200 mml di Na/die x 6 gg.) (Burnier e coll. 1995). Gli stessi risultati sono stati ottenuti anche con Irbesartan nei ratti iporeninemici con ipertensione DOCA + sale (Lacour e coll. 1994).

Anche se questi risultati sembrano dimostrare che gli AT1RA siano in grado di espletare la loro azione ipotensivante soltanto quando il SRA è attivato, studi più recenti ne confermano però l'efficacia anche nell'ipertensione dell'uomo ed in alcune forme d'ipertensione sperimentale in cui l'attività del SRA è normale, e che quindi sono R-indipendenti.

In ratti normotesi con un PRA normale e con un normale apporto di Na, dopo somministrazione di Losartan (10 mg/kg/die x 10 gg.) fin dal 1° giorno di infusione si verifica una significativa caduta pressoria (-12 ± 2 mmHg), che invece è assente negli animali a dieta ipersodica (Collister e coll. 1996). L'effetto, che conferma il ruolo del SRA nel controllo della PA anche in condizioni fisiologiche, può essere spiegato in due modi: ammettendo che in questi modelli di Ipertensione la sensibilità dei tessuti all'Angiotensina II è aumentata oppure, come è più probabile, che questi farma-

ci bloccano, oltre all'Angiotensina plasmatica, anche quella tessutale. Secondo questa ipotesi, i livelli della R circolante non rifletterebbero l'attività del SRA nei vasi ed in alcune strutture cerebrali, quindi il dosaggio della PRA non esprimerebbe l'attività del sistema.

Il Losartan potenzia anche la caduta pressoria che compare nel corso della manovra dell'*head up tilt* (Matos de Moura e coll. 2005). A questo potenziamento contribuisce probabilmente anche l'Ang-(1-7), dal momento che esso può essere inibito dall'A799, antagonista specifico di questa Angiotensina.

c) La riduzione della IVS e delle alterazioni strutturali dei vasi

La capacità degli AT1RA di ridurre queste alterazioni è stata dimostrata in diversi modelli sperimentali, con risultati abbastanza simili per i vari farmaci esaminati.

Nei ratti SHR, il Losartan somministrato per 12 settimane, alla dose di 20 mg/kg/die e di 60 mg/kg/die, oltre a ridurre significativamente i livelli pressori (da 210 ± 2 mmHg a 181 ± 1 mmHg con la dose di 20 mg e da 210 ± 2 mmHg a 156 ± 4 mmHg con la dose di 60 mg/kg) riduce in via dose-dipendente anche lo spessore della media ed il rapporto media/lume nei piccoli vasi dei distretti carotideo, renale, mesenterico e femorale, migliora il loro rilasciamento ed inibisce la loro contrazione dopo stimolazione con Ach. Anche l'ipertrofia miocardica e quella delle grandi arterie (aorta toracica) si riducono in misura significativa. Gli stessi effetti sono stati osservati dopo somministrazione di Losartan per tempi più brevi (2 settimane) e con dosi comprese tra i 20 ed i 50 mg/kg (Li Jin e coll. 1997).

Nel cane, in un modello sperimentale in cui l'intima delle arterie carotidi e femorali era stata danneggiata dal passaggio di un palloncino, la somministrazione di un altro AT1RA (il Candesartan Cilexetil alla dose di 3 mg/kg) o di un ACEI (Enalapril alla dose di 10 mg), ha dimostrato che il secondo riduce l'iperplasia soltanto nella arteria femorale, mentre il primo la riduce in entrambe i distretti vascolari (Miyazaki e coll. 1999).

Una riduzione della PA e della massa ventricolare, in misura maggiore di quella prodotta dall'Enalapril, è stata osservata anche in ratti NZ geneticamente ipertesi, dopo somministrazione di Valsartan (10 mg/kg) (Pham e coll. 1994).

Uno studio condotto su ratti SHR (Igase e coll. 2005) ha dimostrato che dopo somministrazione di un AT1RA (Olmesartan), il rapporto media/lume dell'aorta toracica di questi animali si riduce indipendentemente dalla riduzione della PA, per una diminuzione dello spessore della media. Tale effetto, che non compare dopo somministrazione di Atenololo o Idralazina,

appare legato al blocco degli AT1 ed all'aumento che si accompagna ad esso sia dell'ACE2 che della Ang-(1-7) (fino a 25 volte) (Iyer e coll. 1998; Ferrario e coll. 2005a), per effetto del quale è inibita anche la crescita cellulare stimolata dall'Angiotensina II (Tallant e Clark 2003; Ferrario 2006a).

d) Il miglioramento della funzione renale

Anche se in misura diversa, tutti gli antagonisti dei recettori AT1 rallentano o impediscono il progressivo deterioramento della funzionalità renale che si verifica nella IA, nel diabete ed in tutte quelle condizioni morbose che compromettono il rene (Gansevoort e coll. 2001).

Nel ratto e nel cane anestetizzato, questi farmaci dilatano i vasi renali ed aumentano la natriuresi, a fronte di un modesto aumento della GFR (Chan e coll. 1992).

Nel rene isolato e perfuso, il Losartan antagonizza l'aumento delle RVR prodotto dall'Angiotensina II, e nel rene idronefrotico isolato e perfuso esso blocca completamente l'azione dell'Angiotensina II a livello delle arteriole afferenti ed efferenti (Burnier e Brunner, 1994). Una vasodilatazione non accompagnata a variazioni della GFR è stata osservata anche nel rene di ratti SHR. Nel cane normoteso, il Losartan aumenta il RBF, lasciando immutata la GFR, mentre aumenta entrambi i parametri nel cane iperteso (Bovec e coll. 1991).

Nell'uomo normoteso mantenuto sia a dieta iposodica (50 mml/die) che ipersodica (200 mml/die), il Losartan alla dose di 100 mg non modifica la GFR ed il RBF. Quest'ultimo aumenta, invece, nel soggetto iperteso (Burnier e coll. 1993).

Gli AT1RA agiscono anche sul trasporto del Na, di cui aumentano l'escrezione sia nell'animale normoteso che in quello iperteso. Nel soggetto normoteso con dieta a basso (50 mml/die) ed alto contenuto di Na (200 mml/die), il Losartan alla dose di 100 mg produce solo un lieve aumento della diuresi, ma un notevole aumento dell'escrezione sodica (Burnier e coll. 1993).

Nessuna variazione del RBF e della GFR è stata osservata invece in volontari sani dopo somministrazione di Irbesartan, a dosi comprese tra 10 e 50 mg. L'escrezione sodica aumenta in misura dose-dipendente 2 h. dopo la somministrazione del farmaco, ma dopo 8 h. ritorna a livelli simili a quelli del placebo (Burnier e coll. 1995b).

Un aumento della diuresi e della natriuresi, che non si accompagna a modifiche della creatinina e dell'escrezione del K, compare in cani svegli anche dopo somministrazione di Telmisartan *per os* (0.3 - 3.0 mg/kg/die) o *ev* (0.03-0.3 mg/kg/die). Nei ratti transgenici alla dose di 1 e 3 mg/kg/die, il farmaco riduce anche la proteinuria e l'evoluzione della glomeruloscle-

rosi, che rimane invece immodificata negli animali di controllo (Mc Clellan e Markham 1998a).

Somministrato nell'interstizio renale di ratti uninefrectomizzati ed a dieta normosodica, anche il Candesartan aumenta l'escrezione di Na; questo effetto è bloccato dalla somministrazione di PD123319. Un aumento della natriuresi è stato osservato anche negli animali a dieta iposodica. Inoltre, mentre nei ratti nefrectomizzati e non trattati con l'AT1RA l'infusione dell'Angiotensina II nell'interstizio renale non modifica la natriuresi, l'infusione di Angiotensina III l'aumenta. Anche questo effetto può essere bloccato dal PD123319, quindi esso appare mediato dai recettori AT2, attivati però dall'Angiotensina III e non dall'Angiotensina II (Padia e coll. 2006).

11.4 - Gli effetti pleiotropi

Questi effetti, che sono stati riconfermati dai numerosi *trials* condotti con gli AT1RA (vedi Cap. 14), vanno dalla riduzione delle lesioni aterosclerotiche e dei *markers* dell'infiammazione (Wu e coll. 2001) all'inibizione della fibrinolisi e del trombossano A2, dello stress ossidativo e dell'aggregazione piastrinica, fino all'induzione dell'attività PPAR- γ , al miglioramento delle funzioni cognitive e di quelle sessuali (Koh e coll. 2003; Sierra e de la Sierra 2005).

Essi sono inoltre diversi da farmaco a farmaco (ad es., soltanto il Losartan ha proprietà uricosuriche: vedi dopo) ed in linea di massima appaiono indipendenti dalla riduzione dei valori pressori e dal blocco dei recettori AT1, per cui è stato anche ipotizzato che essi siano dovuti ad un meccanismo non legato a questo blocco (Ohlstein e coll. 1992).

Non legate alla diminuzione della PA appaiono sia la riduzione prodotta dal Losartan (160 mg/die x 6 sett.) delle lesioni (*fatty streaks*), che compaiono nell'aorta di scimmie sottoposte ad una dieta ricca di colesterolo (Strawn e coll. 2000a) (Fig. 27), sia la diminuzione di circa il 50% della placca aterosclerotica osservata nell'aorta di conigli WHHL dopo somministrazione per 6 mesi di Candesartan Cilexetil, alla dose di 2 mg/kg (Papademetriou e coll. 2001). In questi animali, un altro AT1RA - l'Irbesartan - riduce le lesioni soltanto quando è somministrato a dosi capaci di riportare alla norma i valori pressori.

A produrre questi effetti contribuisce anche la capacità degli AT1RA di ridurre la produzione di radicali liberi AT1-dipendente: l'aumento del superossido prodotto dall'endotelio e dell'attività della NADPH ossidasi che si verifica nella ipercolesterolemia può essere prevenuta dal Losartan (Warnholtz e coll. 1999); inoltre, la terapia con questi farmaci aumenta la

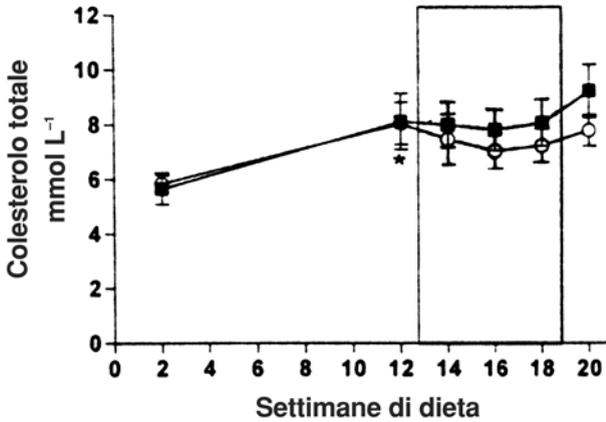


Fig. 27. Gli effetti del Losartan sul colesterolo totale nelle scimmie iperlipemiche

sintesi dell'enzima anti-ossidante superossido-dismutasi nei pazienti con malattia coronarica (Hornig e coll. 2001).

Anche il metabolismo glicidico appare favorevolmente influenzato dagli AT1RA (Kurtz e Pravenec 2004). In ratti obesi Zucker con ridotta sensibilità all'insulina, l'Olmesartan in soluzione allo 0.2% aumenta questa sensibilità e riduce i livelli dei trigliceridi (Ran e coll. 2005). Una riduzione dell'insulino-resistenza ed un aumento degli adipociti sono stati osservati anche dopo somministrazione di Candesartan Cilexetil (8 mg/die), in soggetti ipertesi con resistenza all'insulina ed aumentati livelli di acidi grassi liberi (Schupp e coll. 2004).

Questi effetti appaiono legati alla differenziazione preadipocitica ed all'attivazione del trasporto intracellulare del glucosio e di un recettore nucleare, il PPAR- γ , che nei ratti a dieta iperglicidica-iperlipidica riduce il peso corporeo e la resistenza alla insulina e transattiva i geni specifici degli adipociti (Reid 2005). L'attivazione del PPAR- γ appare indipendente dal blocco degli AT1, in quanto è stata osservata anche in cellule che mancano di questi recettori (Schupp e coll. 2004).

Recentemente, due gruppi di ricercatori (Schupp e coll. 2004; Watanabe e coll. 2005) hanno dimostrato che anche il Losartan produce questi effetti grazie ad un altro suo metabolita recentemente identificato (Kramer e coll. 2002), l'EXP3179 (Fig. 28), che, a differenza dell'EXP3174, mostra scarsa attività AT1-bloccante, ma attiva la differenziazione degli adipociti 3T3-L1 e stimola l'espressione del PPAR- γ (Schupp e coll. 2004). Inoltre, esso stimola la fosforilazione della NO-sintasi endoteliale e sopprime l'apoptosi delle cellule endoteliali prodotta dal TNF, indipendentemente dai segnali che arrivano dal recettore AT1 (Watanabe e coll. 2005). Questi effetti

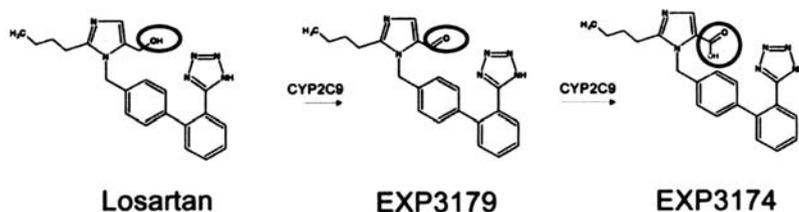


Fig. 28. Il Losartan ed i suoi metaboliti

almeno in parte potrebbero spiegare anche la capacità del Losartan di prevenire l'incidenza e l'evoluzione del diabete evidenziata dallo studio LIFE (v. Cap. 14).

Il blocco dei recettori AT₁ produce effetti favorevoli anche in alcune patologie del polmone, nel quale questi recettori aumentano fino a 5 volte nel corso di processi ostruttivi (Bullock e coll. 2001). *In vitro*, il Losartan impedisce la proliferazione dei fibroblasti provenienti da polmoni umani fibrosclerotici, inibendo la produzione del TGF- β ; *in vivo*, nei ratti infettati per via endotracheale con colture di Bordetella Bronchiseptica, alla dose di 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, ritarda la comparsa della SARS, nella quale l'Angiotensina II è notevolmente aumentata. Anche il meccanismo di questi effetti appare indipendente dal blocco dei recettori AT₁, ma legato all'inibizione prodotta dal farmaco del legame tra la fMLP ed il suo recettore (che appartiene al gruppo dei GPCRs a 7 domini) (Raiden e coll. 2002). Il SRA sembra avere dunque un ruolo anche in tale patologia, e questa ipotesi appare anche più probabile se si considera che un altro componente del sistema – l'ACE2 – è un recettore funzionale del coronavirus responsabile della SARS (Li e coll. 2003). Somministrato *ev* in tre dosi successive (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) il Losartan previene anche le complicanze polmonari che compaiono in ratti con pancreatite acuta da ceruleina (Chan e Leung 2006).

Un'azione protettiva degli AT₁RA è stata dimostrata anche nei disturbi del circolo cerebrale. In ratti SHRSP di 4 settimane infusi con una soluzione all'1% di NaCl, il Losartan, a dosi comprese tra 1 e 10 mg/kg sciolte nell'acqua da bere, previene la comparsa dello *stroke* e prolunga la sopravvivenza anche a dosi che non modificano i livelli pressori (Stier e coll. 1993). Questi effetti persistono anche dopo la sospensione del farmaco, fino alla 26° settimana (Forner e coll. 1993; Saavedra e coll. 2006).

Anche nel gerbillo, caratterizzato da un poligono di Willis privo di circolo collaterale, la somministrazione di Losartan (100 mg/kg) per bolo rapido dopo legatura di una carotide, migliora la sopravvivenza di oltre 48 ore (Fernandez e coll. 1994). Il fenomeno è dovuto con molta probabilità alla stimolazione dei recettori AT₂ ad opera dell'Angiotensina II, dal mo-

mento che può essere impedito dalla contemporanea somministrazione di un ACEI, che blocca la sintesi del polipeptide.

Indipendentemente dalla riduzione dei livelli pressori, un miglioramento del quadro neurologico prodotto da una lesione ischemica focale è stato osservato anche dal gruppo di Unger (Dai e coll. 1999), in ratti ai quali erano stati somministrati per infusione icv Losartan o Irbesartan nei 5 gg. precedenti l'ischemia. Gli stessi risultati sono stati ottenuti anche in ratti WKY ed in ratti SHR con ischemia cerebrale prodotta dall'occlusione dell'arteria cerebrale media e pretrattati con Candesartan Cilexetil (0.5 mg/die), per periodi variabili da 3 a 14 gg. (Nishimura e coll. 2000).

La protezione del circolo cerebrale si accompagna anche ad un miglioramento della qualità di vita e delle funzioni cognitive (Innocenti e coll. 2002). Uno studio multicentrico di confronto tra il Losartan (che attraversa la BEE: Song e coll. 1991) ed un Ca-antagonista, l'amlodipina, condotto in 898 pazienti con IA lieve o moderata, ha dimostrato che il Losartan alla dose di 50mg/die, oltre a ridurre in maniera soddisfacente i livelli pressori, migliora anche la qualità della vita valutata con il PGWB (*Psychological General Well-Being Index*). Nessuna modifica di questo parametro è stata invece osservata con l'amlodipina (Dahlof e coll. 1997b). In un altro studio condotto su 69 ipertesi lievi/moderati, in cui il Losartan (50mg/die x 26 mesi) era confrontato con l'HCTZ, l'AT1RA ha prodotto un miglioramento non solo della qualità di vita ma anche delle funzioni cognitive valutate con due test psicometrici, il MMSE (*Mini Mental State Examination*) e lo SCAG (*Sandoz Clinical Assesment Geriatric*); questi effetti non sono stati osservati con il diuretico (Tedesco e coll. 1999).

Partendo dall'osservazione che nei ratti con stress da isolamento o da immobilizzazione i livelli di Angiotensina II e l'espressione dei recettori AT1 sono aumentati in molte strutture cerebrali, e in particolare nelle aree ipotalamiche, Saavedra e coll. (2005) hanno recentemente dimostrato che la somministrazione in questi animali di Candesartan Cilexetil *per os* (1 mg/kg/die x 2 sett.) riduce il legame dei recettori AT1 con queste strutture e, contemporaneamente, previene l'aumento dei diversi ormoni dello stress (ACTH, corticosterone, catecolamine). Inoltre contrasta la riduzione dei siti di legame con le benzodiazepine presenti in questi animali.

Confrontando tre AT1RA (Losartan, Candesartan e Valsartan), in ratti SHRSP, Jimenez e coll. (2001) hanno constatato, inoltre, che dei tre farmaci soltanto il Losartan (20 mg/kg/die), indipendentemente dagli effetti sulla PA, riduce l'attivazione piastrinica ed il legame dell'U46619 (analogo del Tx2) con le piastrine di questi animali. Anche questi effetti sono dovuti con molta probabilità all'altro metabolita del Losartan, l'EXP3179 (Kramer e coll. 2002), che oltre a migliorare il metabolismo glicidico e lipidico, ha an-

che proprietà antiaggreganti ed anti-infiammatorie perché inibisce l'aggregazione piastrinica, riduce la produzione di $\text{PGF2}\alpha$ ed impedisce la *upregulation* delle ICAM. Poiché questi effetti compaiono indipendentemente dal blocco dei recettori AT1, il Losartan si configura come un "*dual receptor antagonist*" (Sadoshima 2002) e questa sua caratteristica è parzialmente condivisa dall'Irbesartan, che presenta una struttura molecolare simile.

Un altro effetto pleiotropo, prodotto soltanto dal Losartan, è l'aumentata escrezione di acido urico con le urine con diminuzione anche della uricemia, osservato sia in volontari sani che in pazienti ipertesi o con malattie renali. Questo effetto è prodotto soltanto dal Losartan e non dal suo metabolita EXP3174 ed è dovuto all'azione inibitrice del farmaco sullo scambio urato/anioni nel tubulo prossimale renale. Il fatto che non si modifichi con le variazioni dell'apporto sodico, dimostra che esso è indipendente sia dal blocco degli AT1 che dall'attivazione del SRA (Nakashima e coll. 1992; Burnier e coll. 1996). Egualmente prodotta soltanto dal Losartan è l'inibizione della contrazione che l'Angiotensina II a basse dosi produce sul muscolo liscio coccigeo, mentre il rilasciamento prodotto da dosi più elevate del polipeptide è inibito dal PD123319 (De Godoy e coll. 2004). Se il fenomeno sia all'origine dei disturbi dell'alvo qualche volta accusati dai pazienti trattati con questo AT1RA, è ancora da dimostrare.

Una metanalisi condotta su circa 12.000 pazienti ipertesi con una storia di cefalea non correlata all'entità dell'aumento pressorio e trattati con 7 diversi tipi di AT1RA in confronto con il placebo, ha dimostrato che gli AT1RA riducono anche la frequenza di questa patologia di circa 1/3 rispetto al placebo, indipendentemente dal loro effetto sulla PA (Etminan e coll. 2002). Il meccanismo con cui si realizza il miglioramento è ancora sconosciuto, ma suggerisce un ruolo del SRA anche nella patogenesi del disturbo (Tronvik e coll. 2006).

In ratti transgenici *m(ren-2)*27 trattati con Losartan, Moravski (Moravski e coll. 2000) ha osservato anche un'inibizione o una riduzione dei fenomeni proliferativi nei vasi retinici dopo esposizione degli animali ad un'alternanza di ipossia ed iperossia. Partendo dall'osservazione che nella retinopatia diabetica i recettori AT1 sono attivati a livello delle cellule endoteliali della retina (Clermont e coll. 2006), uno studio tuttora in corso con il Candesartan, (Studio DIRECT -*Diabetic Retinopathy Candesartan Trial*-), si propone di valutare l'effetto di questi farmaci nella prevenzione di tale complicanza del diabete. Infine, poiché nell'occhio sono presenti tutti i componenti del SRA ed il Captopril si è rivelato capace di ridurre la pressione endoculare in volontari sani ed in pazienti con glaucoma ad angolo aperto, anche il Losartan è stato usato con successo nel trattamento di questa patologia nell'uomo (Costagliola e coll. 1999).