

# SINDROME DI MARFAN: DIAGNOSI, COMPLICANZE E TERAPIA. COSA C'È DI NUOVO?

*F. I. Gambarin, E. Arbustini*

**Centro per le Malattie Genetiche Cardiovascolari IRCCS  
Fondazione Policlinico San Matteo, Pavia.**

## **Riassunto**

### *1) Che cos'è la sindrome di Marfan.*

La sindrome di Marfan è una malattia genetica del tessuto connettivo rara (1:5000), causata da difetti del gene *fibrillina 1* (FBN1), i cui effetti fenotipici più severi sono quelli a carico del sistema cardiovascolare, in particolare l'aneurisma della radice aortica con rischio di dissecazione e rottura.

### *2) Il cardiologo e la sindrome di Marfan.*

Di pertinenza cardiologica sono la diagnosi ed il monitoraggio dell'aneurisma della radice aortica nonché la gestione di trattamenti farmacologici atti a controllare/rallentare la progressione della dilatazione aortica.

### *3) Vecchi farmaci per nuovi targets.*

La recente dimostrazione sperimentale che la molecola chiave del danno tissutale aortico è il TGF $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor Beta 1, fattore di crescita trasformante beta 1) introduce il trattamento che si basa sull'uso del capostipite dei sartani, il quale, attraverso il blocco del recettore 1 dell'angiotensina II, agisce direttamente ed indirettamente riducendo l'eccesso di effetti derivanti dall'azione di TGF $\beta$ 1.

Sono in corso trials clinici che testano l'effetto degli ARB vs i beta-bloccanti di I e II generazione sulla progressione della dilatazione della radice aortica. A ciò si aggiunge la possibilità di introdurre beta-bloccanti di terza generazione, quali nebivololo, che presenta una peculiare azione sui recettori  $\beta$ 3 con conseguenti effetti anti-stiffness non ottenibili con la somministrazione dei beta-bloccanti delle prime generazioni. Per il suo minor effetto bradicardizzante e per l'assenza di effetto sui  $\beta$ 2 recettori, il nebivololo è candidato anche all'impiego clinico in pazienti bradicardici ed asmatici.

## Introduzione

La sindrome di Marfan (MFS) è una malattia rara (1:5000) (MIM# 154700) causata da mutazioni del gene *fibrillina 1* (FBN1). La sindrome fu descritta per la prima volta nel 1896 dal pediatra Antoine Marfan e da lui prese il nome <sup>1</sup>. Il pediatra studiò il caso di una bambina di 5 anni che presentava braccia, gambe, dita dei piedi e delle mani allungate e sottili, con muscoli poco sviluppati ed una cifoscoliosi dorsale. Con il passare del tempo le osservazioni di pazienti con caratteristiche fenotipiche simili si moltiplicarono e le caratteristiche cliniche che tipicamente ricorrono nell'ambito della sindrome furono codificate in un sistema nosologico che includeva: alterazioni scheletriche caratterizzate da dolicoostenomelia e aracnodattilia, dolicocefalia con micrognazia, cifoscoliosi, petto carenato o incavato, lassità ligamentosa, smagliature cutanee, aneurisma aortico con elevato rischio di dissecazione, alterazioni strutturali delle valvole cardiache (lembi mixomatosi, prolasso valvolare), problemi visivi (miopia, lussazione del cristallino), aumentata incidenza di ernie, pneumotorace spontaneo <sup>2</sup>.

Il problema clinico maggiore per la prognosi *quoad vitam* è costituito dall'aneurisma aortico, con rischio di dissecazione quando il diametro del bulbo aortico approssima i 5 cm. Più raramente, un aumentato rischio di dissecazione aortica è stato osservato anche per diametri aortici inferiori ai 5 cm, in particolare quando la velocità di crescita del calibro dell'aneurisma supera i 2 mm all'anno <sup>3</sup>.

Inizialmente, l'ipotesi patogenetica più accreditata si fondava sulla perdita del ruolo strutturale del tessuto connettivo in presenza di fibrillina mutata. Il danno al tessuto connettivo e l'ubiquitariet  dello stesso sembravano spiegare la maggior parte dei tratti fenotipici della MFS, come l'aneurisma aortico, la dissecazione, l'*ectopia lentis*, la lassit  ligamentosa e l'enfisema polmonare. Sulla base del presupposto di una maggior "fragilit " dei tessuti della parete aortica, fu introdotto nel 1971 l'uso dei beta-bloccanti per proteggere i pazienti dalla dissecazione <sup>4</sup>; da allora i beta-bloccanti sono stati la terapia cardine della sindrome di Marfan, sostituiti da altri farmaci con effetto ipotensivante o inotropo negativo nei casi in cui la terapia con beta-bloccante non fosse tollerata dal paziente.

L'ipotesi patogenetica originale era basata sulla perdita del ruolo strutturale del tessuto connettivo; quest'ipotesi, tuttavia, lasciava inspiegate alcune manifestazioni della sindrome, quali le anomalie scheletriche e l'iperstaturalismo. Il meccanismo patogenetico realmente implicato nella sindrome avrebbe dovuto invece spiegare sia il danno di un tessuto, sia l'abnorme crescita dell'altro. Una diversa e recente ipotesi riconduce la patogenesi della malattia ad una combinazione di alterata migrazione, proliferazione e morte cellulare programmata.

## La nuova ipotesi patogenetica

Recentemente, il sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS)   entrato nel meccanismo patogenetico della MFS. L'angiotensina II (AgII)   il prodotto finale attivo di questo sistema: essa stimola la crescita di molti organi e tessuti, influenza la crescita, differenziazione, sopravvivenza e morte cellulare <sup>5</sup>,

regola l'espressione di molecole di adesione, proteine della matrice extracellulare (ECM), fattori di crescita, citochine e chemochine, compreso il fattore di crescita trasformante beta (TGF $\beta$ ) attraverso un effetto mediato dal recettore 1 dell'angiotensina II (AT1) <sup>6</sup>.

Le proteine appartenenti alla famiglia del TGF $\beta$  esercitano plurimi effetti a livello di crescita, differenziazione, sopravvivenza e morte cellulare programmata e omeostasi tissutale. Molte cellule sintetizzano il TGF $\beta$  e sono a loro volta dotate di recettori specifici per il TGF $\beta$ . Le tre proteine TGF $\beta$  (1, 2 e 3) agiscono attraverso meccanismi mediati da specifici recettori. Il TGF $\beta$ 1 viene prodotto sotto forma di un propeptide chiamato "complesso latente minore" (SLC dall'acronimo inglese *Small Latent Complex*), che è formato da una regione N-terminale detta "peptide associato al complesso latente" (LAP dall'acronimo inglese *Latency Associated Peptide*) e da una regione C-terminale che è il vero e proprio peptide TGF $\beta$ , codificato dal gene TGF $\beta$ 1. Il TGF $\beta$  è legato in modo non covalente al LAP. SLC usa il LAP per legarsi in modo covalente alla "proteina di legame del TGF $\beta$  latente" (LTBP dall'acronimo inglese *Latent TGF- $\beta$  Binding Protein*). Il complesso che ne risulta viene definito "complesso latente maggiore" (LLC, *Large Latent Complex*) <sup>7</sup>. Il precursore LLC inattivo si lega alla matrice extracellulare. Per esercitare la sua funzione biologica esso richiede un'attivazione regolata che permetta di rilasciare il TGF $\beta$  libero <sup>8</sup>.

Le LTBP costituiscono un gruppo di proteine che appartengono alla grande famiglia delle fibrilline, alle quali sono per gran parte omologhe <sup>9</sup>. Esistono diverse LTBP; tra queste la più comune, anche se non ubiquitaria nell'organismo, è LTBP-1. Nelle microfibrille del tessuto connettivo la fibrillina-1 è il componente strutturale di maggior importanza e svolge un ruolo basilare nel preservare resistenza ed elasticità delle microfibrille e delle fibre elastiche. Dall'altro lato, sebbene le LTBP non siano componenti costitutivi delle microfibrille, esse contribuiscono a strutturare correttamente le microfibrille che contengono fibrillina 1. In particolare, LTBP-1 si associa specificamente a fibrillina-1 nei tendini, nel pericondrio, nella cartilagine e nella parete di tutti i vasi sanguigni <sup>10</sup>. La regione C-terminale di LTBP-1 lega covalentemente la porzione N-terminale di fibrillina-1, mentre la regione N-terminale di LTBP-1 è connessa alla matrice extracellulare <sup>11</sup>. In questo modo LTBP-1, che lega covalentemente anche il peptide LAP-TGF $\beta$ , permette che quest'ultimo risieda, stabilmente latente, nella matrice extracellulare stessa. L'ipotesi patogenetica proposta è che la perdita di fibrillina-1 abolisca questo equilibrio e porti ad una locale, impropria attivazione di TGF $\beta$  <sup>10</sup>.

Il punto cruciale della regolazione dell'attività di TGF $\beta$  nell'organismo sembra essere il momento dell'attivazione dello stesso, che proprio per questo motivo è strettamente controllata (Fig. 1). Numerosi enzimi e proteine concorrono infatti a regolare l'attivazione di TGF $\beta$  attraverso il clivaggio proteolitico di LAP (plasmina, trombina, transglutaminasi plasmatica, endoglicosilasi) o attraverso l'interazione fisica tra LAP e altre proteine, come accade nel caso dell'attivazione regolata da trombospondina-1, che costituisce il maggior attivatore di TGF $\beta$  in vivo <sup>12</sup>.

La nuova ipotesi patogenetica della MFS presuppone che una fibrillina 1 anomala comporti un inefficace sequestro di LLC, con conseguente eccessiva attivazione di TGF $\beta$ . Una simile iperattivazione del TGF $\beta$  si osserva anche

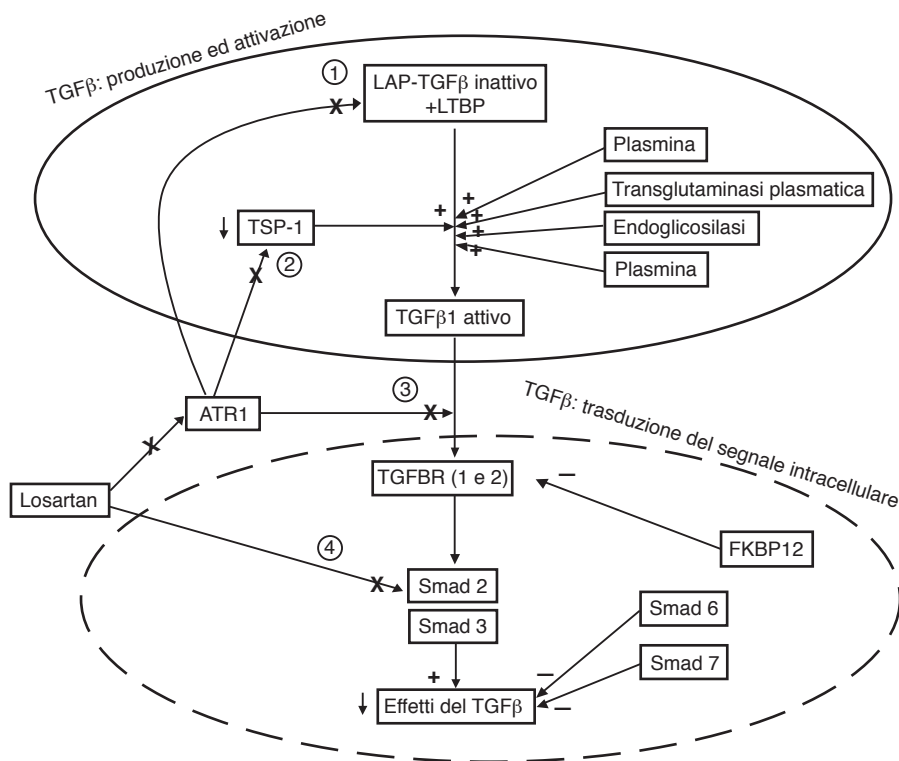


Fig. 1. Attivazione del TGFβ ed effetto di inibizione attiva da parte di losartan. Il TGFβ è prodotto come propeptide la cui estremità N-terminale, LAP, è legata non covalentemente all'estremità C-terminale (che costituisce il peptide TGFβ vero e proprio). Il propeptide si lega covalentemente alla LTBP grazie al LAP. In questa forma il TGFβ non può entrare in contatto con i propri recettori. L'attivazione di TGFβ richiede il clivaggio del LAP. Questo può essere consentito dall'intervento di enzimi proteolitici (plasmina, trombina, transglutaminasi plasmatica, endoglicosilasi) o tramite interazione fisica tra LAP e trombospondina 1, che sembra costituire il maggior attivatore di TGFβ in vivo. L'attivazione di TGFβ è il momento fondamentale di controllo e limitazione degli effetti di TGFβ. Losartan inibisce il contatto tra angiotensina II ed il suo recettore tipo 1. Di conseguenza, gli effetti di angiotensina II risultano inibiti:

1. risulta inibita la quantità di TGFβ, la cui espressione dipende direttamente da angiotensina II, attraverso l'inibizione dei promotori di trascrizione genica di TGFβ<sup>12,13</sup>;
2. l'inibizione del recettore tipo 1 porta ad una diminuzione dell'attività della trombospondina, che a sua volta contribuisce alla diminuzione dell'attivazione di TGFβ;
3. è inibita la modulazione dell'espressione di TGFBR mediata dalla angiotensina II<sup>14</sup>. Dall'altra parte, il betaglicano può facilitare il legame di TGFβ al suo recettore. A livello intracellulare, la trasduzione del segnale è controllata dalle proteine Smad (Smad 2 e 3); l'inibizione dell'eccesso di segnale da TGFβ è inoltre garantita da una proteina citosolica altamente conservata, FKBP12, che diminuisce la funzionalità di TGFBR1, inibendone la fosforilazione. Anche Smad 6 e 7 possono inibire la trasduzione di segnale di TGFβ. Losartan agisce a livello intracellulare attraverso l'inibizione (4) delle proteine Smad 2 e 3, contribuendo così ad un ulteriore decremento dell'effetto di TGFβ.

ATR1 = recettore 1 dell'angiotensina II; LAP = peptide associato al latente; LTBP = proteina che lega TGFβ latente; TGFBR = recettore del fattore trasformante beta; TSP-1 = trombospondina 1.

nelle sindromi di recente descrizione, clinicamente caratterizzate da ricorrenza di aneurisma aortico e causate da mutazioni dei geni che codificano per i recettori del TGF $\beta$ , i geni TGFBR1 e TGFBR2 (sindromi di Loeys-Dietz), nelle quali la mancata regolamentazione dell'attività di TGF $\beta$  risiede a livello recettoriale e quindi più a valle rispetto ai meccanismi alterati nella MFS.

L'eccessiva quantità di TGF $\beta$  attivo nella MFS, come nelle sindromi di Loeys-Dietz, indebolirebbe la struttura e la resistenza della matrice extracellulare e contemporaneamente aumenterebbe la rigidità delle pareti vascolari, con aumento della stiffness arteriosa, portando così al complesso di caratteristiche patologiche che configurano la MFS. Nel complesso, i dati scientifici disponibili indicano nel TGF $\beta$  il principale protagonista nella MFS: su questo si basano le attuali proposte terapeutiche per la MFS, che vanno al di là della protezione aortica aspecifica derivante dall'effetto inotropo e cronotropo negativo esercitato sul cuore dai beta-bloccanti.

## Diagnosi

Nel 1991 il difetto genetico alla base della sindrome di Marfan fu identificato nel gene fibrillina 1<sup>15</sup>. La diagnosi clinica della malattia è quindi oggi confortata dalla diagnosi molecolare basata sull'analisi del gene FBN1. In presenza di mutazione la penetranza è completa ma esiste un'ampia variabilità fenotipica, anche tra i membri affetti di una stessa famiglia. Sono descritte anche rare fibrillinopatie non Marfan, con mutazione documentata in FBN1, quali il prolusso isolato della valvola mitrale, l'ectasia aortica lieve non progressiva, la *ectopia lentis* isolata, e fenotipi scheletrici isolati<sup>16,17</sup>.

Le indagini molecolari si sono inoltre arricchite della possibilità di ricercare perdite di eterozigosità oltre che mutazioni puntiformi o piccoli riarrangiamenti. La percentuale di pazienti che soddisfano i criteri clinici di diagnosi di MFS in cui l'analisi del gene FBN1 non identifica il difetto causale è quindi sempre più ridotta ed il difetto genico è oggi identificabile nel 95% dei pazienti<sup>18</sup>.

La diagnosi clinica si basa sul raggiungimento dei criteri clinici di Ghent<sup>19</sup> che aggiungono, rispetto ai criteri di Berlino, l'ectasia durale e l'identificazione della mutazione causale quale criteri maggiori. I criteri di Ghent si basano sulla valutazione di sette apparati (scheletrico, oculare, cardiovascolare, polmonare, tegumentale, nervoso, genetico) all'interno dei quali sono definiti segni di coinvolgimento maggiore e segni minori (tabella I). La diagnosi clinica di sindrome di Marfan, in assenza di storia familiare positiva per presenza della patologia, è formulata in presenza di un segno maggiore in due apparati distinti e almeno il coinvolgimento di un terzo apparato. In presenza di storia familiare positiva, i criteri di Ghent sono raggiunti con il soddisfacimento di un solo criterio maggiore e uno minore.

A causa dell'esistenza di sovrapposizione tra fenotipi clinici appartenenti a sindromi diverse dal punto di vista patogenetico, è sempre più utile che la diagnosi clinica di MFS sia confortata dalla diagnosi genetica. Poiché molte delle caratteristiche fenotipiche della sindrome di Marfan (per esempio l'ectasia bulbare aortica, la lussazione del cristallino, la scoliosi, l'alterato rapporto dimensionale tra segmento corporeo superiore e inferiore) sono dipendenti dall'età, cioè possono essere assenti nel bambino e comparire con il passare de-

Tabella I - I criteri di Ghent.

Apparato	Segni maggiori	Coinvolgimento minore
Scheletrico	1 criterio maggiore è fornito dalla contemporanea presenza di almeno 4 dei seguenti: - petto carenato - petto escavato con necessità di correzione chirurgica - ULSR <0.86 oppure SPAN/altezza >1.05 - segno del polso, segno del pollice - scoliosi >20° o spondilolistesi - ridotta estensione del gomito <170° - piede piatto - protrusione dell'acetabolo	Due dei criteri esposti nella colonna a sinistra; oppure uno dei criteri a sinistra in aggiunta a due dei seguenti: - petto escavato - iperlassità articolare - palato ogivale con affollamento denti - facies caratteristica
Oculare	lussazione del cristallino	- cornea plana - miopia assile - ipoplasia iridea o del muscolo ciliare
Cardiovascolare	dilatazione del bulbo aortico (la misurazione ecocardiografica del bulbo aortico deve essere effettuata secondo il metodo esposto da Roman nel 1989 <sup>20</sup> ) dissecazione dell'aorta ascendente	- prolasso valvolare mitralico - dilatazione dell'arteria polmonare comune prima dei 40 anni di età  - calcificazione annulus mitralico prima dei 40 anni di età - altre sedi di dilatazione o dissecazione aortica
Polmonare	(nessuno)	pneumotorace spontaneo enfisema apicale
Tegumentario	(nessuno)	smagliature cutanee ernie ricorrenti o ernie incisionali
Neurologico	ectasia durale	(nessuno)

Legenda: ULSR = Upper/Lower Segment Ratio

gli anni <sup>21</sup>, i giovani pazienti con familiarità positiva per sindrome di Marfan che non soddisfano pienamente i criteri di Ghent dovrebbero essere valutati periodicamente almeno fino al raggiungimento dell'età adulta ed al completamento dello sviluppo corporeo.

### Evoluzione della malattia

L'evento più importante, potenzialmente fatale, nella storia naturale della malattia è la progressione della dilatazione del bulbo aortico, fino al punto critico di rottura. La malattia è caratterizzata inoltre da possibile deterioramento strutturale anche dell'apparato valvolare mitralico, con prolasso; quando il prolasso si associa ad insufficienza valvolare si possono verificare sovraccarico e rimodellamento ventricolare.

L'età infantile e l'adolescenza costituiscono il periodo più critico nella evoluzione naturale delle problematiche cardiovascolari della sindrome <sup>22</sup>.

All'interno di questo gruppo non è però possibile identificare una specifica fascia ristretta di età in cui la comparsa o il peggioramento del fenotipo siano caratteristici. In passato, pochi sono stati gli studi che hanno valutato adeguatamente l'aspettativa di vita di pazienti affetti da sindrome di Marfan, lasciati alla storia naturale della malattia. Nei primi anni '70 uno studio ha valutato retrospettivamente una serie di pazienti che non hanno avuto accesso a trattamenti farmacologici o chirurgici per i problemi cardiovascolari connessi alla sindrome <sup>23</sup>: mediamente i decessi si verificavano nella quarta o quinta decade di vita, e nella quasi totalità dei casi erano dovuti a dissecazione aortica o a cardiopatia su base valvolare (per insufficienza aortica o mitralica). Per quanto riguarda il solo coinvolgimento mitralico, sembra che l'evoluitività della patologia valvolare nella sindrome di Marfan sia maggiore rispetto a quanto osservato nel prolasso mitralico idiopatico <sup>24</sup>.

Oggi, l'impostazione di una corretta terapia farmacologica unitamente ad uno stile di vita adeguato (che eviti sforzi fisici eccessivi e sforzi isometrici, che permetta di controllare la pressione arteriosa e che escluda la pratica di attività sportive agonistiche) permette al paziente affetto da sindrome di Marfan di avere un'aspettativa di vita quasi paragonabile alla popolazione generale, grazie anche alla possibilità del monitoraggio clinico ed ecocardiografico, che consentono di programmare in elezione eventuali interventi di correzione di aneurismi aortici <sup>25</sup>.

## **I nuovi approcci terapeutici**

### ***La terapia classica nella sindrome di Marfan***

La prima descrizione di un effetto favorevole dell'applicazione dei beta-bloccanti nella terapia della sindrome di Marfan risale al 1971 <sup>4</sup>, in un piccolo studio in cui per la prima volta la terapia con beta-bloccanti in sei pazienti affetti da MFS si dimostrava efficace nel rallentare la progressione della dilatazione aortica, grazie all'effetto inotropo e cronotropo negativo caratteristico di questa classe di farmaci. Lo studio che confermò questo primo risultato e che avallò l'uso dei beta-bloccanti nella MFS fu pubblicato nel 1994 <sup>26</sup>; esso riportava una significativa minor incidenza degli end point clinici dissecazione e rottura di aorta nei pazienti trattati con beta-bloccanti rispetto ai controlli. Altri studi in seguito confermarono questi risultati pur in assenza di prove basate sull'evidenza e quindi di trial clinici. Nel 2007 tuttavia, l'effetto benefico inotropo e cronotropo negativo dei beta-bloccanti venne messo in discussione e non fu confermato in una metanalisi dedicata <sup>27,28</sup>.

### ***Evidenze dai modelli sperimentali***

In un modello di topo transgenico con mutazione di fibrillina-1 <sup>29</sup> l'aumentato segnale del TGF $\beta$  è risultato associato alla presenza di dilatazione del bulbo aortico, valvola mitrale mixomatosa e inadeguata costituzione dei setti alveolari polmonari. Anticorpi specifici anti-TGF $\beta$  attenuavano tutte le caratteristiche fenotipiche in vivo, avvalorando l'ipotesi che un eccesso di TGF $\beta$  a livello della matrice extracellulare contribuisca al danno del collagene caratteri-



stico della MFS. Poiché le caratteristiche fenotipiche influenzate positivamente dagli anticorpi anti-TGF $\beta$  comprendevano anche la dilatazione del bulbo aortico, si è ritenuto che una strategia terapeutica basata sul blocco del TGF $\beta$  sia potenzialmente utile per prevenire, diminuire o ritardare la dilatazione del bulbo aortico in vivo. Fino a metà del 2007 non erano stati usati farmaci sull'uomo con questo fine. I bloccanti del recettore 1 dell'angiotensina II (sartani, ARB) hanno dimostrato un effetto anti-TGF $\beta$  dovuto al blocco dell'AT1, che altrimenti stimola la produzione e l'attivazione del TGF $\beta$  <sup>22</sup>. La molecola maggiormente indagata è il losartan <sup>6,31-44</sup>.

### ***Gli effetti dell'angiotensina II***

L'AgII modula l'espressione del gene TGF $\beta$ . Quando l'AgII si lega al suo recettore, in particolare l'AT1, essa attiva la cascata della trombospodina 1, che agisce stimolando direttamente il TGF $\beta$  attivo. Il TGF $\beta$  agisce a valle legandosi specificamente al suo recettore, attraverso l'attivazione della cascata intracellulare delle proteine Smad, in particolare della Smad 2, che in ultimo comporta una stimolazione della sintesi di TGF $\beta$ 1 <sup>45</sup>. Perciò gli effetti anti-TGF $\beta$ 1 di losartan sono esercitati sia direttamente, bloccando l'AT1, sia indirettamente, inibendo il TGF $\beta$ 1 attivo. Gli ARB abrogano gli effetti della AgII, in particolare quelli connessi alla fibrogenesi, che si sono dimostrati suscettibili alla stimolazione del TGF $\beta$ . I modelli in vivo meglio indagati sono costituiti dalle malattie renali congenite e i trapianti di rene, in cui gli ARB inibiscono i segnali di TGF $\beta$  <sup>4</sup>. Per esempio, nella cardiomiopatia ipertrofica il trattamento con losartan inibisce l'espressione di TGF $\beta$  a livello interstiziale <sup>5</sup>. Negli studi disponibili, l'effetto pro-fibrotico di AgII è inibito indipendentemente dagli effetti sulla pressione arteriosa.

### **Terapia anti-TGF $\beta$ nel modello murino di MFS**

Habashi et al <sup>29</sup> hanno testato l'ipotesi che il blocco di AT1 diminuisse il danno aortico. Gli Autori hanno randomizzato coorti di topi wild-type e di topi portatori della mutazione p.[C1039G] su FBN1 a ricevere losartan o propranololo o placebo. L'obiettivo era definire la diminuzione della progressione della dilatazione del bulbo aortico. Il diametro del bulbo aortico fu monitorato mediante ecocardiografia. Dopo sei mesi di terapia, il tasso di crescita del bulbo aortico negli animali trattati con losartan era significativamente minore rispetto al gruppo placebo (p<0.001).

### **Dal modello animale alla traslazione nell'uomo**

La progressiva strategia terapeutica per contrastare la dilatazione del bulbo aortico era fondata sull'ipotesi che la diminuzione dello stress dinamico sulle pareti aortiche e la diminuzione della frequenza cardiaca costituissero un meccanismo chiave per limitare la progressione dell'aneurisma. I farmaci in assoluto più usati erano quindi i beta-bloccanti (seguiti dai calcio-antagonisti e dagli ACE-inibitori, soprattutto quando i beta-bloccanti non fossero tollerati o fossero controindicati). Rimanevano tuttavia due problematiche aperte: 1) studi che non confermavano l'effetto benefico dei beta-bloccanti nel contenimen-



to della progressione della dilatazione del bulbo aortico; 2) nessuna efficacia dei beta-bloccanti nel diminuire il numero di interventi chirurgici e di dissecazioni. Come sopra anticipato, le evidenze disponibili erano e sono basate su studi osservazionali, non randomizzati, condotti su popolazioni di numerosità ridotta con criteri di inclusione non omogenei. Se da un lato, tuttavia, non vi erano prove basate sull'evidenza, dall'altro non vi era nemmeno dimostrazione definitiva della loro non efficacia.

Studi recenti sostengono l'ipotesi di un beneficio clinico derivante dall'inibizione del sistema RAAS mediante ACE-inibitori <sup>46</sup>. Durante un monitoraggio clinico durato 6 mesi, 17 pazienti con MFS furono trattati con perindopril vs. placebo in aggiunta alla loro tradizionale terapia con beta-bloccanti. L'ACE-inibitore, aggiunto al beta-bloccante, è risultato più efficace nel ridurre sia la stiffness aortica sia la dilatazione del bulbo aortico, rispetto alla sola terapia con beta-bloccanti. Ai dati forniti da questo studio si aggiungono quelli di un ulteriore recente studio, ma retrospettivo e condotto su soli 18 pazienti pediatrici, che sono stati seguiti per un massimo di 47 mesi, in trattamento con losartan dopo che altri approcci terapeutici si erano dimostrati inefficaci nel prevenire la dilatazione del bulbo aortico: la terapia con sartano si è dimostrata efficace nel ridurre il tasso di crescita delle dimensioni del bulbo aortico <sup>47</sup>.

### **I trial clinici in corso**

Trial clinici, attualmente in corso, forniranno i dati clinici necessari per definire quale sia oggi, sulla base dei farmaci esistenti, la miglior terapia per rallentare la progressione della dilatazione della radice aortica. Tutti includono gli ARB.

Il primo di questi <sup>48</sup> è uno studio multicentrico che paragona l'effetto di losartan verso atenololo in pazienti affetti da sindrome di Marfan secondo la nosologia di Ghent senza documentata diagnosi genetico-molecolare. Si tratta di uno studio clinico randomizzato su pazienti di età compresa tra 6 mesi e 25 anni, che presentano uno z score della radice aortica (dimensione indicizzata per età e superficie corporea) pari o superiore a 3. I pazienti vengono randomizzati a trattamento con losartan o atenololo. Lo scopo principale è verificare l'efficacia dei due trattamenti nell'arco di tre anni sulla progressione della dilatazione del bulbo aortico. End-points secondari sono costituiti dalla valutazione della progressione dell'insufficienza aortica e mitralica, dalla valutazione della stiffness aortica, dall'incidenza di dissecazione aortica, di necessità di intervento chirurgico elettivo sulla radice aortica, e dall'incidenza di eventi fatali.

Altri studi sono attualmente in corso, registrati sul registro dell'Organizzazione Mondiale della Sanità: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov).

In totale, compreso lo studio sopra menzionato, sono 8 gli studi clinici in corso tesi a valutare l'efficacia di losartan somministrato ai pazienti affetti da sindrome di Marfan. La maggior parte paragona l'effetto di losartan contro Atenololo o, in uno studio, propranololo; in due studi losartan è confrontato con placebo. I primi risultati sono attesi a partire dal 2009.

Nell'agosto 2008 abbiamo avviato un trial clinico che si distingue dagli altri trials in corso per due caratteristiche, ovvero la popolazione arruolata e la randomizzazione a tre bracci di trattamento anziché due <sup>49</sup>.

- La popolazione studiata è composta da 291 individui affetti da sindrome di

Marfan secondo i criteri clinici di Ghent, a cui si aggiunge *la presenza di mutazione del gene FBN1*. Questa scelta è motivata dalla necessità di studiare una popolazione omogenea di pazienti con MFS, dal momento che esistono sindromi “simil-Marfan”, con possibile “overlapping” fenotipico, causate da difetti di geni diversi da FBN1<sup>18,50</sup>.

- La randomizzazione dei pazienti è stata impostata su tre bracci di trattamento: sartano oppure beta-bloccante, oppure l’associazione dei due. Il beta-bloccante in uso è il nebivololo, beta-bloccante di terza generazione che, ai comuni effetti di classe inotropo e cronotropo negativi, aggiunge (unico nella classe) uno specifico effetto sui recettori  $\beta_3$  che contribuisce a migliorare la *stiffness* arteriosa, alterata nel paziente affetto da sindrome di Marfan<sup>51</sup>. Il nebivololo presenta inoltre un minore effetto bradicardizzante e assenza di effetto sui  $\beta_2$  recettori, con conseguente possibilità di impiego clinico anche in pazienti bradicardici ed asmatici.

I risultati di quest’ultimo studio sono previsti dopo quattro anni dall’inizio dell’arruolamento; tuttavia una prima analisi ad interim sarà effettuata alla fine del secondo anno.

## Conclusioni

I nuovi meccanismi patogenetici della sindrome di Marfan aprono la strada all’uso preventivo di farmaci esistenti (ARB) con effetti anti-TGF $\beta$ . Il loro effetto sarà comparato con quello dei beta-bloccanti di I, II e III generazione.

Da questi trial ci si attendono dati basati sull’evidenza relativi al miglior trattamento attualmente possibile per rallentare la progressione della dilatazione della radice aortica, che costituisce il tratto fenotipico clinicamente più rilevante nella MFS.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) *Marfan AB*. Un cas de déformation congénitale des quatre membres plus prononcée aux extrémités caractérisée par allongement des os avec un certain degré d’amincissement. Bull Mem Soc Med Hop Paris 1896; 13:220-6
- 2) *Beighton P, de Paepe A, Danks D, Finidori G, Gedde-Dahl T, Goodman R, Hall JG, Hollister DW, Horton W, McKusick VA, et al*. International Nosology of Heritable Disorders of Connective Tissue, Berlin, 1986. Am J Med Genet 1988; 29:581-94
- 3) *Groenink M, Lohuis TA, Tijssen JG, et al*. Survival and complication free survival in Marfan's syndrome: implications of current guidelines. Heart 1999; 82:499-504
- 4) *Halpern BL, Char F, Murdoch JL, Horton WB, McKusick VA*. A prospectus on the prevention of aortic rupture in the Marfan's syndrome with data on survivorship without treatment. Johns Hopkins Med J 1971; 129:123-9
- 5) *de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T*. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. Pharmacol Rev 2000; 52:415-72
- 6) *Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Esteban V, Egido J*. Molecular mechanisms of angiotensin II-induced vascular injury. Curr Hypertens Rep 2003; 5:73-9
- 7) *Munger JS, Harpel JG, Gleizes PE et al*. Latent transforming growth factor-beta:

- structural features and mechanisms of activation. *Kidney Int* 1997; 51:1376-82
- 8) *Fontana L, Chen Y, Prijatelj P, et al.* Fibronectin is required for integrin alpha-beta6-mediated activation of latent TGF-beta complexes containing LTBP-1. *FASEB J* 2005; 19:1798-808
  - 9) *Ramirez F, Sakai LY, Dietz HC, Rifkin DB.* Fibrillin microfibrils: multipurpose extracellular networks in organismal physiology. *Physiol Genomics* 2004; 19:151-154
  - 10) *Isogai Z, Ono RN, Ushiro S, et al.* Latent transforming growth factor beta-binding protein 1 interacts with fibrillin and is a microfibril-associated protein. *J Biol Chem* 2003; 278:2750-7
  - 11) *Taipale J, Saharinen J, Hedman K, Keski-Oja J.* Latent transforming growth factor-beta 1 and its binding protein are components of extracellular matrix microfibrils. *J Histochem Cytochem* 1996; 44:875-89
  - 12) *Massagué J, Chen YG.* Controlling TGF-beta signaling. *Genes Dev* 2000; 14:627-44
  - 13) *Shin GT, Kim SJ, Ma KA, Kim HS, Kim D.* ACE inhibitors attenuate expression of renal transforming growth factor-beta1 in humans. *Am J Kidney Dis* 2000; 36:894-902
  - 14) *Fukuda N, Hu WY, Kubo A, et al.* Angiotensin II upregulates transforming growth factor-beta type I receptor on rat vascular smooth muscle cells. *Am J Hypertens* 2000; 13:191-8
  - 15) *Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE et al.* Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature* 1991; 352:337-339
  - 16) *Dietz HC, Pyeritz RE.* Mutations in the human gene for fibrillin-1 (FBN1) in the Marfan syndrome and related disorders. *Hum Mol Genet* 1995; 4:1799-1809
  - 17) *Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, Child A, Binquet C, Gautier E, et al.* Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: an international study. *Am J Hum Genet* 2007; 81:454-66
  - 18) *Loeys B, De Backer J, Acker P, et al.* Comprehensive molecular screening of the FBN1 gene favors locus homogeneity of classical Marfan syndrome. *Hum Mutat* 2004; 24:140-146
  - 19) *De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RC, Pyeritz RE.* Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 62:417-426
  - 20) *Roman MJ, Devereux RB, Kramer-Fox R, O'Loughlin J.* Two dimensional echocardiographic aortic root dimensions in normal children and adults. *Am J Cardiol* 1989; 64:507-12
  - 21) *Lipscomb KJ, Clayton-Smith J, Harris R.* Evolving phenotype of Marfan's syndrome. *Arch Dis Child* 1997; 76:41-46
  - 22) *van Karnebeek CD, Naeff MS, Mulder BJ, Hennekam RC, Offringa M.* Natural history of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome. *Arch Dis Child* 2001; 84:129-37
  - 23) *Murdoch JL, Walker BA, Halpern BL, Kuzma JW, McKusick VA.* Life expectancy and causes of death in the Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1972; 286:804-8
  - 24) *Pyeritz RE, Wappel MA.* Mitral valve dysfunction in the Marfan syndrome. Clinical and echocardiographic study of prevalence and natural history. *Am J Med* 1983; 74:797-807
  - 25) *Chaffins JA.* Marfan syndrome. *Radiol Technol* 2007; 78:222-36
  - 26) *Shores J, Berger KR, Murphy E, Pyeritz RE.* Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term betaadrenergic blockade in Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1994; 330:1335-41
  - 27) *Selamet Tierney ES, Feingold B, Printiz BF, et al.* Beta-blocker therapy does not alter the rate of aortic root dilation in pediatric patients with Marfan Syndrome. *J Pediatr* 2007; 150:77-82

- 28) *Gersony DR, McClaughlin MA, Jin Z, Gersony WM.* The effect of beta-blocker therapy on clinical outcome in patients with Marfan syndrome: A meta-analysis. *Int J Cardiol* 2007; 114:303-8
- 29) *Habashi JP, Judge DP, Holm TM et al.* Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science* 2006; 312:117-21
- 30) *Hao J, Wang B, Jones SC, Jassal DS, Dixon IM.* Interaction between angiotensin II and Smad proteins in fibroblasts in failing heart and in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H3020-30
- 31) *Lim DS, Lutucuta S, Bachireddy P et al.* Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2001; 103:789-91
- 32) *el-Agroudy AE, Hassan NA, Foda MA et al.* Effect of angiotensin II receptor blocker on plasma levels of TGF-beta 1 and interstitial fibrosis in hypertensive kidney transplant patients. *Am J Nephrol* 2003; 23:300-6
- 33) *Campbell SE, Katwa LC.* Angiotensin II stimulated expression of transforming growth factor-beta1 in cardiac fibroblasts and myofibroblasts. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29:1947-58
- 34) *Gómez-Garre D, Martín-Ventura JL, Granados R, et al.* Losartan improves resistance artery lesions and prevents CTGF and TGF-beta production in mild hypertensive patients. *Kidney Int* 2006; 69:1237-44
- 35) *Rodríguez-Vita J, Sánchez-López E, Esteban V, Rupérez M, Egido J, Ruiz-Ortega M.* Angiotensin II activates the Smad pathway in vascular smooth muscle cells by a transforming growth factor-beta-independent mechanism. *Circulation* 2005; 111:2509-17
- 36) *Rupérez M, Lorenzo O, Blanco-Colio LM, Esteban V, Egido J, Ruiz-Ortega M.* Connective tissue growth factor is a mediator of angiotensin II-induced fibrosis. *Circulation* 2003; 108:1499-505
- 37) *Border WA, Noble NA.* Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin II in renal fibrosis. *Hypertension* 1998; 318(1 Pt 2):181-8
- 38) *Fakhouri F, Placier S, Ardaillou R, Dussaule JC, Chatziantoniou C.* Angiotensin II activates collagen type I gene in the renal cortex and aorta of transgenic mice through interaction with endothelin and TGF-beta. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12:2701-10
- 39) *Khalil A, Tullus K, Bakhiet M, Burman LG, Jaremko G, Brauner A.* Angiotensin II type 1 receptor antagonist (losartan) down-regulates transforming growth factor-beta in experimental acute pyelonephritis. *J Urol* 2000;164:186-91
- 40) *Erman A, Veksler S, Gafter U, Boner G, Wittenberg C, van Dijk DJ.* Renin-angiotensin system blockade prevents the increase in plasma transforming growth factor beta 1, and reduces proteinuria and kidney hypertrophy in the streptozotocin-diabetic rat. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2004; 5:146-51
- 41) *Campistol JM, Iñigo P, Jimenez W et al.* Losartan decreases plasma levels of TGF-beta1 in transplant patients with chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 1999; 56:714-9
- 42) *Cohn RD, van Erp C, Habashi JP, et al.* Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF-beta-induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states. *Nat Med* 2007;13:204-10. Erratum in: *Nat Med* 2007; 13:511
- 43) *Kaynar K, Ulusoy S, Ovali E, Vanizor B, Dikmen T, Gul S.* TGF-beta and TNF-alpha producing effects of losartan and amlodipine on human mononuclear cell culture. *Nephrology* 2005; 10:478-82
- 44) *Yim HE, Kim MK, Bae IS, et al.* AT1 antagonist modulates activin-like kinase 5 and TGF-beta receptor II in the developing kidney. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:1377-88
- 45) *Verrecchia F, Mauviel A.* Transforming growth factor-beta signaling through the

- Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol* 2002; 118:211-5
- 46) *Ahimastos AA, Aggarwal A, D'Orsa KM et al.* Effect of perindopril on large artery stiffness and aortic root diameter in patients with Marfan syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 298:1539-47
  - 47) *Brooke BS, Habashi JP, Judge DP, Patel N, Loeys B, Dietz HC 3rd.* Angiotensin II blockade and aortic-root dilation in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 2008; 358:2787-95
  - 48) *Lacro RV, Dietz HC, Wruck LM et al.* Rationale and design of a randomized clinical trial of beta-blocker therapy (atenolol) versus angiotensin II receptor blocker therapy (losartan) in individuals with Marfan syndrome. *Am Heart J* 2007; 154:624-31
  - 49) *Gambarin FI, Favalli V, Serio A, Regazzi M, Pasotti M, Klersy C et al.* Rationale and design of a trial evaluating the effects of Losartan vs. Nebivolol vs. the association of both on the progression of aortic root dilation in Marfan Syndrome (MFS) with FBN1 gene mutations. *J Cardiovasc Med* 2009, in press (DOI:10.2459/JCM.0b013e 3283232a45)
  - 50) *Rybczynski M, Bernhardt AM, Rehder U, Fuisting B, Meiss L, Voss U, et al.* The spectrum of syndromes and manifestations in individuals screened for suspected Marfan syndrome. *Am J Med Genet A* 2008; 146A:3157-66
  - 51) *Nollen GJ, Groenink M, Tijssen JGP, van der Wall EE, Mulder BJM.* Aortic stiffness and diameter predict progressive aortic dilatation in patients with Marfan Syndrome. *Eur Heart J* 2004; 25:1146-52