

Trattamento della fibrosi cardiaca: dagli antagonisti neuro-ormonali alle cellule CAR-T

Paolo Morfino¹, Alberto Aimo^{1,2}, Vincenzo Castiglione¹, Michele Emdin^{1,2}

¹Interdisciplinary Center for Health Sciences, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

²Divisione di Cardiologia, Fondazione Toscana Gabriele Monasterio, Pisa

Cardiac fibrosis is characterized by the deposition of extracellular matrix proteins in the spaces between cardiomyocytes following both acute and chronic tissue damage events, resulting in the remodeling and stiffening of heart tissue. Fibrosis plays an important role in the pathogenesis of many cardiovascular disorders, including heart failure and myocardial infarction. Several studies have identified fibroblasts, which are induced to differentiate into myofibroblasts in response to various types of damage, as one of the most important cell types involved in the fibrotic process. There are currently no drugs with primarily antifibrotic action approved for clinical use, as the evidence of a clinical efficacy of these drugs is extremely limited, despite the numerous encouraging results from experimental studies. A new approach is represented by the use of chimeric antigen receptor T cells engineered *in vivo* using lipid nanoparticles containing mRNA encoding a receptor directed against the fibroblast activation protein, expressed by activated cardiac fibroblasts. This strategy has proved to be safe and effective in reducing myocardial fibrosis and improving cardiac function in mouse models of cardiac fibrosis. Clinical studies are required to test this novel approach in humans.

Key words. Antifibrotic therapies; CAR-T cells; Fibrosis; Heart failure; Myocardium.

G Ital Cardiol 2023;24(7):508-520

La fibrosi deriva da un'eccessiva deposizione di proteine della matrice extracellulare (MEC), specialmente collagene tipo I e III, tra le cellule del parenchima tissutale. Esistono sia condizioni caratterizzate da un'attivazione delle vie pro-fibrotiche secondaria ad altri meccanismi di malattia, ad esempio l'attivazione neuroendocrina nello scompenso cardiaco (SC), sia patologie in cui il *primum movens* è la deposizione di tessuto fibroso, come nel caso della fibrosi polmonare idiopatica (FPI) e della sclerosi sistemica^{1,2}. In entrambi i casi, la fibrosi può determinare una disfunzione d'organo.

La fibrosi miocardica viene tradizionalmente distinta in "riparativa" o "reattiva" (Figura 1)³. La fibrosi riparativa consiste nella sostituzione di cardiomiociti necrotici in seguito a eventi di danno tissutale acuto ed esteso, quali l'infarto miocardico (IM) o la miocardite. Altre forme di danno miocardico determinano una fibrosi reattiva, con caratteristiche di struttura e composizione della MEC peculiari a seconda della *noxa* patogena (Figura 2)⁴. Ad esempio, la cardiopatia ipertensiva è caratterizzata da fibrosi perivascolare e fibrosi interstiziale a causa dell'attivazione di vie pro-fibrotiche (angiotensina II ed endotelina-1)^{5,6}. Le due forme di fibrosi possono svilupparsi insieme all'interno di uno stesso quadro patologico: la fibrosi riparativa in seguito a IM rappresenta la risposta immediata del

tessuto al danno; successivamente l'attivazione ormonale e paracrina stimolano l'innescò della fibrosi reattiva in regioni remote all'infarto, rientrando nel quadro di rimodellamento ventricolare post-infartuale⁷. La fibrosi miocardica inoltre rallenta la conduzione del potenziale d'azione cardiaco, soprattutto a livello del nodo senoatriale e atrioventricolare, predisponendo a disturbi della conduzione, come il blocco atrioventricolare⁸. Le zone di fibrosi miocardica alterano l'architettura omogenea del miocardio, promuovendo inoltre la generazione di circuiti di rientro e l'innescò di aritmie focali ectopiche, che risultano entrambe in episodi di tachiaritmia. Nei circuiti di rientro, una o più onde propagano continuamente attraverso il tessuto, sia in modo regolare e organizzato (ad esempio, flutter atriale), sia in maniera più caotica e irregolare (fibrillazione atriale [FA] o ventricolare). I siti ectopici, invece, rappresentano regioni all'interno del tessuto che si comportano in maniera anomala, generando potenziali d'azione che si propagano al resto del tessuto in vece del fisiologico sistema di conduzione⁹. Pertanto, la fibrosi miocardica determina una propagazione caotica e non lineare del potenziale d'azione, contribuendo alla formazione di substrato aritmico. L'infiltrazione fibrotica non solo promuove l'insorgenza di disturbi elettrofisiologici, ma altera anche la compliance e quindi le proprietà meccaniche del miocardio^{10,11}. Inoltre, la fibrosi atriale può contribuire allo sviluppo di amiloidosi atriale, dato che, come osservato a livello ventricolare, l'accumulo di sostanza amiloide si accompagna alla deposizione di tessuto fibroso^{12,13}.

I fenomeni di riparazione tissutale che conducono allo sviluppo di fibrosi vengono attivati da un danno tissutale acuto o cronico. La risposta infiammatoria può essere più o meno intensa a seconda del tipo di danno; essa favorisce il rilascio di mediatori e la migrazione di neutrofili, eosinofili e macro-

© 2023 Il Pensiero Scientifico Editore

Ricevuto 19.08.2022; nuova stesura 28.10.2022; accettato 02.11.2022.

Gli autori dichiarano nessun conflitto di interessi.

Per la corrispondenza:

Dr. Alberto Aimo Scuola Superiore Sant'Anna e Fondazione Toscana Gabriele Monasterio, Piazza Martiri della Libertà 33, 56124 Pisa
e-mail: a.aimo@santannapisa.it, aimoalb@ftgm.it

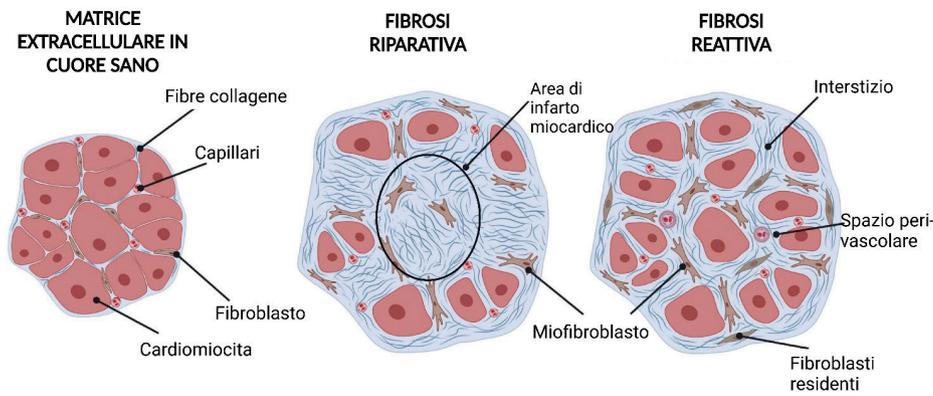


Figura 1. Tipi di fibrosi cardiaca. La matrice extracellulare nel cuore sano (*a sinistra*) è una rete tridimensionale di fibre di collagene che incorpora cardiomiociti, capillari e fibroblasti. La fibrosi riparativa/sostitutiva (*al centro*) è visibile come una cicatrice a base di collagene che sostituisce cardiomiociti necrotici dopo danni acuti ed estesi. La fibrosi reattiva/diffusa (*a destra*), che accompagna l'insufficienza cardiaca e il sovraccarico di pressione, si manifesta come deposizione diffusa di collagene in aree interstiziali e perivascolari.
Modificata da Schimmel et al.³

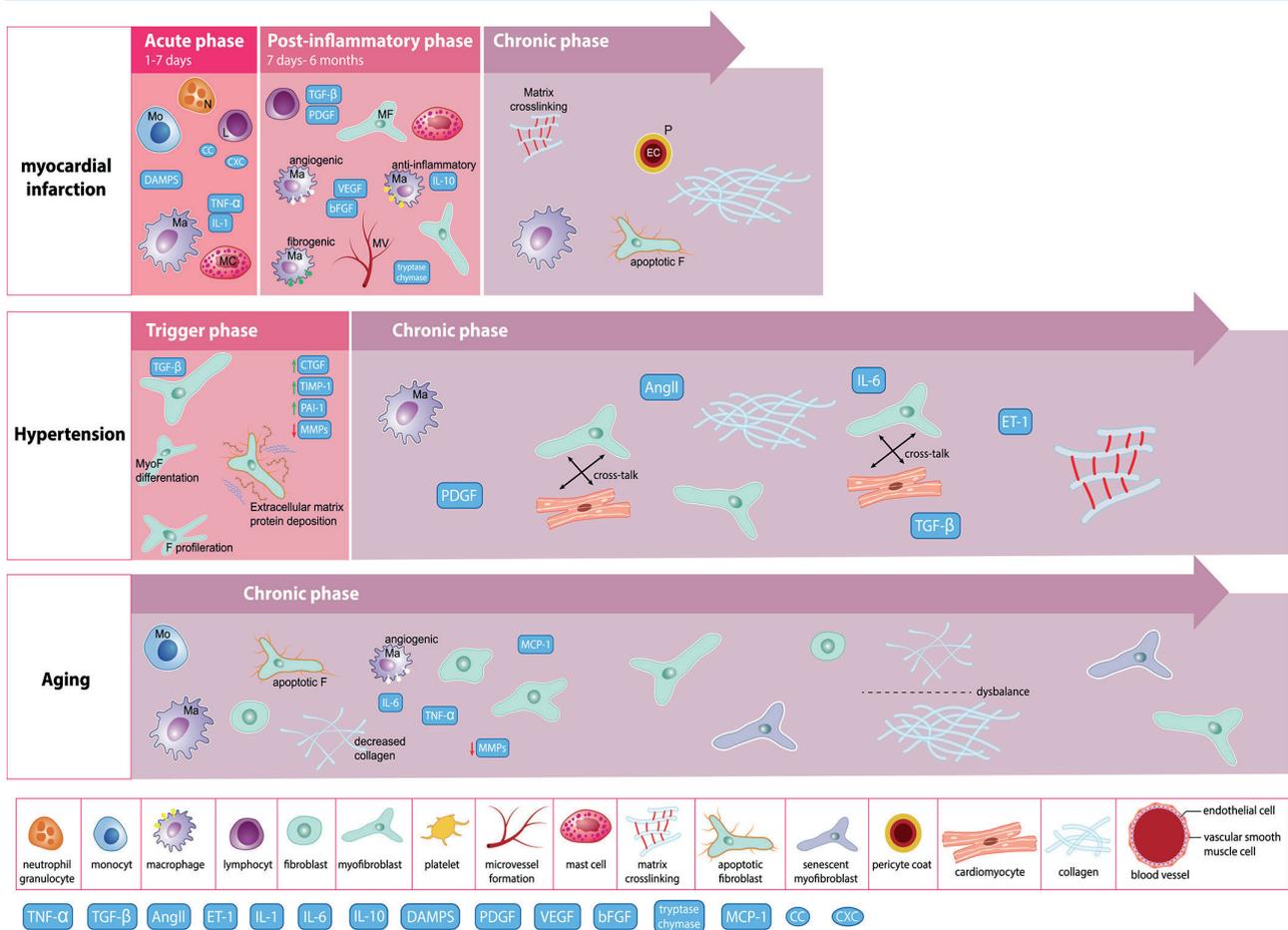


Figura 2. Rappresentazione schematica dell'eterogeneità della progressione fibrotica. AngII, angiotensina II; CTGF, fattore di crescita del tessuto connettivo; DAMPS, pattern molecolari associati al pericolo; ET-1, endotelina-1; IL, interleuchina; L, linfocita; Ma, macrofago; MC, mastocita; MCP-1, proteina chemioattrattiva dei monociti-1; MF/MyoF, miofibroblasto; MMP, metalloproteinasi di matrice; MV, microvaso; N, neutrofilo; PAI, inibitore dell'attivatore del plasminogeno; PDGF, fattore di crescita derivato dalle piastrine; TGF, fattore di crescita trasformante; TIMP, inibitore tissutale della metalloproteinasi; TNF, fattore di necrosi tumorale; VEGF, fattore di crescita vascolare endoteliale.
Riprodotta con permesso da de Boer et al.⁴

fagi al sito danneggiato. I fibroblasti tissutali e le altre cellule mesenchimali possono essere attivati, differenziandosi in miofibroblasti, cioè cellule ad attività contrattile con attività secernente elementi della MEC, sotto lo stimolo di citochine pro-fibrotiche come i fattori di crescita dei fibroblasti, il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) ed il fattore di crescita trasformante- β (TGF- β)¹⁴. All'interno del tessuto sottoposto alla *noxa* patogena, non tutta la popolazione di fibroblasti si differenzia in miofibroblasti, ma solo una frazione, proporzionale all'entità del danno tissutale. I miofibroblasti possono anche acquisire una resistenza agli stimoli di morte cellulare¹⁵. Parallelamente, l'espressione di metalloproteinasi della matrice (MMP), le principali responsabili del ricambio e della degradazione delle proteine della MEC, risulta ridotta¹⁶.

L'analisi istologica su campioni di biopsia endomiocardica con le colorazioni tricromica di Masson e Sirius Red consente una valutazione diretta della fibrosi cardiaca^{4,17}. Un'alternativa non invasiva per la valutazione della fibrosi miocardica *in vivo* è rappresentata dalla risonanza magnetica cardiaca (RCM). Le zone di fibrosi sono individuate come aree di captazione tardiva di gadolinio; la RMC consente inoltre la quantificazione del volume extracellulare (ECV)^{4,18}. Un ulteriore strumento per la valutazione della fibrosi d'organo è rappresentato dal dosaggio dei livelli plasmatici di biomarcatori di fibrosi, che includono un'ampia varietà di molecole: frammenti e precursori del collagene, che costituiscono dei biomarcatori di sintesi; MMP e inibitori tissutali delle MMP (TIMP), che rappresentano biomarcatori di degradazione del collagene; galectina-3 e soppressore di tumorigenicità 2 solubile (sST2), cioè molecole associate col rimodellamento cardiaco e la fibrosi¹⁹. Tuttavia, studi recenti mostrano che l'incremento dei biomarcatori plasmatici di collagene non riflette realmente l'estensione della fibrosi miocardica, suggerendo che sono necessari nuovi studi per la validazione dei biomarcatori di fibrosi²⁰.

L'estensione della fibrosi cardiaca ha un importante significato clinico e prognostico. Ad esempio, esiste una relazione tra l'estensione fibrotica nell'atrio sinistro misurata tramite RMC e l'efficacia dell'ablazione transcateretere in pazienti (n=81) con FA, con ricorrenza di FA maggiore nei soggetti che mostrano una più estesa area fibrotica pre-ablazione (p<0.001)²¹. Nei soggetti con cardiomiopatia ipertrofica (n=217), la presenza di fibrosi (n=136) alla RMC determina un rischio maggiore (hazard ratio [HR] 3.4; intervallo di confidenza [IC] 95% 1.4-8.1) di mortalità o ospedalizzazione per cause cardiovascolari o impianto di defibrillatore cardiaco, con incremento del rischio del 15% in seguito ad aumento della fibrosi del 5%; mentre nei soggetti con sindrome coronarica acuta (n=979) la presenza di fibrosi cardiaca (n=832) alla RMC è fortemente associata a morte cardiaca improvvisa (HR 10.1; IC 95% 1.42-1279)^{22,23}. Per queste ragioni, la fibrosi miocardica può essere considerata un importante bersaglio terapeutico.

Non esiste ancora un farmaco approvato per il trattamento di patologie cardiovascolari che abbia un'azione primariamente anti-fibrotica²⁴. Gli studi sui modelli animali hanno rivelato un'ampia varietà di molecole efficaci nel trattamento della fibrosi; tuttavia, mancano ancora evidenze di un beneficio clinico (Tabella 1)²⁵⁻⁵⁰. Recentemente, i primi risultati provenienti dal trial clinico di fase II PIRQUETTE (Efficacy and Safety of Pirfenidone in Patients With Heart Failure and Preserved Left Ventricular Ejection Fraction) mostrano che il pirfenidone potrebbe rivelarsi efficace e sicuro nei pazienti con

SC con frazione di eiezione preservata (HFpEF)⁴⁸. La terapia anti-fibrotica mediante *chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells* è ampiamente utilizzata in ambito oncologico. Recenti studi sui modelli preclinici incoraggiano il loro potenziale utilizzo anche in ambito cardiovascolare⁵¹.

Questa revisione della letteratura riassume le possibili opzioni terapeutiche per la fibrosi miocardica, compresa la nuova prospettiva di utilizzare le cellule CAR-T.

FARMACI NON ESCLUSIVAMENTE ANTI-FIBROTICI

Inibitori del sistema renina-angiotensina-aldosterone

L'angiotensina II (Ang II) attiva i recettori dell'Ang II tipo 1 (AT1R) e promuove la sintesi di collagene⁵². Nelle patologie cardiache croniche vi è generalmente una significativa attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, che è direttamente associata allo sviluppo di fibrosi cardiaca⁵³. Vari studi hanno dimostrato che sia gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) sia gli antagonisti dei recettori dell'angiotensina II (sartani) riducono significativamente la fibrosi miocardica indipendentemente dal loro effetto ipotensivo. In un campione di pazienti ipertesi trattati con lisinopril (n=18), la biopsia endomiocardica a 6 mesi ha rivelato una riduzione significativa del collagene tissutale rispetto ai pazienti trattati con il diuretico idroclorotiazide (n=17)²⁵. In uno studio condotto su pazienti ipertesi trattati con losartan (n=21) e amlodipina (n=16) con follow-up di 1 anno, il primo gruppo ha mostrato riduzione della frazione di collagene (CVF) e del peptide carbossi-terminale del pro-collagene di tipo 1 (PICP)²⁶. Un altro studio ha evidenziato l'efficacia di losartan nel ridurre la CVF e aumentare la compliance del ventricolo sinistro (VS) a 1 anno, ma solo nei pazienti con fibrosi estesa (CVF >6%, n=7)²⁷. Un ulteriore studio ha mostrato un'attenuazione nella progressione della fibrosi cardiaca con losartan in pazienti con cardiomiopatia ipertrofica non ostruttiva²⁸.

L'aldosterone, la cui produzione è stimolata dall'Ang II, esercita anch'esso un effetto pro-fibrotico nel miocardio interagendo con i recettori dei mineralcorticoidi⁵⁴. Gli antagonisti del recettore dell'aldosterone (spironolattone, canrenone ed eplerenone) hanno mostrato significativi effetti anti-fibrotici. In 80 pazienti con sindrome metabolica trattati con ACE-inibitori, il trattamento con spironolattone per 6 mesi ha migliorato la funzione diastolica e diminuito i livelli di PICP e del peptide amino-terminale del pro-collagene di tipo III (PIIINP)²⁹. Simili risultati sono stati ottenuti in un altro studio che ha incluso 113 pazienti con obesità e lieve disfunzione diastolica³⁰. In 44 pazienti con HFpEF, la somministrazione di eplerenone per 12 mesi ha ridotto i livelli di PIIINP e determinato un modesto miglioramento della funzione diastolica³¹. Risultati analoghi sono emersi in uno studio che mostra che eplerenone ha ridotto il peptide amino-terminale del pro-collagene di tipo I (PINP) e PICP in 44 pazienti con HFpEF³². Nello studio RALES (Randomized Aldactone Evaluation Study), condotto in pazienti (n=1663) con SC con frazione di eiezione ridotta (HFREF), lo spironolattone è stato associato a una riduzione di mortalità per tutte le cause (rischio relativo [RR] 0.70; IC 95% 0.60-0.82) e ospedalizzazione per cause cardiovascolari (RR 0.70; IC 95% 0.59-0.82) dopo follow-up medio di 24 mesi. Una sotto-analisi (n=261) del medesimo studio ha riportato anche a una riduzione nei livelli ematici di biomarcatori di fibrosi dopo 6 mesi^{33,55}. In una sotto-analisi dello studio EPHEBUS (Eplerenone Post-Acute

Tabella 1. Principali evidenze da studi clinici.

Studio	Terapia	Durata del trattamento	N. pazienti	Evidenze principali
Inibitori del sistema renina-angiotensina-aldosterone				
Brilla et al. ²⁵ , 2000	Lisinopril	6 mesi	35	Lisinopril riduce la CVF in pazienti ipertesi in confronto al diuretico idroclorotiazide
Lopez et al. ²⁶ , 2001	Losartan	12 mesi	37	Losartan riduce la CVF e i livelli di PICP in pazienti ipertesi in confronto ad amlodipina
Diez et al. ²⁷ , 2002	Losartan	12 mesi	19	Losartan riduce la CVF e la rigidità del VS in pazienti ipertesi con fibrosi severa
Shimada et al. ²⁸ , 2013	Losartan	12 mesi	20	Losartan riduce la progressione fibrotica in pazienti con CMP ipertrofica non ostruttiva
Kosmala et al. ²⁹ , 2011	Spironolattone	6 mesi	80	ACEi e spironolattone riducono PICP e PIIINP in pazienti con sindrome metabolica rispetto al trattamento con solo ACEi
Kosmala et al. ³⁰ , 2013	Spironolattone	6 mesi	113	Spironolattone migliora la deformazione miocardica e riduce PICP e PIIINP in pazienti obesi e con lieve disfunzione diastolica
Mak et al. ³¹ , 2009	Eplerenone	12 mesi	44	Eplerenone riduce PIIINP e migliora lievemente la funzione diastolica in pazienti con SC diastolico
Deswal et al. ³² , 2011	Eplerenone	6 mesi	44	Eplerenone riduce PINP e PICP in pazienti con HFpEF
Zannad et al. ³³ , 2000 (analisi post-hoc dello studio RALES)	Spironolattone	6 mesi	261	Spironolattone riduce PICP, PINP, PIIINP in pazienti con HFpEF
Iraqi et al. ³⁴ , 2009 (analisi post-hoc dello studio EPHEBUS)	Eplerenone	6 mesi	476	Eplerenone riduce PINP e PIIINP in pazienti con SC diastolico post-IM
Ravassa et al. ³⁵ , 2018 (analisi post-hoc dello studio Aldo-DHF)	Spironolattone	12 mesi	381	Spironolattone riduce PICP e migliora la funzione diastolica in pazienti con HFpEF. I pazienti con CITP/MMP-1 <2.5 mostrano minore beneficio dal trattamento
Cunningham et al. ³⁶ , 2020 (analisi post-hoc dello studio PARAMOUNT)	Sacubitril/valsartan	16 settimane	1113	Sacubitril/valsartan riduce TIMP-1, sST2, PIIINP e incrementa CITP in pazienti con HFpEF rispetto al solo valsartan
Modulatori dell'infiammazione				
RENEWAL ³⁷ , 2004	Etanercept	6 mesi	2356	Etanercept non modifica mortalità e ospedalizzazioni in pazienti con SC
ATTACH ³⁸ , 2003	Infliximab	Interrotto	150	Infliximab aumenta la mortalità in pazienti con SC
COLCOT ³⁹ , 2019	Colchicina	22,6 mesi	4745	Colchicina riduce il rischio di eventi cardiovascolari in pazienti con IM
COVERT-MI ⁴⁰ , 2021	Colchicina	3 mesi	192	Colchicina migliora le dimensioni dell'area infartuata dopo IM ed incrementa il rischio di trombi nel VS
Abulhul et al. ⁴¹ , 2012	Atorvastatina	6 mesi	56	Atorvastatina riduce i livelli di PIIINP in pazienti con SC sistolico e normale colesterolemia
Chang et al. ⁴² , 2016	Atorvastatina	12 settimane	15	Atorvastatina riduce PIIINP e TIMP-1 in pazienti ipertesi con aterosclerosi
Ashton et al. ⁴³ , 2011 (analisi post-hoc dello studio UNIVERSE)	Rosuvastatina	6 mesi	32	Rosuvastatina incrementa PINP e PIIINP in pazienti con SC cronico
GISSI-HF ⁴⁴ , 2008	Rosuvastatina	3,9 anni	4574	Rosuvastatina non migliora la prognosi di pazienti con SC
CORONA ⁴⁵ , 2007	Rosuvastatina	32,8 mesi	5011	Rosuvastatina non migliora la prognosi di pazienti con SC sistolico
Inibitori della via di TGF-β				
AlAnsari et al. ⁴⁶ , 2019	Pirfenidone	Studio retrospettivo	27	Pirfenidone non modifica i parametri ecocardiografici in pazienti con FPI
AlAnsari et al. ⁴⁷ , 2020	Pirfenidone	Studio retrospettivo	24	Pirfenidone riduce il volume telesistolico e telediastolico del VS in pazienti con HFpEF e FPI
PIROUETTE ⁴⁸ , 2021	Pirfenidone	52 settimane	94	Pirfenidone riduce lievemente l'ECV, anche se non modifica i parametri di funzione diastolica, in pazienti con HFpEF

(continua)

Tabella 1. (segue)

Studio	Terapia	Durata del trattamento	N. pazienti	Evidenze principali
Inibitori delle MMP				
PREMIER ⁴⁹ , 2006	PG-116800	90 giorni	253	PG-116800 non previene il rimodellamento del VS né migliora il tasso di mortalità e reinfarto in pazienti con IM
Modulatori dei β3-AR				
BEAT-HF ⁵⁰ , 2017	Mirabegron	6 mesi	70	Mirabegron non migliora la funzionalità cardiaca in termini di FE del VS in pazienti con HFrEF

β3-AR, recettori adrenergici β3; ACEi, inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina; C1P, peptide carbossi-terminale del telopeptide di collagene I; CMP, cardiomiopatia; CVF, frazione di volume di collagene; ECV, volume extracellulare; FE, frazione di eiezione; FPI, fibrosi polmonare idiopatica; HFpEF, scompenso cardiaco con frazione di eiezione preservata; HFrEF, scompenso cardiaco con frazione di eiezione ridotta; IM, infarto miocardico; MMP, metalloproteinasi di matrice; PICP, peptide carbossi-terminale del pro-collagene di tipo I; PINP, peptide ammino-terminale del pro-collagene di tipo I; PIIINP, peptide amino-terminale del pro-collagene di tipo III; SC, scompenso cardiaco; sST2, soppressore di tumorigenicità 2 solubile; TGF, fattore di crescita trasformante; TIMP-1, inibitore tissutale della metalloproteinasi-1; VS, ventricolo sinistro.

Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study), che ha valutato l'effetto di eplerenone in pazienti con SC dopo IM (n=476), il trattamento con eplerenone ha dimostrato una significativa riduzione dei livelli plasmatici di PINP e PIIINP (p<0.007 a 6 mesi per entrambi), anche se questi non erano associati agli eventi prognostici (mortalità ed ospedalizzazioni)³⁴. Il trattamento con eplerenone (da 25 mg/die fino a 50 mg/die, trattati n=3313, placebo n=3319) è stato associato anche a una riduzione del rischio di mortalità o ospedalizzazione sia per tutte le cause sia per eventi cardiovascolari (SC, IM, ictus o aritmia ventricolare) (RR 0.92; IC 95% 0.86-0.98; p=0.02; e RR 0.87; IC 95% 0.79-0.95, p=0.002, rispettivamente) dopo 16 mesi nei pazienti trattati con IM complicato da successiva disfunzione del VS e SC rispetto ai controlli^{35,56}. Un sotto-studio del trial Aldo-DHF (Aldosterone Receptor Blockade in Diastolic Heart Failure) che ha incluso 381 pazienti con HFpEF, ha identificato che il trattamento con spironolattone riduce i livelli di PICP (p=0.05) e migliora la funzione diastolica dopo 12 mesi di trattamento³⁵.

Diversi studi sottolineano poi che il peptide natriuretico di tipo B (BNP) esercita un ruolo anti-fibrotico tramite la stimolazione dei suoi recettori NPR-A e NPR-B e la successiva attivazione della chinasi cGMP-dipendente (PKG)⁵⁷. Nonostante il ruolo della via di cGMP nella fibrosi non sia ancora completamente compreso, diversi studi preclinici hanno mostrato che un aumento nei livelli di PKG esercita un effetto anti-fibrotico mediante l'interferenza negativa con la via di TGF-β, la quale ha un ruolo cruciale nell'attivazione dei fibroblasti⁵⁸⁻⁶¹. La somministrazione di sacubitril/valsartan, che rappresenta un'associazione di sartano e inibitore della nepriliasina, cioè l'enzima di degradazione del BNP, si è dimostrata efficace nella riduzione della fibrosi. Un'analisi dello studio di fase 2 PARAMOUNT (Prospective Comparison of ARNI With ARB on Management of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction) ha mostrato che il trattamento con sacubitril/valsartan determina la riduzione dei biomarcatori plasmatici di fibrosi cardiaca in pazienti con HFpEF³⁶. A 16 settimane dalla somministrazione, il gruppo dei trattati (n=1113) ha mostrato una riduzione nei livelli plasmatici di TIMP-1 (8%; IC 95% 6-10%; p<0.001), ST2 solubile (4%; IC 95% 1-7%; p=0.002) e PIIINP (3%; IC 95% 0-6%; p=0.04) e un incremento del C1P (4%; IC 95% 1-8%; p=0.02), rispetto ai pazienti trattati con solo valsartan. Questo beneficio aggiuntivo sembra riconducibile all'incremento dei livelli di BNP³⁶.

Modulatori dell'infiammazione

Il danno tissutale innesca un processo flogistico che a sua volta determina la deposizione di tessuto fibroso. Il fattore di necrosi tumorale-α (TNF-α) svolge un ruolo importante nell'innescare la fibrosi cardiaca⁶². Tuttavia, lo studio RENEWAL (Randomized EtnaNERcept Worldwide evALuation), che ha valutato l'effetto dell'antagonista del TNF-α etanercept nei pazienti con SC, non ha riscontrato alcun beneficio in termini di mortalità ed ospedalizzazioni (RR 1.10; IC 95% 0.91-1.33)³⁷. Lo studio ATTACH (Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart failure) è stato interrotto prematuramente per l'aumento di mortalità nei pazienti con SC in terapia con infliximab, antagonista del TNF-α³⁸. La scoperta successiva che i recettori TNF-1 e TNF-2 esercitano effetti opposti sul rimodellamento cardiaco potrebbe in parte spiegare i risultati deludenti dell'inibizione di TNF-α⁶³.

La colchicina ha un'importante azione anti-infiammatoria per via della sua efficacia nell'inibire l'infiammasoma, varie citochine e chemochine pro-infiammatorie⁶⁴. Nei modelli murini di IM, la colchicina si è rivelata efficace nel ridurre l'estensione della cicatrice infartuale; la riduzione dell'estensione della fibrosi è stata confermata in uno studio effettuato su conigli con SC^{65,66}. Lo studio clinico COLCOT (Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial), che ha randomizzato 4745 pazienti con IM a colchicina o placebo a 30 giorni dall'evento, ha rivelato un rischio inferiore di mortalità o ospedalizzazione per cause cardiovascolari (HR 0.77; IC 95% 0.61-0.96; p=0.02) rispetto ai trattati dopo un follow-up medio di 22.6 mesi^{39,67}. L'effetto sulla fibrosi miocardica non è stato valutato specificamente. Il recente studio COVERT-MI (Colchicine for Left VEntricular Remodeling Treatment in Acute Myocardial Infarction) ha dimostrato che i pazienti trattati con colchicina dopo IM (n=101) non mostravano differenze in termini di dimensioni dell'area infartuata (p=0.87) osservata tramite RMC a 3 mesi di follow-up, rispetto ai controlli (n=91)⁴⁰.

Gli agonisti del recettore attivato dal proliferatore perossisomiale-α (PPAR-α) hanno ridotto la fibrosi miocardica e migliorato la funzione cardiaca in un modello di ratto con cardiopatia ipertensiva indotta tramite infusione di desossicorticosterone acetato (DOCA) con alto apporto di sale⁶⁸. D'altro canto, l'eccessiva espressione di PPAR-α è associata a lipotossicità, disfunzione ventricolare e ipertrofia cardiaca^{69,70}.

Oltre a determinare una riduzione nei livelli di colesterolo, le statine esercitano una potente azione anti-infiammatoria e

cardioprotettiva mediante l'inibizione delle proteine Ras, Rho, NF- κ B, e l'attivazione della via di PI3K/Akt/eNOS^{71,72}. La rosuvastatina si è dimostrata efficace nell'attenuazione della fibrosi cardiaca in modelli murini di cardiopatia ipertensiva⁷³. In un piccolo studio clinico, la terapia con 40 mg/die di atorvastatina per 6 mesi ha ridotto i livelli di PIIINP (da 4.65 ± 1.86 a 4.09 ± 1.25 ng/ml, $p < 0.05$) in pazienti con SC sistolico e normale colesterolemia ($n=56$)⁴¹. Uno studio condotto su pazienti ipertesi con aterosclerosi ($n=15$) trattati per la prima volta con 40 mg/die di atorvastatina per 12 settimane ha confermato l'efficacia del farmaco nel ridurre i livelli plasmatici di PIIINP (da 9.5 ± 2.7 a 6.4 ± 1.4 ng/ml, $p=0.012$) e TIMP-1 (da 299 ± 65 a 250 ± 45 ng/ml, $p=0.024$)⁴². Risultati contrastanti sono stati ottenuti in un sotto-studio del trial UNIVERSE (rosuvastatin Impact on VEentricular Remodeling cytokines and neurohormones), in cui si è osservato un aumento dei marcatori plasmatici di collagene PINP ($p=0.03$) e PIIINP ($p=0.001$) in pazienti con SC cronico ($n=32$) trattati per 6 mesi con rosuvastatina fino a 40 mg/die⁴³. In conclusione, il ruolo delle statine nel trattamento dello SC cronico rimane controverso. Nonostante numerosi studi retrospettivi abbiano rivelato una prognosi migliore nei pazienti con SC trattati con statine, nei due trial clinici randomizzati GISSI-HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Insufficienza Cardiaca-Heart Failure) e CORONA (Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure), il trattamento con rosuvastatina non ha evidenziato un vantaggio nella riduzione degli endpoint primario e secondario in entrambi i trial^{44,45}. Lo studio GISSI-HF è stato un trial randomizzato controllato a doppio cieco condotto interamente sul territorio italiano, coinvolgendo 326 e 31 centri di medicina cardiologica e internistica, rispettivamente, per valutare *in primis* l'associazione del trattamento con rosuvastatina alla mortalità per tutte le cause e *in secundis* alla mortalità o ospedalizzazione per cause cardiovascolari. Gli autori hanno incluso 4574 pazienti con età ≥ 18 anni, con mediana del follow-up di 3.9 anni, senza alcuna evidenza di riduzione negli endpoint primario (HR 1.00; IC 95.5% 0.89-1.12) o secondario (HR 1.01; IC 99% 0.90-1.11)⁴⁴. Lo studio CORONA è stato un trial randomizzato controllato a doppio cieco, eseguito in 378 centri di 21 stati, per valutare l'efficacia del farmaco dapprima nel ridurre la mortalità da causa cardiovascolare, IM non fatale o ictus non fatale e secondariamente da tutte le cause. Il trial ha incluso e randomizzato 5011 pazienti con età ≥ 60 anni a placebo o rosuvastatina, con mediana del follow-up di 32.8 mesi, senza differenze significative negli endpoint primario (HR 0.92; IC 95% 0.83-1.02) o secondario (HR 0.95; IC 95% 0.86-1.05) in seguito al trattamento⁴⁵.

Anticorpi anti-TGF- β

Il TGF- β ha un ruolo centrale nello sviluppo di fibrosi cardiaca. TGF- β espleta il suo effetto pro-fibrotico mediante la via di segnalazione ALK/Smad2/3/Smad4 e le vie TAK/p-38/JNK e NOX4/ROS^{5,59,74}. In modelli murini di IM o di cardiopatia ipertensiva indotta tramite costrizione aortica sopra-renale, gli anticorpi anti-TGF- β si sono rivelati in grado di ridurre la fibrosi miocardica ma non l'ipertrofia dei cardiomiociti^{75,76}. Nel primo modello, gli autori hanno utilizzato degli anticorpi monoclonali murini IgG1 bloccanti tutte e tre le isoforme di TGF- β , mentre nel secondo sono stati scelti degli anticorpi neutralizzanti. La terapia anticorpale anti-TGF- β è stata inoltre associata a gravi effetti avversi, tra cui la dilatazione del VS e un incremento della mortalità^{75,76}. Il blocco della via di segnalazione mediante anticorpi sembra quindi pericoloso, mentre un'inibizione meno intensa potrebbe essere più efficace.

Pirfenidone

Il pirfenidone è un farmaco anti-fibrotico orale approvato per il trattamento della FPI^{77,78}. Dal momento che la fibrosi polmonare e cardiaca condividono molti meccanismi fisiopatologici, vi è un crescente interesse nella sua applicazione in ambito cardiovascolare⁷⁹. Il meccanismo d'azione del farmaco non è totalmente chiaro, ma sembra ridurre l'espressione di fattori pro-fibrotici come TGF- β e citochine pro-infiammatorie, ad esempio TNF- α , interleuchina (IL)-4 e IL-13⁸⁰. Il pirfenidone inoltre promuove l'espressione di MMP con seguente riduzione dell'accumulo di proteine della MEC⁸¹. Il farmaco inoltre potrebbe anche contribuire alla modulazione dell'attivazione e proliferazione dei linfociti T e B, andando quindi a regolare la secrezione di numerose molecole pro-infiammatorie e pro-fibrotiche, come TNF- α e TGF- β ⁸²⁻⁸⁴.

In modelli murini di ipertensione, la somministrazione di pirfenidone è stata associata a riduzione dell'ipertrofia del VS e a un aumento della sopravvivenza rispetto ai controlli⁸⁵. Un altro studio ha documentato che la molecola riduce il rimodellamento ventricolare e contrasta la fibrosi interstiziale indotta tramite infusione di Ang II⁸⁶.

Solamente due studi retrospettivi hanno valutato l'effetto del pirfenidone sui parametri cardiaci in pazienti con FPI. Nel primo ($n=27$) non è stata evidenziata un'associazione tra somministrazione e cambiamento nei parametri ecocardiografici⁴⁶. Nel secondo ($n=24$) il pirfenidone è stato associato a una riduzione dei volumi telesistolico e telediastolico del VS, ma senza cambiamenti significativi nella funzione ventricolare⁴⁷. Lo studio di fase 2 PIROUETTE ha incluso 94 pazienti con HFpEF e fibrosi estesa, definita come ECV $\geq 27\%$ ⁴⁸. Dopo un follow-up di 52 settimane, è stata rilevata una riduzione assoluta dello 0.7% nell'ECV nei trattati con pirfenidone rispetto all'aumento dello 0.5% nei controlli trattati con placebo ($p=0.009$). Questo effetto molto limitato sull'ECV non è stato associato a variazioni significative nei parametri di funzione diastolica⁴⁸.

Inibitori delle metalloproteinasi della matrice

Nonostante fosse stato dimostrato che gli inibitori di MMP (MMPI) attenuano la fibrosi cardiaca e il rimodellamento in modelli sperimentali, questi risultati non hanno portato a risultati clinici attesi^{87,88}. Nello studio PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling), in cui è stato valutato l'effetto della somministrazione orale del MMPI PG-116800 in 253 pazienti con recente IM, il farmaco non ha mostrato alcun effetto benefico nel prevenire il rimodellamento del VS o nel migliorare il tasso di mortalità o reinfarto a 90 giorni dall'IM ($p=0.17$)⁴⁹.

Modulatori del sistema adrenergico

Il blocco farmacologico dei recettori adrenergici $\beta 1$ ($\beta 1$ -AR) costituisce una terapia fondamentale per il trattamento dello SC e per la prevenzione del rimodellamento strutturale, prevenendo e attenuando la dilatazione progressiva del VS e l'ipertrofia cardiaca⁸⁹⁻⁹¹. Al contrario, la via di segnalazione dei recettori adrenergici $\beta 2$ ($\beta 2$ -AR) esercita effetti anti-fibrotici. Tuttavia, mentre l'effetto acuto dell'attivazione dei $\beta 2$ -AR inibisce la sintesi del collagene, i miofibroblasti estratti e isolati da pazienti con SC sembrano essere resistenti agli agonisti di $\beta 2$ -AR, verosimilmente a causa dell'incrementata attività della chinasi GPCR-2 (GRK2)⁹². Infatti, studi condotti su modelli murini geneticamente modificati per sviluppare precocemente ipertensione, ipertrofia e insufficienza cardiaca, hanno evidenziato il ruolo patologico di GRK2 nello SC^{93,94}. GRK2 è

diventato un bersaglio farmacologico attraente in seguito alla scoperta che la sua inibizione si associa ad una protezione significativa contro la fibrosi miocardica nei modelli animali di SC⁹⁵. In un modello suino di SC post-IM, la terapia genica mediante virus adeno-associato ha consentito l'espressione di un peptide inibitore di GRK2 (β ARKct), dimostrando un miglioramento a lungo termine della funzione cardiaca⁹⁶.

Diversamente dai recettori β 1-AR e β 2 adrenergici (β 2-AR), si ritiene che i recettori adrenergici β 3 (β 3-AR) siano resistenti alla desensibilizzazione perché privi di siti di fosforilazione per le chinasi GRK⁹⁷. L'espressione dei β 3-AR a livello cardiaco è fisiologicamente bassa ma aumenta in condizioni di patologia cronica⁹⁸. L'evidenza del ruolo cardioprotettivo di β 3-AR è emersa in seguito alla dimostrazione che i topi privi di β 3-AR andavano incontro a un significativo rimodellamento cardiaco in risposta alla costrizione aortica trasversale (TAC)⁹⁹. Gli agonisti di β 3-AR (BRL) si sono rivelati efficaci nel contrastare la fibrosi cardiaca in diversi modelli preclinici di malattia cardiovascolare. In modelli murini di HFpEF indotto tramite infusione di Ang II, la somministrazione di BRL ha dimostrato effetti benefici associati all'attenuazione della fibrosi cardiaca, tra cui miglioramento della rigidità miocardica e riduzione della congestione polmonare¹⁰⁰. In topi *knockout* per l'ossido nitrico-sintasi neuronale (nNOS) sottoposti a TAC, la somministrazione di BRL per 3 settimane ha rivelato un'attenuazione della dilatazione ventricolare, della disfunzione sistolica e parziale riduzione dell'ipertrofia cardiaca¹⁰¹. Tuttavia, il primo studio controllato randomizzato (n=70) che ha valutato l'efficacia dell'agonista β 3-AR mirabegron nell'HFREF, cioè il trial BEAT-HF (Baroreflex Activation Therapy for Heart Failure), non ha dimostrato alcun miglioramento della funzione cardiaca in termini di variazione di frazione di eiezione nell'arco di 6 mesi⁵⁰.

TRATTAMENTO ANTI-FIBROTICO CON CELLULE CAR-T

Terapia con cellule CAR-T ingegnerizzate *ex vivo*

I CAR sono dei recettori di membrana che indirizzano i linfociti, più comunemente di tipo T, verso cellule da riconoscere ed eliminare. Il funzionamento delle cellule CAR-T consiste nell'interazione tra il CAR e l'antigene bersaglio espresso sulla cellula target. Tale interazione avviene a livello di uno specifico dominio del CAR chiamato "dominio di legame dell'antigene" e consente l'attivazione endogena delle cellule T, con successiva eliminazione delle cellule bersaglio^{102,103}. La terapia con cellule CAR-T rappresenta un approccio terapeutico rivoluzionario con benefici clinici significativi e durevoli già dimostrati in ambito ematologico, come nel linfoma a grandi cellule B o nella leucemia linfoblastica acuta (LLA)¹⁰⁴. La terapia con cellule CAR-T è stata approvata dalla Food and Drug Administration nel 2017 per il trattamento della LLA¹⁰⁵.

Aghajanian et al.¹⁰⁶ sono stati i primi a indagare l'efficacia di cellule T ingegnerizzate *ex vivo* per l'eliminazione selettiva di miofibroblasti che espongono la proteina di attivazione dei fibroblasti (FAP) sulla superficie di membrana, in un modello murino di fibrosi indotta tramite infusione di Ang II e fenilefrina. Gli autori hanno identificato FAP come il migliore marcatore dei miofibroblasti cardiaci, dato che l'espressione del peptide è quasi esclusiva di questa popolazione cellulare. L'utilizzo di cellule CAR-T dirette contro FAP ha determinato una riduzione

della fibrosi in tutti e sette i topi trattati, ed una eliminazione quasi totale in 5 su 7, oltre che il mantenimento della normale funzione sistolica e diastolica¹⁰⁶. Una conferma della selettività delle cellule CAR-T è fornita dalla persistenza di fibrosi perivascolare dopo il trattamento, poiché i fibroblasti perivascolari non espongono FAP sulla superficie di membrana e non costituiscono dunque un bersaglio per le cellule CAR-T FAP. La somministrazione di cellule T ingegnerizzate nei topi con fibrosi si è inoltre dimostrata sicura e scarsamente cardiotossica, con una risposta infiammatoria molto blanda¹⁰⁶.

Le cellule CAR-T vengono solitamente prodotte *ex vivo* attraverso la trasduzione mediante un retrovirus o un lentivirus contenente un tratto di DNA o RNA codificante per una proteina CAR geneticamente modificata, in cellule T autologhe prelevate dal paziente. Una volta ingegnerizzate, le cellule T vengono indotte alla proliferazione e infuse nel paziente, in cui è stata realizzata una deplezione dei linfociti T vergini (Figura 3)^{107,108}. Questa metodica è efficace ma indagativa e dispendiosa. Un ulteriore limite delle cellule CAR-T progettate *ex vivo* è costituito dalla loro attivazione persistente in seguito all'infusione¹⁰⁹. Per esempio, è stato documentato che cellule CAR-T infuse in pazienti con leucemia avanzata persistono nel torrente sanguigno per almeno 6 mesi, diffondendo nei vari distretti corporei¹⁰⁹. Il principale effetto avverso documentato è rappresentato dalla sindrome di rilascio di citochine pro-infiammatorie da parte delle cellule CAR-T attivate e altre del sistema immunitario, con un'incidenza di complicanze lievi pari al 70-90% e di complicanze severe, come shock cardiogeno e insufficienza multiorgano, pari al 20-50%^{110,111}. La potenziale tossicità associata a terapia con cellule CAR-T ha stimolato la ricerca di approcci alternativi, come l'utilizzo delle cellule CAR-natural killer (NK), e di metodiche di programmazione cellulare più sicure.

Impiego di cellule CAR-T per il trattamento del danno cardiaco *in vivo*

Rurik et al.⁵¹ hanno elaborato una strategia per ottenere delle cellule CAR-T anti-fibrotiche transienti utilizzando un sistema di nano-particelle lipidiche (LNP) che racchiudono degli mRNA modificati al loro interno. L'introduzione di mRNA in cellule T per trasformarle in cellule CAR-T era già stata attuata attraverso metodica di elettroporazione, ma esclusivamente *ex vivo*¹¹². Per evitare la necessità dell'estrazione e della reinfusione delle cellule T, gli autori hanno messo a punto un approccio in grado di ottenere la differenziazione di cellule CAR-T mediante una infusione di LNP contenenti mRNA modificato *in vivo*. L'utilizzo di sistemi LNP-mRNA ha riscontrato grande successo nella realizzazione dei vaccini contro il COVID-19 e in altri contesti clinici, dato che le LNP possono essere rivestite da anticorpi diretti contro una specifica cellula bersaglio, come le cellule T, a cui veicolare l'mRNA¹¹³. Gli autori sono riusciti a produrre delle cellule CAR-T meno stabili e durature rispetto a quelle normalmente prodotte *ex vivo*, risolvendo il problema della loro eccessiva permanenza e attivazione. Nello specifico, le cellule T presenti nella milza dopo soltanto 1 settimana dall'infusione delle LNP, infatti, non mostravano più alcuna espressione di peptide CAR diretto contro la proteina FAP (FAPCAR). Mentre la progettazione di cellule CAR-T *ex vivo* prevede una trasduzione con vettore virale e l'integrazione di un frammento di acido nucleico codificante per la proteina CAR ingegnerizzata nel genoma della cellula bersaglio; l'utilizzo del sistema LNP-mRNA comporta l'endoci-

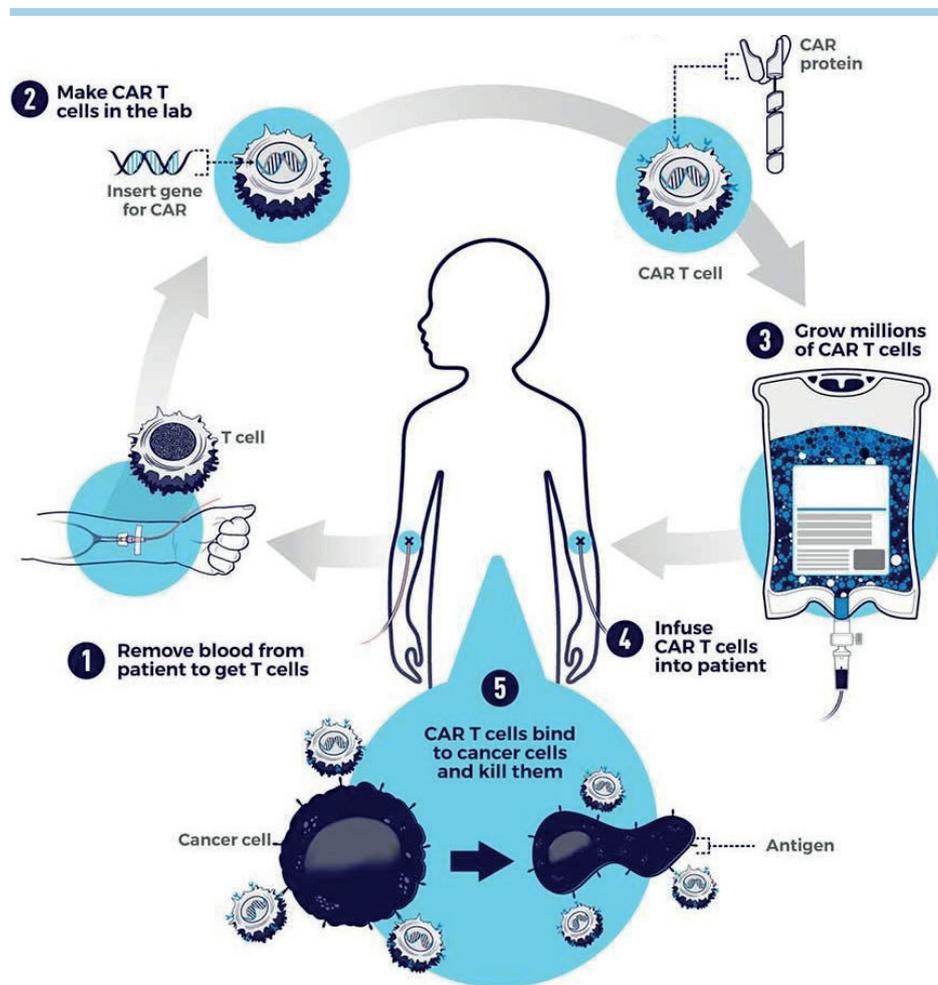


Figura 3. Produzione di cellule CAR-T ex vivo. Le cellule T autologhe vengono estratte dal paziente, ingegnerizzate in laboratorio per ottenere l'esposizione dei CAR e quindi la differenziazione dei linfociti in cellule CAR-T, che verranno poi amplificate ed infuse nel paziente precedentemente sottoposto a linfodeplezione. Riprodotto da National Cancer Institute¹⁰⁸.

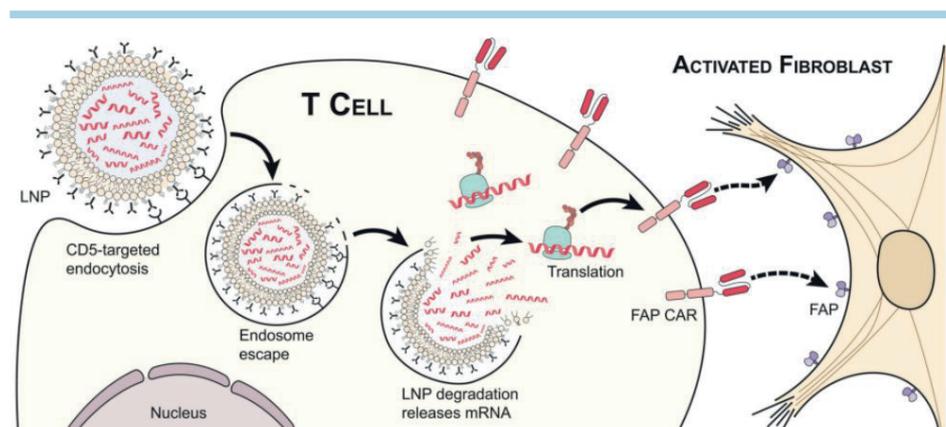


Figura 4. Produzione di cellule CAR-T mediante CD5/LNP-FAPCAR *in vivo*. La somministrazione di nano-particelle lipidiche (LNP) tappezzate di anticorpi anti-CD5 e contenenti molecole di mRNA codificante per il recettore di membrana FAPCAR, che riconosce selettivamente la proteina di attivazione dei fibroblasti (FAP) espressa dai miofibroblasti cardiaci, consente di ottenere delle cellule CAR-T transienti *in vivo* che eliminano specificamente le cellule pro-fibrotiche dal miocardio danneggiato. CAR, recettore chimerico dell'antigene. Riprodotta con permesso da Rurik et al.⁵¹.

tosì della LNP, con la sua conseguente degradazione e dunque rilascio dell'mRNA, incapace di integrazione genomica e con emivita limitata, nel citoplasma della cellula T (Figura 4)⁵¹.

Rurik et al.⁵¹ hanno dapprima progettato un mRNA modificato codificante per la proteina di superficie FAPCAR, affine alla proteina FAP espressa dai fibroblasti cardiaci attivati da danno tissutale, e lo hanno incapsulato all'interno di una LNP rivestita da anticorpi anti-CD5 (CD5/LNP-FAPCAR). CD5 è una glicoproteina di membrana fisiologicamente espressa dai linfociti T¹⁴. Gli autori hanno successivamente testato l'efficacia del sistema CD5/LNP-FAPCAR nel trasformare

una coltura di linfociti T in cellule CAR-T e la loro abilità di eliminare le cellule bersaglio con espressione di FAP *in vitro*. I risultati positivi hanno incoraggiato la traslazione della metodica *in vivo*. Topi sottoposti a infusione di Ang II e fenilefrina per 28 giorni hanno poi ricevuto una somministrazione per via endovenosa di CD5/LNP-FAPCAR¹¹⁵. A 48h dall'iniezione, gli autori hanno rilevato una significativa espressione di FAPCAR in una porzione (17.5-24.7%) di cellule T (FAPCAR⁺-T) nei trattati⁵¹. I topi trattati esibivano un miglioramento delle dimensioni, della funzione sistolica e diastolica e della massa del VS rispetto ai topi non trattati

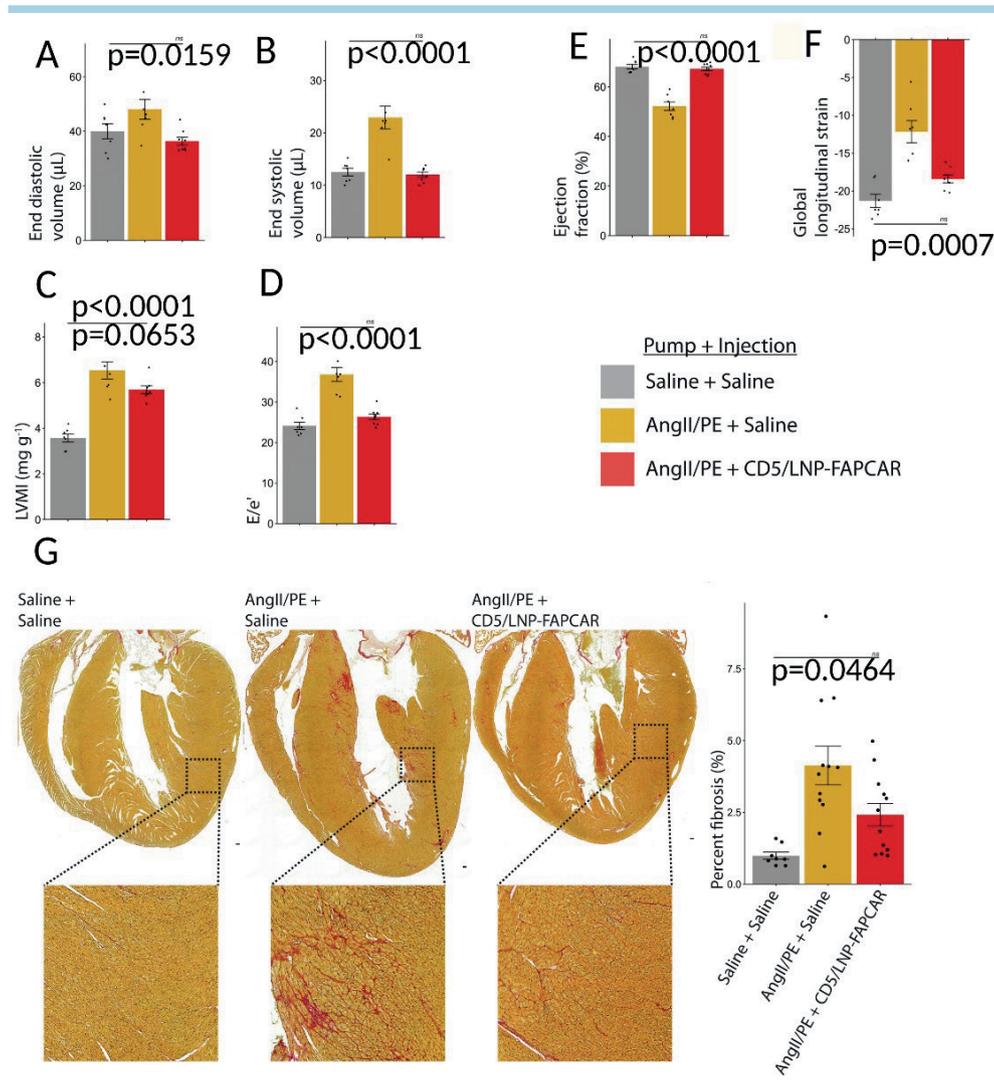


Figura 5. Cellule CAR-T contro la proteina di attivazione dei fibroblasti (FAP) generate *in vivo* migliorano la funzionalità cardiaca in seguito a danno al miocardio. Topi adulti *wild type* C57BL/6 hanno ricevuto una continua infusione con salina o angiotensina II (AngII) + fenilefrina (PE) tramite mini-pompa osmotica impiantata per 28 giorni. Dopo 1 settimana dal danno cardiaco dovuto a sovraccarico pressorio, i topi hanno ricevuto una singola somministrazione di 10 mg di CD5/LNP-FAPCAR. I topi sono stati analizzati dopo 2 settimane dal trattamento. Misurazione del volume telediastolico (A) e telesistolico (B) del ventricolo sinistro. Stima della massa ventricolare sinistra normalizzata per il peso corporeo (LVMl) (C). Stima della funzione diastolica (E/e' ratio) (D), della frazione di eiezione (E) e della deformazione longitudinale globale (F). La colorazione Picrosirius Red (G) evidenzia il collagene (rosa) in sezione coronale di topi illesi (n=8, 3 settimane dopo impianto della pompa per infusione salina + iniezione salina ad 1 settimana), topi danneggiati di controllo (n=11, AngII + PE + salina), e topi danneggiati trattati (n=12, AngII + PE + CD5/LNP-FAPCAR). La quantificazione della fibrosi è espressa come percentuale del ventricolo osservato. I dati sono espressi come media ± errore standard. I valori di p mostrati derivano dal test post hoc di Tukey dopo ANOVA ad una via (p<0.05). Modificata da Rurik et al.⁵¹.

(Figura 5)⁵¹. L'analisi istologica ha mostrato una significativa riduzione della frazione di MEC, con regressione della fibrosi interstiziale, tanto che i campioni di 5 dei 12 topi trattati risultavano indistinguibili dagli animali *sham*⁵¹.

In sintesi, l'utilizzo di cellule CAR-T progettate *in vivo* tramite LNP-mRNA e dirette contro FAP promuove l'eliminazione dei miofibroblasti cardiaci con conseguente riduzione della fibrosi miocardica e miglioramento della geometria e della funzione cardiaca, superando potenzialmente i limiti legati all'ingegnerizzazione *ex vivo* delle cellule CAR-T.

CONCLUSIONE

L'eterogeneità fisiopatologica della fibrosi miocardica e la complessità delle risposte da parte dei fibroblasti tissutali al danno indotto complicano lo sviluppo di strategie anti-fibrotiche nelle patologie cardiovascolari. Varie strategie puramente anti-fibrotiche hanno dato risultati promettenti in modelli preclinici di malattia cardiovascolare; tuttavia, non esiste al momento un farmaco anti-fibrotico che abbia dimostrato una chiara efficacia in studi clinici. Questi risultati suggeriscono la necessità di un nuovo approccio, potenzialmente diretto contro le cellule responsabili della risposta fibrotica, cioè i fibroblasti cardiaci attivati, piuttosto che su singole vie molecolari. La terapia con cellule CAR-T ingegnerizzate *in vivo* è un nuovo approccio molto promettente, soprattutto per il trattamento di condizioni patologiche caratterizzate da un'attivazione in-

tensa delle vie pro-fibrotiche (quali l'IM o la miocardite). L'efficacia e la sicurezza di questo approccio andranno verificate in studi clinici dedicati.

RIASSUNTO

La fibrosi cardiaca è caratterizzata dalla deposizione di elementi della matrice extracellulare tra le cellule del miocardio, in seguito ad eventi di danno tissutale sia acuto che cronico, risultando nel rimodellamento e irrigidimento del tessuto cardiaco. La fibrosi gioca un ruolo importante nella patogenesi di molti disturbi cardiovascolari, tra cui lo scompenso cardiaco e l'infarto miocardico. Diversi studi hanno identificato i fibroblasti, che vengono indotti alla differenziazione in miofibroblasti in risposta a vari tipi di danno, come uno dei principali protagonisti dell'intero processo fibrotico. Non esistono al momento farmaci ad azione primariamente anti-fibrotica approvati per l'uso clinico, in quanto le evidenze di un'efficacia clinica di questi farmaci sono estremamente limitate, nonostante i numerosi risultati incoraggianti da studi sperimentali. Un nuovo approccio è rappresentato dall'impiego di *chimeric antigen receptor T cells* ingegnerizzate *in vivo* tramite nano-particelle lipidiche contenenti mRNA codificante per un recettore diretto contro la *fibroblast activation protein*, espressa dai fibroblasti cardiaci attivati. Tale strategia si è rivelata sicura ed efficace nel ridurre la fibrosi miocardica e migliorare la funzionalità cardiaca in modelli murini di fibrosi cardiaca e andrà valutata in studi clinici dedicati.

Parole chiave. Cellule CAR-T; Fibrosi; Miocardio; Scompenso cardiaco; Terapie anti-fibrotiche.

BIBLIOGRAFIA

- Schellings MW, Pinto YM, Heymans S. Matricellular proteins in the heart: possible role during stress and remodeling. *Cardiovasc Res* 2004;64:24-31.
- Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008;214:199-210.
- Schimmel K, Ichimura K, Reddy S, Haddad F, Spiekerkoetter E. Cardiac fibrosis in the pressure overloaded left and right ventricle as a therapeutic target. *Front Cardiovasc Med* 2022;9:886553.
- de Boer RA, De Keulenaer G, Bauersachs J, et al. Towards better definition, quantification and treatment of fibrosis in heart failure. A scientific roadmap by the Committee of Translational Research of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail* 2019;21:272-85.
- Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis. *Cardiovasc Res* 2021;117:1450-88.
- Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007;13:952-61.
- Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction-from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Res* 2016;365:563-81.
- Nattel S, Shiroshita-Takeshita A, Cardin S, Pelletier P. Mechanisms of atrial remodeling and clinical relevance. *Curr Opin Cardiol* 2005;20:21-5.
- Verheule S, Schotten U. Electrophysiological consequences of cardiac fibrosis. *Cells* 2021;10:3220.
- Nguyen MN, Kiriazis H, Gao XM, Du XJ. Cardiac fibrosis and arrhythmogenesis. *Compr Physiol* 2017;7:1009-49.
- Spach MS, Dolber PC, Heidlage JF. Interaction of inhomogeneities of repolarization with anisotropic propagation in dog atria. A mechanism for both preventing and initiating reentry. *Circ Res* 1989;65:1612-31.
- Vergaro G, Aimo A, Rapezzi C, et al. Atrial amyloidosis: mechanisms and clinical manifestations. *Eur J Heart Fail* 2022;24:2019-28.
- Pucci A, Aimo A, Musetti V, et al. Amyloid deposits and fibrosis on left ventricular endomyocardial biopsy correlate with extracellular volume in cardiac amyloidosis. *J Am Heart Assoc* 2021;10:e020358.
- Zhao M, Wang L, Wang M, et al. Targeting fibrosis, mechanisms and clinical trials. *Signal Transduct Target Ther* 2022;7:206.
- Kato K, Logsdon NJ, Shin YJ, et al. Impaired myofibroblast dedifferentiation contributes to nonresolving fibrosis in aging. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2020;62:633-44.
- Giannandrea M, Parks WC. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis. *Dis Model Mech* 2014;7:193-203.
- Hinderer S, Schenke-Layland K. Cardiac fibrosis – a short review of causes and therapeutic strategies. *Adv Drug Deliv Rev* 2019;146:77-82.
- Iles L, Pfluger H, Phrommintikul A, et al. Evaluation of diffuse myocardial fibrosis in heart failure with cardiac magnetic resonance contrast-enhanced T1 mapping. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1574-80.
- Ding Y, Wang Y, Zhang W, et al. Roles of biomarkers in myocardial fibrosis. *Aging Dis* 2020;11:1157-74.
- Lopez B, Gonzalez A, Ravassa S, et al. Circulating biomarkers of myocardial fibrosis: the need for a reappraisal. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:2449-56.
- Oakes RS, Badger TJ, Kholmovski EG, et al. Detection and quantification of left atrial structural remodeling with delayed-enhancement magnetic resonance imaging in patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2009;119:1758-67.
- O'Hanlon R, Grasso A, Roughton M, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:867-74.
- Zegard A, Okafor O, de Bono J, et al. Myocardial fibrosis as a predictor of sudden death in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2021;77:29-41.
- Friedman SL. Fighting cardiac fibrosis with CAR T cells. *N Engl J Med* 2022;386:1576-8.
- Brilla CG, Funck RC, Rupp H. Lisinopril-mediated regression of myocardial

fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* 2000;102:1388-93.

26. Lopez B, Querejeta R, Varo N, et al. Usefulness of serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I in assessment of the cardioreparative ability of antihypertensive treatment in hypertensive patients. *Circulation* 2001;104:286-91.
27. Diez J, Querejeta R, Lopez B, Gonzalez A, Larman M, Martinez Ubago JL. Losartan-dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients. *Circulation* 2002;105:2512-7.
28. Shimada YJ, Passeri JJ, Baggish AL, et al. Effects of losartan on left ventricular hypertrophy and fibrosis in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *JACC Heart Fail* 2013;1:480-7.
29. Kosmala W, Przewlocka-Kosmala M, Szczepanik-Osadnik H, Mysiak A, O'Moore-Sullivan T, Marwick TH. A randomized study of the beneficial effects of aldosterone antagonism on LV function, structure, and fibrosis markers in metabolic syndrome. *JACC Cardiovasc Imaging* 2011;4:1239-49.
30. Kosmala W, Przewlocka-Kosmala M, Szczepanik-Osadnik H, Mysiak A, Marwick TH. Fibrosis and cardiac function in obesity: a randomised controlled trial of aldosterone blockade. *Heart* 2013;99:320-6.
31. Mak GJ, Ledwidge MT, Watson CJ, et al. Natural history of markers of collagen turnover in patients with early diastolic dysfunction and impact of eplerenone. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1674-82.
32. Deswal A, Richardson P, Bozkurt B, Mann DL. Results of the Randomized Aldosterone Antagonism in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction trial (RAAM-PEF). *J Card Fail* 2011;17:634-42.
33. Zannad F, Alla F, Dousset B, Perez A, Pitt B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES). *RALES Investigators. Circulation* 2000;102:2700-6.
34. Iraqi W, Rossignol P, Angioi M, et al. Extracellular cardiac matrix biomarkers in patients with acute myocardial infarction complicated by left ventricular dysfunction and heart failure: insights from the Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) study. *Circulation* 2009;119:2471-9.
35. Ravassa S, Trippel T, Bach D, et al. Biomarker-based phenotyping of myocardial fibrosis identifies patients with heart failure with preserved ejection fraction resistant to the beneficial effects of spironolactone: results from the Aldo-DHF trial. *Eur J Heart Fail* 2018;20:1290-9.
36. Cunningham JW, Claggett BL, O'Meara E, et al. Effect of sacubitril/valsartan on biomarkers of extracellular matrix regulation in patients with HFpEF. *J Am Coll Cardiol* 2020;76:503-14.
37. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004;109:1594-602.
38. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT; Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003;107:3133-40.
39. Tardif JC, Kouz S, Waters DD, et al. Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2019;381:2497-505.
40. Mewton N, Roubille F, Bresson D, et al. Effect of colchicine on myocardial injury in acute myocardial infarction. *Circulation* 2021;144:859-69.
41. Abulhul E, McDonald K, Martos R, et al. Long-term statin therapy in patients with systolic heart failure and normal cholesterol: effects on elevated serum markers of collagen turnover, inflammation, and B-type natriuretic peptide. *Clin Ther* 2012;34:91-100.
42. Chang YY, Wu YW, Lee JK, et al. Effects of 12 weeks of atorvastatin therapy on myocardial fibrosis and circulating fibrosis biomarkers in statin-naive patients with hypertension with atherosclerosis. *J Investig Med* 2016;64:1194-9.
43. Ashton E, Windebank E, Skiba M, et al. Why did high-dose rosuvastatin not improve cardiac remodeling in chronic heart failure? Mechanistic insights from the UNIVERSE study. *Int J Cardiol* 2011;146:404-7.
44. Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, et al; GISSI-HF Investigators. Effect of rosuvastatin in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008;372:1231-9.
45. Kjekshus J, Apetrei E, Barrios V, et al.; CORONA Group. Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *N Engl J Med* 2007;357:2248-61.
46. AlAnsari S, Southern B, Riaz H, Sharma V, Borowski A, Tang WHW. Responses to pirfenidone treatment in patients with idiopathic pulmonary fibrosis is not associated with changes in echocardiographic parameters of left ventricular structure and function [abstract]. *J Card Fail* 2019;25(Suppl):S27.
47. AlAnsari S, Southern BD, Sharma V, Mahalwar G, Tang WHW. Pirfenidone is associated with decreased indexed end diastolic and systolic volumes in patients with HFpEF and a known history of idiopathic pulmonary fibrosis [abstract]. *J Card Fail* 2020;26(Suppl):S25.
48. Lewis GA, Dodd S, Clayton D, et al. Pirfenidone in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized phase 2 trial. *Nat Med* 2021;27:1477-82.
49. Hudson MP, Armstrong PW, Ruzyllo W, et al. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:15-20.
50. Bundgaard H, Axelsson A, Hartvig Thomsen J, et al. The first-in-man randomized trial of a beta3 adrenoceptor agonist in chronic heart failure: the BEAT-HF trial. *Eur J Heart Fail* 2017;19:566-75.
51. Rurik JG, Tombacz I, Yadegari A, et al. CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury. *Science* 2022;375:91-6.
52. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2014;71:549-74.
53. Schnee JM, Hsueh WA. Angiotensin II, adhesion, and cardiac fibrosis. *Cardiovasc Res* 2000;46:264-8.
54. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994;26:809-20.
55. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:709-17.
56. Pitt B, Remme W, Zannad F, et al.; Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study Investigators. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;348:1309-21.
57. Hofmann F. A concise discussion of the regulatory role of cGMP kinase I in cardiac physiology and pathology. *Basic Res Cardiol* 2018;113:31.
58. Matei AE, Beyer C, Gyorfi AH, et al. Protein kinases G are essential downstream mediators of the antifibrotic effects of sGC stimulators. *Ann Rheum Dis* 2018;77:459.
59. Nakerakanti S, Trojanowska M. The role of TGF- β receptors in fibrosis. *Open Rheumatol J* 2012;6:156-62.
60. Burke RM, Lighthouse JK, Mickelsen DM, Small EM. Sacubitril/valsartan decreases cardiac fibrosis in left ventricle pressure overload by restoring PKG signaling in cardiac fibroblasts. *Circ Heart Fail* 2019;12:e005565.
61. Kapoun AM, Liang F, O'Young G,

- et al. B-type natriuretic peptide exerts broad functional opposition to transforming growth factor-beta in primary human cardiac fibroblasts: fibrosis, myofibroblast conversion, proliferation, and inflammation. *Circ Res* 2004;94:453-61.
- 62.** Sun M, Chen M, Dawood F, et al. Tumor necrosis factor-alpha mediates cardiac remodeling and ventricular dysfunction after pressure overload state. *Circulation* 2007;115:1398-407.
- 63.** Hamid T, Gu Y, Ortines RV, et al. Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappaB and inflammatory activation. *Circulation* 2009;119:1386-97.
- 64.** Roubille F, Kritikou E, Busseuil D, Barriere-Lemaire S, Tardif JC. Colchicine: an old wine in a new bottle? *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2013;12:14-23.
- 65.** Lampidis TJ, Kolonias D, Savaraj N, Rubin RW. Cardiostimulatory and antiarrhythmic activity of tubulin-binding agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:1256-60.
- 66.** Akodad M, Fauconnier J, Sicard P, et al. Interest of colchicine in the treatment of acute myocardial infarct responsible for heart failure in a mouse model. *Int J Cardiol* 2017;240:347-53.
- 67.** Akodad M, Sicard P, Fauconnier J, Roubille F. Colchicine and myocardial infarction: a review. *Arch Cardiovasc Dis* 2020;113:652-9.
- 68.** Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Yamaguchi I. Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with the nuclear factor-kappa-B pathway. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1481-8.
- 69.** Sarma S. Use of clinically available PPAR agonists for heart failure; do the risks outweigh the potential benefits? *Curr Mol Pharmacol* 2012;5:255-63.
- 70.** Oka S, Alcendor R, Zhai P, et al. PPA-Ralpha-Sirt1 complex mediates cardiac hypertrophy and failure through suppression of the ERR transcriptional pathway. *Cell Metab* 2011;14:598-611.
- 71.** Yamamoto C, Fukuda N, Jumabay M, et al. Protective effects of statin on cardiac fibrosis and apoptosis in adrenomedullin-knockout mice treated with angiotensin II and high salt loading. *Hypertens Res* 2011;34:348-53.
- 72.** Wolfrum S, Dendorfer A, Rikitake Y, et al. Inhibition of Rho-kinase leads to rapid activation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt and cardiovascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1842-7.
- 73.** Chang SA, Kim YJ, Lee HW, et al. Effect of rosuvastatin on cardiac remodeling, function, and progression to heart failure in hypertensive heart with established left ventricular hypertrophy. *Hypertension* 2009;54:591-7.
- 74.** Fang L, Murphy AJ, Dart AM. A clinical perspective of anti-fibrotic therapies for cardiovascular disease. *Front Pharmacol* 2017;8:186.
- 75.** Frantz S, Hu K, Adamek A, et al. Transforming growth factor beta inhibition increases mortality and left ventricular dilatation after myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 2008;103:485-92.
- 76.** Kuwahara F, Kai H, Tokuda K et al. Transforming growth factor-beta function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats. *Circulation* 2002;106:130-5.
- 77.** Bouros D. Pirfenidone for idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 2011;377:1727-9.
- 78.** Kreuter M, Wuys W, Renzoni E, et al. Antacid therapy and disease outcomes in idiopathic pulmonary fibrosis: a pooled analysis. *Lancet Respir Med* 2016;4:381-9.
- 79.** Aimo A, Spitaleri G, Panichella G, Lupon J, Emdin M, Bayes-Genis A. Pirfenidone as a novel cardiac protective treatment. *Heart Fail Rev* 2022;27:525-32.
- 80.** Oku H, Shimizu T, Kawabata T, et al. Antifibrotic action of pirfenidone and prednisolone: different effects on pulmonary cytokines and growth factors in bleomycin-induced murine pulmonary fibrosis. *Eur J Pharmacol* 2008;590:400-8.
- 81.** Shi Q, Liu X, Bai Y, et al. In vitro effects of pirfenidone on cardiac fibroblasts: proliferation, myofibroblast differentiation, migration and cytokine secretion. *PLoS One* 2011;6:e28134.
- 82.** Aimo A, Cerbai E, Bartolucci G, et al. Pirfenidone is a cardioprotective drug: mechanisms of action and preclinical evidence. *Pharmacol Res* 2020;155:104694.
- 83.** Visner GA, Liu F, Bizargity P, et al. Pirfenidone inhibits T-cell activation, proliferation, cytokine and chemokine production, and host alloresponses. *Transplantation* 2009;88:330-8.
- 84.** Du J, Paz K, Flynn R, et al. Pirfenidone ameliorates murine chronic GVHD through inhibition of macrophage infiltration and TGF-beta production. *Blood* 2017;129:2570-80.
- 85.** Wang Y, Wu Y, Chen J, Zhao S, Li H. Pirfenidone attenuates cardiac fibrosis in a mouse model of TAC-induced left ventricular remodeling by suppressing NLRP3 inflammasome formation. *Cardiology* 2013;126:1-11.
- 86.** Yamazaki T, Yamashita N, Izumi Y, et al. The antifibrotic agent pirfenidone inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice. *Hypertens Res* 2012;35:34-40.
- 87.** Heymans S, Lupu F, Terclavers S, et al. Loss or inhibition of uPA or MMP-9 attenuates LV remodeling and dysfunction after acute pressure overload in mice. *Am J Pathol* 2005;166:15-25.
- 88.** Matsusaka H, Ide T, Matsushima S, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase 2 ameliorates myocardial remodeling in mice with chronic pressure overload. *Hypertension* 2006;47:711-7.
- 89.** Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001-7.
- 90.** Travers JG, Tharp CA, Rubino M, McKinsey TA. Therapeutic targets for cardiac fibrosis: from old school to next-gen. *J Clin Invest* 2022;132:e148554.
- 91.** Sabbah HN. The cellular and physiologic effects of beta blockers in heart failure. *Clin Cardiol* 1999;22 Suppl 5:V16-20.
- 92.** Liu X, Sun SQ, Hassid A, Ostrom RS. cAMP inhibits transforming growth factor-beta-stimulated collagen synthesis via inhibition of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Smad signaling in cardiac fibroblasts. *Mol Pharmacol* 2006;70:1992-2003.
- 93.** Yi XP, Gerdes AM, Li F. Myocyte redistribution of GRK2 and GRK5 in hypertensive, heart-failure-prone rats. *Hypertension* 2002;39:1058-63.
- 94.** Petrofski JA, Koch WJ. The beta-adrenergic receptor kinase in heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:1167-74.
- 95.** Woodall MC, Woodall BP, Gao E, Yuan A, Koch WJ. Cardiac fibroblast GRK2 deletion enhances contractility and remodeling following ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 2016;119:1116-27.
- 96.** Raake PW, Schlegel P, Ksienzyk J, et al. AAV6.betaARKct cardiac gene therapy ameliorates cardiac function and normalizes the catecholaminergic axis in a clinically relevant large animal heart failure model. *Eur Heart J* 2013;34:1437-47.
- 97.** Nantel F, Bonin H, Emorine LJ, et al. The human beta 3-adrenergic receptor is resistant to short term agonist-promoted desensitization. *Mol Pharmacol* 1993;43:548-55.
- 98.** Michel LYM, Farah C, Balligand JL. The beta3 adrenergic receptor in healthy and pathological cardiovascular tissues. *Cells* 2020;9:2584.
- 99.** Moens AL, Leyton-Mange JS, Niu X, et al. Adverse ventricular remodeling and exacerbated NOS uncoupling from pressure-overload in mice lacking the beta3-adrenoreceptor. *J Mol Cell Cardiol* 2009;47:576-85.
- 100.** Kamiya M, Asai K, Maejima Y, et al. Beta 3-adrenergic receptor agonist prevents diastolic dysfunction in an angiotensin II-induced cardiomyopathy mouse model. *J Pharmacol Exp Ther* 2021;376:473-81.
- 101.** Niu X, Watts VL, Cingolani OH, et al. Cardioprotective effect of beta-3 adrenergic receptor agonism: role of neuronal

nitric oxide synthase. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:1979-87.

102. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J* 2021;11:69.

103. Wang Z, Wu Z, Liu Y, Han W. New development in CAR-T cell therapy. *J Hematol Oncol* 2017;10:53.

104. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science* 2018;359:1361-5.

105. Liu Y, Chen X, Han W, Zhang Y. Tisagenlecleucel, an approved anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for the treatment of leukemia. *Drugs Today (Barc)* 2017;53:597-608.

106. Aghajanian H, Kimura T, Rurik JG, et al. Targeting cardiac fibrosis with engineered T cells. *Nature* 2019;573:430-3.

107. Sermer D, Brentjens R. CAR T-cell

therapy: full speed ahead. *Hematol Oncol* 2019;37 Suppl 1:95-100.

108. National Cancer Institute. CAR T cells: engineering patients' immune cells to treat their cancer. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells> [ultimo accesso 2 novembre 2022].

109. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011;3:95ra73.

110. Ghosh AK, Chen DH, Guha A, Mackenzie S, Walker JM, Roddie C. CAR T cell therapy-related cardiovascular outcomes and management: systemic disease or direct cardiotoxicity? *JACC CardioOncol* 2020;2:97-109.

111. Asnani A. Cardiotoxicity of immunotherapy: incidence, diagnosis, and management. *Curr Oncol Rep* 2018;20:44.

112. Zhao Y, Moon E, Carpenito C, et al. Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res* 2010;70:9053-61.

113. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 2018;17:261-79.

114. Bousmell L, Coppin H, Pham D, et al. An antigen shared by a human T cell subset and B cell chronic lymphocytic leukemic cells. Distribution on normal and malignant lymphoid cells. *J Exp Med* 1980;152:229-34.

115. Kaur H, Takefuji M, Ngai CY, et al. Targeted ablation of periostin-expressing activated fibroblasts prevents adverse cardiac remodeling in mice. *Circ Res* 2016;118:1906-17.