

## Palabras clave

Hipertrofia miocárdica, angiotensina II, endotelina,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  intracelulares, Intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  cardíaco.

## Abreviaturas utilizadas

**AII:** angiotensina II  
**ET:** endotelina  
**HC:** hipertrofia cardíaca  
**LOS:** losartan  
**NCX:** intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$   
**NFAT:** factor de transcripción nuclear de células T activadas  
**NHE-1:** intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  cardíaco  
**PA:** presión arterial  
**pHi:** pH intracelular  
**ROS:** especies reactivas derivadas del oxígeno  
**TAC:** constricción de la aorta transversa  
**TBARS:** sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico  
**VI:** ventrículo izquierdo  
**MR:** receptor de mineralocorticoides  
**EGFR:** receptor del factor de crecimiento epidérmico

## Síntesis Inicial

Hemos tratado de hacer una revisión de los mecanismos que inducen hipertrofia cardíaca tras el estímulo mecánico (sobrecarga hemodinámica). El estiramiento del miocardio promueve la liberación de angiotensina II de los cardiomiocitos que a través de la estimulación de los receptores AT1 gatilla una serie de eventos en serie que involucran la activación de la NADPH oxidasa, producción de ROS mitocondriales, activación de quinasas redox-sensibles, fosforilación del NHE-1 y aumento de la concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  intracelulares que llevan a señales prohipertroóficas por activación de calcineurina.

## INTRODUCCIÓN

Nos referiremos aquí, brevemente, a la HC presente tras el aumento de la poscarga. El ejemplo más frecuente lo constituye la HC de los individuos con hipertensión arterial; sin embargo ésta tiene numerosos puntos de contacto con la HC que ocurre en el marco de otras patologías. La tabla 61-1 reseña alguna de estas situaciones.

El aumento de la PA ocasiona que el corazón eyecte un volumen de sangre inferior al que le llega durante varios latidos, aumentando la presión diastólica final del VI y por lo tanto su volumen. Este “estiramiento” de las fibras miocárdicas le permite al corazón volver a eyectar el mismo volumen

de sangre aunque ahora contra una mayor poscarga (aumento de la PA). El mecanismo de Frank-Starling ha entrado en juego. El miocardio así “estirado” con el transcurso del tiempo se hipertrofiará. ¿Qué significa que se hipertrofie? Desde el punto de vista clínico significa que la masa del VI (determinada por ecocardiografía u otros métodos complementarios de diagnóstico) normalizada por la superficie corporal supere un límite preestablecido para cada sexo y edad. Desde el punto de vista histopatológico significa que el miocito cardíaco haya aumentado su tamaño.

El miocardio no está compuesto exclusivamente por cardiomiocitos (que representan sólo aproximadamente 1/3 del número de sus células); posee además fibroblastos, músculo

**Tabla 61-1 Modelos de hipertrofia cardíaca en las que el NHE-1 desempeña un papel****Modelos de hipertrofia cardíaca**

Sobrecarga cardíaca
Estiramiento de miocitos cardíacos de ratas recién nacida
Estimulación de Ang II
Estimulación de ET-1
Postinfarto de miocardio
Estimulación de la Leptina
Insuficiencia cardíaca
Monocrotalina
Hiperparatiroidismo
Hipertiroidismo
Modelo de miocardiopatía hereditaria en hamster
Estimulación de mineralocorticoides
Péptido natriurético auricular en ratones con deficiencia
Inhibición de la anhidrasa carbónica
Estimulación $\beta$ -adrenérgica
Estimulación $\alpha$ -adrenérgica
Estimulación inducida

(Modificada de Cingolani HE y Ennis IL, *Circulation* 115(9):1090-100, 2007 con autorización)

liso vascular y colágeno. No obstante, los miocitos por su gran tamaño constituyen alrededor de las 2/3 partes de la masa miocárdica. Como conclusión, existe generalmente una buena correlación entre el tamaño de los cardiomiocitos y la masa del VI. No obstante, puede coexistir masa normal de acuerdo a los criterios ecocardiográficos y tamaño del cardiomiocito aumentado en el remodelamiento cardíaco.<sup>1</sup> En este caso la masa cardíaca no alcanza los valores arbitrarios establecidos para definir HC.

La fig. 61-1 muestra tres fenotipos de corazones, el normal, el de una HC concéntrica y el de una HC excéntrica. El corazón normal en su camino hacia la HC concéntrica puede aumentar el tamaño de sus cardiomiocitos sin alcanzar los límites arbitrariamente fijados para el diagnóstico de HC. A esta condición se la denomina remodelamiento cardíaco.

Luego de esta breve introducción, volvamos a los mecanismos responsables del desarrollo de HC.

## ¿POR QUÉ SE HIPERTROFIA EL MIOCARDIO AL ESTIRARSE?

Al estirar un músculo papilar nosotros detectamos un aumento del pHi y de la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular determinados por la hiperactividad del NHE-1.<sup>2</sup> ¿Por qué el estiramiento provoca la hiperactividad de este intercambiador que introduce Na<sup>+</sup> a la célula? En un primer momento pensamos en la posibilidad de que unidades del NHE-1 ocultas en pliegues del sarcolema se “exteriorizaran” al estirarse el miocardio. Sin embargo, luego reparamos en experimentos realizados en Harvard por Sadoshima y col.<sup>3</sup> en cardiomiocitos aislados de ratas neonatas que describiremos

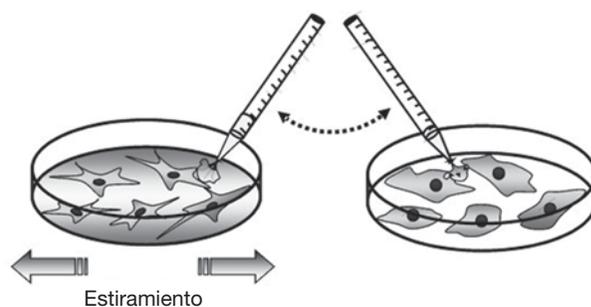
a continuación; y en la posibilidad de que la AII estuviese involucrada en el aumento de la actividad del NHE-1 que nosotros detectamos.<sup>4-6</sup>

Los simples experimentos realizados por Sadoshima, Izumo, Ito y colaboradores,<sup>3,7</sup> produjeron un enorme impacto en la comprensión de los mecanismos que conducen al desarrollo de HC. Los miocitos aislados se pegan al fondo de una cápsula de Petri que es de xylastic. Al estirar la cápsula de xylastic, los miocitos se estiran y observamos que se hipertrofian (fig. 61-2). Sin embargo hay circunstancias que merecen un comentario particular:

1. Si tomo el medio de cultivo de los miocitos que fueron estirados y lo coloco en otra cápsula conteniendo miocitos no estirados, estos también se hipertrofian.
2. En el medio de cultivo de los miocitos estirados se detecta AII en concentración ~500 pmol/L.
3. Si coloco un oligonucleótido antisentido para ET, no se produce hipertrofia en los cardiomiocitos estimulados con AII.<sup>7</sup>



**Figura 61-1.** Relación entre el índice de masa y el espesor relativo de la pared ventricular izquierda. Un aumento del índice de masa ventricular izquierda indica el desarrollo de HC. Si el espesor de la pared ventricular en relación al radio de la cavidad no aumenta proporcionalmente, el volumen de la cavidad está aumentado ocurriendo un tipo de hipertrofia más excéntrica. Sin embargo, si tanto el espesor relativo como el índice de masa aumentan se desarrolla una hipertrofia de tipo concéntrico.



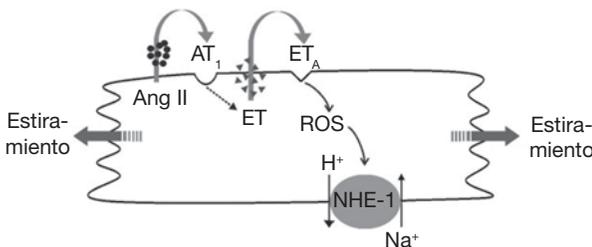
**Figura 61-2.** Los experimentos realizados por Sadoshima y colaboradores<sup>3</sup> en miocitos aislados de corazones de ratas neonatas mostraron que estirando las placas a las cuales estaban adheridos los cardiomiocitos, estos se hipertrofiaban. Tomando medio de cultivo de las placas con miocitos que habían sido estirados y transfundiéndolo a placas con miocitos no sometidos a estiramiento la respuesta hipertrofica también se desarrollaba. Esto sustenta la liberación de una sustancia hipertrofiante al medio. Se detectó AII (~ 500 pmol/L) en el medio. Posteriormente, Ito y colaboradores<sup>7</sup> demostraron que era posible inhibir el desarrollo de hipertrofia inducida por AII mediante la administración de un oligonucleótido antisentido contra ET; sustentando que la AII inducía la liberación de ET.

La fig. 61-3 explica el mecanismo observado hasta aquí.

El estiramiento de los cardiomiocitos induce la liberación de AII almacenada en vesículas intracelulares en el miocito. Esta AII activa el receptor AT1 del mismo cardiomiocito (actuando de forma autocrina) y produce liberación y/o formación de ET que estimula a su receptor ETA. Estos experimentos hechos en miocitos aislados de corazones de ratas neonatas fueron criticados en cuanto a la factibilidad de extrapolar sus resultados a cardiomiocitos de corazones adultos por las diferencias existentes entre ambos tipos celulares en cuanto a la expresión de receptores de AII y en el proceso éxito-contráctil. No obstante, el conocimiento de ellos y el saber que la AII y la ET eran dos reconocidos activadores del NHE-1 nos llevó a pensar que los experimentos en los que detectábamos que al estirar el miocardio adulto aumentaba la actividad del NHE-1, podrían ser explicados por la liberación de AII y ET. Así demostramos que el aumento del pH<sub>i</sub> y del Na<sup>+</sup> intracelular provocados por el estiramiento de fibras miocárdicas se cancelaban con LOS, un bloqueante de los receptores AT1; con BQ123, un antagonista selectivo de los receptores ETA; o con TAK044, un antagonista no selectivo de los receptores de ET.<sup>6,8,9</sup> También demostramos que con la administración de AII en concentraciones relativamente bajas (1nmol/L) es posible reproducir los efectos del estiramiento sobre el aumento de la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular; y que este se suprime inhibiendo al NHE-1.<sup>10</sup>

Hasta aquí sabemos que el estiramiento del miocardio induce la liberación de AII producida en el cardiomiocito y que la activación de los receptores AT1 induce la liberación y formación de ET, y la activación del NHE-1; pero aun no sabemos si esto puede provocar HC.

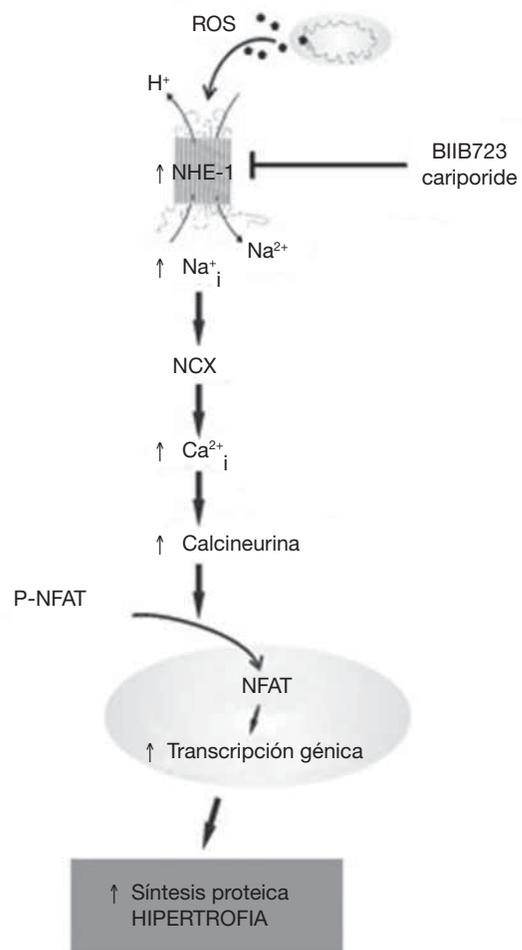
Tratamos de probar luego, con cierto grado de certidumbre, que la hiperactividad del NHE-1 detectada tras del estiramiento induce HC. La mayor parte de los lectores conocerán un modelo experimental de hipertensión arterial esencial constituido por las ratas espontáneamente hipertensas ó SHR. En ellas nosotros detectamos la hiperactividad del NHE-1 en el miocardio e hipertrofia de los cardiomiocitos.<sup>11</sup> Si tratamos a estas ratas durante cuatro semanas con inhibidores farmacológicos del NHE-1, que no modifican significativamente las cifras de PA, la HC disminuye 12-14



**Figura 61-3.** El estiramiento miocárdico promueve la liberación de A II preformada en el miocito, esta actuando en forma autocrina sobre los receptores AT1 provoca la liberación/formación de ET que por inducir la producción de ROS estimula al NHE-1.

El aumento del Na<sup>+</sup> intracelular causado por la hiperactividad del NHE-1, provoca un aumento de la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular a través del NCX. Este aumento del Ca<sup>2+</sup> intracelular favorece la activación de la fosfatasa calcineurina que desfosforila factores de transcripción de la familia NFAT que se traslocan al núcleo y promueven la transcripción génica con el consecuente desarrollo de HC (fig. 61-4).

Significa que a través del aumento de la actividad del NHE-1 y el aumento consecuente del Na<sup>+</sup> intracelular llegamos a aumentar el Ca<sup>2+</sup> intracelular y esto conduce al desarrollo de HC mediado por calcineurina; lo que brinda un mayor sustento al mecanismo que estamos describiendo como inductor de HC. Por otro lado experimentos in vitro realizados recientemente brindan sustento a nuestra



**Figura 61-4.** Esquema que representa en forma sintética la vía de señalización intracelular disparada por el estiramiento del miocardio. Los ROS (anión superóxido o el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> originada por su dismutación) producidos por la NADPH oxidasa que es activada por la AII/ET, activan la vía de quinasas redox-sensible MEK1/2ERK1/2-p90RSK que conducen a la fosforilación del NHE-1 en el residuo serina 703 aumentando la actividad del intercambiador. El aumento de la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular altera el potencial de inversión del NCX y de esta forma favorece la entrada de Ca<sup>2+</sup> a la célula, activando a la fosfatasa calcineurina. La calcineurina así activada desfosforila a factores de transcripción de la familia NFAT que se traslocan al núcleo y estimulan la transcripción génica iniciando la respuesta hipertrofica.

propuesta.<sup>15</sup> Nakamura y colaboradores<sup>15</sup> demostraron que la activación del NHE-1 era suficiente para generar señales dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  capaces de inducir el desarrollo de hipertrofia e insuficiencia cardíacas.

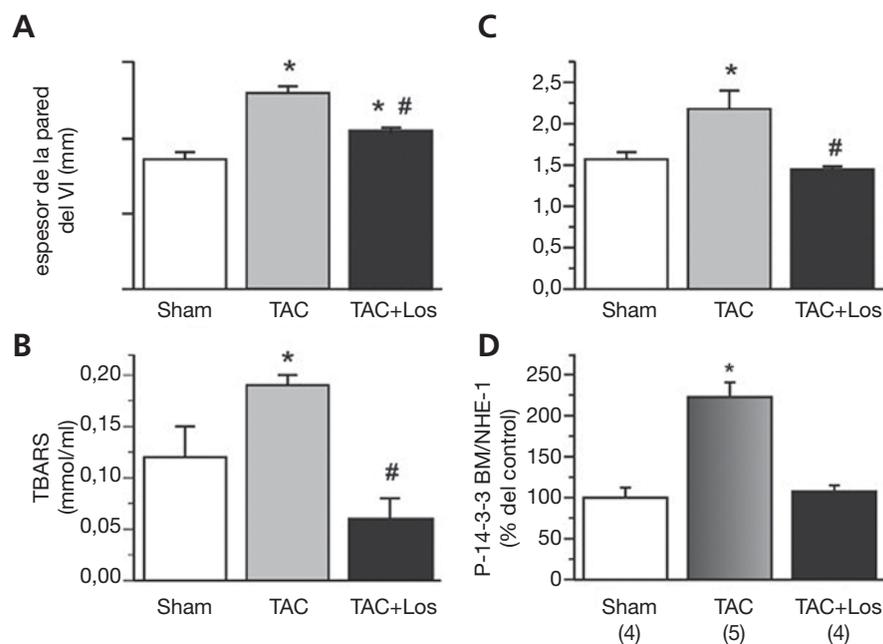
## ¿POR QUÉ LA AII Y/O LA ET ACTIVAN AL NHE-1?

El NHE-1 aumenta su actividad por cambios postraslacionales como su fosforilación en la serina en posición 703. Esta fosforilación es el resultado de la activación secuencial de las quinasas MEK1/2-ERK1/2-p90RSK.<sup>16</sup> La MEK1/2 es una quinasa redox sensible capaz de aumentar su actividad en presencia de ROS. Significa esto que ante un aumento de la actividad de la NADPH oxidasa inducido por AII/ET, se produce anión superóxido que estimula la producción de ROS mitocondriales por el mecanismo conocido como “liberación de ROS inducida por ROS”.<sup>17,18</sup> Estos ROS serían los responsables directos de la activación de la vía MEK1/2-ERK1/2-p90RSK que determina la hiperactividad del NHE-1.

Entonces, podríamos decir que el estiramiento del miocardio promueve el desarrollo de HC por estimular la liberación mitocondrial de ROS, responsables de la activación de quinasas redox sensibles. El grupo de Shah en Londres indujo el desarrollo de HC en ratones mediante la administración subcutánea continua (minibombas osmóticas) de AII

en dosis subpresoras.<sup>19</sup> La PA de estos animales no se modificó durante el tratamiento pero sí se detectó HC. Cuando el mismo tratamiento se ensayó en ratones carentes de la subunidad gp91 de la NADPH oxidasa, la infusión de AII no aumentó el estrés oxidativo ni provocó el desarrollo de HC. Apoyando la misma línea de razonamiento, los experimentos de la fig. 61-5 muestran resultados compatibles con éstos, pero inducidos por TAC. En ella mostramos 3 grupos experimentales: controles (Sham); TAC (constricción aorta transversa) y TAC + LOS. En “A” se muestra el aumento del espesor de la pared del VI; en “B” el estrés oxidativo miocárdico, en “C” la fosforilación de p90RSK (la que fosforila al NHE-1); y en “D”, un marcador de fosforilación del NHE-1 en las 3 situaciones experimentales luego de 7 semanas de sobrecarga. La constricción aórtica aumenta el espesor de la pared del VI, el estrés oxidativo miocárdico y la fosforilación de la quinasa p90RSK y del NHE-1, parámetros que disminuyen o se normalizan por el bloqueo AT1 con LOS.

Una disquisición interesante es si podemos aseverar que la HC es el resultado de la liberación de ROS mitocondriales que acompañan al estiramiento del miocardio. Es indudablemente así. Sólo que esos ROS van a conducir al aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico y activación de la vía prohipertrofica de la calcineurina-NFAT luego del aumento de la concentración de  $\text{Na}^+$  intracelular ocasionada por la hiperactividad del NHE-1.



**Figura 61-5.** En experimentos realizados en ratones sometidos a TAC durante 7 semanas se detectó un aumento del espesor de la pared libre del ventrículo izquierdo (A); aumento del estrés oxidativo determinado mediante TBARS (B); aumento de la fosforilación de la quinasa p90RSK (C) y del NHE-1 detectada por fosforilación del sitio de unión a la proteína 14-3-3 (D). El tratamiento con losartan, bloqueante selectivo de los receptores AT1, de ratones con TAC disminuyó significativamente el engrosamiento de la pared ventricular y normalizó el resto de los parámetros. Estos resultados confirmarían que la sobrecarga cardíaca induce la liberación de angiotensina II que gatilla señales que conducen al desarrollo de hipertrofia cardíaca.

\*  $p < 0.05$  vs. control (Sham); #  $p < 0.05$  entre los dos grupos experimentales (Modificado de Cingolani y col<sup>20</sup> con autorización).

## ¿EL AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DEL NHE-1 DETECTADO MINUTOS DESPUÉS DE INICIADO EL ESTIRAMIENTO DEL MIOCARDIO PERDURA EN EL TIEMPO?

Parece ser que sí, si recordamos que en el miocardio hipertrofico de las SHR el NHE-1 está hiperactivo y que en ratones en los que se induce HC por TAC, se observa al cabo de 7 semanas hiperactividad del NHE-1, aumento de la fosforilación de la quinasa p90RSK (que es la que fosforila a la serina 703 del NHE-1) y del estrés oxidativo (estimado por TBARS) (fig. 61-5).<sup>20</sup>

El problema es complejo y probablemente se torne más complejo aun si seguimos abriendo puertas a lo desconocido. En la cadena de eventos que sigue al estiramiento: AII - ET - ROS - NHE-1 - Na<sup>+</sup> intracelular - Ca<sup>2+</sup> intracelular - calcineurina; aparecen nuevos actores entre los eslabones actuando en serie. Hay dos que recientemente hemos descrito: la activación del MR<sup>21</sup> y la transactivación del EGFR.<sup>22</sup> El rol de estos dos nuevos integrantes de la vía de señalización disparada por el estiramiento miocárdico escapa a los límites impuestos a esta revisión.

Que el estiramiento miocárdico active el MR es algo nuevo y con implicancias clínicas. Uno puede tentarse a elucidar que si la AII es el estímulo conocido para la síntesis de aldosterona en la corteza suprarrenal, podría serlo también en el miocardio una vez que su liberación es provocada por el estiramiento. Silvestre et al.<sup>23</sup> lo demostró en corazón aislado; pero sus resultados fueron controvertidos ya que la enzima responsable del paso final en la síntesis de aldosterona se expresa en niveles muy bajos en el miocardio.<sup>24</sup> Sin embargo, la aldosterona podría liberarse luego de ser almacenada en el miocardio. En pacientes con insuficiencia cardíaca se ha detectado que la concentración de aldosterona en la vena que drena el miocardio supera la de la aorta, indicando que el miocardio libera la hormona.<sup>25</sup> Además, que se active el MR no necesariamente debe interpretarse como el resultado de la liberación miocárdica de aldosterona, potencialmente podría ocurrir como resultado de una modificación postranslacional (fosforilación) del receptor, de la activación por deformación inducida por el estiramiento o activación por cortisol.

### Bibliografía sugerida

1. Frohlich ED, Apstein C, Chobanian AV y col. The heart in hypertension. *New Eng J Med* 1992; 327: 998-1008
2. Cingolani HE, Ennis IL, Aiello EA, Perez NG. Role of autocrine/paracrine mechanisms in response to myocardial strain. *Pflugers Arch* 2011; 462:29-38
3. Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* 1993; 75:977-984
4. Camilion de Hurtado MC, Alvarez BV, Perez NG, Ennis IL, Cingolani HE. Angiotensin II activates Na<sup>+</sup>-independent Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange in ventricular myocardium. *Circ Res* 1998; 82:473-481
5. Cingolani HE. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange hyperactivity and myocardial hypertrophy: are they linked phenomena? *Cardiov Res* 1999; 44:462-467
6. Cingolani HE, Alvarez BV, Ennis IL, Camilion de Hurtado MC. Stretch-induced alkalization of feline papillary muscle: an autocrine-paracrine system. *Circ Res* 1998; 83:775-780
7. Ito H, Hirata Y, Adachi S y col. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *JCI* 1993; 92:398-403
8. Alvarez BV, Perez NG, Ennis IL, Camilion de Hurtado MC, Cingolani HE. Mechanisms underlying the increase in force and Ca<sup>2+</sup> transient that follow stretch of cardiac muscle: a possible explanation of the Anrep effect. *Circ Res* 1999; 85:716-722
9. Perez NG, de Hurtado MC, Cingolani HE. Reverse mode of the Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange after myocardial stretch: underlying mechanism of the slow force response. *Circ Res* 2001; 88:376-382
10. Perez NG, Villa-Abrille MC, Aiello EA, Dulce RA, Cingolani HE, Camilion de Hurtado MC. A low dose of angiotensin II increases inotropism through activation of reverse Na<sup>(+)</sup>/Ca<sup>(2+)</sup> exchange by endothelin release. *Cardiov Res* 2003; 60:589-597
11. Perez NG, Alvarez BV, Camilion de Hurtado MC, Cingolani HE. pHi regulation in myocardium of the spontaneously hypertensive rat. Compensated enhanced activity of the Na<sup>(+)</sup>-H<sup>+</sup> exchanger. *Circ Res* 1995, 77:1192-1200
12. Camilion de Hurtado MC, Portiansky EL, Perez NG, Rebolledo OR, Cingolani HE. Regression of cardiomyocyte hypertrophy in SHR following chronic inhibition of the Na<sup>(+)</sup>/H<sup>(+)</sup> exchanger. *Cardiov Res* 2002; 53:862-868
13. Cingolani HE, Rebolledo OR, Portiansky EL, Perez NG, Camilion de Hurtado MC. Regression of hypertensive myocardial fibrosis by Na<sup>(+)</sup>/H<sup>(+)</sup> exchange inhibition. *Hypertension* 2003; 41:373-377
14. Ennis IL, Garciarena CD, Escudero EM y col. Normalization of the calcineurin pathway underlies the regression of hypertensive hypertrophy induced by Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger-1 (NHE-1) inhibition. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 2007; 85:301-310
15. Nakamura TY, Iwata Y, Arai Y, Komamura K, Wakabayashi S. Activation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 1 is sufficient to generate Ca<sup>2+</sup> signals that induce cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ Res* 2008; 103:891-899
16. Wei S, Rothstein EC, Fliegel L, Dell'Italia LJ, Lucchesi PA. Differential MAP kinase activation and Na<sup>(+)</sup>/H<sup>(+)</sup> exchanger phosphorylation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in rat cardiac myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281:C1542-C1550
17. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *The Journal of Experimental Medicine* 2000; 192:1001-1014
18. Kimura S, Zhang GX, Nishiyama A y col. Mitochondria-derived reactive oxygen species and vascular MAP kinases: comparison of angiotensin II and diazoxide. *Hypertension* 2005; 45:438-444
19. Bendall JK, Cave AC, Heymes C, Gall N, Shah AM. Pivotal role of a gp91(phox)-containing NADPH oxidase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice. *Circulation* 2002; 105:293-296
20. Cingolani OH, Perez NG, Ennis IL y col. In vivo key role of reactive oxygen species and NHE-1 activation in determining excessive cardiac hypertrophy. *Pflugers Arch* 2011; 462:733-743
21. Caldiz CI, Díaz RG, Nolly MB y col. Mineralocorticoid receptor activation is crucial in the signalling pathway leading to the Anrep effect. *J Physiol* 2011; 589.24: 6051-6061.

22. Villa-Abrille MC, Caldiz CI, Ennis IL y col. The Anrep effect requires transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J Physiol* 2010; 588:1579-1590
23. Silvestre JS, Robert V, Heymes C y col. Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat. Physiological regulation. *The Journal of biological chemistry* 1998; 273:4883-4891
24. Takeda Y, Yoneda T, Demura M, Miyamori I, Mabuchi H. Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats. *Hypertension* 2000, 36:495-500
25. Gomez-Sanchez EP, Ahmad N, Romero DG, Gomez-Sanchez CE. Origin of aldosterone in the rat heart. *Endocrinology* 2004; 145:4796-4802