

Inhibición directa de la renina: de la fisiología a la farmacología y las implicaciones clínicas

El sistema renina-angiotensina intracelular. Papel de la inhibición directa de la renina

Francisca Lago^a, Iñaki Lekuona^b y José Ramón González-Juanatey^{a,*}

^aUnidad de Investigación de Cardiología Celular y Molecular, Servicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, A Coruña, España

^bHospital Galdakao, Vizcaya, España

Palabras clave:

Renina
Aliskiren
Intracelular
Angiotensina II
Cardiomiocitos

Keywords:

Renin
Aliskiren
Intracellular
Angiotensin II
Cardiomyocytes

RESUMEN

En los últimos años se han descubierto nuevos aspectos fisiológicos del sistema renina-angiotensina que podrían producir cambios en las estrategias terapéuticas seguidas hasta ahora para conseguir su inhibición. Especialmente, el descubrimiento de la existencia de un sistema renina-angiotensina intracelular funcional ha permitido comprender muchos aspectos de la fisiopatología del remodelado cardiaco y puede ayudar a explicar la eficacia sólo parcial de los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina y de los bloqueadores del receptor de angiotensina, así como la superioridad de los inhibidores directos de la renina, en determinadas condiciones patológicas asociadas con la enfermedad cardiovascular.

The Intracellular Renin-Angiotensin System: The Role of Direct Renin Inhibition

ABSTRACT

In recent years, new aspects of the physiology of the renin-angiotensin system (RAS) have been discovered that could bring about changes in the therapeutic strategies used at present to inhibit the RAS. In particular, discovery of the existence of a functioning intracellular renin-angiotensin system has led to increased understanding of many aspects of the physiopathology of cardiac remodeling, and could help explain the limited efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin-receptor blockers, as well as the superiority of direct renin inhibitors, under certain pathological conditions associated with cardiovascular disease.

SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA CLÁSICO Y LOCAL

Más de un siglo después de su descubrimiento, las implicaciones fisiológicas del sistema renina-angiotensina (SRA) siguen ampliándose con la identificación de nuevos componentes, funciones y sub-sistemas. El SRA clásico tiene naturaleza sistémica; la angiotensina II (AngII) se sintetiza en la circulación y contribuye al mantenimiento del equilibrio electrolítico, el volumen de fluidos corporales y la presión arterial primariamente a través de la vasoconstricción y producción de aldosterona. Uno de los avances más significativos de las últimas dos décadas es el descubrimiento de los SRA locales o tisulares^{1,2}. Un sistema local se caracteriza por la presencia de sus componentes (el angiotensinógeno [AGT] y las enzimas de conversión), por la síntesis local de Ang II y por su unión a receptores específicos, con el resultado de una respuesta fisiológica local. Los sistemas locales están regulados independientemente del SRA sistémico, pero pueden in-

teractuar con él; estas interacciones han sido objeto de gran controversia, especialmente las interacciones en el corazón³, donde la identificación de un SRA funcional cardiaco se ha establecido partiendo de aproximaciones farmacológicas y genéticas^{4,5}. Asimismo, se han identificado SRA locales en el riñón⁶, el cerebro⁷, el páncreas⁸, el aparato reproductor¹, el sistema linfático¹ y el tejido adiposo⁹. Algunas de las funciones locales del SRA son tan variadas como el crecimiento y el remodelado del corazón, la regulación de la presión arterial, la estimulación de la ingesta o la secreción hormonal pancreática.

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA INTRACELULAR

El SRA intracelular se define como la presencia de síntesis y efectos biológicos de Ang II en una localización intracelular¹⁰. La presencia de péptidos señal en AGT y renina y el hecho de que la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) se sitúe transmembrana serían

*Autor para correspondencia: Unidad de Investigación de Cardiología Celular y Molecular, Servicio de Cardiología, HCU de Santiago de Compostela, Avda. Choupana s/n (Vidan), Santiago de Compostela, 15706 A Coruña, España.
Correo electrónico: jose.ramon.gonzalez.juanatey@sergas.es (J.R. González-Juanatey).

Abreviaturas

AGT: angiotensinógeno.
 Ang II: angiotensina II.
 ARA: antagonista del receptor AT1 de la angiotensina II.
 BRA: bloqueador del receptor de angiotensina.
 ECA: enzima de conversión de la angiotensina.
 IECA: inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina.
 SRA: sistema renina-angiotensina.

los datos más destacados en contra de la existencia de un SRA intracelular. Por otro lado, la existencia de diferentes formas glucosiladas de AGT¹¹, formas de renina diferentes como consecuencia de *splicing* alternativo¹², formas de ECA intracelulares y secretadas¹³ y enzimas alternativas para la síntesis de Ang II como las catepsinas y la quimasa¹⁴ y, finalmente, la detección de esos componentes intracelularmente en ciertas condiciones^{13,15} apoyarían la hipótesis de que existe un SRA intracelular, el cual, para ser funcionalmente relevante, debe tener además efectos biológicos. Aunque la Ang II es el principal péptido bioactivo del SRA intracelular¹⁰, también la renina o la pro-renina pueden tener efectos intracelulares¹⁶, especialmente porque existe un receptor intracelular para renina que se acopla a un sistema de transducción de señal en cascada y posee claros efectos celulares¹⁷.

Funciones, mecanismos de acción y significado biológico del sistema renina-angiotensina intracelular

Ya en 1971 se observó que la Ang II inducía cambios en la estructura celular cuando se inyectaba en células de músculo liso y cardíaco¹⁰. Más tarde se demostró que la Ang II intracelular tenía sitios de unión a la cromatina y era capaz de mediar cambios en la transcripción génica¹⁸, inducir movilización de Ca²⁺ intracelular tanto en células vasculares de músculo liso como en células cardíacas y estimular la proliferación de distintos tipos celulares¹⁰. En cuanto al mecanismo de acción de la Ang II intracelular, parece involucrar tanto a los depósitos de Ca²⁺ intracelulares como a las rutas de señalización intracelular de fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K) y de MAPK, así como a receptores intracelulares de Ang II¹⁰.

El papel fisiológico y fisiopatológico del SRA intracelular queda aún por determinar. Se desconoce por el momento si el SRA intracelular es un sistema extendido en todos los tipos celulares o si está restringido a células, sistemas o tejidos específicos o sometidos a ciertas condiciones fisiopatológicas. El hecho de que se hayan comprobado efectos de la Ang II intracelular en una amplia variedad de tipos celulares —como las células cardíacas¹⁹, renales²⁰, hepáticas²¹ o vasculares²²— indica, sin embargo, que se trata de un sistema muy relevante.

Estudios basados en la administración de Ang II por microinyección en células vasculares de músculo liso muestran un rápido incremento de las concentraciones de Ca²⁺ intracelular en citosol y núcleo y del crecimiento celular a través de receptores atípicos cuya señalización depende de las rutas intracelulares de PI3K y MAPK/ERK^{23,24}. Relacionado con esto, resultan muy interesantes los resultados de Cook et al²⁵, que muestran que la expresión de Ang II intracelular en células CHO (*chinese hamster ovary*) y COS (*CV-1 simian in origin*) induce la relocalización de los receptores para angiotensina de tipo 1 (AT1) desde la membrana plasmática hasta el núcleo, a la vez que incrementa la proliferación celular.

Como veremos más adelante, el SRA intracelular se ha estudiado más intensivamente en el sistema cardiovascular que en otros sistemas y, como resultado de tales trabajos, se ha comprobado que

en células cardíacas existe una activación selectiva de la generación de Ang II intracelular en determinadas condiciones fisiopatológicas, como por ejemplo la hiperglucemia²⁶. Este incremento en la concentración de Ang II intracelular en cardiomiocitos de pacientes y de animales diabéticos indica un papel patológico relevante del SRA intracelular^{27,28}.

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA CARDIACO

Existen numerosos estudios que demuestran que los cardiomiocitos, los fibroblastos y las células de músculo liso vascular sintetizan Ang II intracelularmente²⁹. En el SRA intracelular cardíaco, el angiotensinógeno y la renina se producen localmente, además de proceder también del torrente circulatorio, y la ECA se expresa asimismo tanto en cardiomiocitos como en fibroblastos; además, los cardiomiocitos expresan receptores de (pro-)renina, que unen tanto pro-renina como renina y facilitan la síntesis local de Ang II, que ocurre tanto intracelularmente como en el espacio intersticial —la síntesis extracelular de Ang II depende tanto de los receptores de (pro-)renina como de la ECA—²⁹. En los cardiomiocitos, la síntesis de Ang II intracelular puede ocurrir en el citoplasma, implicando a la renina y la quimasa, o en vesículas secretoras; la Ang II sintetizada en estas se secretará o se relocalizará intracelularmente²⁹ (fig. 1). Los valores altos de glucosa incrementan selectivamente la producción de Ang II intracelular dependiente de quimasa en cardiomiocitos (sin afectar a la concentración intersticial) y su translocación al núcleo, mientras que, por ejemplo, la estimulación betaadrenérgica activa la síntesis de Ang II por vesículas secretoras o en el intersticio²⁹. La Ang II intracelular regula la expresión de angiotensinógeno y renina, con lo que se genera un mecanismo de retroalimentación²⁹. Estos datos se han confirmado *in vivo* en corazones de ratas diabéticas, en los que se ha observado que la concentración de Ang II intracelular se reducía con el tratamiento con el inhibidor de renina aliskiren, pero no con el IECA benazepril³⁰. En los fibroblastos cardíacos, la síntesis de Ang II está catalizada por la renina y por la ECA, como ocurre en el espacio intersticial, y responden también a altas concentraciones de glucosa y a la estimulación adrenérgica incrementando la producción de Ang II tanto intracelular como extracelular³¹. Las concentraciones elevadas de glucosa parecen ser, por lo tanto, un mecanismo común de activación del SRA intracelular, lo que indica un papel importante para este sistema en las complicaciones asociadas a la diabetes, como la cardiomiopatía diabética.

Origen de la renina cardíaca

Los estudios con cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos muestran que el sitio de síntesis intracelular de Ang II depende del tipo celular y el estímulo que la desencadena^{26,31}.

La síntesis de Ang II intracelular es dependiente de la renina, las enzimas intracelulares quimasa y catepsina B en células renales y cardíacas y catepsina B en células vasculares de músculo liso^{15,26,32}. Mientras que se sabe que la renina se produce en células renales, su expresión en células cardíacas se ha debatido desde hace tiempo: algunos investigadores han podido detectar expresión génica y proteica de esta enzima en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos^{26,33}, mientras que otros no³⁴, posiblemente debido a que los niveles de expresión son muy bajos o por las condiciones experimentales. Peters et al³⁵ han demostrado la existencia en cardiomiocitos de una forma truncada de renina sin péptido señal y que, por lo tanto, no se secreta, con actividad y capacidad de inducir apoptosis en cardiomiocitos embrionarios H9c2 en cultivo³⁶. Tal como ocurre con la concentración de Ang II intracelular, también la concentración de renina intracelular en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos está incrementada en presencia de alta concentración de glucosa³⁷ y se sabe, por otro lado, que la hiperglucemia se asocia a una elevada concentración de pro-renina circulante³⁸, aunque se desconoce si esta puede contribuir

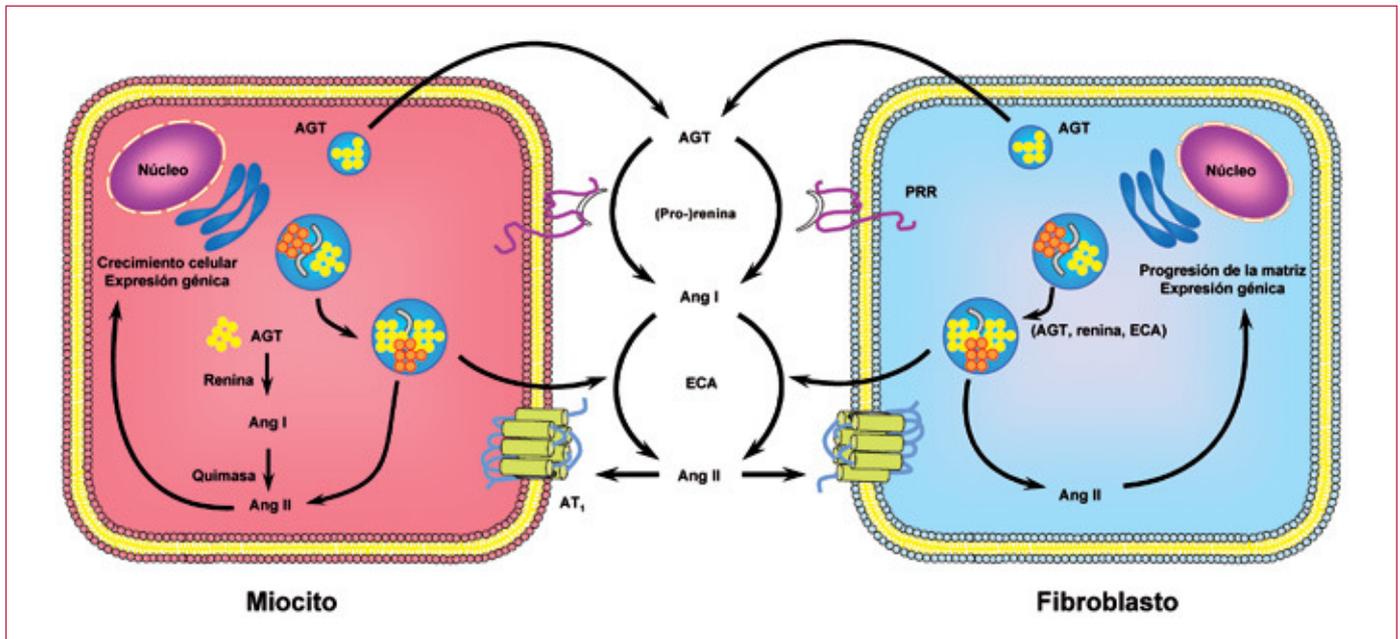


Figura 1. Sistema renina-angiotensina (SRA) intracelular en el corazón. El angiotensinógeno (AGT) y la renina provienen tanto de la producción local como de la circulación. La enzima de conversión de la angiotensina (ECA) se expresa en cardiomiocitos y fibroblastos, al igual que el receptor de (pro)-renina (PRR), que se une a esta y facilita la síntesis local de angiotensina (Ang) II. La síntesis de Ang II tiene lugar tanto en el espacio intersticial como intracelularmente. La síntesis extracelular de Ang II depende generalmente de la (pro)-renina y la ECA. En cardiomiocitos, la síntesis intracelular de Ang II puede ocurrir en el citoplasma, mediada por renina y quimasa, o en vesículas secretoras. La Ang II sintetizada en vesículas secretoras puede secretarse o relocalizarse intracelularmente. La vía de síntesis dependiente de quimasa es la predominante en condiciones de hiperglucemia y resulta en un incremento muy importante de la concentración de Ang II intracelular, sin afectar a la concentración intersticial. La estimulación betaadrenérgica activa la síntesis de Ang II tanto en vesículas secretoras como en el espacio intersticial. En fibroblastos, la síntesis de Ang II está catalizada por la renina y la ECA, y posiblemente su secreción depende de la estimulación betaadrenérgica y de la concentración de glucosa. La Ang II intracelular tiene muchos efectos biológicos, como el estímulo del crecimiento celular, la regulación de la expresión génica y la modulación de la producción de matriz extracelular. (Modificado con permiso de Kumar et al²⁹.)

a la activación del SRA intracelular observada en la diabetes. En los últimos años se ha identificado un receptor para la (pro)-renina que activa no proteolíticamente la pro-renina e interviene en la síntesis de Ang I mediada por renina, a la vez que inicia una cascada de señalización intracelular tras su unión a (pro)-renina³⁹. Existen datos que demuestran que la pro-renina induce en los cardiomiocitos una cascada de señalización intracelular independiente de Ang II que puede afectar al crecimiento y el desarrollo cardíacos⁴⁰, lo que indica que el incremento de la concentración de pro-renina en la diabetes podría tener mucha relevancia clínica, especialmente en pacientes diabéticos con complicaciones microvasculares. Finalmente, se ha visto que los cardiomiocitos pueden incorporar pro-renina circulante, que va a derivar bien en un proceso de *clearance*, bien en activarse y generar Ang II⁴¹.

Efectos en las células cardíacas de la angiotensina II intracelular

Como ocurre con otros tipos celulares, la Ang II intracelular induce crecimiento celular y síntesis proteica en cardiomiocitos neonatales de rata en cultivo primario; estos efectos parecen implicar a receptores atípicos, pues no son inhibidos por losartán¹⁹. Asimismo, la sobreexpresión de Ang II intracelular en corazones murinos resultaba en hipertrofia ventricular, que tampoco estaba inhibida por losartán¹⁹. La identidad de los receptores para la Ang II intracelular es hasta el momento desconocida.

Papel de la angiotensina II intracelular en la hipertensión y el remodelado cardíaco

Los efectos descritos anteriormente de la Ang II intracelular en la regulación de las concentraciones de Ca²⁺ intracelular en células vasculares de músculo liso y el hecho de que es capaz de inducir la constricción aórtica en animales de experimentación^{23,42} indican que la Ang II intracelular puede afectar al tono vascular. Ya que, tal y como

veíamos anteriormente, el SRA intracelular está elevado significativamente en condiciones de diabetes y estudios recientes señalan que es la resistencia celular a la acción de la insulina lo que predispone al incremento del tono vascular característico de la hipertensión en diabetes, el nexo entre la resistencia a insulina y el incremento del tono vascular podría ser la anormal homeostasis del Ca²⁺ en células vasculares de músculo liso²⁹.

Con relación al papel del SRA en el remodelado cardíaco, se sabe (mediante ensayos clínicos y estudios con animales de experimentación) que la inhibición farmacológica del SRA tiene un efecto beneficioso en el remodelado cardíaco²⁹. En cuanto al papel del SRA tisular, existen datos contradictorios: Mazzolai et al⁴³ demostraron que animales transgénicos con concentraciones cardíacas de Ang II 2 veces más altas de lo normal y con valores plasmáticos normales desarrollaban hipertrofia ventricular, mientras otros autores⁴⁴ veían lo contrario; finalmente, y acumulando los datos resultantes de los numerosos estudios realizados, se llegó a la conclusión de que el incremento cardíaco de la concentración de Ang II sólo era relevante en condiciones en que también estaba elevada la concentración del receptor AT1⁴⁵, por lo que, teniendo en cuenta que la Ang II intracelular es un regulador positivo de la expresión de AT1 en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos³⁷, la Ang II intracelular podría tener un papel fundamental en el remodelado⁴⁶. Asimismo, se ha demostrado que el SRA intracelular de los fibroblastos cardíacos se activa por concentraciones altas de glucosa y participa en la formación de la matriz extracelular en estas condiciones, por lo que podría tener un importante papel en la fisiopatología de la fibrosis miocárdica³¹.

¿TIENE IMPORTANCIA CLÍNICA EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA INTRACELULAR? PAPEL DE LA INHIBICIÓN DIRECTA DE LA RENINA

Una característica importante del SRA intracelular cardíaco es que implica síntesis de Ang II dependiente de quimasa y acciones intra-

celulares que no van a estar bloqueadas por antagonistas de los receptores AT1, con lo que los IECA y los bloqueadores de los receptores de angiotensina II sólo serían parcialmente efectivos en condiciones patológicas en que el SRA intracelular está activado, como la diabetes²⁹. Se ha visto que, en un modelo animal de diabetes inducida por tratamiento con estreptozotocina, hay una elevación significativa de la concentración intracelular de Ang II en cardiomiocitos que podía normalizarse con el tratamiento con el inhibidor de renina aliskiren, pero no con benazepril³⁰. Esta activación del SRA intracelular iba acompañada por un incremento de la apoptosis cardiomiocitaria, el estrés oxidativo y la fibrosis cardíaca, condiciones que podían revertirse parcialmente si se trataba a los animales con candesartán y benazepril (cuya eficacia parcial se debía probablemente a la inhibición de la síntesis y efectos de la Ang II extracelular producida por los fibroblastos cardíacos), pero en las que el aliskiren tenía un efecto más pronunciado³⁰.

Por lo tanto, una característica de la diabetes es la activación del SRA y, aunque las concentraciones circulantes de renina y Ang II estén disminuidas en la diabetes, el SRA tisular está activado²⁹, lo que indica que ciertos tejidos podrían no secretar los componentes del SRA en hiperglucemia, hipótesis apoyada por los resultados de Singh et al^{26,30} procedentes de estudios *in vivo* e *in vitro* en el corazón. En este contexto, los IECA y los bloqueadores del receptor de angiotensina (BRA) pueden mejorar el pronóstico en pacientes con nefropatía diabética y cardiomiopatía; sin embargo, la monoterapia con cualquiera de esas dos clases de bloqueadores del SRA solamente atenúa la proteinuria y no previene completamente la progresión de la enfermedad renal y cardíaca⁴⁷.

También existen distintos estudios que muestran los resultados de la terapia combinada de distintos inhibidores del SRA en cuanto a cardioprotección. En el estudio Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial, que trataba de determinar si el tratamiento con valsartán, solo o en terapia combinada con captopril, podría mejorar la supervivencia respecto al captopril solo en pacientes con infarto de miocardio complicado con disfunción ventricular sistólica, insuficiencia cardíaca o ambos, el valsartán y el captopril fueron igual de eficaces en pacientes con alto riesgo de eventos cardiovasculares tras infarto de miocardio. Sin embargo, la terapia combinada incrementaba los eventos adversos sin mejorar la supervivencia⁴⁸. Hay una corriente de opinión que apunta a que no se han cumplido las expectativas sobre los beneficios cardiovasculares de la IECA y los BRA y, aunque se están estudiando los posibles beneficios del bloqueo doble con ambos, se considera en general bastante improbable que este bloqueo dual mejore el resultado terapéutico a largo plazo, teniendo en cuenta que el SRA intracelular seguiría activado; se ha señalado que el uso de un inhibidor de la renina, como monoterapia o en combinación con otros bloqueadores, podría resultar más eficaz^{49,50}.

Distintos estudios clínicos avalan esta hipótesis. Estudios en los que la terapia combinada incluía un inhibidor directo de renina, como el aliskiren, con el ramipril o el valsartán obtenían como resultado una mejora de la reducción de la presión arterial en pacientes con diabetes e hipertensión^{51,52}. En el ensayo clínico ONTARGET (ONGOING Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial), que compara el efecto del IECA ramipril y el BRA telmisartán solos o en combinación en pacientes con enfermedad vascular o diabetes con daño orgánico, la terapia de combinación no fue superior a la monoterapia y estaba asociada a un incremento de eventos adversos⁵³. En el estudio Candesartan and Lisinopril Microalbuminuria, que reclutaba a pacientes con diabetes tipo 2, hipertensión y microalbuminuria, el tratamiento con una combinación de ambos fármacos fue más efectivo que la monoterapia en la reducción de la presión arterial; sin embargo, no pudo establecerse la efectividad de la terapia combinada en la microalbuminuria⁵⁴. El estudio Irbesartan in the Management of Proteinuric Patients at High Risk for Vascular Events, que implica a pacientes con diabetes tipo 2, hipertensión y albuminuria que reciben la dosis máxima recomendada de ramipril e irbesartán, no mostró di-

ferencias significativas en la microalbuminuria entre los grupos con monoterapia y los de terapia combinada⁵⁵.

Los resultados son diferentes cuando en las terapias combinadas se incluye un inhibidor directo de la renina como, por ejemplo, el aliskiren. El estudio ALOFT (Aliskiren Observation of Heart Failure Treatment) ha demostrado que la terapia con aliskiren reduce la concentración plasmática de péptido natriurético tipo B (BNP) y la fracción aminoterminal de su propéptido (NT-proBNP) y la concentración urinaria de aldosterona en pacientes con insuficiencia cardíaca NYHA II a IV tratados con un IECA o un ARA y un bloqueador beta⁵⁶. Más relevante aún ha sido la demostración de que, cuando se ha usado un inhibidor de renina como el aliskiren además del losartán y de una óptima terapia antihipertensiva en pacientes con hipertensión y diabetes tipo 2 con nefropatía, se ha observado una reducción del 20% en la relación albúmina/creatinina urinaria media, en comparación con un 12,5% de reducción del grupo placebo, lo que indica que existen efectos renoprotectores derivados de la inhibición directa de la renina⁴⁷, lo que sería coherente con la existencia de efectos beneficiosos adicionales resultantes de la inhibición del SRA intracelular, que se obtiene sólo usando inhibidores directos de la renina como el aliskiren.

En la misma línea, otros estudios recientes realizados *in vitro* apoyan la hipótesis de que la inhibición del SRA intracelular podría ofrecer beneficios clínicos: algunos datos que señalan a esta hipótesis son, por ejemplo, que el tratamiento de cardiomiocitos humanos y murinos en cultivo con el inhibidor de renina aliskiren modifique el metabolismo de los ácidos grasos y la glucosa de estas células⁵⁷, relacionando la inhibición del sistema SRA intracelular con beneficios metabólicos en las células, y los hallazgos de Sakoda et al⁵⁸, que han demostrado que el aliskiren es el inhibidor más potente de la concentración de angiotensina II intracelular en podocitos humanos entre todos los inhibidores del SRA, lo que podría contribuir a explicar la reducción adicional de la albuminuria observada en pacientes tratados con aliskiren además de IECA y ARA.

CONCLUSIONES

El SRA intracelular es un nuevo aspecto del sistema SRA local que podría ser el principal mediador de los efectos crónicos de la Ang II en los tejidos. A diferencia del circulante, el SRA intracelular se caracteriza porque en los diferentes tejidos puede haber distintas rutas de síntesis de Ang II intracelular que impliquen distintas enzimas, con lo que los IECA podrían no prevenir la síntesis de Ang II intracelular en todos los tejidos. Asimismo, se sabe que los ARA no bloquean los efectos de la Ang II intracelular. Sin embargo, el uso combinado de dichos fármacos con los inhibidores directos de renina (capaces de inhibir el SRA intracelular) podría constituir una nueva estrategia terapéutica que mejorase los resultados clínicos en distintas enfermedades cardiovasculares, principalmente limitando el daño tisular derivado de los efectos celulares de la Ang II intracelular, especialmente en pacientes diabéticos.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev.* 2006;86:747-803.
2. Re RN. Mechanisms of disease: local renin-angiotensin-aldosterone systems and the pathogenesis and treatment of cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2004;1:42-7.
3. Danser AH. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35:759-68.
4. Bader M. Role of the local renin-angiotensin system in cardiac damage: a minireview focussing on transgenic animal models. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:1455-62.

5. Varagic J, Frohlic ED. Local cardiac renin-angiotensin system: hypertension and cardiac failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:1455-62.
6. Haller H, Park JK, Lindschau C, Meyer M, Menne J; Renin Academy. Spotlight on renin: intrarenal renin-angiotensin system-important player of the local milieu. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2006;7:122-5.
7. Sakai K, Sigmund CD. Molecular evidence of tissue renin-angiotensin systems: a focus on the brain. *Curr Hypertens Rep.* 2005;7:135-40.
8. Leung PS, Carlsson PO. Pancreatic islet renin-angiotensin system: Its novel roles in islet function and in diabetes mellitus. *Pancreas.* 2005;30:293-8.
9. Thatcher S, Yiannikouris F, Gupta M, Cassis L. The adipose renin-angiotensin system: role on cardiovascular diseases. *Mol Cell Endocrinol.* 2009;302:111-7.
10. Kumar R, Singh VP, Baker KM. The intracellular renin-angiotensin system: a new paradigm. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18:208-14.
11. Sherrord M, Liu X, Zhang X, Sigmund CD. Nuclear localization of angiotensinogen in astrocytes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288:R539-46.
12. Clausmeyer S, Reinecke A, Farrenkopf R, Unger T, Peters J. Tissue-specific expression of a rat renin transcript lacking the coding sequence for the prefragment and its stimulation by myocardial infarction. *Endocrinology.* 2000;141:2963-70.
13. Camargo de Andrade MC, Di Marco GS, De Paulo Castro Teixeira V, Mortara RA, Sabatini RA, Pesquero JB, et al. Expression and localization of N-domain ANG I-converting enzymes in mesangial cells in culture from spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290:F364-75.
14. Belova LA. Angiotensin II-generating enzymes. *Biochemistry (Mosc).* 2000;65:1337-45.
15. Vidotti DB, Casarini DE, Cristovam PC, Leite CA, Schor N, Boim MA. High glucose concentration stimulates intracellular renin activity and angiotensin II generation in rat mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F1039-45.
16. Re RN. Intracellular renin and the nature of intracrine enzymes. *Hypertension.* 2003;42:117-22.
17. Scheffé JH, Menk M, Reinemund J, Effertz K, Hobbs RM, Pandolfi PP, et al. A novel signal transduction cascade involving physical interaction of the renin/prorenin receptor with the transcription factor phorbol-dependent kinase-1. *Circ Res.* 2006;99:1355-66.
18. Eggena P, Zhu JH, Clegg K, Barrett JD. Nuclear angiotensin receptors induce transcription of renin and angiotensin mRNA. *Hypertension.* 1993;22:496-501.
19. Baker KM, Chernin MI, Schreiber T, Sanghi S, Haiderzaidi S, Booz GW, et al. Evidence of a novel intracrine mechanism in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Regul Pept.* 2004;120:5-13.
20. Zhuo JL, Li XC, Garvin JL, Navar LG, Carretero OA. Intracellular angiotensin II induces cytosolic Ca²⁺ mobilization by stimulating intracellular AT1 receptors in proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290:F1382-90.
21. Cook JL, Zhang Z, Re RN. In vitro evidence for an intracellular site of angiotensin action. *Circ Res.* 2001;89:1138-46.
22. Cook JL, Mills SJ, Naquin R, Alam J, Re RN. Nuclear accumulation of the AT1 receptor in a rat vascular smooth muscle cell line: effects upon signal transduction and cellular proliferation. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;40:696-707.
23. Haller H, Lindschau C, Erdmann B, Quass P, Luft FC. Effects of intracellular angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1996;79:765-72.
24. Filipeanu CM, Henning RH, De Zeeuw D, Nelemans A. Intracellular angiotensin II and cell growth of vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol.* 2001;132:1590-6.
25. Cook, Re R, Alam J, Hart M, Zhang Z. Intracellular angiotensin II fusion protein alters AT1 receptor fusion protein distribution and activates CREB. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36:75-90.
26. Singh VP, Le B, Bhat VB, Baker KM, Kumar R. High glucose induced regulation of intracellular angiotensin II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H939-48.
27. Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circ Res.* 2000;87:1123-32.
28. Fiordaliso F, Li B, Latini R, Sonnenblick EH, Anversa P, Leri A, et al. Myocyte death in streptozotocin-induced diabetes in rats is angiotensin II-dependent. *Lab Invest.* 2000;80:513-27.
29. Kumar R, Singh VP, Baker KM. The intracellular renin-angiotensin system in the heart. *Curr Hypertens Rep.* 2009;11:104-10.
30. Singh VP, Le B, Khode R, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. *Diabetes.* 2008;57:3297-306.
31. Singh VP, Baker KM, Kumar R. Activation of the intracellular renin-angiotensin system in cardiac fibroblasts by high glucose: role in extracellular matrix production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294:H1675-84.
32. Lavrentyev EN, Estes AM, Malik KU. Mechanisms of high glucose induced angiotensin II production in rat vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 2007;101:455-64.
33. Sanghi S, Kumar R, Smith M, Baker KM, Dostal DE. Activation of protein kinase A by atrial natriuretic peptide in neonatal rat cardiac fibroblasts: role in regulation of the local renin-angiotensin system. *Regul Pept.* 2005;132:1-8.
34. Krop M, Danser AH. Circulating versus tissue renin-angiotensin system: on the origin of (pro)renin. *Curr Hypertens Rep.* 2008;10:112-8.
35. Peters J, Clausmeyer S. Intracellular sorting of renin: cell type specific differences and their consequences. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:1561-8.
36. Wanka H, Kessler N, Ellmer J, Endlich N, Peters BS, Clausmeyer S, et al. Cytosolic renin is targeted to mitochondria and induces apoptosis in H9c2 rat cardiomyoblasts. *J Cell Mol Med.* 2009;13:2926-37.
37. Singh VP, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II is a positive regulator of the cardiac renin-angiotensin system. *Hypertension.* 2008;52:E91-2.
38. Franken AA, Derx FH, Man in't Veld AJ, Hop WC, Van Rens GH, Peperkamp E, et al. High plasma prorenin in diabetes mellitus and its correlation with some complications. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71:1008-15.
39. Nguyen G, Delarue F, Burckle C, Bouzahir L, Gillier T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J Clin Invest.* 2002;109:1417-27.
40. Saris JJ, 't Hoen PAC, Garrelts IM, Dekkers DHW, Den Dunnen JT, Lamers JMJ, et al. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of Angiotensin II. *Hypertension.* 2006;48:564-71.
41. Peters J, Farrenkopf R, Clausmeyer S, Zimmer J, Kantachvesiri S, Sharp MG, et al. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. *Circ Res.* 2002;90:1135-41.
42. Brailoiu E, Filipeanu CM, Tica A, Toma CP, De Zeeuw D, Nelemans SA. Contractile effects by intracellular angiotensin II via receptors with a distinct pharmacological profile in rat aorta. *Br J Pharmacol.* 1999;126:1133-8.
43. Mazzolai L, Nussberger J, Aubert JF, Brunner DB, Gabbiani G, Brunner HR, et al. Blood pressure-independent cardiac hypertrophy induced by locally activated renin-angiotensin system. *Hypertension.* 1998;31:1324-30.
44. Van Kats JP, Methot D, Paradis P, Silversides DW, Reudelhuber TL. Use of a biological peptide pump to study chronic peptide hormone action in transgenic mice. Direct and indirect effects of angiotensin II in the heart. *J Biol Chem.* 2001;276:44012-7.
45. Reudelhuber TL, Bernstein KE, Delafontaine P. Is angiotensin II a direct mediator of left ventricular hypertrophy? Time for another look. *Hypertension.* 2007;49:1196-201.
46. Kumar R, Singh VP, Baker KM. The intracellular renin-angiotensin system: implications in cardiovascular remodelling. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008;17:168-73.
47. Parving HH, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Hollenberg NK; AVOID Study Investigators. Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2008;358:2433-46.
48. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Køber L, Maggioni AP, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med.* 2003;349:1893-906.
49. Turnbull F, Neal B, Algert C, Chalmers J, Chapman N, Cutler J, et al. Effects of different blood pressure-lowering regimens on major cardiovascular events in individuals with and without diabetes mellitus: results of prospectively designed overviews of randomized trials. *Arch Intern Med.* 2005;165:1410-9.
50. Weber MA, Giles TD. Inhibiting the renin-angiotensin system to prevent cardiovascular diseases: do we need a more comprehensive strategy? *Rev Cardiovasc Med.* 2006;7:45-54.
51. Oparil S, Yarows SA, Patel S, Zhang J, Satlin A. Dual inhibition of the renin system by aliskiren and valsartan. *Lancet.* 2007;370:1126-7.
52. Uresin Y, Taylor AA, Kilo C, Tschöpe D, Santonastaso M, Ibram G, et al. Efficacy and safety of the direct renin inhibitor aliskiren and ramipril alone or in combination in patients with diabetes and hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2007;8:190-8.
53. ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med.* 2008;358:1547-59.
54. Mogensen CE, Neldam S, Tikkanen I, Oren S, Viskoper R, Watts RW, et al. Randomized controlled trial of dual blockade of renin-angiotensin system in patients with hypertension, microalbuminuria, and non-insulin dependent diabetes: the candesartan and lisinopril microalbuminuria (CALM) study. *BMJ.* 2000;321:1440-4.
55. Bakris GL, Ruilope L, Locatelli F, Ptaszynska A, Pieske B, De Champlain J, et al. Treatment of microalbuminuria in hypertensive subjects with elevated cardiovascular risk: results of the IMPROVE trial. *Kidney Int.* 2007;72:879-85.
56. McMurray JJV, Pitt B, Latini R, Maggioni AP, Solomon SD, Keefe DL, et al. Effects of the oral direct renin inhibitor aliskiren in patients with symptomatic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2008;1:17-24.
57. Rodríguez-Penas D, Feijóo-Bandín S, Mosquera-Leal A, Lear P, García-Rúa V, González-Juanatey JR, et al. Aliskiren afecta a la expresión de enzimas clave involucradas en el metabolismo del colesterol y lípidos en cardiomiocitos en cultivo. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63 Supl 3:31.
58. Sakoda M, Ichihara A, Kurauchi-Mito A, Narita T, Kinouchi K, Murohashi-Bokuda K, et al. Aliskiren inhibits intracellular angiotensin II levels without affecting (Pro) renin receptor signals in human podocytes. *Am J Hypertens.* 2010;23:575-80.