

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

La pro-renina y su receptor. Papel de la inhibición directa de la renina

Pablo Gómez-Fernández^{a,*}, Javier Nieto^b y Nicolás Roberto Robles^c^aUnidad de HTA, Servicio de Nefrología, Hospital SAS, Jerez de la Frontera, Cádiz, España^bUnidad de HTA y Riesgo Vascular, Servicio de Nefrología, Hospital de Ciudad Real, Ciudad Real, España^cUnidad de HTA, Servicio de Nefrología, Hospital Infanta Cristina, Badajoz, España**Palabras clave:**

Pro-renina

Receptor (pro-)renina

Inhibidores directos de la renina

Aliskiren

RESUMEN

El reciente descubrimiento de un receptor de (pro-)renina, al que se unen pro-renina y renina, ha renovado el interés por la pro-renina. Esta es el precursor de la renina sintetizada en el aparato yuxtaglomerular y se produce también extrarrenalmente. En situaciones clínicas como la diabetes, hay valores elevados de pro-renina en plasma que se asocian a daño microvascular. Tras unirse al receptor, la pro-renina experimenta una activación no proteolítica que consiste en la separación del prosegmento, lo que le confiere capacidad catalítica para generar angiotensina I a partir del angiotensinógeno. Por otra parte, la unión de (pro-)renina al receptor induce la activación de cinasas que intervienen en la diferenciación celular (neuronal) y en la formación de citocinas fibrogénicas y otros mediadores de lesión tisular. Además de ejercer efectos relacionados con el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), el receptor (pro-)renina se une a la ATPasa vacuolada, implicada en la acidificación intracelular y en otras importantes funciones para la viabilidad celular. El uso de un péptido similar a una parte del prosegmento de la pro-renina que impide la unión de pro-renina al receptor ha dado resultados discrepantes en modelos experimentales. En algunos casos, ha sido eficaz para prevenir o atenuar la nefropatía diabética y la fibrosis cardíaca y en otros no. Los inhibidores directos de la renina (IDR) tienen capacidad de unirse a la (pro-)renina ligada al receptor e impedir su acción catalítica. La mayoría de los estudios no evidencian la capacidad de los IDR para suprimir los efectos no catalíticos (no dependientes de la angiotensina II) del complejo (pro-)renina-receptor. Todavía hay muchos interrogantes sobre el papel de la pro-renina en la generación tisular e intracelular de la angiotensina II, los efectos intracelulares inducidos por la unión pro-renina-receptor y sobre la relevancia de la función del receptor (pro-)renina no relacionado con el SRA. Asimismo, surgen muchas cuestiones sobre posibles agentes que bloqueen el receptor (pro-)renina y sobre el efecto de los IDR en las consecuencias celulares, dependientes e independientes de la angiotensina II, de la interacción (pro-)renina-receptor.

Keywords:

Prorenin

(Pro)renin receptor

Direct renin inhibitors

Aliskiren

Prorenin and its Receptor: The Role of Direct Renin Inhibition**ABSTRACT**

The recent discovery of a (pro)renin receptor that binds both prorenin and renin has renewed interest in prorenin. Prorenin is the precursor of renin and is synthesized mainly in the juxtaglomerular apparatus, although it is also produced outside the kidney. In clinical conditions such as diabetes mellitus, high plasma levels of prorenin are observed to occur in association with microvascular damage. After binding to its receptor, prorenin undergoes nonproteolytic activation, which involves separation of the prosegment. Through this process the molecule acquires the ability to catalyze the production of angiotensin I from angiotensinogen. On the other hand, the binding of (pro)renin to its receptor induces the activation of a number of kinases involved in the differentiation of neuronal cells and in the production of fibrogenic cytokines and other mediators of tissue damage. As well as having an effect on the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), the (pro)renin receptor binds to vacuolar ATPase, which is involved in intracellular acidification and other processes vital for cell viability. Experimental studies with a synthetic peptide which is similar to part of the prorenin prosegment and which prevents prorenin binding with its receptor have produced conflicting findings. In some cases, the peptide has been effective in preventing or reducing diabetic nephropathy and cardiac fibrosis, while in others it has not. Direct renin inhibitors (DRIs) are able to bind to receptor-bound (pro)renin, thereby blocking its catalytic activity. Most studies have found no evidence that DRIs are able to suppress the noncatalytic (i.e. non-angiotensin-II-dependent) effects of the (pro)renin-receptor complex. There are still many unanswered questions about the role of prorenin in the production of both tissular and intracellular angiotensin II, about the intracellular effects

*Autor para correspondencia: Unidad de HTA, Servicio de Nefrología, Hospital del SAS, Ctra. de Circunvalación s/n, 11407 Jerez, Cádiz, España.
Correo electrónico: pgomezf@senefro.org (P. Gómez).

induced by the binding of prorenin to its receptor, and about the importance of the (pro)renin receptor beyond its effect on the RAAS. Similarly, many questions have arisen about drugs that can block the (pro)renin receptor and about the effect of DRIs on the cellular implications of the interaction between (pro)renin and its receptor, whether dependent on or independent of angiotensin II.

Abreviaturas

ARA: antagonistas del receptor AT1 de la angiotensina II.
 ECA: enzima de conversión de la angiotensina.
 IDR: inhibidores directos de la renina.
 M-6-P: manosa 6 fosfato.
 MAK: cinasa activada por mitógenos.
 SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona.
 SRA: sistema renina-angiotensina.

INTRODUCCIÓN

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) ha adquirido gran relevancia en las enfermedades nefrocardiovasculares. Esto se debe a la demostración de que el SRAA interviene en fenómenos hemodinámicos y «no hemodinámicos», todos de gran importancia en la génesis de daño estructural en muchos órganos^{1,2}.

De los diversos componentes de la cadena que forma el SRAA que se inicia con la escisión enzimática del angiotensinógeno (AGT) por la renina con la formación de angiotensina (Ang) I y la posterior conversión de esta en Ang II por la enzima de conversión de la angiotensina (ECA), se asigna a la Ang II el protagonismo más destacado de todos los efectos del SRAA. Prueba del papel de este péptido en el daño de órganos diana es el efecto beneficioso que tiene en la morbilidad nefrocardiovascular el bloqueo de la generación y la acción de la Ang II por los inhibidores de la ECA (IECA) y por los antagonistas de los receptores AT1 de la Ang II (ARA), respectivamente³⁻⁵.

Nuevos descubrimientos indican que la pro-renina no es un mero precursor de la renina, sino que, al actuar sobre su receptor (que comparte con la renina), puede ejercer efectos catalíticos con generación de Ang II y no catalíticos con formación de factores fibrogénicos y proinflamatorios^{6,7}.

En los últimos años ha habido abundante producción científica sobre la pro-renina, el receptor de la pro-renina y los efectos que en ellos ejercen los inhibidores directos de la renina (IDR).

SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE PRO-RENINA

El gen de la renina, localizado en el cromosoma 1, está formado por 11 kb de ADN y consta de 10 exones y 9 intrones. El primer exón corresponde al promotor de la transcripción. Como resultado de la traducción del mensaje del ARN se produce la síntesis de la prepro-renina. Esta proteína precursora tiene 23 aminoácidos adicionales (el prosegmento) que constituyen su péptido señal que la dirige hacia el retículo endoplásmico (RE). En el RE la prepro-renina pierde su prosegmento y se convierte en pro-renina. La pro-renina pasa al aparato de Golgi y, a partir de este punto, se une a receptores manosa-6-fosfato, lo que le facilita la entrada en los lisosomas y su degradación, o se acumula en vesículas claras y se secreta como pro-renina o se almacena en gránulos densos, en los que la catepsina y otras convertasas escinden el prosegmento y la convierten en renina, que se secreta por exocitosis. La proporción de secreción de pro-renina/renina es 75/25%. Una característica diferencial entre la secreción de pro-

renina y la de renina es que, mientras la de aquella es constitutiva (no regulada), la de renina es regulada por muchos factores. La capacidad de segregar pro-renina depende del grado de activación del camino de síntesis, es decir, de la eficiencia de transcripción en las células individuales, y del número total de células⁸⁻¹⁰.

Este proceso completo de secreción de pro-renina y renina acontece en el aparato yuxtaglomerular del riñón. En otros órganos (tracto reproductivo, ojos, glándulas adrenales, glándula submandibular, hipófisis) sólo se produce pro-renina¹¹.

En algunos órganos (glándulas adrenales, sistema nervioso, corazón) se ha descrito un promotor transcripcional adicional situado en el primer intrón que daría lugar a una proteína a la que le faltarían la presecuencia y parte del prosegmento, y que se ha denominado «pro-renina truncada» o «renina exón 1A»^{12,13}. Al faltarle el péptido señal, no puede ser segregada pero, al tener la hendidura descubierta, es activa. La pro-renina truncada puede tener un papel importante en la síntesis intracelular de Ang II.

ESTRUCTURA Y ACTIVACIÓN DE LA PRO-RENINA

La pro-renina está formada por 340 aminoácidos (más 43 aminoácidos adicionales que forman un prosegmento que cubre la hendidura activa en la que se introduce el AGT). La pro-renina puede ser activada por vía proteolítica (escisión del prosegmento) por calicreína y catepsinas, como ocurre en el aparato yuxtaglomerular. En animales con sobreexpresión cardíaca de la p90rsk (subfamilia de la cinasa ribosómica S6) y diabetes inducida, hay un aumento en el corazón del gen y de la proteína de la enzima de conversión de la pro-renina (PRECE), similar a calicreína, que podría participar en la génesis tisular de Ang II en la diabetes¹³. La pro-renina también puede ser activada por vía no proteolítica, mediante un cambio conformacional con apertura del prosegmento sin que se produzca la escisión de este. Esta activación no proteolítica puede conseguirse *in vitro* con bajo pH y con frío, y también *in vivo* tras unión al receptor^{14,15}. Es poco probable que la pro-renina plasmática sea convertida a renina por proteasas circulantes¹⁶.

REGULACIÓN Y CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PRO-RENINA

En sujetos normales, los valores plasmáticos de pro-renina son 3-25 veces mayores que los de renina activa. En circunstancias normales, los valores plasmáticos de pro-renina y renina se correlacionan. Sin embargo, la respuesta de ambas proteínas a estímulos que inducen secreción difiere según se trate de estímulos agudos o crónicos. Los primeros sólo inducen secreción de la renina previamente almacenada en los gránulos, mientras que los crónicos promueven secreción de las dos¹⁷.

En la diabetes mellitus, la pro-renina plasmática está muy elevada^{14,18} (tabla 1). Valores altos de pro-renina predicen la aparición de nefropatía diabética, y la respuesta vasodilatadora renal a la administración de IECA en diabéticos se correlaciona directamente con los valores de pro-renina^{19,20}. Estos datos indican un papel patogénico de la pro-renina en la diabetes mellitus. En este momento se desconoce el origen de la pro-renina elevada en la diabetes mellitus, pero recientemente se ha demostrado en animales diabéticos la producción de pro-renina en ducto colector renal, pro-renina con diferente mecanismo regulador que la producida en el aparato yuxtaglomerular²¹.

Tabla 1Valores plasmáticos de pro-renina en diversas situaciones¹⁴

Situación	Renina activa, Ang I (ng/ml/h)	Pro-renina, Ang I (ng/ml/h)
Sujetos normales	2-15	< 50
HTA	Variable (baja-alta)	< 50
Diabetes con microangiopatía	Baja-normal	50-200
Embarazo	Normal-alta	50-200
Tumores secretores de renina	Normal	300-1.000
Mujeres sometidas a fecundación <i>in vitro</i>	Normal	100-200

Ang: angiotensina.

RECEPTORES DE (PRO-)RENINA

La evidencia de la generación local tisular, incluso intracelular, de Ang II por procesos que implican la captación de pro-renina/renina ha motivado la búsqueda de receptores que capten e incluso internalicen pro-renina/renina. Se han descrito tres tipos de receptores.

En miocardiocitos aislados de ratas transgénicas se ha demostrado captación intracelular de pro-renina no glucosilada con activación intracelular y generación de Ang I a través de receptores no definidos²².

El receptor manosa-6-fosfato (M-6-P) es una proteína multifuncional que se une en la superficie celular a proteínas que contienen el residuo M-6-P y al factor de crecimiento tipo 2 similar a la insulina (IGF-II)²³. Su mayor función es transportar enzimas con M-6-P a los lisosomas. También modula la actividad de glucoproteínas extracelulares con M-6-P. Es capaz de ligar pro-renina y renina que llevan M-6-P (sólo el 5% de la renina circulante total). Tras su unión, la pro-renina y la renina se internalizan, y la pro-renina se convierte en renina por proteólisis. Pese a esta activación, no se produce generación de Ang I, por lo que se considera un «receptor de aclaramiento» de pro-renina y renina^{24,25}.

En 2002 se identificó, en células mesangiales humanas, un receptor de pro-renina/renina²⁶. Su gen, localizado en el cromosoma X, codifica una proteína de 350 aminoácidos que tiene cuatro dominios: un dominio N-terminal (péptido señal), uno extracelular que se une al ligando, un dominio transmembrana y uno intracitoplásmico, C-terminal. Este receptor se encuentra en múltiples órganos. En el riñón se expresa en células mesangiales, podocitos y células intercaladas del ducto colector. Se une a pro-renina y renina (de ahí el nombre de receptor [pro-]renina), aunque la pro-renina se une con mayor afinidad²⁷. Este receptor también se asocia a adenosintrifosfatasa vacuolada (v-ATPasa), enzima que, entre otras funciones, interviene en la regulación del pH intracelular. El complejo receptor (pro-)renina-v-ATPasa participa en la acidificación urinaria y en funciones esenciales para la supervivencia celular²⁸⁻³⁰.

La biología del receptor (pro-)renina es compleja. La mayor parte se encuentra dentro de la célula, y sólo una pequeña cantidad se localiza en la membrana celular. En el interior celular sufre varias modificaciones. En el aparato de Golgi es metabolizado por la furina y otras proconvertasas, que escinden el receptor y generan un fragmento (representa el receptor truncado o fragmento M8.9) que comprende las partes transmembrana e intracitoplásmica, que se une a la v-ATPasa, y otro fragmento soluble, que se segrega y se encuentra circulando en el plasma. Parte del receptor permanece intacto y se localiza en la membrana celular, donde puede asociarse también a la v-ATPasa^{31,32}.

La unión de pro-renina y renina al receptor (pro-)renina tiene importantes consecuencias. Por una parte, la pro-renina unida al receptor sufre un cambio conformacional, con apertura del prosegmento, por lo que se convierte en activa, con capacidad catalítica de generar Ang I a partir del AGT. Por otra, la unión de pro-renina/renina al re-

ceptor ejerce efectos no catalíticos, independientes de Ang II, como la activación de proteincinasas activadas por mitógenos (MAK), con la consiguiente fosforilación de cinasas reguladas extracelularmente (ERK1, ERK2) y de Hsp27 (*heat shock protein*)³³⁻³⁶. Secundariamente, hay un aumento de factor de crecimiento tumoral beta (TGFβ), colágeno, fibronectina, PAI-1 y ciclooxigenasa 2 y cambios de la dinámica de la actina, todos ellos relevantes en el daño celular (fig. 1).

El complejo pro-renina/renina-receptor se une al factor de transcripción nuclear *promyelocytic zinc finger* (PLZF) (así llamado porque hay una subforma en pacientes con leucemia promielocítica). El PLZF se trasloca al núcleo, donde por una parte inhibe la transcripción del gen del receptor (pro-)renina (sirve como mecanismo de retrocontrol por parte de la pro-renina y renina de su propio receptor); por otra, induce un aumento de la transcripción de la subunidad p58a de la PI3K (fosfatidilcinasas) que disminuye la apoptosis³⁷.

Mediante preparación de diferentes anticuerpos a regiones del prosegmento de la pro-renina, se concluyó que esta tenía un asa (*handle region* [HR]) necesaria para su unión al receptor y para su activación no proteolítica³⁸. La administración de un péptido con la misma secuencia de aminoácidos que HR, denominado HRP (*handle region peptide*), al unirse competitivamente al receptor (pro-)renina previene la unión de la pro-renina a su receptor y sus consecuencias. En modelos experimentales de animales diabéticos, en ratas espontáneamente hipertensas y en retinopatía por O₂, la administración de HRP ha demostrado varios efectos: previene y disminuye la glomerulosclerosis y la expresión renal de citocinas, atenúa la fibrosis cardíaca y disminuye la neovascularización e inflamación retiniana³⁹⁻⁴¹. Sin embargo, en la glía aumenta la ERK 1/2 y, en otros estudios, la administración de este péptido no previene las señales derivadas de pro-renina y renina⁴². Recientemente se ha demostrado que un fragmento (*hinge region*) localizado entre los dominios N- y C-terminal de la pro-renina y la renina tiene relevancia en la unión de aquellas al receptor⁴³.

EFFECTOS DE IDR EN LA PRO-RENINA Y SU RECEPTOR

Los IDR se introducen en la hendidura de la renina y ocupan el sitio del AGT e impiden la actividad de la renina. Como acontece con los otros bloqueadores del SRAA, la disminución de Ang II interrumpe la retroregulación negativa sobre la renina, con lo que aumentan la síntesis y la secreción de pro-renina y renina. El mayor aumento de la concentración de renina con los IDR se debe a: a) el bloqueo más eficaz del SRAA; b) aumento de la vida media de la pro-renina y la renina unidas al aliskiren, y c) detección de pro-renina unida al aliskiren como renina. Esto último ocurre por la separación del prosegmento de la pro-renina en las condiciones de pH y temperatura del ensayo. El aliskiren se une a esta forma abierta de pro-renina, lo que permite su reconocimiento por el anticuerpo⁴⁴.

El aliskiren que no afecta a la unión de pro-renina y renina al receptor (pro-)renina es capaz de unirse a la renina y la pro-renina fijadas al receptor. Esto impide la actividad catalítica generadora de

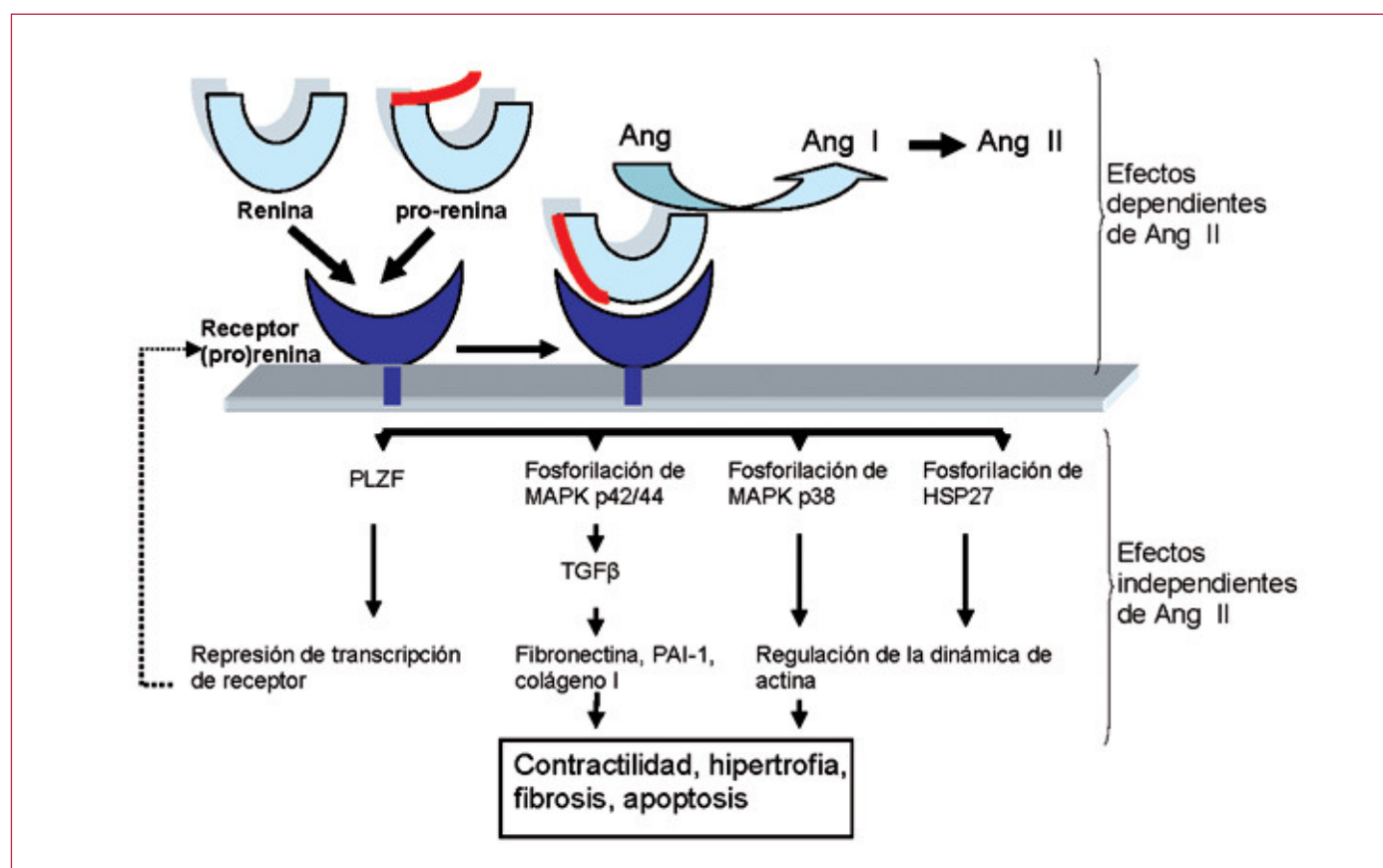


Figura 1. Efectos dependientes y no dependientes de Ang II de la unión de la pro-renina al receptor (pro)-renina. AGT: angiotensinógeno; Ang II: angiotensina II; HSP: heat shock protein; MAPK: proteinquinasa activada por mitógenos; PLZF: promyelocytic leukemia zinc finger; TGFβ: factor de crecimiento tumoral beta.

Ang II del complejo pro-renina/renina-receptor (pro)-renina. En estudios *in vitro*, sin embargo, no modifica las acciones no catalíticas, como la activación de MAK y ERK, entre otras⁴².

El aliskiren no interfiere con los mecanismos de regulación del receptor (pro)-renina mediados por PLZF⁴⁵. En cultivo de podocitos humanos, el aliskiren, los IECA y los ARA no disminuyen la expresión basal del gen del receptor (pro)-renina. Comparado con los IECA, el aliskiren disminuye los valores basales e inducidos por pro-renina de la Ang II intracelular. La activación de ERK no se modifica⁴⁶.

En estudios experimentales hay disparidad de los efectos del aliskiren. En cultivo de células mesangiales humanas, el aliskiren no modifica la expresión del gen del receptor (pro)-renina ni la activación de ERK. Sin embargo, en ratas transgénicas (mRen-2) diabéticas, el aliskiren disminuye la expresión glomerular, tubular y vascular del receptor (pro)-renina, la expresión renal del gen *TGFβ* y del colágeno I, juntamente con un descenso de la presión arterial y prevención de la aparición de albuminuria⁴⁷.

CONCLUSIONES

Los nuevos conocimientos sobre la fisiología de la renina y la pro-renina y el descubrimiento del receptor (pro)-renina abren importantes interrogantes fisiopatológicos que hay que investigar y que podrían ayudar a diseñar nuevos tratamientos para las enfermedades renales y cardiovasculares en las que la activación del SRAA es un componente esencial de los mecanismos patogénicos.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wolf G, Butzmann U, Wenzel UO. The renin-angiotensin system and progression of renal disease: from hemodynamics to cell biology. *Nephron Physiol.* 2003;93:P3-13.
2. Ismail H, Mitchell R, McFarlane SI, Makaryus AN. Pleiotropic effects of inhibitors of the RAAS in the diabetic population: above and beyond blood pressure lowering. *Curr Diab Rep.* 2010;10:32-6.
3. The EUROpean trial On reduction of cardiac events with Perindopril in stable coronary Artery disease Investigators. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the EUROPA study). *Lancet.* 2003;362:782-8.
4. The Heart Outcome Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med.* 2000;342:145-53.
5. Brenner BM, Cooper ME, De Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, et al; RENAAL Study Investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2001;345:861-69.
6. Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, Bouzhrir L, Giller 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.
7. Nguyen G, Burcklé CA, Sraer JD. Renin/prorenin-receptor biochemistry and functional significance. *Curr Hypertens Rep.* 2004;6:129-32.
8. Hobart PM, Fogliano M, O'Connor BA, Schaefer IM, Chirgwin JM. Human renin gene: structure and sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81:5026-30.
9. Baxter JD, James MN, Chu WN, Duncan K, Haidar MA, Carilli CT, et al. The molecular biology of human renin and its gene. *Yale J Biol Med.* 1989;62:493-501.
10. Danser AHJ, Batenburg WW, Esch JHM, Corp M. Prorenin anno 2008. *J Mol Med.* 2008;86:655-58.
11. Corp M, Danser AHJ. Circulating versus tissue renin-angiotensin system: on the origin of (pro)renin. *Curr Hyp Rep.* 2008;10:112-8.
12. Reudelhuber TL. Truncated prorenin comes up. *Short Hypertension.* 2009;54:1216-7.
13. Itoh S, Ding B, Shishido T, Lerner-Marmarosh N, Wang N, Maekawa N, et al. Role of p90 ribosomal S6 kinase-mediated prorenin-converting enzyme in ischemic and diabetic myocardium. *Circulation.* 2006;113:1787-98.

14. Hsueh WA, Baxter JD. Human prorenin. *Hypertension*. 1991;17:469-79.
15. Danser AHJ, Deinum J. Renin, prorenin and the putative (Pro)renin receptor. *Hypertension*. 2005;46:1069-76.
16. Lenz T, Sealey JE, Lappe RW, Carilli C, Oshiro GT, Baxter JD, et al. Infusion of recombinant human prorenin into rhesus monkeys. Effects on hemodynamics, renin-angiotensin-aldosterone axis and plasma testosterone. *Am J Hypertens*. 1990;4:257-61.
17. Toffelmire EB, Slater K, Corvol P, Menard J, Schambelan M. Response of plasma prorenin and active renin to chronic and acute alterations of renin secretion in normal humans. Studies using a direct immunoradiometric assay. *J Clin Invest*. 1989;83:679-87.
18. Deinum J, Tarnow L, Van Gool JM, De Bruin RA, Derkx FH, Schalekamp MA, et al. Plasma renin and prorenin and renin gene variation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14:1904-11.
19. Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM, Schwartz HC, Bryer-Ash M. Increased plasma inactive renin in diabetes mellitus. A marker of microvascular complications. *N Engl J Med*. 1985;312:1412-7.
20. Stankovic AR, Fisher ND, Hollenberg NK. Prorenin and angiotensin-dependent renal vasoconstriction in type 1 and type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:3293-9.
21. Kang JJ, Toma I, Sipos A, Meer EJ, Vargas SL, Peti-Peterdi J. The collecting duct is the major source of prorenin in diabetes. *Hypertension*. 2008;51:1597-604.
22. Peters J, Farrenkopf R, Clausmeyer S, Zimmer J, Kantachuvesiri S, Sharp MG, et al. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. *Circ Res*. 2002;90:1135-41.
23. Gary-Bobo M, Nirde P, Jeanjean A, Morere A, Garcia M. Mannose 6-phosphate receptor and its applications in human diseases. *Curr Med Chem*. 2007;14:2945-53.
24. Saris JJ, Derkx FH, De Bruin RJ, Dekkers DH, Lamers JM, Saxena PR, et al. High-affinity prorenin binding to cardiac man-6-P/IGF-II receptors precedes proteolytic activation to renin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280:H1706-15.
25. Van den Eijnden MM, Saris JJ, De Bruin RJ, De Wit E, Sluiter W, Reudelhuber TL, et al. Prorenin accumulation and activation in human endothelial cells: importance of mannose 6-phosphate receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:911-6.
26. Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, Bouzahir L, Giller T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *Clin Invest*. 2002;109:1417-27.
27. Nabi AH, Kageshima A, Uddin MN, Nakagawa T, Park EY, Suzuki F. Binding properties of rat prorenin and renin to the recombinant rat renin/prorenin receptor prepared by a baculovirus expression system. *Int J Mol Med*. 2006;18:483-8.
28. Advani A, Kelly DJ, Cox AJ, White KE, Advani SL, Thai K, et al. The (Pro)renin receptor: site-specific and functional linkage to the vacuolar H⁺-ATPase in the kidney. *Hypertension*. 2009;54:261-9.
29. Sihn G, Rousselle A, Vilianovitch L, Burckle C, Bader M. Physiology of the (pro)renin receptor: Wnt of change? *Kidney Int*. 2010;78:246-56.
30. Kinouchi K, Ichihara A, Sano M, Sun-Wada GH, Wada Y, Kurauchi-Mito A, et al. The (Pro)renin receptor/ATP6AP2 is essential for vacuolar H⁺-ATPase assembly in murine cardiomyocytes. *Circ Res*. 2010;107:30-4.
31. Nguyen G, Muller DN. The biology of the (pro)renin receptor. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:18-23.
32. Cousin C, Bracquart D, Contrepas A, Corvol P, Muller L, Nguyen G. Soluble form of the (pro)renin receptor generated by intracellular cleavage by furin is secreted in plasma. *Hypertension*. 2009;53:1077-82.
33. Sakoda M, Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Nakazato Y, Nabi AH, et al. (Pro)renin receptor-mediated activation of mitogen-activated protein kinases in human vascular smooth muscle cells. *Hypertens Res*. 2007;30:1139-46.
34. Feldt S, Batenburg WW, Mazak I, Maschke U, Wellner M, Kvakan H, et al. Prorenin and renin-induced extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in monocytes is not blocked by aliskiren or the handle-region peptide. *Hypertension*. 2008;51:682-8.
35. Saris JJ, 't Hoen PA, Garrelds IM, Dekkers DH, Den Dunnen JT, Lamers JM, et al. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. *Hypertension*. 2006;48:564-71.
36. Zhang J, Noble NA, Border WA, Owens RT, Huang Y. Receptor-dependent prorenin activation and induction of PAI-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295:E810-9.
37. Schefe JH, Menk M, Reinemund J, Effertz K, Hobbs RM, Pandolfi PP, et al. A novel signal transduction cascade involving direct physical interaction of the renin/prorenin receptor with the transcription factor promyelocytic zinc finger protein. *Circ Res*. 2006;99:1355-66.
38. Suzuki F, Hayakawa M, Nakagawa T, Nasir UM, Ebihara A, Iwasawa A, et al. Human prorenin has "gate and handle" regions for its non-proteolytic activation. *J Biol Chem*. 2003;278:22217-22.
39. Ichihara A, Hayashi M, Kaneshiro Y, Suzuki F, Nakagawa T, Tada Y, et al. Inhibition of diabetic nephropathy by a decoy peptide corresponding to the "handle" region for nonproteolytic activation of prorenin. *J Clin Invest*. 2004;114:1128-35.
40. Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Sakoda M, Suzuki F, Nakagawa T, et al. Nonproteolytic activation of prorenin contributes to development of cardiac fibrosis in genetic hypertension. *Hypertension*. 2006;47:894-900.
41. Matavelli LC, Huang J, Siragy HM. (Pro)renin receptor contributes to diabetic nephropathy by enhancing renal inflammation. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2010;37:277-82.
42. Feldt S, Maschke U, Dechend R, Luft FC, Muller DN. The putative (pro)renin receptor blocker HRP fails to prevent (pro)renin signaling. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:743-8.
43. Nabi AH, Biswas KB, Nakagawa T, Ichihara A, Inagami T, Suzuki F. Prorenin has high affinity multiple binding sites for (pro)renin receptor. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1794:1838-47.
44. Danser AH. The increase in renin during renin inhibition: does it result in harmful effects by the (pro)renin receptor? *Hypertens Res*. 2010;33:4-10.
45. Schefe JH, Neumann C, Goebel M, Danser J, Kirsch S, Gust R, et al. Prorenin engages the (pro)renin receptor like renin and both ligand activities are unopposed by aliskiren. *J Hypertens*. 2008;26:1787-94.
46. 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.
47. Feldman DL, Jin L, Xuan H, Contrepas A, Zhou Y, Webb RL, et al. Effects of aliskiren on blood pressure, albuminuria, and (pro)renin receptor expression in diabetic TG(mRen-2)27 rats. *Hypertension*. 2008;52:130-6.