

Renina: descubierta en 1898, inhibida en 2008. Historia de su investigación. Evolución y desarrollo de sus inhibidores

Carlos Fernández Andrade

Departamento de Nefrología. Universidad de Sevilla. Sección de Nefrología Clínica e Hipertensión. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

En 1898 se descubrió experimentalmente la sustancia renal que, inyectada en animales de experimentación, causa hipertensión y se denomina renina. Desde 1935 se relaciona la isquemia y el daño renal con la hipertensión y su morbimortalidad cardiovascular. La complejidad de su naturaleza y del sistema que activa hizo muy difícil su investigación. En las décadas de los años cuarenta y cincuenta se describió el sistema básico: renina-sustrato-angiotensina I-enzima de conversión-angiotensina II. El desarrollo de procedimientos de medición llega desde 1940 a 1985. Su purificación y el conocimiento de su estructura duró desde 1935 a 1990. Se utilizan las concentraciones plasmáticas en la clínica habitual desde 1960. Sus precursores, sospechados desde 1965, se definen en los años noventa. Se está investigando los mecanismos y las acciones lesivas desde 1933; sus receptores, en el siglo XXI y sus inhibidores, desde que se sabe de ellos. Se describen las experiencias resumidas desde 1898 hasta 2008.

Palabras clave: Renina. Historia de la investigación. Hipertensión. Enfermedad cardiovascular. Angiotensina. Precursores. Inhibidores.

Renin: Discovered in 1898, Inhibited in 2008. A Research History. Development of Renin Inhibitors

In 1898, the renal substance known as renin was discovered experimentally. When injected into animals the substance produced hypertension. In 1935, renal damage and ischemia were noted to have an association with hypertension and cardiovascular morbidity and mortality. The complexity of the renin-activated system and of the substance itself made research difficult. In the 1940s and 1950s, the basic system was described: renin-substrate-angiotensin I converting enzyme-angiotensin II-aldosterone. Methods for measuring renin were developed between 1940 and 1985. Its purification and full understanding of its molecular structural configuration took from 1935 to 1990. The plasma renin concentration has been used in routine clinical practice since 1960. Renin precursors, suspected since 1965, were described in the 1990s. Its detrimental mechanisms and actions have been investigated since 1935, its receptors during the 21st century, and its inhibitors since the beginning. Experimentation from 1898 to 2008 is summarized.

Key words: Renin. Research History. Hypertension. Cardiovascular disease. Angiotensin. Precursors. Inhibitors.

ANTECEDENTES Y EL DESCUBRIMIENTO EN 1898

La hipertrofia del corazón parece, en algún grado, haber tenido lugar con el avance de la enfermedad en los riñones.

Richard Bright (1836)

El descubrimiento de Tigtstetd en 1898 comenzó un proceso, histórico ya, que continúa y está lejos de acercarse a su final (fig. 1). Él sin duda conocía los trabajos de Richard Bright¹, Starling² y Claude Bernard³ y fue influido por ellos, especialmente por el último, que demostró en el hígado, además de la secreción externa (bilis), una secreción interna (liberación de glucosa a la sangre), demostrando que los órganos parenquimatosos modifican fisiológicamente el «medio interno». Con el concepto de «medio interno» el riñón adquiere importancia en su regulación, no sólo con la producción de orina, sino con posibles e hipotéticas «secreciones internas». La necesidad de regula-

Correspondencia: Dr. C. Fernández Andrade.
Consulta externa de Nefrología n.º 1.
Hospital Universitario Virgen del Rocío.
Avda. Manuel Siurot, s/n. 41013 Sevilla. España.
Correo electrónico: carolushspanicus@gmail.com

ABREVIATURAS

ARA-II: antagonistas de los receptores de la angiotensina II.
 IECA: inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina.

ción de la calidad, el volumen y la presión de los líquidos del «medio interno» hizo que el riñón pasara de ser conceptualizado como órgano excretor, un órgano vasculoendocrino de mayor complejidad y con una función en el mantenimiento del «equilibrio del medio interno» difícil de entender: la «homeostasis», término acuñado por el premio Nobel de Medicina, Walter Cannon⁴ a principios del siglo XX: «... todos los mecanismos vitales, por variados que sean, tienen un fin: mantener la constancia del medio interno... lo que es la condición necesaria de la vida libre». El mismo año de la muerte de Cannon, Selye publicó en *Nature* su trabajo titulado «Transformation of the kidney into an exclusively endocrine organ»⁵. En la línea del pensamiento fisiopatológico de dichos autores, Tigerstedt y Bergman⁶ en 1897 comenzaron sus trabajos practicando inyecciones y perfusiones intravenosas de extractos renales en animales de experimentación. En 1898 publicaron la respuesta presora arterial producida en el animal por la inyección de extractos de tejido renal. A la sustancia, no dializable y termosensible, la identificaron como proteína y la llamaron renina. Y aunque también obtenían respuesta presora con inyecciones de

concentrados de sangre venosa renal, confirmar este hecho precisó más de 40 años^{7,8}. Quizá no se fuera consciente de la trascendencia del descubrimiento, y su hallazgo fue olvidado casi 50 años.

A partir de los años treinta, hasta llegar a los sesenta, en los países desarrollados comienza la preocupación por la morbimortalidad de eventos agudos de daño cardiovascular, y la alarma social que dichos eventos producen, por ser bruscamente fatales e incidir en sujetos, habitualmente varones, con edad de estar en plétora de su productividad y poder. En el intento de prevención de estos eventos, y gracias fundamentalmente a las estadísticas de compañías aseguradoras de vida, destaca pronto la necesidad de controlar la hipertensión arterial y la necesidad de investigar su origen y fisiopatología, así como el papel que en ella podría tener el riñón. La preocupación se pone más de manifiesto en los años cuarenta en Estados Unidos y Europa, ya que preocupa la enfermedad cardiovascular del presidente Franklin D. Roosevelt por la influencia que su deterioro intelectual y anímico pudiera tener en los acuerdos firmados entre los aliados al final de la segunda guerra mundial en el Tratado de Yalta. Timothy Bishop y Vincent M. Figueredo publicaron en una revisión histórica: «... el presidente sufría muchas de las consecuencias cardiovasculares de su hipertensión no tratada. Durante su último año de presidencia durante la segunda guerra mundial, el presidente estuvo plagado de enfermedades: insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad renal, angina, y finalmente murió de un evento cerebrovascular. Es obvio que se habría beneficiado en muchos aspectos de su enfermedad con una medicación que atacara el sistema de la renina»⁹ (fig. 2).

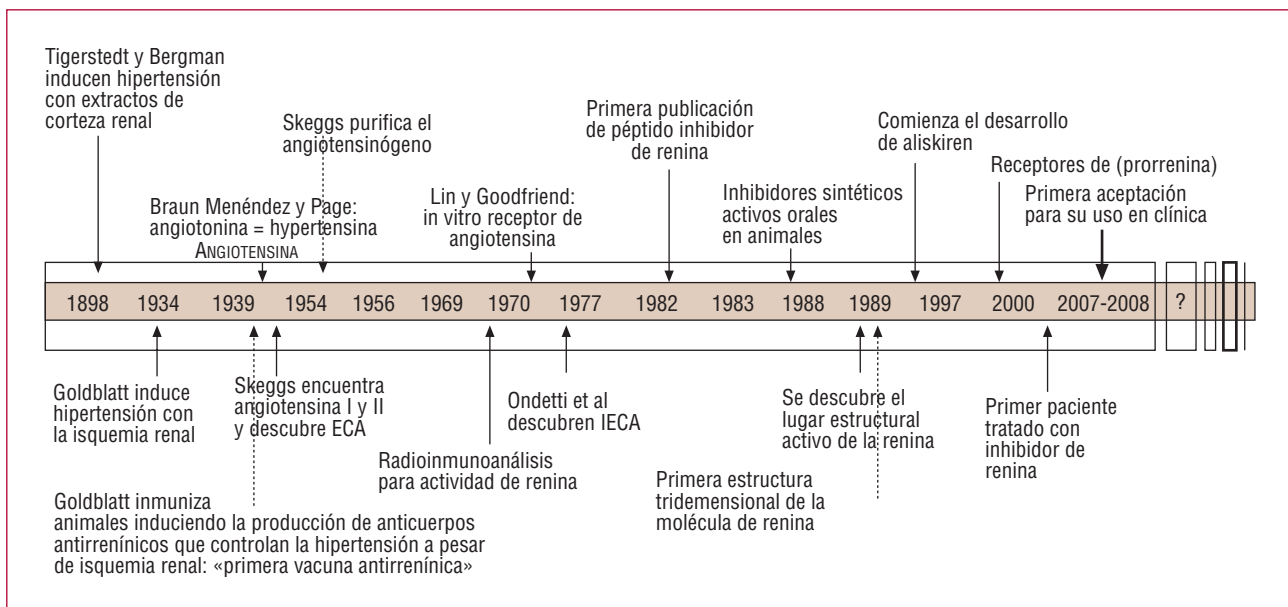


Fig. 1. Historia de la investigación sobre la renina (1898-2008). ECA: enzima de conversión de angiotensina; IECA: inhibidores de la ECA.

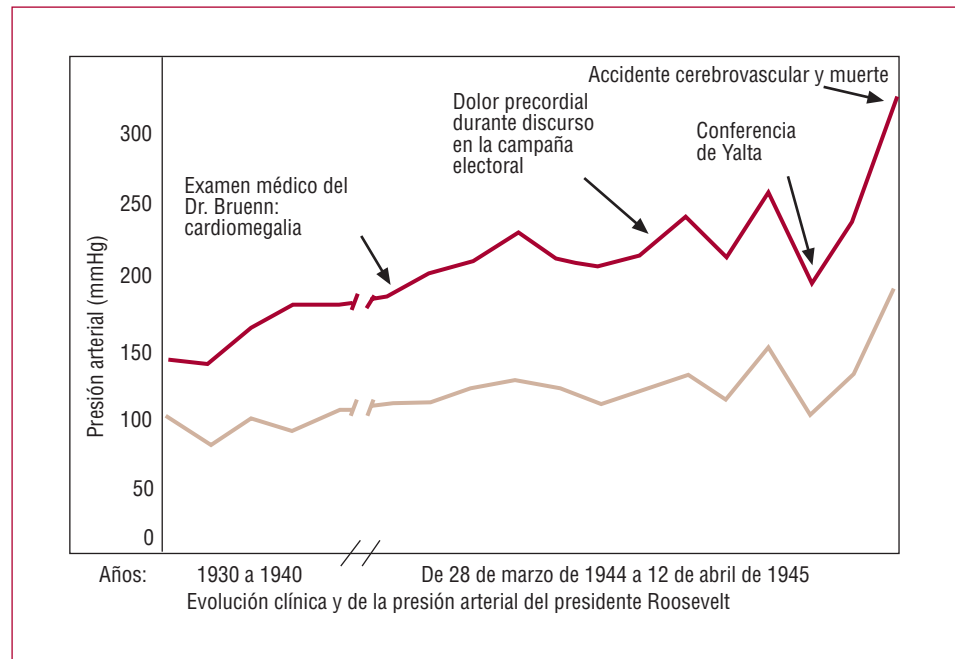


Fig. 2. Evolución de la presión arterial hasta el fallecimiento del presidente Roosevelt de muerte cardiovascular con afección multiorgánica⁷.

EL ORIGEN RENAL DE LA HIPERTENSIÓN SOSTENIDA (1927-1940)

Pasados más de 35 años desde el hallazgo de Tigerstedt, el interés se despertó a partir del conocimiento de la relación entre la isquemia renal y la hipertensión, mostrada primero en 1927 con la publicación del Dr. Loechst¹⁰ en 1927, que indujo experimentalmente inflamación toxicisquémica renal y la hipertensión sistémica consiguiente. Y de forma más elegante y concluyente en 1933, mediante las experiencias del Dr. Goldblatt¹¹, con isquemia renal provocada con *clips* de las arterias renales en perros. La isquemia renal inducida era unilateral con riñón contralateral indemne o extirpado, o bilateral con *clips* en ambos riñones. Asociando o no en todos los modelos inducción de un «déficit asociado» de «la función excretora» mediante abocamiento de uréteres a cava. No solamente demostró la hipertensión persistente mediante isquemia renal en perros, sino en otros mamíferos, como argumento de que el hallazgo no se relacionaba con la especie¹². Asimismo demostró que, si durante el experimento no se afectaba «la función excretora renal», era difícil evidenciar lesiones arteriales en poco tiempo. Pero si, además de isquemia, se inducía incapacidad de la «función excretora», se producían «ateromas, arteriosclerosis y arteriolonecrosis, como ocurre en la enfermedad maligna hipertensiva del humano». Estableció la relación de la hipertensión acelerada o maligna y el deterioro renal y vascular¹³.

La relación isquemia renal-renina-hipertensión condujo a intentos de purificación y medición de renina, simultáneos a los trabajos de Goldblatt, que comenza-

ron a publicarse a partir de 1939¹⁴. La confirmación de que la renina era liberada por el riñón a la circulación por las venas renales fue demostrada y publicada en español en 1938 por Bernardo Houssay⁷ en Argentina, aunque su hallazgo no tuvo la difusión que mereció. Once años más tarde, Peart⁸ lo reconfirmaba. El efecto hipertensivo del «riñón Goldblatt» se debe a la secreción de renina a la sangre venosa por el riñón hipoperfundido. Continuó la investigación en busca de métodos de su medición y, desconociendo la naturaleza, la estructura molecular y la forma de actuar, la renina sólo era medible mediante el efecto presor que en el animal testigo podía producir una muestra problema que la contuviera; es decir, su «actividad presora», o lo que Page et al¹⁵ y otros definieron como «*effective renin activity*». Previamente, en 1940, el grupo de Page¹⁶ y el de Braun-Menéndez¹⁷ ya habían propuesto que la proteína denominada renina podría ser una enzima, por el hecho de que inyectarla en el animal de experimentación no producía de forma inmediata la elevación tensional, sino tras un periodo de latencia, y la duración de su acción era relativamente mantenida.

RENINA: SU MEDICIÓN

El primer método utilizable fue descrito por Pickering et al¹⁸, utilizando polvo de tejido renal desecado en alcohol o de extractos crudos de tejido renal e inyectados vía venosa. La cantidad de sustancia presora generada era aleatoria y no reproducible, como se demostró en otros intentos de medición¹⁹. La causa era la falta de protección de lo generado en la muestra contra las angiotensinasas presentes en tejidos y en plasma que ya

habían sido descritas en 1946²⁰ y no fueron suficientemente entendidas hasta 15 años después, cuando se las identificó claramente como enzimas líticas de péptidos biológicamente activos^{21,22}. Para evitar que la sustancia presora producida por renina, o ella misma, fueran lisadas por enzimas degradantes, se utilizaron métodos sucesivos con agentes quelantes bloqueadores de las angiotensinasas (EDTA, BAL, dimercaprol o diisopropilfluorofosfato); asimismo se debía fijar las condiciones óptimas de pH y temperaturas para su generación^{22,23}. Las primeras determinaciones con cierta exactitud y bloqueo de interferencias enzimáticas fueron las de Helmer et al²², que incubaron a pH 5,5 y 37 °C. El resultado de la generación de angiotensina II se comprobaba en tejidos contráctiles o en ratones binefrectomizados. Se conocía la generación de lo que sería la angiotensina II a través de la acción presora/contráctil. Otros autores incubaron sobre Dowex-X2 o sales de amonio²³. Se publicaron técnicas en los 10 años siguientes²⁴⁻²⁶ que mejoraron el procedimiento, pero no lo modificaron sustancialmente hasta los trabajos del grupo de Glasgow²⁷. Con una técnica más elaborada, deducían la «concentración de renina plasmática» y era posible usarla de forma segura en la clínica²⁸. Comparaban la actividad presora de dos muestras del espécimen que contendría la renina a medir, previa incubación en medio con exceso de sustrato heterólogo. La primera a 4 °C, temperatura a la cual no hay generación de angiotensina, y la segunda incubada 3 h a 37 °C. Para ello, además de bloquear in vitro las angiotensinasas, era preciso usar técnicas especiales de extracción de muestras y elaboración en frío, con jeringas y centrifugación de sangre a menos de 4 °C, para evitar la generación in vitro de angiotensina. En la incubación se usaba exceso de sustrato, ya que la cantidad de generación de sustancia (presora) por la enzima depende no sólo de su concentración en el plasma-problema, sino de la cantidad de sustrato sobre el que actúa (angiotensinógeno). Al contrario habríamos tenido dos incógnitas en el mismo problema y ambas sólo mensurables por el resultado final de elevación de presión arterial. Como ya se sabía, el sustrato de renina es un polipéptido de abundante producción hepática²⁹ que se acumula en los animales binefrectomizados y permitió obviar la dificultad, al poder incrementar en exceso el sustrato en la muestra (ley de Michaelis-Menten): si se incubaba una enzima, en presencia de exceso de sustrato ad infinitum que actúe sobre él, la sustancia resultante será «sólo proporcional a la concentración de la enzima-problema». Cuando empecé a trabajar en el laboratorio en 1970, había un intenso debate entre los grupos de investigación a propósito del mejor sustrato «en exceso» sobre el cual hacer actuar la muestra con la «renina problema». La opinión de la Blood Pressure Unit del Western Infirmary de Glasgow defendía el uso del sustrato del plasma de buey, con los problemas de la binefrectomía de un animal corpulento para, tras mante-

nerlo 7 días con vida, hacer sangrado total y extraer el plasma y eluirlo para concentrar el angiotensinógeno y utilizarlo en las determinaciones. El grupo de Heidelberg, liderado por Franz Gross, postulaba como sustrato más eficaz el ovino. La cantidad de plasma obtenida era evidentemente diferente pero, para los becarios de investigación, era menor el volumen de sangre que procesar. Ambos procedimientos se utilizaron durante los años sesenta y setenta y eran equiparables. La acción presora en el animal del resultado de la incubación era la «generación de sustancia hipertensiva por centímetro cúbico de espécimen por hora de incubación», ya que antes de 1950 la «sustancia resultante con acción presora» no estaba purificada ni sintetizada para ser utilizable como estándar de las muestras-problema. En su defecto, desde 1935 se utilizaron unidades presoras convencionales y las pioneras fueron las unidades Goldblatt. Pero las unidades Glasgow también fueron utilizadas internacionalmente, al punto que había tablas de equivalencias comparativas entre ambas y ésta era de 1 unidad Goldblatt cada 112 unidades Glasgow. Con estas unidades se intentaba relacionar la intensidad de la respuesta presora con los miligramos de sustancia problema/kilogramo de peso del animal inyectado. Caricaturizando, Sir George Pickering afirmó en 1964: «Desde 1930, tomas algo desconocido en una mano. En la otra tomas un saco de piedras al que añades más piedras, hasta que ambas manos sienten el mismo peso. Entonces averiguas el peso de las piedras y supones, de lo desconocido, sólo el peso»³⁰. Este problema se resolvió al comienzo de la década de los sesenta, ya que se tenía sintetizada y comercializada la angiotensina II. La cantidad de angiotensina II generada se medía por la acción presora en la rata, anestesiada con pentobarbital sódico intraperitoneal a dosis de 40 mg/kg y producida por la administración intravenosa en la yugular interna canulada. Al animal se medía la presión arterial continua de cada latido, a través de la canulación de la carótida. La inyección de muestra problema se intercalaba con la de solución estándar de angiotensina II en concentraciones en miligramos por mililitro conocidas (ya comercializada desde 1963), con lo que comparábamos la actividad presora de angiotensina II generada por el problema con la de diversas dosis conocidas de angiotensina II. Estas técnicas biológicas no se modificarían hasta la aparición de métodos inmunométricos y radiométricos, y sobrevivieron hasta el comienzo de la década de los setenta, cuando el autor se incorporó al grupo de la Blood Pressure Unit de la Western Infirmary.

SISTEMA DE ACCIÓN DE LA RENINA: LA ANGIOTENSINA. DETERMINACIONES POR ACCIÓN ENZIMÁTICA (1950-1970)

Para la medición y el estudio de la renina, fue fundamental el descubrimiento, la obtención y la síntesis de la angiotensina II. Hicieron el descubrimiento dos

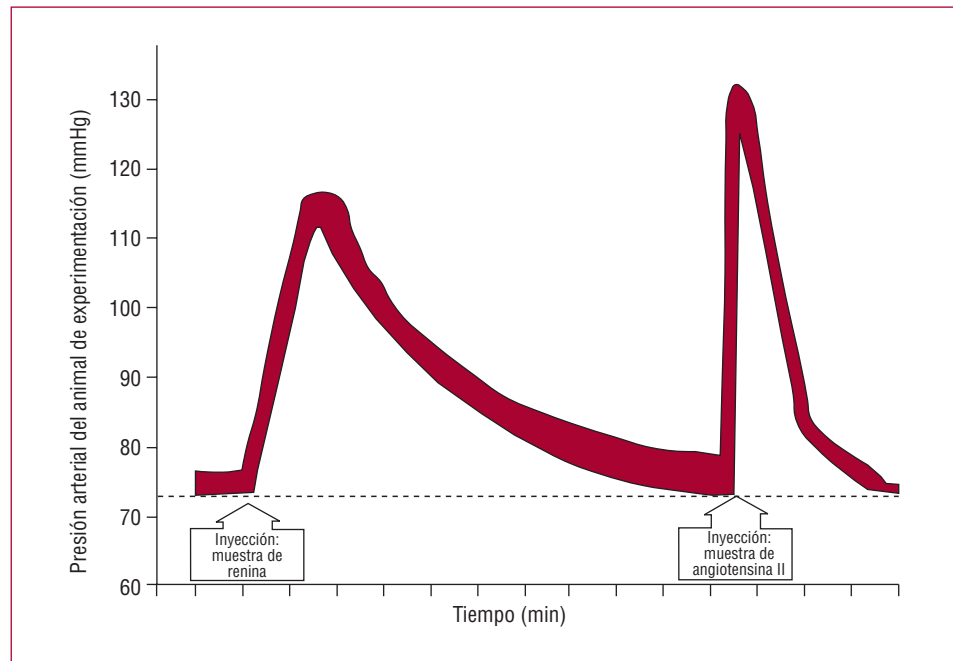


Fig. 3. Curvas de presión en animal de experimentación tras inyección de renina y angiotensina II. Esquemática.

grupos de forma independiente y simultánea, y se basaron para ello en las mismas observaciones en 1940: el tiempo de latencia que se producía tras la inyección de renina y la duración de su respuesta presora, mientras la «nueva sustancia presora» casi carecía de tiempo de latencia y tenía menos duración y más potencia (fig. 3). Fueron los grupos liderados por Braun-Mendoza en Argentina¹⁶ y Page en Estados Unidos¹⁵. El grupo argentino la denominó «angiotonina» y el grupo estadounidense la llamó «hypertensin». Un consenso internacional propuesto por el propio Braun-Mendoza³¹ decidió denominarla angiotensina. En 1951 el grupo investigador liderado por Skeggs³² aisló la «hypertensina» de la sangre dializada del perro con riñón isquémico. Tres años después (1954), ese mismo grupo descubrió, diferenció y aisló las «dos hipertensinas»³³, tras observar la diferente e inversa concentración que se producía en el medio de incubación de dos sustancias peptídicas que se comportaban como angiotensinas presoras: disminuía la de una y aparecía y aumentaba la de otra. Por ello dedujeron que en dicho medio «debería haber una enzima conversora que transforme la una en otra». Así detectaron y posteriormente aislaron por primera vez (en 1955-1956) la enzima de conversión de angiotensina³⁴. Se pudo establecer la comparación de ambas angiotensinas, tras ser diferenciadas y establecer las secuencias de aminoácidos de ambas. Fueron purificadas y sintetizadas en el mismo año por Skeggs et al³⁵. Su síntesis permitió cambiar de «cantidad de acción presora» a «acción presora de miligramos de angiotensina». Asimismo aislaron un gran polipéptido que se comportaba como

sustrato de la renina (angiotensinógeno)²⁹, sin el que no era posible generar angiotensinas in vitro o in vivo. Lo sintetizaron inicialmente como tetradecapéptido: el angiotensinógeno³⁶. Desde la extracción, la purificación y la síntesis de las angiotensinas hasta su comercialización por CIBA-Geigy, pasó poco tiempo: eran sólo péptidos (fig. 4). Skeggs y su grupo cerraron el «sistema básico» completo renina-sustrato-angiotensina I-enzima de conversión de angiotensina-angiotensina II-aldosterona³⁷.

ANTICUERPOS: EL PRIMER INHIBIDOR DE RENINA O LA PRIMERA VACUNA CONTRA LA HIPERTENSIÓN

La primera demostración de la antigenicidad de la renina la hicieron Johnson et al³⁸ en 1940, por la necesidad de desarrollar anticuerpos y bloqueadores de la acción de la renina para estudiar el sistema en la hipertensión arterial experimental y humana, desarrollar métodos de medición de renina, conocer su naturaleza y poder bloquear el sistema en el humano con fin terapéutico. En 1958, Ondetti publicó sus primeros trabajos en el primer intento claro de obtener el bloqueo del sistema. El mismo año, Wakerlin³⁹ consiguió bloquear la subida de la presión arterial en el animal de experimentación con los anticuerpos antirrenina que habían descrito. En 1964, el grupo de Goldblatt⁴⁰, en su modelo de perros hipertensos por isquemia renal, controló la hipertensión mediante inmunización del animal de experimentación y provocaron que éste produjera anticuerpos antirrenina. La renina muy purificada se hacía

To the Medical Profession

C I B A

Hypertensin-CIBA

For the treatment of shock and collapse
Hypertensin-CIBA is angiotensin amide, a product of CIBA research, and is available as 0.5 mg ampoules. It is about ten times more powerful as a pressor agent than noradrenaline, yet it has less vasoconstricting effect on cutaneous vessels. Therefore, the risk of skin and superficial tissue necrosis is reduced. Other advantages are freedom from tachyphylaxis and less likelihood of cardiac irregularities.

Clinical Application
The most prominent activity of hypertensin is a powerful pressor effect which, as shown by the pharmacological findings, depends on its direct action on the peripheral circulation. Furthermore like noradrenaline, it behaves haemodynamically as an 'anti-shock agent', but is more active. It can be concluded moreover, from comparative studies in man, that there is a difference between noradrenaline and hypertensin since, as reported above, the increase in total vascular resistance is mediated through quantitatively variable effects on the individual components of the circulation. Nevertheless, further observations are necessary before definitive conclusions may be reached. In the light of its considerable circulatory effects, in very small amounts, hypertensin must be regarded as one of the most powerful biologically active substances known. It appears to merit clinical evaluation in states of pathologically reduced blood pressure.

Indications and Dosage
The primary indications to be considered are severe states of shock of various origin (traumatic, post-operative, toxic, infective and after myocardial infarction in certain cases). In such cases hypertensin will arrest or prevent a dangerous fall in blood pressure. However, the restoration of circulatory volume is not thereby rendered unnecessary, but the degree of urgency is lessened.

Administration
The rapid onset and cessation of action renders it necessary to administer hypertensin as a continuous intravenous infusion. This may be adjusted according to the level at which it is thought advisable to maintain the blood pressure.

Fig. 4. Facsímil original de presentación e instrucciones de uso en clínica de «Hypertensin», la angiotensina II sintetizada y comercializada por CIBA.

inmunogénica acetilándola y se inyectaba y controlaba la hipertensión arterial durante la fase de inmunización. Tras suspender la inmunización activa (fig. 5), la presión arterial volvía a ascender. Pero cuando semanas después se les administró renina nativa no inmunogénica, volvieron a ascender los títulos de anticuerpos y a controlarse la hipertensión. Tras la suspensión de la experiencia, continuaron normotensos, pero a los 2 meses sin inyectar los antígenos ni renina, los perros continuaron estando hipertensos. Fue la primera «vacuna antirrenina/antihipertensiva». Y en 1965 consiguieron anticuerpos antirrenina humana⁴¹. Pero era difícil que, sin tener renina pura aislada ni anticuerpos específicos, además de su impureza, se evitara la aparición de anticuerpos cruzados,

autoanticuerpos, antianticuerpos y riesgos de anafilaxia, de tal forma que no fueron factibles en la clínica⁴². Pero la producción de esos anticuerpos sí sirvió para comenzar la era del inmunoanálisis de renina, basada en la competitividad de la renina problema y la renina marcada por el anticuerpo recuperable, a través de adsorción de la solución o fijado en superficies. Se consiguieron mediciones de renina, excelentes y reproducibles, a pesar de desconocer su estructura y naturaleza. También dichos anticuerpos fueron una gran ayuda en el progreso en el estudio de la histoquímica de la renina⁴³. A ello se unió que, en 1964, Goodfriend et al⁴⁴ habían obtenido anticuerpos de muy buena calidad contra las angiotensinas, lo que modificaría los métodos de medición⁴⁵.

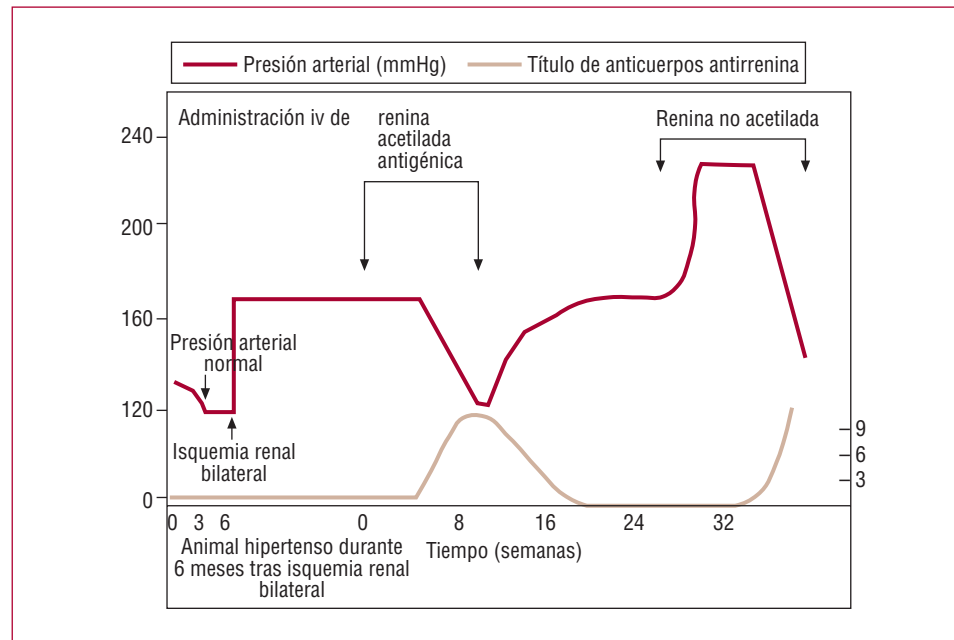


Fig. 5. Esquema de resultados de la antigenicidad de renina y creación de anticuerpos que controlan la presión arterial en el animal hecho hipertenso experimentalmente. Modificado de Deohda et al⁴⁰.

ANTICUERPOS ANTIANGIOTENSÍNICOS: BLOQUEO DE HIPERTENSIÓN. ENZIMOINMUNOANÁLISIS Y RADIOINMUNOANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD DE RENINA. SU UTILIZACIÓN EN LA CLÍNICA Y EN LA INVESTIGACIÓN HUMANA DE LA RENINA (1970-1980)

Un año antes de mi llegada a Glasgow (1969), se publican los primeros métodos de radioinmunoanálisis para determinación de actividad de renina plasmática, pero no con anticuerpos antirrenina, sino contra angiotensina I o II^{45,46}. En 1970, la Blood Pressure Unit cambió el método clásico biológico de medición de la acción presora en el animal por el de radioinmunoanálisis. Ello obligó a los becarios a un entrenamiento especial para trabajar con isótopos radiactivos, yodando angiotensina II y obteniendo anticuerpos contra la angiotensina II para fabricar los reactivos, pues el método de Haber⁴⁵ no se comercializó hasta años más tarde. Los anticuerpos se producían en el conejo con inyecciones repetidas de angiotensina y adyuvante de Freud en los dedos del animal⁴⁷. A las pocas semanas, se sangraba, se eluía el plasma, y se purificaban los anticuerpos por cromatografía. Entonces comprobamos que las inyecciones de anticuerpos eluidos y purificados controlaban la respuesta presora de la inyección de angiotensina II exógena en los animales de experimentación (observaciones no publicadas). La marcación con yodo radiactivo se hacía por el método de Greenwood de la cloramina T, pero con la técnica investigada en Glasgow⁴⁷. No obstante, aún en 1974, Boucher et al²³ afirmaban, en las conclusiones de su trabajo: «Debe tener-

se en mente que la verdadera concentración de renina aún no puede ser medida». Se había avanzado, pero aún no se había purificado la enzima, y la tecnología no permitía desentrañar la composición de proteínas complejas. Se determinaban concentraciones de angiotensina como actividad de renina por radioinmunoanálisis, pero no renina.

RENINA: SU UTILIZACIÓN EN LA CLÍNICA

Las técnicas desarrolladas por su grupo permitieron a la Blood Pressure Unit durante las décadas de los sesenta y los setenta ser pioneros en el estudio, en la clínica y en investigación, del sistema de la renina y ayudaron a definir el papel en la fisiopatología. Sus trabajos en Glasgow fueron prolíficos, y los desarrollados en los años sesenta figuran en el primer gran libro de texto sobre hipertensión arterial y renina: *High Blood Pressure*, de Sir George Pickering (1968), en cuyo primer capítulo de la historia de «*Renin in Diseases*»⁴⁸ figuran trabajos en años anteriores a 1970 sobre la interacción de los niveles de actividad de renina, riñón y el manejo hidrosalino corporal en individuos «normales», normotensos sin nefropatías⁴⁹ y en situaciones clínicas muy dispares, como en la enfermedad de Addison o la cirrosis hepática con y sin ascitis o la gestación⁵⁰. En la hipertensión arterial, tanto en su relación con la excreción de sal⁵¹ como en relación con su etiología en las secundarias²⁸, vasculorrenal, suprarrenal por hipermineralocorticismo⁵² por hiperproducción de catecolaminas⁵³, o en la gestación patológica⁵⁴. Es irreplicable el hallazgo de la correlación directa del cloro y el sodio corporal total en humanos⁵⁵ con la edad, la

masa corporal y la hipertensión, y la correlación inversa a los valores de renina⁵⁶. Estos tópicos también fueron estudiados por muchos autores, especialmente por el grupo de Heidelberg, liderado por Gross, que incluyeron los niveles de aldosterona plasmática⁵⁷, y compitiendo con el de Glasgow⁵⁸ llegaron a hacer determinaciones tisulares de renina, incluso del nefrón aislado con su aparato yuxtaglomerular⁵⁹. Gross discutió por vez primera en la literatura la idea de renina extrarrenal⁵⁹ y desarrolló una gran investigación, en relación con la hipertensión experimental, los niveles de aldosterona y renina⁶⁰ y los balances hidrosalinos en animales suprarrenalectomizados o no con nefrectomías totales o parciales y aclaró la relación inversa de ambas en la hipertensión arterial y en la fisiología renal. Sus modelos experimentales fueron demostrativos y exhaustivos⁶⁰ y ayudaron a fundamentar la denominada por Jensen «década prodigiosa» de la renina⁶¹. Pero los «rangos normales de renina» no estaban definidos ni con los grados de hipertensión ni con otros parámetros.

LA «NORMALIDAD» DE LOS VALORES DE RENINA

En 1945 Braun-Menéndez y Fasciolo afirmaban: «La renina de un hipertenso esencial no puede ser normal, pues si a un normotenso se le lleva la presión a niveles del hipertenso, la renina plasmática desaparece». No conocían aún que había hipertensos con «renina suprimida»⁶². Era evidente que había resultados «anormales» en los hipertensos. No «altos o bajos», sino «anormalmente altos para la homeostasis del sujeto hipertenso». En los años 1966 a 1972, aún no había consenso para definir «los valores normales de renina». Desde 1960 estaba clara la relación nivel de renina/sodio corporal total, expresada en mEq/unidad de masa corporal^{55,56} y sólo modificable por situaciones patológicas o involutivas. Era reproducible, pero ya no era posible hacer la medición del sodio corporal con técnicas de dilución isotópica con iones radiactivos por motivos éticos, ya que son especialmente difusibles en compartimentos biológicos de intercambio lento o estanco, y con vidas medias muy largas para su utilización en clínica⁵⁵. La alternativa es la comparación de cifras de renina con natriuresis en 24 h, y a ello se dedicó especialmente el grupo de John Laragh de Nueva York, y en sus trabajos⁶³ relacionaban los valores de renina plasmática, aldosterona plasmática y excreción de sal, llegando a representar la distribución tridimensional de los valores, en un intento de «normalizar» valores fisiológicos y distinguirlos de los valores precisos para el diagnóstico en patología cardiovascular. Los debates continuaron, incluidos los de sus trabajos acerca de la clasificación de la hipertensión en su célebre tríada: «renina normal, alta o baja»⁶³, intentando liderar una orientación terapéutica. Cada autor

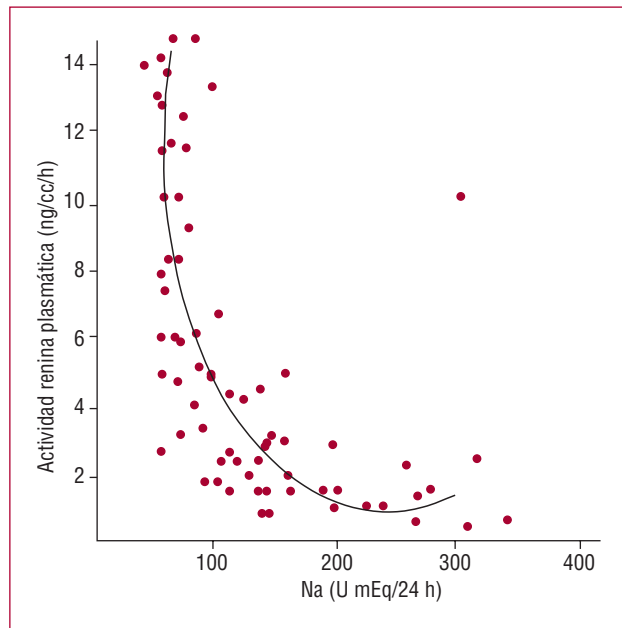


Fig. 6. Valores de actividad de renina plasmática relacionados con la excreción de sodio en 24 h en 69 sujetos normales, como comparación para el estudio en nefrópatas, efectuadas por el autor. (Tesis doctoral: «Renina en la enfermedad renal». Sevilla: Biblioteca de la Universidad de Sevilla; 1974.)

debe hallar rangos de normalidad (fig. 6), y los valores se relacionan de forma difícil y «casi logarítmica» con la excreción urinaria de sodio y se modifican fácilmente con la dieta y la actividad física.

ASLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y ESTRUCTURA MOLECULAR

Para conocer y neutralizar la renina, los investigadores intentaban purificarla y conocer su estructura desde los años cuarenta. Pero había dos dificultades: la extremadamente baja concentración de renina en los extractos de los tejidos y la gran inestabilidad de la renina cuando aún no se ha purificado.

Se aplicó la tecnología posible en cada época, en un camino de más de 50 años, hasta 1980^{64,65}. Son de destacar los esfuerzos de Haas para llegar a una purificación del orden de 56.000 de renina porcina, que le permitieron la producción de anticuerpos utilizables en investigación de técnicas de laboratorio⁴⁶ y estudiar su molécula con espectroscopia ultravioleta^{64,65}. En los años setenta, la aparición de la cromatografía por afinidad⁶⁶, la aplicación de los nuevos inhibidores de las proteinasas, pepstatinas y otros inhibidores de renina^{67,68} permitieron avanzar, gracias al desarrollo tecnológico, bioquímico e inmunológico, en el estudio de la renina. La utilización de la espectrofotometría de masas, la cristalografía por rayos X, las técnicas de biología molecular y de clonación de genes y, sobre todo, muchos investigadores y muchas horas de trabajo⁶⁸⁻⁷⁰

en 1979 permitieron conseguir renina pura y estable en Estados Unidos⁶⁹, y en 1980, renina humana renal, pura y estable⁷⁰.

A partir de ahí se buscó definir la estructura primaria del precursor de renina humana, que se dedujo de la secuencia del ADNc, obtenida a partir de una librería de ADNc de clones de riñón humano⁷⁰⁻⁷³. Los pasos más cruciales se resumen en:

1. La secuencia de aminoácidos fue identificada por primera vez y definida a partir de la secuencia de nucleótidos de los exones del gen de la renina (ADNc), identificados a partir de una «librería genómica de riñones humanos» por técnicas de hibridación y ADN recombinante⁷⁴.

2. En el examen de los restos de aminoácidos procedentes de la hidrólisis de la renina humana, se seleccionaron los que sólo tuvieran una unión apareada de Leucina¹⁰-Valina¹¹, ya que se revelaron peculiaridades de proteinasa aspártica.

3. Se examinó la expresión del gen de la renina mediante pruebas de hibridación para ARNm de renina en secciones de extractos tisulares, especialmente los de las glándulas subaxilares de ratones (el compuesto *like renin*, en respuesta a la testosterona en las hembras y la depleción de sodio incrementaron el ARNm de renina en el riñón de los animales estudiados). Se confirmó, por medio de la absorción a concavalina A-Sepharosa, que la renina es una glucoproteína de cadena simple, carboxilpeptidasa de la familia de las proteinasas aspárticas, como pepsinas, catepsinas lisosomiales y quimosinas, pero diferente de todas ellas, por dos peculiaridades: su extrema selectividad por su sustrato específico y ser activa a pH neutro. Su peso molecular, calculado por «equilibrio de sedimentación» es 40.000, y calculado por filtración en gel, 42.000. Su punto isoeléctrico es 5,7, pero es heterogéneo entre 5,5 y 6,8^{70,71}, debido a la variabilidad del grado de glucosilación producida en su complejo proceso de síntesis^{74,75}, y se puede modificar según la situación del sistema en contenido en sodio y por bloqueo con inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECA), lo que tiene implicación clínica⁷⁶. El precursor de la renina es una molécula de 406 aminoácidos, con un «presegmento» de 20 aminoácidos y un «prosegmento» de 46, que se desprenderán, sucesivamente, con lo que disminuirá su peso molecular y quedará la renina madura y activa con 340 aminoácidos y masa de alrededor de 37 kDa. El pH óptimo de actividad sobre sustrato humano es 6, y su constante de difusión es $8,23 \pm 0,4 \times 10^{-7}$ cm²/s, con coeficiente de fricción 1,06⁷⁰⁻⁷⁵.

Su estructura fue progresivamente desentrañada a pesar de ser una enzima muy variable (según glucosilación e isoeléctricamente hablando) tras conocer su composición en aminoácidos⁷⁷ y la disposición de és-

tos⁷⁸, y «casi completada» en varias ocasiones⁷⁹, pero fueron las técnicas de cristalografía con rayos X lo que permitió tener una imagen tridimensional más completa y espectacular de su molécula. Su maqueta a escala «gigantesca» se halla expuesta en el salón de entrada en el edificio principal de la Universidad de Fukuoka (Japón)⁸⁰, donde fue completada. Su forma es bilobulada, como una alubia, especialmente útil para descubrir la localización y la estructura del grupo activo. Éste se encuentra colocado en la hendidura de ambos lóbulos, con dos residuos aspárticos esenciales para cortar el angiotensinógeno y degradarlo al decapeptido angiotensina I, que dura poco en la circulación por la acción de la ECA, lo que genera continuamente cantidades femtomolares de angiotensina II circulante.

RENINAS: «INACTIVA». GENÉTICA, SÍNTESIS Y SECRECIÓN. PRECURSORES

No fue hasta 1965 cuando el grupo de Skeggs, purificando renina, encontró en las cromatografías un pico diferente de la renina, pero con gran similitud y mayor peso molecular⁸¹. Aislada la sustancia que migraba en ese pico, no producía efecto presor, pero su similitud era evidente. En 1971, Lumbers⁸² encontró, en un medio «acelular» como el líquido amniótico, sometido a frío y pH bajo, generación de actividad de renina. Más tarde Skinner et al⁸³ describieron un hecho similar en plasma, pero sin necesidad de acidificar. Así nació el concepto de renina inactiva, pero «activable», de gran peso molecular (5 kDa), y por eso llamada *Big renin*^{84,85}. Como luego se demostraría, era inactiva por la existencia de un terminal de 43 aminoácidos que tapa al grupo activo capaz de lisar sustrato e impide el acceso al angiotensinógeno. Durante años se pensó que sería un precursor en la síntesis de renina, y sólo cuando se clonó el gen de la renina en 1984⁷²⁻⁷⁴ se probó que es su precursora y, como ella, se manifiesta como molécula heterogénea por el distinto grado de glucosilación. En 1980 se estudió la significación biológica comparativa de renina activa y no activa⁸⁵, y en 1985 se midieron las concentraciones de renina humana activa y no activa⁸⁶. Otros autores midieron, mediante anticuerpos, la «renina total», y por medios enzimáticos, la «actividad de renina»; relacionando ambas se demostraba la disparidad de sus concentraciones en iguales o distintas situaciones⁸⁴⁻⁸⁹ (fig. 7). En 1986, se aislaron en la renina humana pura dos formas de distinto peso molecular, y tras purificarlas Inagami demostró que la renina inactiva es prorenina⁹⁰. La renina inactiva o prorenina abrió interrogantes para el clínico, a pesar de que todas las formas, activas o activadas, tienen la misma acción selectiva y exclusiva sobre el sustrato y generan angiotensina II. La actividad de renina plasmática es la suma de todas las actividades de todas, y todas son sintetizadas (no todas activadas) por el riñón. El grupo activo es el mismo: el de renina

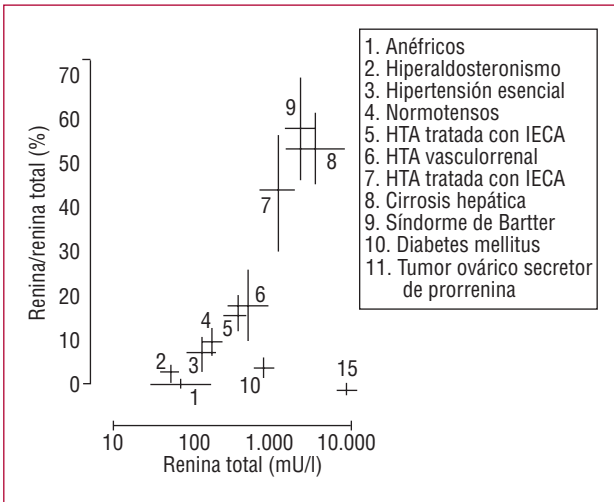


Fig. 7. Resumen esquematizado de los resultados de trabajos citados en el texto, comparando la renina total y activa en distintos procesos.

secretada activa y el de la prorenina activada. Y son inhibidos por las mismas sustancias. No son inmunogénicamente diferentes, y los receptores de renina ligan y activan ambas, y son activados por ambas, ya que la prorenina se activa al unirse al receptor.

Genética

El genoma humano contiene un gen de renina localizado en el cromosoma 1^{71-74,91,92} que tiene diez exones y nueve intrones y un tamaño de 12 kb. El gen de la renina estudiado en las células yuxtaglomerulares del

riñón humano, como otros genes estructurales, tiene posibles regiones promotoras que pueden inducir la transcripción desde la polimerasa del ARNm, que en el caso de este gen es única. Y el comienzo de su acción da como resultado un solo tipo de adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) de pre/pro ARNm de renina. Una parte muy sustancial de la regulación fisiológica de la secreción de renina se genera sólo en ARNm. La velocidad de transcripción es incrementada por el AMPc⁹³, y tras haberse estimulado, se acelera la secuencia. La transcripción es inhibida por el aumento de angiotensina II en plasma, y es aumentada por los IECA⁹⁴, dietas hiperproteínicas⁹⁵, isquemia⁹⁶ y una dieta pobre en sodio, esté o no envuelta la mácula densa en el mecanismo⁹⁷. La transducción del ARNm de renina produce prorenina-prorenina, que tiene 406 aminoácidos^{97,98}. Al pasar al retículo endoplásmico, pierde 20 aminoácidos, pasando de prorenina a prorenina, y a continuación es glucosilada^{74,75}. La glucosilación afecta a su punto isoelectrico, su peso molecular y su vida media biológica y modifica la generación de renina activa desde la prorenina. La prorenina tiene oculto el grupo catalítico activo entre los dos lóbulos por la cadena de aminoácidos que la mantiene inactivada (prosegmento). Después de pasar al aparato de Golgi, es «empaquetada» en gránulos, de los que una parte se secreta como prorenina en forma constitutiva^{97,98}, mientras que los otros forman gránulos mayores por coalescencia y toman forma parecida a los lisosomas⁹⁹. Su transformación en renina secretable y activa se produce tras perder el prosegmento y disminuir su peso molecular, y es secretada por exocitosis^{100,101} (fig. 8).

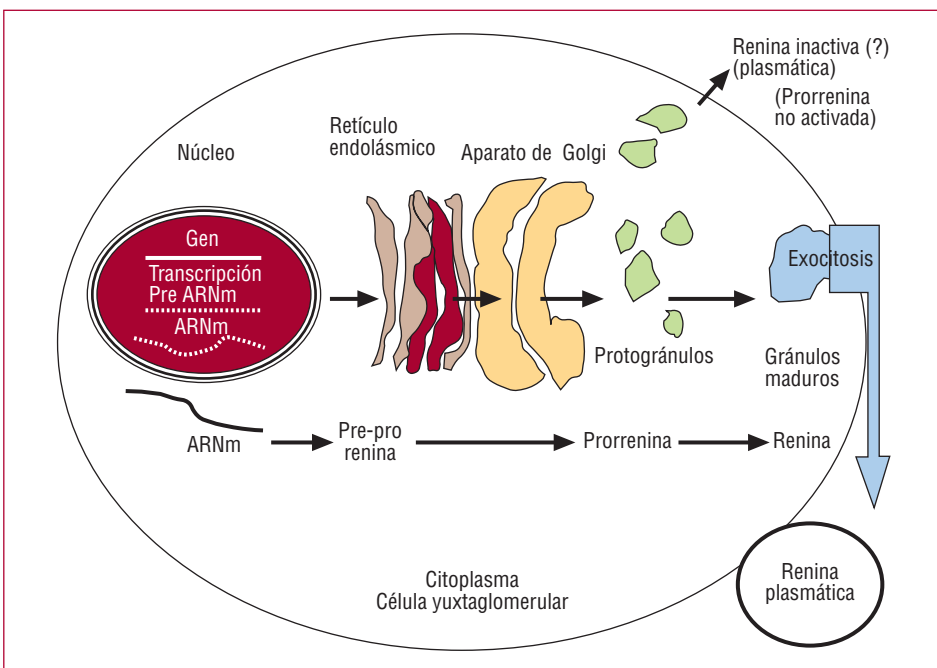


Fig. 8. Esquema del proceso de síntesis y secreción de renina-renina inactiva (prorenina).

La renina y la prorenina inactiva son fundamentalmente sintetizadas, almacenadas y secretadas por las células de la arteriola aferente glomerular. Yuxtaglomerulares y mioepitelioides, generadas por metaplasia de las musculares lisas vasculares¹⁰¹⁻¹⁰³. En la vida fetal, el contenido de renina de las nefronas es mucho más alto que en el adulto, y las células con contenido se extienden hasta las arterias arcuatas. Tras el nacimiento, disminuyen drásticamente y en pocos meses toman la distribución de adulto¹⁰⁴. Como era de esperar, el balance salino modifica el número de células con contenido en renina⁹⁸, aunque los mecanismos celulares de estas adaptaciones aún no son conocidos. Suele haber unas 20-50 células yuxtaglomerulares por nefrona, pero el número es muy variable y depende de su situación en el riñón: son más ricas en gránulos de renina las más corticales^{104,105}. La secreción a nivel del aparato yuxtaglomerular se produce de una forma cuántica o cuantificada por bloques/gránulos secretados¹⁰⁵, y se ha calculado en alrededor del millón de moléculas de renina por gránulo de secreción¹⁰³. La exocitosis se produce por aproximación/fijación del gránulo a la superficie interna de la membrana, y una vez ocurrida tras la estimulación de su secreción, disminuyen los gránulos intracelulares. Los gránulos maduros, que son reservas de renina, se hallaron en cantidad inversa al número de los de prorenina¹⁰³. La fisiología de este proceso es complejamente regulada por barorreceptores neurovasculares^{106,107}, las células renales tubulares en función de la detección de volúmenes y concentración de iones en la mácula densa^{108,109}, estímulos nerviosos renales a través de los receptores beta de las células yuxtaglomerulares¹¹⁰, la presión intersticial¹¹¹ y la situación de la circulación sistémica transmitida a través de receptores alfa modificados por la dinámica vascular¹¹² y el balance hidrosalino, sea secundario o no a acción de hormonas vasoactivas. También se demostraron activas hormonas locales o sistémicas prostanoideas¹¹³ o no¹¹⁴, endotelinas¹¹⁵, óxido nítrico¹¹⁶, calicreínas¹¹⁷, péptidos natriuréticos¹¹⁸ y oxitocina¹¹⁹.

PRORRENINA: RENINA TISULAR

Desconocemos por qué la prorenina (inactiva) circula normalmente en concentraciones más elevadas que las de renina y su significación no ha sido aclarada, pero parece evidente que la prorenina renal circulante puede ser activada periféricamente a renina y que en su situación intracelular en el riñón tiene un doble papel: *a*) de reserva, y *b*) que se pueda secretarla como producto activable para la generación de renina madura. Muchos procedimientos *in vitro* han demostrado que, en fluidos acelulares y tejidos no sintetizadores, existe la capacidad de generar renina a partir de prorenina, como el frío, la acidez del medio⁹⁵ (aunque es reversible)¹²⁰ y la proteólisis^{82,83,121}, pero no todos lo

han hecho *in vivo*. Hay evidencias de que se puede generar angiotensina tisular, independientemente de la circulante¹²¹⁻¹²³, y ello indujo a pensar que existiría «renina activa tisular». Y aunque hay constancia de que se encuentra actividad de renina en el tejido cardíaco¹²⁴, no hay evidencia alguna de capacidad de síntesis cardíaca, porque no es posible detectar ARNm en el tejido tras nefrectomía total¹²⁵, no es posible detectar actividad de renina cardíaca y los miocardiocitos aislados profundidos, adultos y de neonatos no generan renina ni prorenina^{126,127}. La concentración de renina detectada en el corazón no es diferente de la de renina circulante. Y de hecho, cuando se estudia el tejido cardíaco, la actividad de renina extraída es más alta de lo que cabría esperar de lo dicho¹²⁶⁻¹³⁰, lo que indica que la prorenina circulante se debe adherir a las células cardíacas por ligandos o receptores y ser generada por activación proteolítica. Idénticos o similares resultados se han obtenido en las paredes vasculares¹³¹ y en los órganos genitales¹³². Es cierto que determinados tejidos (ovarios, testículos) o las adrenales pueden generar prorenina activable¹³²⁻¹³⁴, y explicaría la presencia en los nefrectomizados^{125,129} y en tejidos sin capacidad de síntesis¹³⁵ y por qué la concentración de actividad de renina presente en tejidos, al revés que en plasma, es mayor que la de prorenina¹³⁵. De hecho, la renina circulante tras la nefrectomía bilateral desaparece del plasma más rápidamente que de los tejidos¹²⁵, efecto propio de la ligazón a receptores, a la par que se inducen cambios de glucosilación de prorenina, lo que podría modificar su afinidad por dichos receptores tras la nefrectomía. En la diabetes mellitus la diferencia de concentración de prorenina circulante con renina es mucho mayor que en los no diabéticos, y las elevadas concentraciones de ésta acompañan o preceden a la microalbuminuria y las lesiones vasculares. Aunque hay trabajos que tienen datos de posible síntesis de prorenina en las células vasculares oculares¹³⁴, su escaso número y el escaso flujo sanguíneo que mantienen hacen difícil entender que la gran concentración de prorenina circulante en el diabético provenga de los ojos. En el ser humano toda la renina que se halla en el plasma es de origen renal. Si hay binefrectomía, la renina desaparece. Lo único que queda en esta situación es una «forma de prorenina estimulable por tripsina», y en 1991 Kim et al¹³⁶ demostraron que la renina inactiva que quedaba en plasma tras la nefrectomía no era renina ni prorenina inactiva, por lo que dedujo que toda la prorenina inactiva circulante provenía también del riñón. La activación de prorenina ocurre en tejidos no sintetizadores por vías alternativas, como por la catepsina B¹³⁷, calicreínas y proconvertasa 1, generada «a forma de renina propia tisular»¹³⁸, y también persiste en los tejidos después de la nefrectomía total, y ligandos celulares la mantienen en los tejidos no secretores de prorenina vascular¹³⁹. Se ha demostrado también que tras acopla-

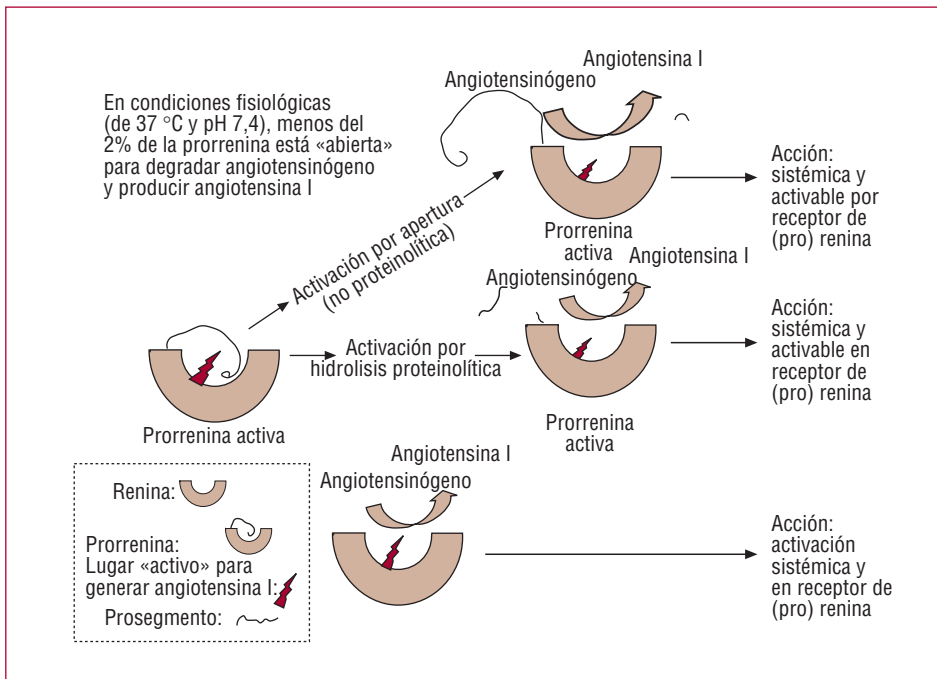


Fig. 9. Esquema del proceso de activación de prorenina, por las dos vías descritas.

miento al receptor son activadas por escisión proteolítica o no proteolítica del prosegmento molecular (fig. 9)^{131,140}.

RECEPTORES DE RENINA-PRORRENINA

Hay evidencias y/o serios indicios de la existencia de al menos tres receptores diferentes. Dos han sido identificados o caracterizados^{141,142}, y sólo hay indicios de un tercero¹⁴³. También se han identificado algunas proteínas de unión al receptor en tejidos de ratas¹⁴⁴. De ellas, sólo la fracción intracelular RnBP ha sido clonada y caracterizada¹⁴⁵, pero no parece ser un determinante de la actividad de la renina o de su metabolismo, y aún no se conoce más acción que la de ligando (fig. 10).

El primer receptor identificado fue el receptor manosa-6-fosfato, que es idéntico al receptor del factor II de crecimiento insulinoide (M6P/IGF-II) y contiene dominios para ambas proteínas: de las del IGF y de las manosilfosfatoproteínas, como la renina y la prorenina. Se unen a ambas con gran afinidad en los receptores de las células endoteliales humanas, pero no receptan la prorenina que no haya sido glucosilada. Después de la unión las internalizan, y la prorenina es inmediatamente transformada en renina por proteólisis del prosegmento¹³⁹⁻¹⁴¹ y no se expresa angiotensina II intracelular. Son lentamente degradadas, aunque podrían tener o conseguir activar un segundo mensajero tipo proteína-G^{140,141} del que la (pro) renina sería agonista a través de este receptor.

El receptor con indicios de existencia aún no clonado está basado en experiencias con anticuerpos contra

partes del prosegmento de prorenina por el grupo de Peters¹⁴³. Suzuki et al¹⁴⁶ propusieron que la prorenina tiene dos grupos moleculares («la puerta y la llave») de acceso a la zona enzimática activa, de tal forma que no precisaría proteólisis para ser activada, siempre que ambos puntos moleculares se mantengan indemnes. La puerta sería la región molecular T7pFKR15p y la llave, la región molecular I11pFLKR15p. Dado que esta región es crucial para el mantenimiento de su estado inactivo, la disociación de ambas permite a la prorenina ser activada sin proteólisis (figs. 9 y 10). Esos autores¹⁴³, usando ratas con expresión inducible del gen de renina *ren-2d* restringido al hígado, encontraron que la síntesis de renina se incrementaba, pero no sólo en relación con el incremento del *ren-2d*, sino con elevadas cantidades de prorenina *ren-2d*. Y los miocardiocitos internalizaban la prorenina *ren-2d*, pero no la renina *ren-2d*, y tras ello había activación no proteolítica de la prorenina. Dado que la prorenina *ren-2d* no está glucosilada, el proceso no puede ser atribuido a receptores M6P/IGF-II. Y ello significaría la existencia de un receptor que internalizaría la prorenina y podría generar activación no proteolítica de la prorenina¹⁴⁶, induciendo generación intracelular de angiotensina. Pero aún (2008) no ha sido caracterizado o identificado y se desconoce el receptor que la internalizó.

Nguyen et al¹⁴² y Sealey et al¹³⁰, usando (pro) renina marcada con yodo-131, demostraron receptores de unión de alta afinidad en células mesangiales y tejidos de rata, denominados Kd y 1nM. La renina producía, mediante ellos, el incremento de la incorporación de timidina marcada y la síntesis del inhibidor del activador del plasminógeno (como podría ocurrir con acti-

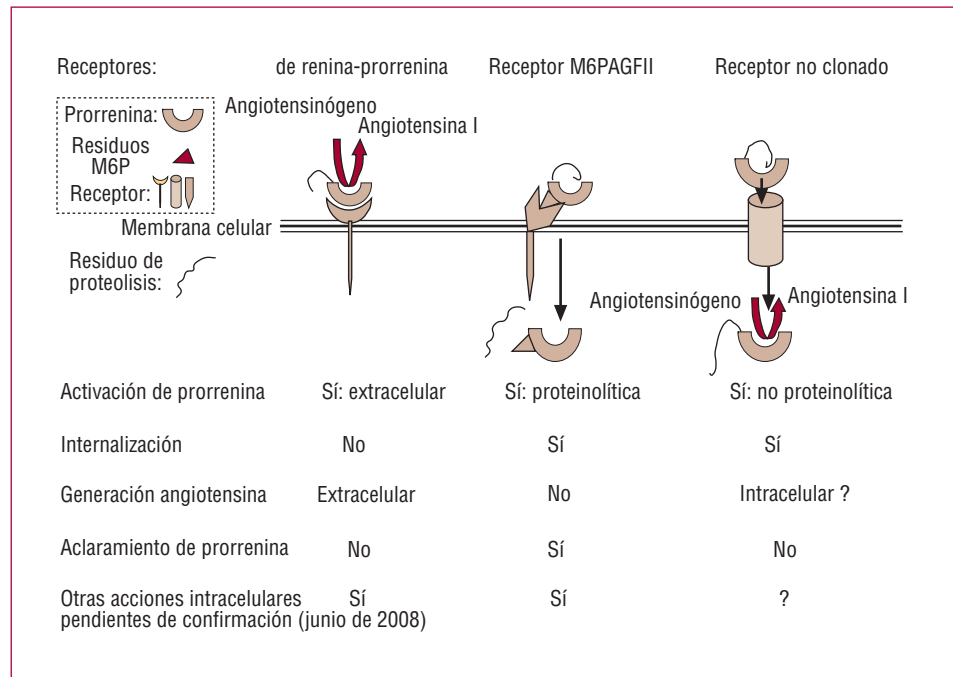


Fig. 10. Esquemas de la función conocida de los receptores clonados o sospechados.

vacación del receptor AT1 de la angiotensina)¹⁴². El receptor fue clonado de una librería de expresión de genes del riñón humano del adulto (GenBank: AF 291814)¹⁴², y sus investigadores lo denominaron «receptor específico». Tiene 350 aminoácidos, con un dominio transmembrana simple e identidad del 95% con el sector de membrana identificado previamente asociado a la proteína M8-9, cuyo significado fisiológico aún no se conoce. El receptor clonado se une bien a la renina y a la prorenina y, en contraste con los receptores previamente descritos, la superficie de la membrana unida a renina o prorenina no las internaliza ni degrada. Pero su unión a renina multiplica por 4 la generación de angiotensina I a partir del angiotensinógeno. El receptor, al ligarse a prorenina, la activa en forma no proteolítica. Esto hace suponer que la angiotensina II generada alcanza de inmediato el receptor celular AT1 tras la síntesis, sin abandonar el espacio extracelular. Pero además, y de forma inmediata, actúa como señal intracelular y genera la fosforilación de las proteincinasas activables por mitógenos p44 (ERK1) y p42 (ERK2). Cuando el receptor AT1 se bloquea con losartán, también se activan de forma inmediata las MAP cinasas p44 (ERK1) y p42 (ERK2), con lo que se demostró por vez primera efectos independientes de la angiotensina II y del receptor AT1, y generados directamente por activación del receptor por la renina/prorenina^{142,143}. Mediante histoquímica y técnicas de hibridación in situ, se ha localizado el receptor en células musculares lisas y en el corazón. Y en el riñón, en células yuxtarglomerulares, del tubo contorneado distal y del colector (figs. 9 y 10).

En estudios en vivo en la rata hecha diabética con estreptozocina, bloqueando la activación no proteolítica de la prorenina mediante un péptido «señuelo falso» que actuaría como «llave» de la región activa propuesta por Suzuki et al¹⁴⁶, se reducen las concentraciones de angiotensina I y II, se previene la aparición de la microalbuminuria y se retrasa la aparición de la nefropatía diabética¹⁴⁷. La idea de acción directa de la prorenina a través de su receptor fue avalada con la experiencia en la que se conseguía haciendo que hubiera sobreexpresión del receptor humano de (pro) renina en ratas, y ello incrementó la producción adrenal de aldosterona en plasma y la expresión de ciclooxigenasa en el tejido renal, sin que se incrementaran los niveles de angiotensina o de actividad de renina plasmática a la par que se incrementaba la síntesis de mediadores proliferativos celulares¹⁴⁸ y daño en órganos diana y progresión de nefrosclerosis¹⁴⁰. Si se confirmaran estas experiencias con ratas transgénicas, se demostraría que, en ausencia de generación de angiotensina, la (pro) renina podría ser activa en la producción de acciones fisiológicas o nocivas intracelulares de forma directa y de señal de inicio de procesos intracelulares de síntesis, crecimiento, fibrosis y apoptosis. En 2006 Huang et al¹⁴⁸ publicaron el incremento de factor de crecimiento transformador beta 1 (TGFβ₁) y de proteínas matriciales a través del estímulo del receptor de prorenina, independiente del mecanismo de producción de angiotensina II. Todo ello puede ser considerado una vía lesiva independiente de la angiotensina II (fig. 11). Inagami y su grupo han demostrado el papel que la sobreexpresión podocitaria de receptor de prorenina es factor decisiva

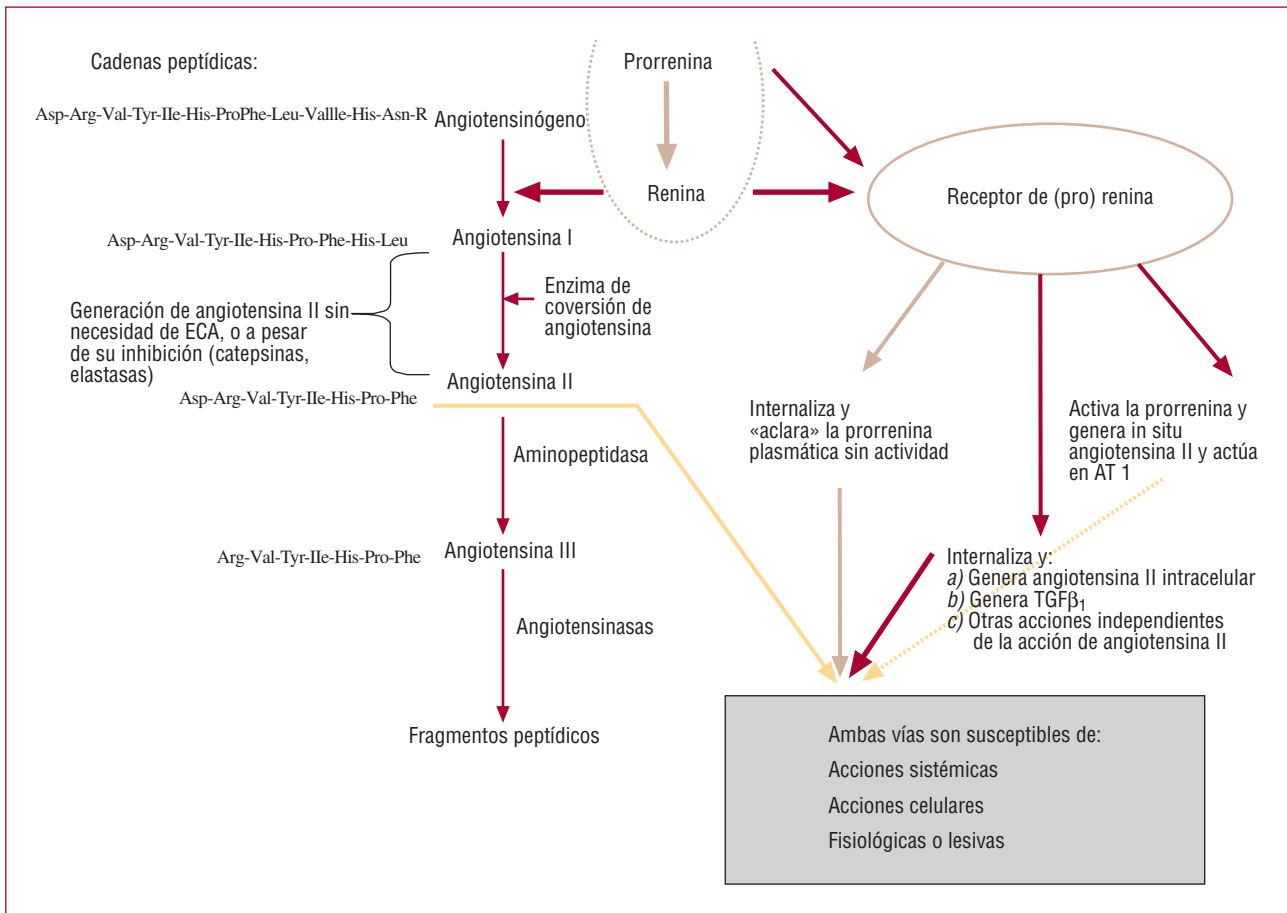


Fig. 11. Las dos vías de actuación del sistema de renina, ambas conceptualmente inhibibles. También llamada «las dos caras de la renina».

vo en la hiperfiltración glomerular y el mantenimiento de la barrera de la membrana basal¹⁴⁰.

MECANISMOS LESIVOS: PRESIÓN, INFLAMACIÓN, INMUNOESTIMULACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO

Desde el comienzo, se relacionaron las concentraciones de renina con la toxicidad vascular inducida. En 1940 Winternitz et al¹⁴⁹ indujeron arteriolitis necrosante inyectando «extractos de riñones isquémicos» en animales o ligando las arterias renales, con lo que al componente presor renal se añade la imposibilidad de usar el componente de escape excretor renal. Otros autores, en otros modelos de hipertensión, confirmaron la letalidad de la renina¹⁵⁰, especialmente la HTA inducida por DOCA-SAL¹⁵¹, donde aceleraban bruscamente el daño vascular por inyecciones de extractos de renina. Weinberger et al¹⁵² aportaron datos de la vasculotoxicidad y pronto aparecieron trabajos clínicos^{153,154}. Como en las hipertensiones aceleradas o severas en la clínica el deterioro vascular no se correlaciona con los valores plasmáticos de renina circulante, y sí con balances positivos de sodio y cifras de

presión arterial muy elevadas, en 1969 Byron¹⁵⁵ indujo a la aceptación tácita de que el deterioro vascular depende exclusivamente de las cifras de presión. En 1972, Brunner et al¹⁵³, en un estudio retrospectivo de 219 pacientes, encontraron correlación entre el perfil de actividad de renina plasmática y el deterioro vascular, y aunque fue defendido por otros grupos, también fue puesto en duda y criticado. El mayor estudio efectuado no encontró relación de riesgo cardiovascular y perfil de renina en 1983, y sí lo hallaron en 1991^{156,157}, aunque sólo como factor de riesgo de infarto de miocardio. Pero otros autores lo hallaron con el riesgo renal y la proteinuria en hipertensión¹⁵⁸. El sistema de la renina, definido inicialmente como sistema hormonal regulador del balance de sodio, presión arterial y secreción de aldosterona, ahora se definía también como implicado en la fisiopatología de acciones promotoras de lesiones de órganos e hipertrofia de las células musculares vasculares, remodelamiento cardíaco, estenosis y reestenosis coronarias, fibrinólisis reducidas y fibrosis¹⁵⁸, todas acciones para las que es preciso que haya estimulaciones y señalizaciones continuas, crónicas y no necesariamente dependientes de la dosis.

La primera demostración de acciones lentas de renina ocurre en 1963. Dickinson et al¹⁵⁹, usando ratones conscientes, necesitaron 2 días de perfusión continua de angiotensina para elevar la presión de los animales con dosis «subpresoras», lo que se conseguía de forma inmediata con dosis altas, probablemente porque se activaban contramecanismos vasculares y sistémicos. Ante la persistencia de la perfusión, aparecían otras modificaciones propias de la perfusión de renina, como aumento de actividad simpática, insomnio, sed, antidiuresis, hipertrofia vascular, factores de crecimiento, sensibilidad a la sal y retención hidrosalina. Pero no se consiguió mantener las presiones elevadas más que días, a pesar de continuar la perfusión, por probable fenómeno de escape del sistema. Mantenido durante largos periodos con dosis subpresoras, aparecían lesiones y se establecía hipertensión, que se mantenía a pesar de suspender la perfusión¹⁵⁹. No ocurre lo mismo con la hipertensión inducida por inyección de dosis «presoras-equivalentes» de noradrenalina, pues su suspensión baja la presión arterial de manera inmediata¹⁶⁰. Se confirmaron los resultados en el deterioro vascular de forma crónica en animales y el hombre mediante bombas de infusión continua, y se confirmó que «la miríada de efectos de la angiotensina II no depende sólo de la intensidad (concentraciones elevadas), sino del tiempo (crónico) y el tipo de tejido donde actúa».

Pero la activación del sistema para generar angiotensina II no es la única forma de lesión celular del sistema, y el mecanismo mediado por receptores muy seguramente es pivote fundamental del entramado acción lesiva celular de la renina/prorenina (fig. 11)^{148,161,162}. Desde 1990 sabemos mediante estudios de ratas transgénicas que la inclusión de genes de renina de una especie en el genoma de otra induce una hipertensión arterial con deterioro vascular fulminante no controlable¹⁶³. En 1998, en el modelo de rata transgénica que sólo expresa prorenina en hígado, y no en el riñón¹⁶⁴, se conseguía demostrar experimentalmente daño vascular sin llegar a producirse elevación de presión arterial, con lo que se demostró la disociación de la acción de prorenina-presora frente a la vasculotóxica como «duales mecanismos lesionales independientes» de un mismo sistema. Y la renina-prorenina, a través de su receptor de membrana celular, es capaz de producir incrementos de mediadores proinflamatorios como el TGFβ₁, que aumenta la síntesis de proteínas de la matriz de las células mesangiales, «de forma completamente independiente de los mecanismos de la angiotensina II» (que se puede estudiar en la expresión de receptores del podocito glomerular y la hiperfiltración inducida)^{140,148,162}.

Desde el siglo pasado, conocemos las interacciones del sistema con mediadores vasculares (óxido nítrico, prostaglandinas, péptidos natriuréticos, endotelina), en la fisiopatología de la hipertensión, el manejo de sal y

las lesiones vasculares^{161,165,166}. Las acciones proinflamatorias deletéreas de los niveles subpresores de renina y angiotensina II guardan un parecido extremo con los modelos humanos de inflamación de bajo grado^{162,167}. En el estudio HOORN vieron la relación de la morbimortalidad cardiovascular con la disfunción endotelial, la glucemia y la inflamación de bajo grado en la diabetes mellitus tipo 2 (modelo humano con gran concentración de prorenina circulante) y la compararon con la de los no diabéticos. Los tres parámetros estuvieron asociados a la diabetes mellitus tipo 2 en un corte. Todos fueron factores independientes de riesgo de morbimortalidad cardiovascular y tras 17,5 años de seguimiento la inflamación fue significativamente superior respecto a los no diabéticos, estaba fuertemente asociada al grado de disfunción endotelial¹⁶⁸ y era el mayor predictor de mortalidad. La correlación hallada de las concentraciones plasmáticas de marcadores de inflamación crónica con el deterioro hipertensivo es tan estrecha que la proteína C reactiva no sólo se ha correlacionado con el daño vascular sistémico, y como marcador de un estilo de vida¹⁶⁹, sino que se ha propuesto como predictor de hipertensión arterial en el ser humano^{170,171}. La acción proinflamatoria de la renina con la generación de angiotensina II está sobradamente demostrada^{166,172,173}. En el cambio de siglo se desvelaron las acciones mediadas por la angiotensina II celular y la relación que tiene con mediadores de acciones metabolovasculares^{174,175} que contribuyen en múltiples mecanismos, hasta en la regulación del metabolismo, como por ejemplo a través del tejido adiposo^{166,175}, comportándose como factor de crecimiento, regulando hormonas como las adipocinas o las leptinas, regulando flujos regionales y la sensibilidad a la insulina, donde especialmente se interrelacionan la inflamación, el estrés oxidativo y las células inmunocompetentes^{161,165-167}. En el caso concreto de estos tejidos, por continuar con el mismo ejemplo, actúan sobre células inmunocompetentes (macrófagos y linfocitos) del tejido adiposo¹⁷⁶. Es de tal importancia la interrelación con el sistema inmunitario que, experimentalmente en ratones transgénicos RAG-1 (que no pueden generar linfocitos T y B), al ser sometidos a infusiones de renina, angiotensina o DOCA con sal, mantienen la presión arterial del control basal o normal y no desarrollan lesiones vasculares. Pero si se les transfieren linfocitos T, se restauran las lesiones y la elevación tensional, a la par que se genera una intensa actividad de la NADPH oxidasa que les produce intenso estrés oxidativo y daño vascular¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. Ello podría explicar la observación de que en determinados pacientes hipertensos pero sin afección renal y con procesos sistémicos que ocasionan inmunidad alterada, o se originan con ella (psoriasis, artritis reumatoide y otros), el tratamiento inmunosupresor hace más controlable la hipertensión y protege de las lesiones vasculares inducidas por el sistema renina-angiotensina¹⁷⁹. Esto permite

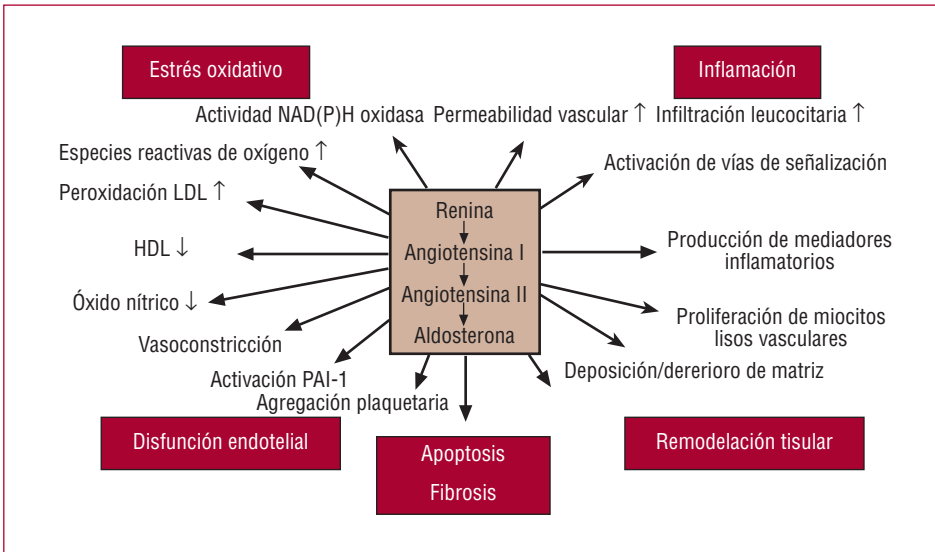


Fig. 12. Esquema de algunas acciones lesivas del sistema comentadas en el texto.

sospechar que la acción inmunógena del sistema de la renina tiene trascendencia clínica¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. Y hay comprobaciones del protagonismo de los niveles de actividad de renina en el incremento o la represión de otras señales celulares que pueden influir en la expresión de genes, transmisión, secreción y liberación de citocinas proinflamatorias, y modificación de metaloproteasas matriciales vitales para su mantenimiento celular fisiológico^{148,161,162,165,178}, y son situaciones capaces de activar la vía del estrés oxidativo celular a través de la NADPH, lo que conduce a deterioro del ADN y, consecuentemente, fibrosis y apoptosis¹⁸⁰ (fig. 12). Los estudios epidemiológicos de intervención, «megaensayos» sobre morbimortalidad en diabéticos e hipertensos (LIFE, HOT, HOPE, SCOPE, INVEST,

PREVENT, etc.), confirman la evidencia del beneficio que el bloqueo de la acción del sistema tiene para contrarrestar la plétora de los eventos deletéreos sucesivos que ha sido muy resumida gráficamente el «continuo cardiovascular»¹⁸¹ (fig. 13).

INHIBIDORES DE LA RENINA: INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO HASTA SU APROBACIÓN PARA USO EN CLÍNICA

La historia de la investigación de la renina es simultánea a la búsqueda del bloqueo de su acción. Conceptualmente, las dianas para bloquear el sistema irían desde el bloqueo del estímulo de la expresión genética, y su origen en el gen, hasta el receptor del efector

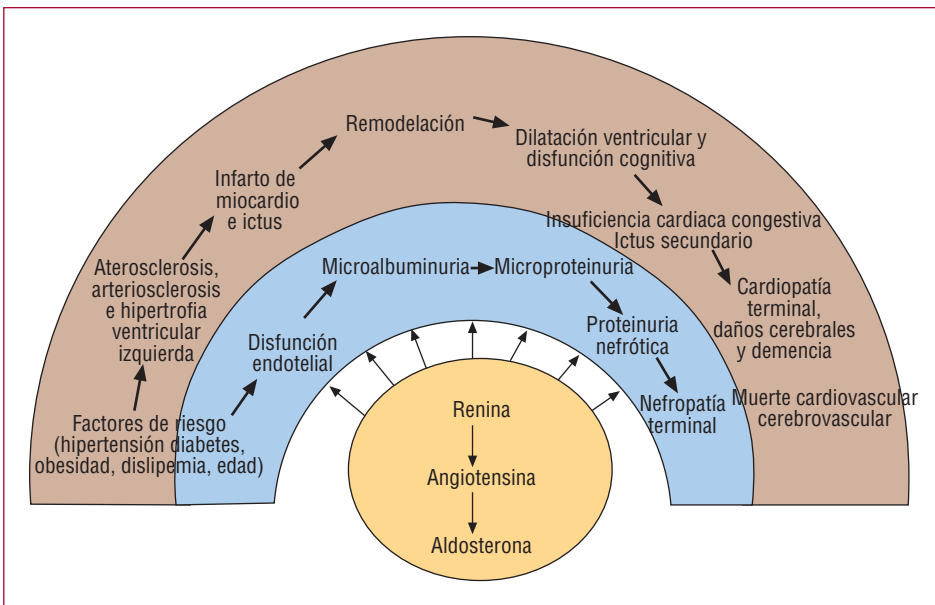


Fig. 13. Modificación del continuo cardiovascular de Dzau y Braunwald.

TABLA 1. Inhibición de la renina

Biosíntesis	Bloqueo del mensaje genético (no descrito)
Secreción	Bloqueadores beta (inespecíficos)
Maduración	Inhibidores del proceso de la prorenina (en investigación)
Modificación de la actividad	Anticuerpos específicos Análogos del sustrato inactivos (señuelos, receptores de escisión inactivos)
Inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECA)	Anulación del grupo activo: péptidos generales inhibidores de proteinasas ácidas, análogos peptídicos relacionados con la secuencia aminoterminal de precursores (estatinas, estatonas, alcoholes aminados, ácidos oílicos, etc). Análogos no peptídicos sintéticos (aliskiren)
Bloqueo competitivo de receptores	Saralasin ARA-II
¿Bloqueo de receptores de prorenina?	

(tabla 1). En la historia real de los inhibidores estudiados, han sido cuatro los procedimientos seguidos hasta la fecha: *a)* anticuerpos específicos; *b)* inhibidores enzimáticos de la conversión; *c)* bloqueadores de receptores de angiotensina II, y *d)* péptidos inhibidores de proteinasas y/o relacionados con las secuencias de los aminoácidos escindibles de los precursores de renina, análogos del sustrato.

Los primeros inhibidores de renina experimentales fueron la producción de anticuerpos y la inmunización activa de animales de laboratorio^{39-41,44}. Los anticuerpos inespecíficos se generaron a partir de extractos crudos de renina poco purificados, y las respuestas inmunitarias a anticuerpos más específicos y monoclonales han sido heterogéneas⁴². Se ha conseguido producir anticuerpos muy puros contra la angiotensina II, que bloquean la acción hipertensiva en animal de experimentación y en clínica. Pero la imposibilidad de la vía oral, la poca vida media útil y la creación de anti-anticuerpos los hacían no operativos en clínica. Se intentó la inmunización activa contra la angiotensina II, pero los resultados fueron sorprendentes: los animales inmunizados desarrollaron hipertensión vascular por estenosis de las arteriales renales. En contraste, en ratas hechas hipertensas con estenosis de arteria renal, el marcado descenso inicial de los valores de presión arterial no fue definitivo¹⁸². Ya se había apreciado en Glasgow en 1970, cuando producíamos

anticuerpos antiangiotensínicos en el laboratorio para elaborar los reactivos del radioinmunoanálisis. La explicación era evidente: la generación de angiotensina II por la estimulación de la renina es muy superior al bloqueo por el sistema inmunitario¹⁸³.

El precoz hallazgo de la síntesis de la ECA permitió la investigación y el desarrollo de inhibidores (IECA) a partir de venenos de serpientes, y fueron los primeros útiles en clínica por vía oral tras el desarrollo del captopril por Ondetti y Cushman¹⁸⁴. El bloqueo de la ECA genera incremento de angiotensina I circulante, y existen enzimas capaces de actuar sobre ella y generar angiotensina II, como la catepsina G y la elastasa, y tener fenómeno de escape, lo que teóricamente limitaría su acción^{185,186}. Su acción de inhibición catalítica de degradación de bradicininas, probablemente de encefalinas y quizá otros péptidos biológicos menos significativos, hizo que tuviera efectos secundarios y obligó a utilizar dosis menores¹⁸⁷, sin que ello pueda ocultar el avance que significaron y el beneficio de su utilización en la clínica diaria, demostrado en los estudios epidemiológicos de intervención, observacionales y de todo tipo de evidencias. Aunque aún no se conocen los posibles efectos no deseados del incremento inducido de la concentración de renina y existe fenómeno de escape del sistema¹⁸⁶ (fig. 14), sirvieron para utilizarlos en clínica y confirmar los argumentos que se tenía para conseguir el bloqueo del sistema en la clínica.

Fig. 14. Cuadro comparativo de la acción sobre sustancias vasoactivas del bloqueo de componentes del sistema y de bradicininas.

	Enzimas		Sustratos		Productos finales		
	Act Ren P	Conc Ren	Sustrato Ren	Angio I	Bradykinina	Angio II	Ald
Bloqueadores beta	-	-	ND	-	ND	ND	ND
Inhibidores de renina	-	-	ND	-	ND	-	-
IECA	+	+	-	+	+	-	-
ARA-II	+	+	-	+	ND	+	-
IECA + ARA-II	++	++	ND	ND	ND	ND	--

Act: actividad, Ren: renina, P: plasmática, Conc: concentración, Ald: aldosterona, Angio: angiotensina, IECA: inhibidores enzima de conversión, ARA: bloqueadores de receptores de angiotensina II
 - Descenso, + Ascenso, ND: no determinado.

Otro intento exitoso de bloqueo del sistema fue bloquear la acción competitiva por el receptor de angiotensina II con péptidos similares no activos, sintetizados en el laboratorio. De todos ellos, la saralasin (sarcosina 1-alanina 8-angiotensina II) fue la más eficaz y utilizada en el laboratorio y en pocos casos en clínica en los años setenta. En 1974 había no menos de 229 péptidos sintetizados competidores del receptor¹⁸⁸. Davis¹⁸⁹ hizo una revisión del estudio del sistema del bloqueo de la acción del receptor de angiotensina II, con resultados positivos en animales, pero no fueron útiles por su escasa vida media útil y la necesidad de reiteradas dosis por vía parenteral, aparte de su acción agonista a bajas dosis (no hipotensoras) y que, al administrarlas a largo plazo, producen hipertensión similar a las dosis bajas de angiotensina II. El hecho de ser péptidos poco complejos favoreció su síntesis y su investigación, pero los incapacitó para utilizarlos vía oral. En 1982 Furukawa, Kishimoto y Nishikawa, en Osaka, obtenían las patentes de derivados imidazólicos de la angiotensina que producían hipotensión (U.S. Patent 4,340,598 issued to Takeda Chemical Industries Ltd Osaka, Japan). Sus hallazgos fueron desarrollados por Timmermans et al¹⁹⁰ y llevaron a la síntesis del primer bloqueador no peptídico de los receptores de la angiotensina. Fue el inicio de una cadena de moléculas útiles, de las que se demostró eficacia al menos equivalente a la de los IECA, con menos efectos secundarios y buenos resultados en la terapia cardiovascular, especialmente en la hipertensión y la diabetes. La heterogeneidad de los receptores¹⁹¹ hace que las distintas moléculas antagonistas puedan tener diferentes afinidades al receptor, fijación, tiempo de acción y capacidad de bloqueo. A pesar de que no conocemos las consecuencias del incremento por retroestimulación de la síntesis de renina, que se asocian a mayor morbimortalidad cardíaca y renal^{156,157} (fig. 14), no se puede disminuir la importancia de haber sido la herramienta más útil hasta la fecha para el control de la hipertensión y el daño vascular en la clínica.

En 1968, el grupo de Skeggs había hecho muchos intentos de inhibir la renina mediante la utilización de péptidos como falsos señuelos del angiotensinógeno. El resultado fue el octopéptido que se definió como «el mínimo sustrato de renina», y era un inhibidor débil e inespecífico¹⁹². En 1980 se publicó el primer inhibidor de renina efectivo *in vivo*¹⁹³, que no era muy potente pero controló la hipertensión arterial en primates. Para conseguir inhibidores más potentes, con mayor fijación al grupo activo, se sustituyó el «puente entre aminoácidos escindible por la renina» con estatina¹⁹⁴ (aminoácido poco usual, presente en la pepstatina), y posteriormente con muchas variables: estatinas y péptidos no hidrolizables, difluoroestatina, difluoroestato-na y difluoroaminodesoxiestatina¹⁹⁵, ésta, potente a rangos nanomolares. Su escasa vida media obligó a buscar otros compuestos como pseudopéptidos, aminos

secundarias, hidroxiiisoésteres, ácido aminoolefínico, alcoholes aminados o isómeros de ácido fosfatínico y/o modificación de los terminales carboxílicos, o aminados, o conformar análogos con grupos restringidos, compuestos epoxídicos o con péptidos cíclicos. Todos precisan la vía parenteral. El paso siguiente fue utilizar miméticos peptídicos y análogos dipeptídicos como remikiren¹⁹⁶. Eran potentes, pero por vía oral perdían actividad y tenían corta duración de acción⁶¹. El paso más importante fue la utilización de compuestos no peptídicos, pero con apariencia similar al sustrato al ser escindido, y que ocuparan el lugar del sustrato fisiológico en el grupo activo de renina. Compuestos de diseño, obtenibles gracias a las técnicas cristalográficas, caros y difíciles de obtener por su especial estructura, donde existen átomos que soportan cuatro puntos sustituyentes y forman centros quirales⁶¹. Para poder fabricarlos a coste soportable, se precisó de nuevas técnicas de «retrosíntesis», dividiendo imaginariamente la molécula en compuestos más fácilmente obtenibles (sintones) y a continuación consiguiendo la síntesis de forma independiente, para un posterior ensamblaje que se haría a partir de similitudes de sus centros quirales. Una vez unidos, forman la molécula. En este caso son tres sintones sintetizados, a través de una hidrogenación enantioselectiva por reacción enzimática catalizada por rodio, a través de una reacción enzimática catalizada por una esterasa de un éster racémico, por medio de aminólisis estérica. Una vez sintetizados, se unen a través de centros quirales y el resultado es aliskiren⁶¹.

Hollemberg, en un trabajo parecido a un metaanálisis, comparaba IECA con inhibidores pseudopeptídicos y no peptídicos (remikiren, zaskiren, aliskiren). Demostró que la disminución de resistencias vasculares intrarrenales (determinante en la prehipertensión y el comienzo de la hipertensión arterial esencial) y la mejoría del flujo plasmático renal eran superiores con el bloqueo de renina que con otros bloqueadores del sistema (IECA o antagonistas de los receptores de la angiotensina II [ARA-II]), de los que el más potente es aliskiren¹⁹⁷. Además, demostró que es activo por vía oral, tiene una larga vida media y controla la hipertensión arterial en ratas espontáneamente hipertensas y en otros modelos experimentales, con o sin depleción de sodio, transgénicos o no, con una sola dosis diaria. Controlando el desarrollo de hipertrofia cardíaca, la aparición de microalbuminuria o proteinuria y las lesiones renales y aumentando la supervivencia en comparación con los animales controles de los distintos modelos⁶¹. En la investigación clínica en fase I-II demostró la relación dosis-respuesta del descenso tensio-nal, eficacia en el control de la hipertensión con monoterapia y dosis única y eficacia en la combinación con otros hipotensores¹⁹⁸ y seguridad y eficacia en diferentes grupos de edad y de razas, así como en diferentes procesos patológicos asociados o no a hipertensión,

como en diabetes, insuficiencia renal o con disfunción hepática^{61,198,199}. En 2008, no hay duda de que es el primer inhibidor de renina/prorrenina activada utilizable en clínica. Y es relevante que haya indicios de que la prorrenina podría ser agonista del receptor específico de Nguyen et al²⁰⁰. Sería trascendente confirmar esta posible acción de la prorrenina, pues significaría una retroalimentación positiva del sistema, y el aliskiren podría inhibir ambas, lo que no es así con otros bloqueadores del sistema²⁰¹.

La aprobación por la FDA y la EMEA basó su informe de seguridad en estudios llevados a cabo en 11.566 pacientes tratados, y significó que después de más de 100 años pudimos bloquear en pacientes el sistema en su origen. Cierra otra página de su historia y abre otras, donde lo que queda aún por hacer es mucho más de lo hecho, y es especialmente intrigante conocer las posibles acciones de la (pro) renina a través de sus receptores^{200,201}.

Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Brighr R. Tabular view of the morbid appearances in 100 cases connected with albuminous urine. With observations. *Guy's Hosp Rep.* 1836;1:380-9.
- Patterson SW, Starling EH. On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol.* 1914;48:357-65.
- Bernard C. Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. Paris: JB Baillière; 1859.
- Cannon WB. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. New York: Appleton; 1915.
- Selye H. Transformation of the kidney into an exclusive endocrine organ. *Nature.* 1946;158:131-7.
- Tigerstedt R, Bergman N, Kreislauf PG. *Skandinavisches Archives für Physiologie.* 1898;8:223-71.
- Houssay BA, Taquini AC. Acción vasoconstrictora de la sangre venosa del riñón isquemiado. *Rev Soc Argent Biol.* 1938;14:5-11.
- Peart WS. Hypertension and the kidney. I. Clinical, pathological, and functional disorders, especially in man. II. Experimental basis of renal hypertension. *Br Med J.* 1959; 1353:1421-9.
- Bishop T, Figueredo VM. Hypertensive therapy: attacking the renin-angiotensin system. *West J Med.* 2001;175:119-24.
- Loesch J. Further observations in experimental nephritis. *Arch Path.* 1927;4:495-6.
- Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: I. Production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exper Med.* 1934;59:347-54.
- Goldblatt H, Kahn JR, Lewis HA. Studies on experimental hypertension. XIX. The production of persistent hypertension in sheep and goats. *J Exp Med.* 1943;77:297-307.
- Goldblatt H. Experimental renal hypertension: mechanism of production and maintenance. *Circulation.* 1958;17:642-7.
- Simble MM, Taylor AR, Collings HD, Hays HW. Preparation and bioassay of renin. *Am J Physiol.* 1939;127:768-79.
- Page IH, Mac Cubbin JW. Renal hypertension. Chicago: Year Book Medical; 1968. p. 36.
- Page IH, Helmer OM. Crystalline pressor substance resulting from reaction between renin and renin-activator. *J Exper Med.* 1940;71:29-35.
- Braun-Menendez E, Fasciolo JC, Leloir LF, Muñoz JM. Substance causing renal hypertension. *J Physiol.* 1940;98:283-8.
- Pickering GW, Prinzmetal M. Some observations on renin, a pressor substance contained in normal kidney, together with a method for its biological assays. *Clin Sci.* 1938;3:211-9.
- Leloir LF, Muñoz JM, Braun-Menendez E, Fasciolo JC. Dosaje de la renin. *Rev Soc Argent Biol.* 1940;16:635-41.
- Haber E, Page LB, Jacoby GA, Khairallah PA, Bumpus FM, Page IH, et al. Angiotensinase with a high degree of specificity in plasma and red cells. *Science.* 1963;140:672-9.
- Scaechtelin G, Baechtold N, Haefeli L, Regoli D, Gaudry-Paredes A, Peters G. A renin inactivating system in rat plasma. *Amer J Physiol.* 1968;215:633.
- Helmer OM, Judson WE. The quantitative determination of renin in the plasma of patients with arterial hypertension. *Circulation.* 1963;27:1050-62.
- Boucher R, Genest J. Measurement of renin and angiotensin. En: Page IH, Bumpus FM, editores. *Angotensin.* Berlin-Heidelberg: Springer; 1974. p. 202.
- Pickens PT, Bumpus FM, Lloyd AM, Smeby RR, Page IH. Measurement of renin activity in human plasma. *Circ Res.* 1965;17:438-43.
- Page IH, Dustan HP, Bumpus FM. A commentary on the measurement of renin and angiotensin. *Circulation.* 1965;32: 513-4.
- Haas E, Gould AB, Goldblatt H. Estimation of endogenous renin in human blood. *Lancet.* 1968;1:657-61.
- Lever AF, Robertson JIS, Tree M. The estimation of renin in plasma by an enzyme kinetic technique. *Biochem J.* 1964;91:346-52.
- Brown JJ, Davies DL, Lever AF, Robertson JI. Plasma renin concentration in human hypertension. II. Renin in relation to aetiology. *Br Med J.* 1965;20;2:1215-9.
- Skeggs LT, Kahn JR, Lentz K, Shumway NP. The preparation, purification and aminoacid sequence of a polypeptide renin substrate. *J Exp Med.* 1957;106:439-46.
- Pickering GW. Concluding remarks of international symposium on angiotensin, sodium, and hypertension. *Can Med Assoc J.* 1964;90:340-2.
- Braun-Menendez E, Page IH. Suggested revision of nomenclature: Angiotensin. *Science.* 1958;127:242-5.
- Skeggs LT, Kahn JR, Shumway NP. The isolation of the hypertensin from the circulation blood of normal dogs with experimental renal hypertension by dialysis in an artificial kidney. *Circulation.* 1951;3:384-9.
- Skeggs LT, Marsh WH, Kahn JR, Shumway NP. The existence of two forms of hypertensin. *J Exp Med.* 1954;99:275-81.
- Skeggs LT, Kahn JR, Shumway NP. The preparation and function of the hypertension converting enzyme. *J Exp Med.* 1956;103:295-62.
- Skeggs LT, Lentz KE, Kahn JR, Sumway NP, Woods KR. The aminoacid sequence of hypertensin II. *J Exp Med.* 1956;104:193-7.
- Skeggs LT, Kahn JR, Lentz K, Shumway NP. The synthesis of a tetradecapeptide renin substrate. *J Exp Med.* 1958;108:283-7.
- Fasciolo JC. Historical background on the renin-angiotensin system. En: Genest J, Koiw E, Kuchel O, editores. *Hypertension.* New York: McGraw Hill; 1977. p. 134-9.
- Johnson CA, Wakerlin GE. Antiserum for renin. *Proc Soc Exper Biol Med.* 1940;44:227-32.
- Wakerlin GE. Antibodies to renin as proof of the pathogenesis of sustained renal hypertension. *Circulation.* 1953;17:653-7.

40. Deohdar SD, Haas E, Goldblatt H. Production of antirenin to homologous renin and its effect on experimental renal hypertension. *J Exp Med.* 1964;119:425-32.
41. Haas E, Goldblatt H, Gipson EC. Extraction, purification and acetylation of human renin and the production of antirenin to human renin. *Arch Biochem Biophys.* 1965;110:534-43.
42. Goldblatt H, Haas E, Lamfrom H. Antirenin in man and animals. *Trans Assoc Am Phys.* 1951;64:122-7.
43. Nochy D, Barrés D, Camilleri JP, Bariety J, Corvol P, Menard J. Abnormalities of renin-containing cells, in human glomerular and vascular renal disease. *Kidney Int.* 1983;23:375-9.
44. Goodfriend TL, Levine L, Fasman GD. Antibodies to bradykinin and angiotensin. A use of carbodiimides in immunology. *Science.* 1964;144:1344-61.
45. Haber E, Koerner T, Page LB, Kliman B, Purnode A. Application of a radio-immunoassay for angiotensin II to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969;29:1349-55.
46. Giese J, Jorgensen M, Nielsen MD, Lund JO, Munk O. Plasma renin concentration measured by use of radioimmunoassay for angiotensin I. *Scand J Clin Lab Invest.* 1970;26:355-67.
47. Dusterdreck G, McElwee G. Iodination of angiotensin II and purification of the labelled hormone. En: Yalow R, Bergson G, editores. *Radioimmunoassay methods.* Edinburgh-London: Livingstone; 1971. p. 24.
48. Pickering G. Renin in disease. En: Pickering G, editor. *High blood pressure.* London: Churchill; 1968. p. 131-7.
49. Brown JJ, Davies DL, Lever AF, Robertson JLS. Influence of sodium loading and sodium depletion on plasma-renin in man. *Lancet.* 1963;2:130-6.
50. Brown JJ, Davies DL, Lever AF, Robertson JLS. Variations in plasma renin concentration in several physiological and pathological states. *CMAJ.* 1964;90:201-3.
51. Brown JJ, Davies DL, Lever AF, Robertson JLS. Plasma renin concentration in human hypertension. 1: Relationship between renin, sodium and potassium. *Br Med J.* 1965;2:144-9.
52. Brown JJ, Davis DL, Lever AF, Peart WS, Robertson JLS. Plasma concentration of renin in a patient with Conn's syndrome with fibrinoid lesions of fove renal arterioles: the effect of treatment with spironolactone. *J Endocr.* 1965;33:279-83.
53. Brown JJ, Litchfield JW, Wright AD. Familial and multiple pheochromocytomas. *Postgrad Med J.* 1966;42:203-7.
54. Brown JJ, Davies DL, Doak PB, Lever AF, Robertson JLS, Trust P. Plasma renin concentration in fove hypertensive diseases of pregnancy. *J Obstet Gynaec Br Commonw.* 1966;73:410-5.
55. Davies DL, Robertson JW. Simultaneous measurement of total exchangeable potassium and sodium using 43 K and 24 Na. *Metabolism.* 1973;22:133-7.
56. Cleland JC, Dargie HJ, Robertson I, Robertson JJ, East BW. Total body electrolyte composition in patients with heart failure: a comparison with normal subjects and patients with untreated hypertension. *Br Heart J.* 1987;58:230-8.
57. Gross F, Brunner H, Ziegler M. Renin-angiotensin system, aldosterone and sodium balance. *Recent Prog Hormone Res.* 1965;21:119-23.
58. Borwn JJ, Davies DL, Lever AF, Parker RA, Robertson JLS. The assay of renin in single glomeruli and the appearance of the juxtaglomerular apparatus in the rabbit following renal artery constriction. *Clin Sci.* 1966;30:223-8.
59. Groos F. Location of renin in kidneys and extrarenal issues: discussion. *Circulation Res.* 1967;21 Suppl 2:12-9.
60. Groos F. Adrenocortical function and renal pressor mechanisms in experimental hypertension. En: Bock KD, Cottier PT, editores. *Essential hypertension. An international symposium.* Berlin: Springer; 1960. p. 124-9.
61. Jensen C, Herold P, Brunner HR. Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nature Reviews Drug Discovery/AOP* [citado 14 May 2008]. Disponible en: www.nature.com/reviews/drugdisc
62. Schalekamp MADH, Schalekamp-Kuyken MPA, Birkenhager WH. Abnormal renin haemodynamics and renin suppression in hypertensives patients. *Clin Sci.* 1970;38:101.
63. Brunner HR, Kirshman JO, Sealey JE, Laragh JH. Hypertension of renal origin: Evidence for two different mechanisms. *Science.* 1971;174:1344-6.
64. Haas E, Lamfrom H, Goldblatt H. The isolation and purification of hog renin. *Arch Biochem Biophys.* 1952;42:268-386.
65. Skeggs LT, Kahn JR, Lentz K, Hochstrasser H. Studies on preparation and properties of renin. *Circulation Res.* 1967;2 Suppl 21:91-6.
66. Deveraux C, Menard JS, Sicard P, Corvol P. Partial characterization of hog renin purified by affinity chromatography. *Eur J Biochem.* 1976;64:621-7.
67. Gross F, Lazar J, Orz H. Inhibition of the renin-angio reaction by pepstatina. *Science.* 1972;175:656-7.
68. Murakami K, Inagami T. Preparation of presor enzyme renin in pure and stable form from hog kidneys. *Biol Biophys Res Commun.* 1975;62:757-61.
69. Inagami T, Muragami K. Isolation of pure and stable renin in the kidney. *J Biol Chem.* 1977;252:2978-83.
70. Yokosawa H, Holladay LA, Inagami T, Haas E, Murakami K. Human renal renin. Complete purification and characterization. *J Biol Chem.* 1979;10:4848-55.
71. Morris BJ, Catanzaro DF, Hardman J, Mesterovik N, Tellam J, Hort I, et al. Structure of human renin and expression of the renin gene. *Clin Exper Pharmacol Phys.* 1984;4:369-73.
72. Morris BJ. Molecular biology of renin I: Gene and protein structure, synthesis and processing. *J Hypertens.* 1992;10:209-14.
73. Hobart PM, Fogliano M, O'Connor BA, Schaeffer M, Chirgwing JM. Human renin gene: structure and sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81:5026-30.
74. Imai T, Miyazaki H, Hirose S, Hori H, Hayashi T, Kageyama R, et al. Cloning and sequence analysis of cDNA for human renin precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983;80:7405-9.
75. Katz SA, Malvin RL, Lee J, Kim SH, Murray MD, Opsahl JA, et al. Analysis of active renin isoelectric heterogeneity. *Proc Soc Exper Biol Med.* 1992;197:387-92.
76. Kim S, Hosoi M, Hiruma M, Ikemoto F, Yamamoto K. Modification of glycosylation of renin in sodium-depleted and captopril-treated rats. *Am J Physiol.* 1989;256:E798-804.
77. Shinagawa T, Do YS, Tam H, Hsue WA. Complete purification of human renal renin and sequence of the amino terminus. *J Biol Chem.* 1987;262:1037-4.
78. Blundell T, Sibanda DL, Pearl L. Three dimensional structure, specificity and catalytic mechanisms of rennin. *Nature.* 1983;304:273-4.
79. Carlson W, Karplus M, Haber E. Construction of model for the three dimensional structure of human renal renin. *Hypertension.* 1985;7:13-26.
80. Akahane K, Umeyama H, Nakagawa S, Moriguchi I, Hirose S, Iizuka K, et al. Three-dimensional structure of human rennin. *Hypertension.* 1985;7:3-12.
81. Skeggs LT, Lentz K, Kahn JR, Levine M, Dorer FE. Multiple forms of human kidney renin. En: Genest J, Koiw E, editores. *Hypertension.* Berlin: Springer; 1972. p. 149-59.
82. Lumbers ER. Activation of renin in human amniotic fluid by low pH. *Enzymologia.* 1971;40:329-36.
83. Skinner SL, Cran EJ, Gibson R, Taylor R, Walters WA, Catt KJ. Angiotensins I and II, active and inactive renin, renin substrate, renin activity, and angiotensinase in human liquor amnii and plasma. *Am J Obstet Gynecol.* 1975;121:626-30.
84. Galen FX, Devaux C, Guyenne T, Menard J, Corvol P. Multiple forms of human renin : purification and characterization. *J Biol Chem.* 1979;7:4348-55.
85. Lijnen P, Fagard R, Staessen J, Amery A. Biological significance of active and inactive renin in man. *J Endocrinol.* 1980;85:137-43.

86. Goto T, Abe KT, Tsunoda K, Seino M, Yasujima M, Imai Y, et al. Active, inactive and total renin concentrations in plasma of hypertensive patients. *Tohoku Journals of Experimental Medicine*. 1985;145:403-11.
87. Slater EE, Strout HV. Pure human renin. Identification and characterization of two major molecular weight forms. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;139:446-54.
88. Corvol P, Pinet F, Galen FX, Plouin PF, Chatelier G, Pagny JY, et al. Seven lessons from seven secreting tumors. *Kidney Int*. 1988;34 Suppl 25:S38-44.
89. Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM, Schwartz HC, Bryer-Ash M. Increased plasma inactive renin diabetes mellitus. A marker of cardiovascular complications. *New Engl J Med*. 1985;312:1412-7.
90. Higashimori K, Mizuno K, Nakajo S, Boehm FM, Marcotte PA, Egan DA, et al. Pure human inactive renin. Evidence that native inactive renin is prorenin. *J Biol Chem*. 1989;264:14662-7.
91. Hobart PM, Fogliano M, O'Connor BA, Schaeffer M, Chirgwing JM. Human renin gene: structure and sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81:5026-30.
92. Paul M, Wagner J, Dzau VJ. Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Invest*. 1993;91:2058-64.
93. Chen M, Schnermann J, Smart AM, Brosius FC, Killen PD, Briggs JP. Cyclic AMP selectively increases renin mRNA stability in cultured juxtaglomerular granular cells. *J Biol Chem*. 1993;268:24138-44.
94. Johnson DW, Peach MJ, Gomez RA, Inagami T, Carey RM. Angiotensin II regulates renin gene expression. *Am J Physiol*. 1990;259:F882-7.
95. Rosenberg M, Chmielewski D, Hostetter TH. Effect of dietary protein on rat renin and angiotensinogen gene expression. *J Clin Invest*. 1990;85:1144-9.
96. Pratt RE, Carleton JE, Richie JP, Heusser C, Dzau V. Human renin biosynthesis and secretion in normal and ischemic kidneys. *Proc Soc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84:7837-40.
97. Baxter JD, Duncan K, Chu W, James MNG, Russell RB, Haidar MA, et al. Molecular biology of human renin and its gene. *Recent Prog Horm Res*. 1991;47:211-58.
98. Morris BJ. Molecular biology of renin II: Gene control by messenger RNA, transfection and transgenic studies. *J Hypertens*. 1992;10:337-42.
99. Taugner R, Whalley A, Angermüller S, Bührle CP, Hackenthal E. Are the renin-containing granules of juxtaglomerular epithelioid cells modified lysosomes? *Cell Tissue Res*. 1985;239:575-87.
100. Friis UG, Jensen BL, Aas JK, Skøtt O. Direct demonstration of exocytosis and endocytosis in single mouse juxtaglomerular cells. *Circ Res*. 1999 84:929-36.
101. Skøtt O, Jensen BL. Cellular and intrarenal control of renin secretion. *Clin Sci (Colch)*. 1993;84:1-10.
102. Goormaghtigh N. Les segment neuro-myo-arteriels juxtaglomérulaires du rein. *Arch Biol*. 1932;43:575-91.
103. Taugner R, Hackenthal E. *The juxtaglomerular apparatus*. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo: Springer; 1989.
104. Gomez RA, Lynch KR, Sturgill BC, Elwood JP, Chevalier RL, Carey RM, et al. Distribution of renin mRNA and its protein in the developing kidney. *Am J Physiol*. 1989;257:F850-8.
105. Rasch R, Jensen BL, Nyengaard JR, Skøtt O. Quantitative changes in rat renin secretory granules after acute and chronic stimulation of the renin system. *Cell Tissue Res*. 1998;292:563-711.
106. Blaine EH, Davis JO, Prewitt RL. Evidence for a renal vascular receptor in control of renin secretion. *Am J Physiol*. 1971;220:1593-7.
107. Frederiksen O, Leyssac PP, Skinner SL. Sensitive osmometer function of juxtaglomerular cells. *J Physiol (Lond)*. 1975;252:669-79.
108. González E, Salomonsson M, Müller-Suur G, Persson AEG. Measurements of macula densa cell volume changes in isolated and perfused rabbit cortical thick ascending limb. II. Apical and basolateral cell osmotic water permeabilities. *Acta Physiol Scand*. 1988;133:159-66.
109. Keeton TK, Campbell WB. The pharmacological alteration of renin release. *Pharmacol Rev*. 1980;31:81-227.
110. Lorenz J, Weihprecht H, Schnermann J, Skøtt O, Briggs JP. Renin release from the isolated juxtaglomerular apparatus depends on macula densa Cl transport. *Am J Physiol*. 1991;260:F486-93.
111. Bock HA, Hermle M, Brunner FP, Thiel G. Pressure dependent modulation of renin release in isolated perfused glomeruli. *Kidney Int*. 1992;41:275-80.
112. Ehmke H, Persson P, Fischer S, Hackenthal E, Kirchheim H. Resetting of pressure-dependent renin release by intrarenal alpha1-adrenoceptors in conscious dogs. *Pflügers Arch*. 1989;413:261-6.
113. Freeman RH, Davis JO, Villareal D. Role of renal prostaglandins in the control of renin release. *Circ Res*. 1984;54:1-9.
114. Beierwalters WH, Carretero OA. Nonprostanoid endothelium-derived factors inhibit renin release. *Hypertension*. 1992;19 Suppl II:II68-73.
115. Rakugi H, Nakamura M, Saito H, Higaki J, Ogihara T. Endothelin inhibits renin release from isolated rat glomeruli. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;155:1244-7.
116. Kurtz A, Gotz KH, Hamann M, Wagner C. Stimulation of renin secretion by nitric oxide is mediated by phosphodiesterase 3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:4743-7.
117. Gardes J, Poux JM, Gonzalez MF, Alhenc-Gelas F, Menard J. Decreased renin release and constant kallikrein secretion after injection of L-NAME in isolated perfused rat kidney. *Life Sci*. 1992;50:987-93.
118. Itoh S, Abe K, Nushiro N, Omata K, Yasujima M, Yoshinaga K. Effect of atrial natriuretic factor on renin release in isolated afferent arterioles. *Kidney Int*. 1987;32:493-7.
119. Huang W, Sjoquist M, Skøtt O, Stricker EM, Sved AF. Oxytocin-induced renin secretion in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000;278:R226-30.
120. Pitarresi TM, Rubattu S, Heinrikson R, Sealey JE. Reversible cryoactivation of recombinant human prorenin. *J Biol Chem*. 1992;267:11753-9.
121. Reudelhuber TL, Brechler V, Jutras I, Mercure C, Methot D. Proteolytic and non-proteolytic activation of prorenin. *Adv Exp Med Biol*. 1998;436:229-38.
122. Van Kats JP, Danser AHJ, Van Meegeen JR, Sassen LM, Verdouw PD, Schalekamp MADH. Angiotensin production by the heart: a quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions. *Circulation*. 1998;98:73-81.
123. Lindpaintner K, Jin MW, Niedermaier N, Wilhelm MJ, Ganten D. Cardiac angiotensinogen and its local activation in the isolated perfused beating heart. *Circ Res*. 1990;67:564-73.
124. De Lannoy LM, Danser AHJ, Van Kats JP, Schoemaker RG, Saxena PR, Schalekamp MADH. Renin angiotensin system components in the interstitial fluid of the isolated perfused rat heart. Local production of angiotensin I. *Hypertension*. 1997;29:1240-51.
125. Katz SA, Opsahl JA, Lunzer MM, Forbis LM, Hirsch AT. Effect of bilateral nephrectomy on active renin, angiotensinogen, and renin glycoforms in plasma and myocardium. *Hypertension*. 1997;30:259-66.
126. Von Lutterotti N, Catanzaro DF, Sealey JE, Laragh JH. Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues. A review of experimental evidence. *Circulation*. 1994;89:458-70.
127. Van Kesteren CAM, Saris JJ, Dekkers DHW, Lamers JMJ, Saxena PR, Schalekamp MADH, et al. Cultured neonatal rat cardiac myocytes and fibroblasts do not synthesize renin or angiotensinogen: evidence for stretch-induced cardiomyocyte

- hypertrophy independent of angiotensin II. *Cardiovasc Res.* 1999;43:148-56.
128. Danser AHJ, Van Kats JP, Admiraal PJJ, Derckx FHM, Lamers JMJ, Verdouw PD, et al. Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertension.* 1994;24:37-48.
 129. Katz SA, Opsahl JA, Forbis LM. Myocardial enzymatic activity of renin and cathepsin D before and after bilateral nephrectomy. *Basic Res Cardiol.* 2001;96:659-68.
 130. Sealey JE, Moon C, Laragh JH, Atlas SA. Plasma prorenin in normal, hypertensive, and anephric subjects and its effect on renin measurements. *Circ Res.* 1977;40:141-5.
 131. Admiraal PJ, Van Kesteren CA, Danser AH, Derckx FH, Sluiter W, Schalekamp MA. Uptake and proteolytic activation of prorenin by cultured human endothelial cells. *J Hypertens.* 1999;17:621-9.
 132. Sealey JE, Goldstein M, Pitarresi T, Kudlak TT, Glorioso N, Fiamengo SA, et al. Prorenin secretion from human testis: no evidence for secretion of active renin or angiotensinogen. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66:974-8.
 133. Reudelhuber TL, Ramla D, Chiu L, Mercure C, Seidah NG. Proteolytic processing of human prorenin in renal and non-renal tissues. *Kidney Int.* 1994;46:1522-4.
 134. Deinum J, Derckx FHM, Danser AHJ, Schalekamp MADH. Identification and quantification of renin and prorenin in the bovine eye. *Endocrinology.* 1990;126:1673-82.
 135. Loudon M, Bing RF, Thurston H, Swales JD. Arterial wall uptake of renal renin and blood pressure control. *Hypertension.* 1983;5:629-34.
 136. Kim S, Hosoi M, Nakajima K, Yamamoto K. Immunological evidence that kidney is primary source of circulating inactive prorenin in rats. *Am J Physiol.* 1991;260:E526-36.
 137. Neves FA, Duncan KG, Baxter JD. Cathepsin B is a prorenin processing enzyme. *Hypertension.* 1996;27:514-7.
 138. Derckx FHM, Tan-Tjong HL, Man in't Veld AJ, Schalekamp MP, Schalekamp MADH. Activation of inactive plasma renin by plasma and tissue kallikreins. *Clin Sci (Lond).* 1979;57:351-7.
 139. Saris JJ, Derckx FHM, De Bruin RJA, Dekkers DHW, Lamers JMJ, Saxena PR, et al. High-affinity prorenin binding to cardiac man-6-P/IGF-II receptors precedes proteolytic activation to renin. *Am J Physiol.* 2001;280:H1706-15.
 140. Inagami T, Nakagawa A, Ichihara F, Suzuki F, Itoh H. Renin/prorenin receptor, (P)RR, in end-organ damage: current issues in 2007. *J Am Soc Hypertens.* 2008;4:205-9.
 141. Van Kesteren CAM, Danser AHJ, Derckx FHM, Dekkers DHW, Lamers JMJ, Saxena PR, et al. Mannose 6-phosphate receptor mediated internalization and activation of prorenin by cardiac cells. *Hypertension.* 1997;30:1389-96.
 142. Nguyen G, Delarue F, Burckle C, Bouzahir 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.
 143. Peters J, Farrenkopf R, Clausmeyer S, Zimmer J, Kantachavesiri S, Sharp MG, et al. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. *Circ Res.* 2002;90:1135-41.
 144. Campbell DJ, Valentijn AJ. Identification of vascular renin-binding proteins by chemical cross-linking: inhibition of binding of renin by renin inhibitors. *J Hypertens.* 1994;12:879-90.
 145. Takahashi S, Inoue H, Miyake Y. The human gene for renin-binding protein. *J Biol Chem.* 1992;267:13007-13.
 146. 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;278:217-22.
 147. 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.
 148. Huang Y, Wongamorntham S, Kasting J, McQuillan D, Owens RT, Yu L, et al. Renin increases mesangial cell transforming growth factor-beta1 and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms. *Kidney Int.* 2006; 69:105-13
 149. Winternitz MC, Mylon E, Waters LL, Katzenstein R. Studies on the relation of the kidney to cardiovascular disease. *Yale J Biol Med.* 1939;40:623-79.
 150. Masson GMC, Mikasa A, Yasud H. Experimental vascular disease elicited by aldosterone and renin. *Endocrinology.* 1962;71:505-12.
 151. Gavras H, Brunner HR, Laragh H, Vaughan EO, Koss M, Coto LJ, et al. Malignant hypertension resulting from deoxycorticosterone acetate and salt excess: Role of renin and sodium in vascular changes. *Circulation Res.* 1975;36:300-9.
 152. Weinberger MH, Yu PL, Perkins BJ. Renin in hypertension: Further evidence for a vasculotoxic role. *Clin Res.* 1973;21:458-64.
 153. Brunner HR, Laragh JH, Baer L, Newron MA, Goodwin Ff, Krakoff LR, et al. Renin and aldosterone, heart attack and stroke. *N Engl J Med.* 1972;286:441-9.
 154. Hickler RB, Lauler DP, Gleason RE, Chrislieb R. Plasma renin activity and cardiovascular disease. *Clin Sci.* 1975;48 Suppl:131-3.
 155. Byrom FB. The hypertensive vascular crisis. An experimental study. London: Heinemann; 1969.
 156. Alderman MH, Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, Sealey JE, Laragh JH. Association of the renin-sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension. *N Engl J Med.* 1991;324:1098-104.
 157. Dzau V. Renin and myocardial infarction in hypertension. *N Engl J Med.* 1991;324:1128-30.
 158. Baldoncini R, Desideri G, Bellini C, Valenti M, De Mattia G, Santucci A, et al. High plasma renin activity is combined with elevated urinary albumin excretion in essential hypertensive patients. *Kidney Int.* 1999;56:1499-504.
 159. Dickinson CJ, Lawrence JR. A slowly development pressor response to small concentrations of angiotensin. *Lancet.* 1963;1:1354-6.
 160. Casals-Stenze IJ, Ttee M, Brown JJ, Fraset R, Lever AF, Millat JA, et al. Effects of prolonged and brief infusions of noradrenaline on arterial pressure and on the plasma concentrations of active renin, angiotensin II, aldosterone and potassium. *J Hypertens.* 1983;1:27-35.
 161. Metha PK, Grienling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in cardiovascular system. *Am J Physiol.* 2007;292:C82-97.
 162. Oliver JA. Receptor-mediated actions of renin and prorenin. *Kidney Int.* 2006;69:13-5.
 163. Mullins JJ, Peters G, Ganten D. Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2-gene. *Nature.* 1990;344:541-4.
 164. Véniant M, Ménard J, Bruneval P, Morley S, Gonzales MF, Mullins J. Vascular damage without hypertension in transgenic rats expressing prorenin exclusively in the liver. *Clin Invest.* 1996;98:1966-70.
 165. Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Rupérez M, Esteban V, Suzuki Y, Mezzano S. Role of the renin-angiotensin system in vascular diseases: expanding the field. *Hypertension.* 2001;38:1382-7.
 166. Taubman MB. Angiotensin II: A vasoactive hormone with ever-increasing biological roles. *Circulation Res.* 2003;92:9-11.
 167. Taudorf S, Krabbe KS, Berg RMG, Pedersen BK, Moller K. Human models of low-grade inflammation: Bolus versus continuous infusion of endotoxin. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14:250-5.
 168. Pager J, Dekker JM, Kooy A, Kostende PJ, Nijpels G, Heine RJ, et al. Endotelial dysfunction and low grade inflammation explain much of the excess of cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1086-93.

169. Rosvall M, Ångstrom G, Janzon L, Berglund G, Hedblad B. The role of low grade of inflammation as measured by PCR protein levels in the explanation of socioeconomic differences in carotid atherosclerosis. *Eur J Public Health*. 2006;17:340-7.
170. Bautista LE. Inflammation, endothelial dysfunction, and the risk of high blood pressure: epidemiologic and biological evidence. *J Hum Hypertens*. 2003;17:223-30.
171. Li JJ, Fang CH, Hui RT. Is hypertension an inflammatory disease? *Med Hypotheses*. 2005;64:236-40.
172. Ruiz Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, Esteban V, Blanco J, Mezzano S, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int*. 2002;62 Suppl 82:S12-22.
173. Liao TD, Yang X-P, Liu YE, Shesely EG, Cavasin MA, Kuziel WA, et al. Role of inflammation in the development of renal damage and dysfunction in angiotensin II induced hypertension. *Hypertension*. 2008;52:256-63.
174. Giacchetti G, Faloia E, Mariniello B, Sardu G, Gatti G, Camillonio MA, et al. Overexpression of the renin angiotensin system in human visceral adipose tissue in normal and overweight subjects. *Am J Hypertens*. 2002;15:381-8.
175. Bouloumie A, Casteilla L, Lafontan M. Adipose tissue lymphocytes and macrophages in obesity and insulin resistance: makers or markers, and which comes first? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1211-3.
176. Crowley SD, Frey CW, Gould SK, Griffiths R, Ruiz P, Burchette JL, et al. Stimulation of lymphocyte responses by angiotensin II promotes kidney injury in hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295:F515-24.
177. Helmut G. T-cells in angiotensin-II-induced vascular damage. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23:1107-8.
178. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exper Med*. 2007;204:2449-60.
179. Muller DN, Shagdrsuren E, Park J-K, Dechend R, Mervaala E, Hampich F, et al. Immunosuppressive treatment protects against angiotensin II induced renal damage. *Am J Pathol*. 2002;161:1679-93.
180. Schiffrin EL. The flame that lights the fire: oxidative stress, inflammation, and renal damage in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. 2008;52:205-6.
181. Dzau V, Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement. *Am Heart J*. 1991;121:1244-63.
182. Johnston CI, Hutchinson JS, Mendelsohn FA. Biological significance of renin angiotensin immunization. *Circulation Res*. 1970;26 Suppl 2:215-22.
183. Walker WG, Ruiz-Maza F, Horvath JS. Demonstration of free unbound angiotensin II in immunized rabbits. *Proceedings of the Fifth International Congress of Nephropathology*. Basel: Karger; 1972. p. 115.
184. Cushman DW, Ondetti MA. History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Hypertension*. 1991;17:589-92.
185. Belova LA. Angiotensin II-generating enzymes. *Biochemistry (Mosc)*. 2000;65:1337-45.
186. Hanon S, Vijayaraman P, Sonnenblick EH, Le Jemtel TH. Persistent formation of angiotensin II despite treatment with maximally recommended doses of angiotensin converting enzyme inhibitors in patients with chronic heart failure. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2000;1:147-50.
187. Suarez M, Ho PW, Johnson ES, Perez G. Angioneurotic edema, agranulocytosis, and fatal septicemia following captopril therapy. *Am J Med*. 1986;81:336-8.
188. Turker RK, Page IH, Bumpus FN. Antagonists of angiotensin II. En: Page IH, Bumpus FN, editores. *Angiotensin*. Berlin: Springer; 1974. p. 126-61.
189. Davies JO. The use of blocking agents to denote the function of the renin-angiotensin system. *Volhard lecture*. *Clin Sci*. 1975;48 Suppl 2:143-8.
190. Timmermans PB, Carini DJ, Chiu AT, Duncia JV, Price WA, Wells GJ, et al. The discovery of a new class of highly specific nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. *Am J Hypertens*. 1991;4:275-81.
191. Inagami T, Kambayashi Y, Ichiki T, Tsuzuki S, Eguchi S, Yamakawa T. Angiotensin receptors: molecular biology and signalling. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999;26:544-9.
192. Skeggs LT, Lentz KE, Kahn JR, Hochstrasser H. Kinetics of the action of rennin with nine synthetic peptide substrates. *J Exper Med*. 1968;128:13-34.
193. Burton J, Cody RJ, Herd JA, Haber E. Specific inhibition of renin by an angiotensinogen analog. *Studies in sodium repletion in renin dependent hypertension*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77:5746-9.
194. Boger J, Lohr NS, Ulm EH, Poe M, Blaine EH, Fanelli GM, et al. Novel renin inhibitors containing the amino acid statine. *Nature*. 1983;303:81-4.
195. Thaisrivongs S, Pals DT, Kati WM, Turner SR, Thomasco LM, Watt W. Design and syntheses of potent and specific renin inhibitors containing difluorostatine, difluorostatone, and related analogues. *J Med Chem*. 1986;29:2080-6.
196. Himmelmann A, Bergbrant A, Svensson A, Hansson L, Aurell M. Remikiren (Ro 42-5892), an orally active renin inhibitor in essential hypertension. Effects on blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am J Hypertens*. 1996;9:517-22.
197. Fisher ND, Hollenberg NK. Unprecedented renal response to direct blockade of the renin-angiotensin system with aliskiren, a novel renin inhibitor. *Circulation*. 2007;116 Suppl 2:371-403.
198. Fisher NDL, Hollenberg NK. Renin inhibition: what are the therapeutic opportunities? *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:592-9.
199. Frampton JE, Curran MP. Aliskiren. A review of its use in the management hypertension. *Drugs*. 2007;67:1767-96.
200. Batenburg WW, Krop M, Garrelds IM, De Vries R, De Bruin RJ, Burcklé CA, et al. Prorenin is the endogenous agonist of the (pro)renin receptor. Binding kinetics of renin and prorenin in rat vascular smooth muscle cells overexpressing the human (pro)renin receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1151-7.
201. Meiraker van den AH, Danser AH. Aliskiren the first direct renin inhibitor for hypertension. *Curr Cardiol Rep*. 2007;6:470-6.