

Fisiopatología de la prorenina y la renina. Cincuenta años en busca de los inhibidores directos de la renina. Sus ventajas y sus limitaciones

Juan Tamargo, Ricardo Gómez, Irene Amorós, Adriana Barana, Ricardo Caballero y Eva Delpón

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. España.

La renina es la enzima que limita la síntesis de angiotensina II y la activación del sistema renina-angiotensina (SRA), por lo que desde hace más de 50 años se ha intentado desarrollar fármacos activos por vía oral capaces de inhibir directamente la renina. Recientemente se ha demostrado que prorenina y renina son moléculas activas que interactúan con un receptor específico, (P)RR, y que su estimulación activa diversas vías de señalización independientes de las activadas por la angiotensina II. Aliskiren, el primer inhibidor directo de la renina (IDR) no peptídico, activo por vía oral, ha mostrado eficacia y seguridad en el tratamiento de la hipertensión arterial. Este artículo revisa el desarrollo de los IDR, el papel fisiopatológico de la prorenina y la renina, la estructura y las vías de señalización acopladas a la activación del (P)RR, el mecanismo de acción y las posibles diferencias, ventajas y/o desventajas de los IDR con respecto a otros fármacos que inhiben el SRA, como los inhibidores de la enzima de conversión y los antagonistas de los receptores AT1.

Palabras clave: Inhibidores directos de la renina. Renina. Prorenina. Receptor de prorenina/renina. Angiotensina II. Sistema renina-angiotensina.

Physiopathology of Prorenin and Renin. Fifty Years in Search of Direct Renin Inhibitors. Their Benefits and Limitations

Renin is an enzyme that limits angiotensin-II synthesis and activates the renin-angiotensin system (RAS). Therefore, for almost 50 years, multiple attempts were made to develop orally active direct renin inhibitors (DRIs). Recently, it has been demonstrated that both prorenin and renin are active molecules that interact with a specific receptor, (P)RR, and that stimulation of this receptor leads to the activation of signal transduction pathways independent of angiotensin-II activity. Aliskiren, the first non-peptide orally active DRI, has been found to be safe and effective in the treatment of hypertension. The present article reviews the development of DRIs, the pathophysiological roles of prorenin and renin, the structure of and the signal transduction pathways involved in activation of the (P)RR, and the mechanisms of action of, the possible differences between, and the comparative advantages and disadvantages of DRIs and other RAS inhibitors, mainly angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin AT1 receptor blockers.

Key words: Direct renin inhibitors. Renin. Prorenin. Pro/renin receptor. Angiotensin II. Renin-angiotensin system.

INTRODUCCIÓN

El concepto tradicional atribuía al sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA) endocrino o circulante un importante papel en la regulación de la presión arterial (PA) a través de la liberación de angiotensina

II (A-II) y el equilibrio hidrosalino, a través de la liberación de aldosterona¹⁻⁴. Teleológicamente, el SRA actuaría como un mecanismo de defensa que se activaría en respuesta a una hipotensión hipovolémica. Cuando la PA disminuye como resultado de la restricción de Na⁺ o de hipovolemia, las células yuxtglomerulares del riñón sintetizan una enzima, la renina, que se libera a la sangre circulante (fig. 1). La renina rompe el enlace existente entre Leu¹⁰ y Val¹¹ del angiotensinógeno, una glucoproteína β_2 plasmática de 453 aminoácidos (55-61 kDa), sintetizada en el hígado, produciendo un decapeptido inactivo, la angiotensina I (A-I); ésta sufre la acción de la enzima de conversión de angiotensina (ECA, EC 3.4.5.1), que hidroliza el dipéptido terminal His⁹-Leu¹⁰ de la A-I y la convierte en un octa-

Este trabajo se ha realizado con la ayuda de las becas de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (SAF-2005-04609), Red Heracles del Instituto de Salud Carlos III (Red HERACLES RD06/0009/0014) y la Fundación Lilly.

Correspondencia: Dr. J. Tamargo.
Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina.
Universidad Complutense.
Avda. Complutense, s/n. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: jtamargo@med.ucm.es

ABREVIATURAS

A-I, A-II, A-III, A-IV, A(1-7) y A(1-9):
angiotensinas I, II, III, IV, 1-7 y 1-9.
AGT: angiotensinógeno.
APA: aminopeptidasa A.
APN: aminopeptidasa N.
ARP: actividad de renina plasmática.
BNP: péptido natriurético tipo B.
CPR: concentraciones plasmáticas de renina.
CAGE: enzima generadora de angiotensina sensible a quimostatina.
ECA: enzima de conversión de angiotensina.
EP: endopeptidasa.
HRP: péptidos análogos de la región del asa.
Hsp: proteína del choque térmico.
HTA: hipertensión arterial.
IDR: inhibidores directos de la renina.
IECA: inhibidores de la ECA.
MAPK: proteincinasas activadas por mitógenos.
MAS: receptor acoplado a proteínas G codificado por el protooncogén *Mas*.
M6P/IGF2R: complejo M6P-receptor tipo 2 del factor de crecimiento insulinoide.
NEP: endopeptidasa neutra.
PA: presión arterial.
PCP: propilcarboxipeptidasa.
PEP: propilendopeptidasa.
(P)RR: receptor de prorrénina/renina.
PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1.
p38, p42 y p44: proteincinasas activadas por mitógenos, fosforiladas (P) o no.
PLZF: factor de transcripción *promyelocytic leukemia zinc finger*.
RAT1/RAT2/RAT4: receptores tipos 1, 2 y 4 de la angiotensina II.
SHR/SHRSP: ratas espontáneamente hipertensas/predispuestas al ictus.
SRA: sistema renina-angiotensina.
TGF β ₁: factor de crecimiento transformador beta.
tPA: activador tisular del plasminógeno.

péptido activo, la A-II, que después puede generar A-III [A(2-8)] y A-IV [A(3-8)]. Estas angiotensinas estimulan los receptores AT1 y AT4 y producen una respuesta vasoconstrictora arteriovenosa (que incrementa las resistencias vasculares periféricas y la PA), cambios en la función glomerular y tubular renal y un aumento en la liberación de aldosterona, efectos que producen una retención renal de Na⁺ y agua, con lo que aumenta aún más la PA. Estas acciones permiten restaurar la volemia y la PA. A su vez, la propia A-II estimula los receptores AT1 en las células yuxtglomeru-

lares y produce una inhibición de la síntesis y la liberación de renina a este nivel, con lo que se regula la activación del SRA.

Por otro lado, la activación crónica del SRA, tanto circulante como local (que actúa como un sistema paracrino o autocrino), produce la síntesis de A-II que, actuando sobre los receptores AT1 y AT4 en las células diana, incrementa las resistencias vasculares (sistémicas, pulmonares y coronarias), aumenta el estrés oxidativo, estimula la liberación de mediadores vasoconstrictores y mitogénicos (aldosterona, catecolaminas, vasopresina, endotelina 1) y de citocinas, produce disfunción endotelial, efectos proliferativos (hipertrofia e hiperplasia celular, fibrosis) implicados en el remodelado cardiovascular y respuestas proinflamatorias y protrombóticas¹⁻⁴. Todas estas acciones conducen a un aumento permanente de la PA y la aparición de alteraciones en la estructura y función cardiovascular y renal, que se traducen en lesiones en los órganos diana (hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca y renal, ictus, nefropatías, arteriosclerosis) y aumentan la mortalidad cardiovascular y renal²⁻⁶.

BLOQUEO FARMACOLÓGICO DEL SRA

Reconocer el papel del SRA en la génesis y la progresión de diversas afecciones cardiovasculares y renales estimuló el desarrollo de fármacos capaces de bloquearlo. Ya en 1956, Skeggs et al⁷ propusieron que este bloqueo podría realizarse utilizando fármacos que inhibieran la ECA, las acciones de la A-II o la renina. Además, afirmaron que, «puesto que la renina es la enzima que limita la síntesis de A-II, los fármacos que inhibieran la actividad de esta enzima serían los que podrían producir un bloqueo más completo del SRA». En 1972, Bühler et al⁸ demostraron que los antagonistas de los receptores adrenérgicos β_1 inhibían la liberación de renina por las células yuxtglomerulares del riñón. En 1977, Ondetti et al⁹, trabajando en los laboratorios Squibb, descubrieron el captopril, el primer fármaco inhibidor de la ECA (IECA) y, por tanto, de la conversión de A-I en A-II. Posteriormente, en 1988, el grupo de Pieter Timmermans¹⁰, que trabajaba en la DuPont Merck Pharmaceutical Company, desarrolló el losartán (DuP 753), el primer antagonista de los receptores AT1 de la A-II (ARA-II). Ensayos clínicos controlados han demostrado la eficacia y la seguridad de IECA y ARA-II en el tratamiento de la hipertensión arterial (HTA), así como su capacidad para retrasar la evolución natural de la insuficiencia cardíaca, la diabetes mellitus y la nefropatía diabética y revertir la hipertrofia cardíaca, que se ha traducido en una reducción de la morbimortalidad cardiovascular y renal¹⁻⁶.

Sin embargo, diversos hallazgos indican que IECA y ARA-II podrían producir un bloqueo incompleto del SRA por varios motivos (fig. 1):

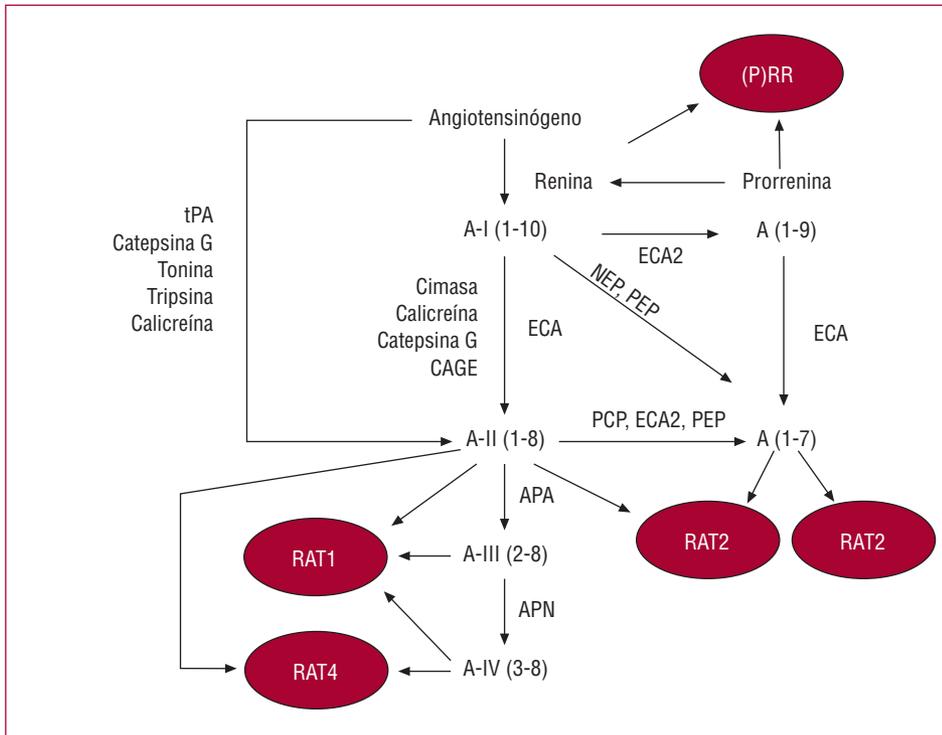


Fig. 1. Representación esquemática del sistema renina-angiotensina. A-I, A-II, A-III, A-IV, A(1-7), A(1-9): angiotensinas I, II, III, IV, 1-7 y 1-9; APA: aminopeptidasa A; APN: aminopeptidasa N; CAGE: enzima generadora de angiotensina sensible a quimostatina; ECA: enzima de conversión de angiotensina; ECA2: enzima de conversión tipo 2; EP: endopeptidasa; MAS: receptor acoplado a proteínas G codificado por el protooncogén *Mas*; NEP: endopeptidasa neutra; P(RR): receptor de prorrorenina/renina; PCP: propilcarboxipeptidasa; PEP: propilendopeptidasa; RAT1/RAT2/RAT4: receptores tipo 1, 2 y 4 de la angiotensina II; tPA: activador tisular del plasminógeno.

– La existencia de vías enzimáticas alternativas independientes de la ECA, capaces de sintetizar A-II a partir del angiotensinógeno o de la A-I^{2,3}. Ello explicaría por qué la A-II puede seguir sintetizándose en presencia de un IECA, y el efecto de estos fármacos podría disminuir con el tiempo^{11,12}.

– Los ARA-II no bloquean los receptores AT4; la expresión de receptores AT4 aumenta durante los procesos de remodelado vascular y su estimulación produce efectos mitogénicos, proliferativos y proinflamatorios⁴.

– IECA y ARA-II interrumpen el mecanismo de retroalimentación negativo por el que la A-II inhibe la secreción de renina por el riñón, lo que se traduce en un aumento en las concentraciones plasmáticas de renina (CPR) y en la actividad de renina plasmática (ARP), que mide la actividad catalítica de la renina circulante; es decir, la capacidad de la renina para escindir el angiotensinógeno y generar A-I^{4,13}. Dado que las nuevas moléculas de renina que se liberan a la circulación sistémica desde el riñón permanecen catalíticamente activas, podrían contrarrestar, en mayor o menor grado, la inhibición del SRA producida por IECA y/o ARA-II¹⁴. En el caso de los IECA, este aumento de la ARP produce un aumento compensador de A-I que podría restaurar parcialmente la producción de A-II a través de vías dependientes o independientes de la ECA. En el caso de los ARA-II, el aumento de la ARP conduce a un aumento de las concentraciones de A-I y

A-II; la A-II podría estimular los receptores AT4 y contrarrestar en parte el efecto antihipertensivo de los ARA-II. Por otro lado, se ha demostrado que los pacientes hipertensos con valores basales de ARP elevados tienen más mortalidad por cardiopatía isquémica¹⁵; sin embargo, debemos señalar que esta correlación ha sido observada en pacientes no tratados, por lo que desconocemos si el aumento de la ARP podría antagonizar, en mayor o menor grado, los efectos cardioprotectores de IECA y ARA-II.

– La utilización de dosis bajas de IECA o ARA-II (inferiores a las utilizadas en los ensayos clínicos), unida a su corta semivida, podría traducirse en picos y valles en la concentración plasmática, y durante los valles, al final del intervalo entre dosis, podría haber cantidades subterapéuticas. En estas circunstancias sería posible que el aumento de la ARP pudiera contrarrestar, en mayor o menor grado, los efectos farmacológicos de IECA y ARA-II.

LOS INHIBIDORES DIRECTOS DE LA RENINA

Breve historia de estos fármacos

El hallazgo de que la renina es la enzima que limita la activación del sistema SRA y de que en ausencia de renina no se sintetizan A-I o A-II ha estimulado los últimos 50 años la síntesis de fármacos inhibidores directos de la renina (IDR)¹⁶⁻¹⁸. En primer lugar se utili-

TABLA 1. Efecto de diversos fármacos antihipertensivos en los distintos componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona

Fármaco	Enzimas			Sustratos		Productos finales	
	ARP	CPR	Prorrrenina	AGT	A-I	A-II	Aldosterona
Bloqueadores beta	↓	↓	=↓	NA	NA	↓	NA
Diuréticos	↑	↑	↑	NA	↑	↑	↑
IDR	↓	↑	↑	NA	↓	↓	↓
IECA	↑	↑	↑	↓	↑	↓	↓
ARA-II	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↓

AGT: angiotensinógeno; A-I/A-II: concentración plasmática de angiotensina I y II; ARA-II: antagonistas del receptor AT1 de la angiotensina; ARP: actividad de renina plasmática; CPR: concentración plasmática de renina; IDR: inhibidores directos de la renina; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina.

zaron anticuerpos antirrenina¹⁹, que reducían la PA en monos normotensos privados de Na⁺, lo que constituyó la prueba de concepto que demostraba que la inhibición de la actividad enzimática de la renina podría representar una nueva estrategia terapéutica antihipertensiva. Los primeros IDR diseñados en los años sesenta y setenta eran análogos peptídicos del prosegmento de la renina o de la secuencia N-terminal del angiotensinógeno, que contenían el punto de hidrólisis de la renina y presentaban una potencia (expresada como concentración que inhibe la actividad enzimática de la renina en un 50% [IC₅₀]) en el rango nanomolar. Estos fármacos eran poco liposolubles, lo que reducía su absorción oral, y sufrían un importante efecto de primer paso hepático, que explicaría su mínima biodisponibilidad oral¹⁶. Sin embargo, varios compuestos de este grupo, como el pentapéptido pepstatina (IC₅₀ = 10 nmol), un inhibidor inespecífico de aspartil proteasas aislado de *Actinomyces*, o el decapeptido H-142, producían una reducción de la ARP y la PA dependiente de la dosis tras su administración por vía intravenosa^{17,18,20}.

A continuación se sintetizaron peptidomiméticos análogos del sitio activo de la renina, que presentaban mayor potencia y, administrados por vía parenteral, disminuían la PA en modelos animales y en pacientes hipertensos¹⁷; uno de estos fármacos, el CGP29287, fue el primer IDR que por vía oral producía una reducción mantenida de la PA²¹. A finales de los años ochenta se desarrollaron nuevos IDR con estructura peptídica: enalkiren (IC₅₀ = 14 nmol), CGP38560A (IC₅₀ = 0,7 nmol), remikiren (IC₅₀ = 0,7 nmol), zankiren (IC₅₀ = 1,1 nmol), ciprokiren (IC₅₀ = 0,65 nmol) y ditekiren (IC₅₀ = 16 nmol)^{17,22,23}. Sin embargo, ninguno de ellos llegó a comercializarse, ya que presentaban un marcado efecto de primer paso hepático y una pobre biodisponibilidad oral (< 2%), semividas cortas (que obligaban a administrarlos dos o más veces al día), pobre actividad antihipertensiva (remikiren no reducía la PA en hipertensos) y síntesis muy costosa^{18,23,24}.

Finalmente, haber identificado mediante cristalografía de rayos X la estructura del sitio activo de la renina y las nuevas técnicas de modelado molecular han permitido diseñar una nueva familia de IDR no peptídicos y de bajo peso molecular que han superado todos estos inconvenientes, de los que el aliskiren es el primer representante^{18,25}. En la actualidad se encuentran en desarrollo clínico nuevos IDR, desarrollados por Actelion-Merck & Co., Pfizer, GlaxoSmithKline y Speedel (familias SPP600, SP800 y SPP1100). Los fármacos SPP676 y SPD1148 se encuentran en fase I y el SPP 635, en fase IIa. En voluntarios sanos, el SSP635 presenta una biodisponibilidad de hasta un 30% y una semivida de casi 24 h y un amplio volumen de distribución que podrían traducirse en una mayor protección de órganos diana.

Diferencias entre IDR y otros bloqueadores del SRA

Los IDR inhiben la renina, el paso limitante de la síntesis de angiotensinas, y disminuyen la concentración plasmática y tisular de A-I y A-II (tabla 1). Al igual que sucede con IECA y ARA-II, los IDR aumentan la concentración renal y circulante de renina al interrumpir el sistema de retroalimentación negativo que la A-II ejerce en la síntesis y la liberación de renina por el riñón; es decir, que el aumento de la CPR es independiente de dónde se bloquea el SRA. Los IDR producen un mayor aumento de las CPR que los IECA y los ARA-II para un mismo grado de reducción de la PA pero, a diferencia de estos fármacos, aliskiren se une directamente al centro catalítico de la renina y, por su prolongada semivida (30-40 h), podría inhibir su actividad enzimática durante el intervalo entre dosis de 24 h; es decir, que aliskiren disminuye la ARP y la cantidad circulante y local de A-I y A-II^{13,26}, por lo que sería de esperar que produjera una mayor inhibición del SRA y, quizá, una mayor protección de los órganos diana. Sin embargo, necesitamos confirmar que la administración crónica de IDR se asocia a una disminu-

ción mantenida en los valores de AII, tanto circulantes como tisulares.

PRORRENINA Y RENINA SON MOLÉCULAS ACTIVAS

La renina es una aspartil proteasa (EC 3.4.23.15) de 340 aminoácidos (35-45 kDa) que se sintetiza como una proenzima, la prorenina, fundamentalmente en las células mioepiteliales del aparato yuxtglomerular renal, aunque algunos tejidos (retina, testículo, adrenal, ovario, placenta, glándulas salivales, mastocitos y cerebro) también pueden sintetizar prorenina²⁷. A diferencia de otros miembros de la familia de las aspartil proteinasas (p. ej. catepsina G, pepsina, toninas), la renina presenta una marcada especificidad por su único sustrato, el angiotensinógeno, lo que convierte a la renina en una diana ideal para el desarrollo de fármacos antihipertensivos, los IDR. Sin embargo, la secuenciación peptídica de la renina presenta importantes variaciones según la especie animal, razón por la que el estudio preclínico de los IDR debe realizarse en primates o en ratas transgénicas que expresan la renina y el angiotensinógeno humanos²⁸.

La prorenina y la renina se sintetizan y almacenan en las células yuxtglomerulares del riñón, desde donde son liberadas a la circulación sistémica en respuesta a¹: a) la estimulación de los barorreceptores de la arteriola glomerular aferente en respuesta a una reducción de la presión de perfusión renal secundaria a hipovolemia (p. ej., tras hemorragia, dosis altas de diuréticos), disminución del volumen minuto (insuficiencia cardíaca), estenosis de la arteria renal o administración de fármacos vasodilatadores; b) la estimulación de los receptores adrenérgicos β_1 ; c) la estimulación de los quimiorreceptores de la mácula densa por reducción de la carga de Na^+ y Cl^- , y d) factores humorales (A-II, vasopresina, endotelina 1, óxido nítrico, prostaciclina, dopamina). La conversión de la prorenina en renina implica la pérdida de 43 aminoácidos, se realiza exclusivamente en las células yuxtglomerulares del riñón por acción de la catepsina B y se sigue de la liberación de la renina a la sangre circulante²⁹. Sin embargo, la concentración circulante de prorenina es unas 10 veces la de renina (1 pmol/l), que se incrementa aún más en pacientes diabéticos³⁰, particularmente en caso de retinopatía o microalbuminuria^{27,31-34}. Además, las concentraciones de prorenina son unas 100 veces superiores en el humor vítreo que en el plasma de pacientes diabéticos con retinopatía proliferativa³⁵. Lo importante es que en los diabéticos el aumento de la concentración de prorenina se inicia antes de la aparición de la microalbuminuria; ello ha llevado a proponer que podría haber correlación entre el aumento de los valores plasmáticos de prorenina y las complicaciones microvasculares y renales del paciente diabético^{30,31,36} y que los valores de prorenina y glucohemoglobina serían

dos buenos marcadores de la aparición de la microalbuminuria³⁷. Igualmente, en ratas diabéticas tras la administración de estreptozotocina aumenta la concentración plasmática de prorenina, A-I y A-II, pero no la de renina, ECA o angiotensinógeno, y las ratas transgénicas que sobreexpresan prorenina presentan lesiones que se asemejan a las de la microangiopatía diabética³⁸. La razón de este aumento en los valores de prorenina es desconocido, pero podría reflejar un aumento en la expresión del gen de la prorenina y/o una disminución del aclaramiento de prorenina.

Las concentraciones de prorenina en los líquidos folicular ovárico y amniótico pueden ser unas 100 veces superiores a las plasmáticas³⁵ y durante el embarazo o en pacientes con tumores ováricos aumenta la liberación de prorenina desde los ovarios a la sangre circulante^{39,40}. Igualmente, los valores de prorenina aumentan en la placenta de mujeres con preeclampsia, lo que indica un papel de la prorenina/renina en la génesis de este cuadro⁴¹. Igualmente, en corazones humanos con cardiomiopatía dilatada explantados, la concentración cardíaca de prorenina es superior a la observada en el corazón donante⁴². Por el contrario, la estimulación crónica del SRA aumenta la conversión de prorenina en renina, con lo que disminuye el cociente prorenina/renina.

Estructura de la renina

La molécula de renina consta de dos lóbulos homólogos, separados por una hendidura, en la que se localiza el centro activo de la enzima, que contiene dos residuos de ácido aspártico (Asp^{32} y Asp^{215}) localizados en cada uno de los lóbulos^{27,43}. El punto activo de la renina puede acoger siete de los aminoácidos del angiotensinógeno y rompe el enlace peptídico $\text{Leu}^{10}\text{-Val}^{11}$ de éste, y genera A-I. El centro catalítico de la renina presenta varios bolsillos (*pockets*), de los que el S3^{sp} , es específico de esta enzima y único dentro de la familia de las aspartil proteasas²⁴.

Activación de la prorenina

En condiciones normales, la prorenina no es catalíticamente activa debido a que un prosegmento de 43 aminoácidos localizado en el extremo N-terminal obstruye la hendidura donde se encuentra la zona catalítica e impide que el angiotensinógeno acceda a ella²⁷. La actividad catalítica de la prorenina puede activarse por dos mecanismos, uno proteolítico y otro no proteolítico (fig. 2). La activación proteolítica es un proceso irreversible que tiene lugar tras la escisión del prosegmento por agentes endógenos (catepsina B en las células yuxtglomerulares del riñón, diversas serinproteasas en otros tejidos)^{44,45}, lo que deja libre la zona catalítica. La activación proteolítica sólo tiene lugar en las células yuxtglomerulares del riñón y conduce a la

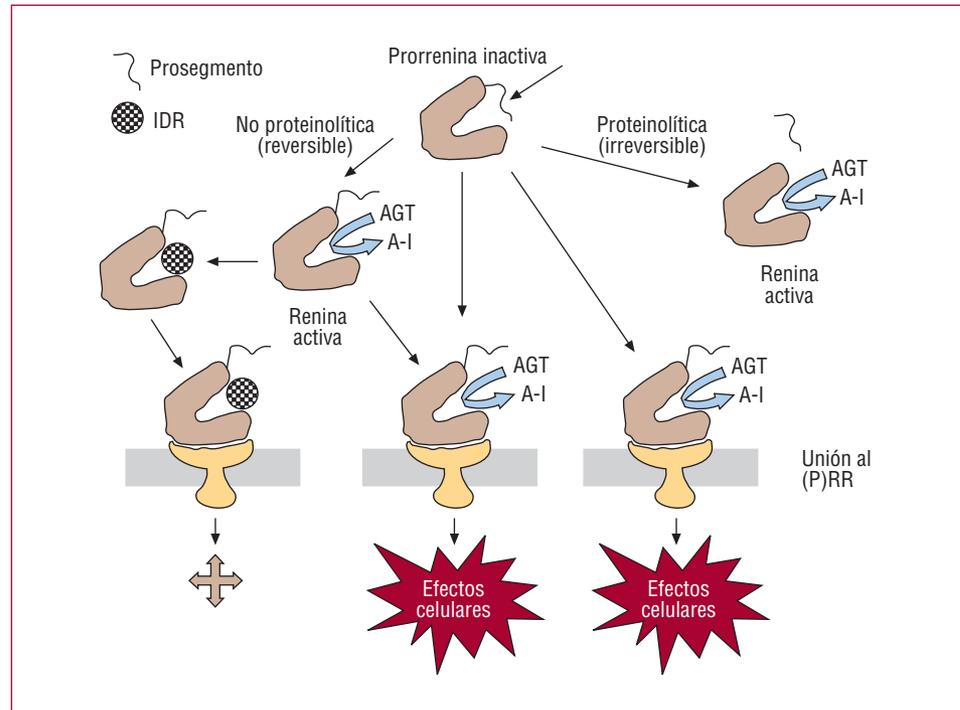


Fig. 2. La activación proteolítica y no proteolítica de la prorrrenina conduce a la síntesis de renina activa, capaz de convertir el angiotensinógeno en angiotensina I e interactuar con su receptor. Igualmente, la prorrrenina podría interactuar directamente con este receptor, lo que conlleva su activación catalítica. Los inhibidores directos de la renina (IDR) se unen a la renina activa y bloquean su actividad catalítica, impidiendo la conversión de angiotensinógeno en angiotensina I. AGT: angiotensinógeno; A-I: angiotensina I; IDR: inhibidor directo de la renina; P(RR): receptor de prorrrenina/renina.

síntesis de renina activa, que será almacenada o liberada a la circulación sistémica.

La activación no proteolítica es un proceso reversible que implica dos pasos sucesivos, un desplazamiento del prosegmento que deja libre la zona catalítica, seguido de un cambio conformacional, que convierte la prorrrenina en renina activa⁴⁶. La activación no proteolítica de la prorrrenina puede producirse también una vez que ésta se ha unido a su receptor; esta vía sería la causa, en gran parte, de la síntesis de A-I y A-II en la superficie de las células diana²⁹, lo que avalaría la hipótesis de que el aumento de la concentración plasmática de prorrrenina se asociaría a un aumento en la activación del SRA tisular^{27,47}.

La prorrrenina no es un precursor inactivo

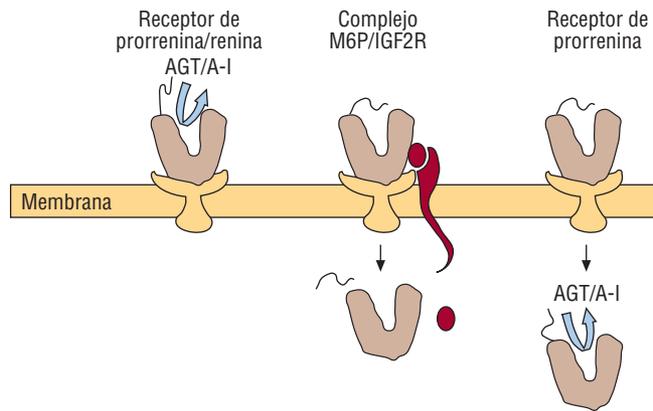
Durante años se consideró que la prorrrenina era el precursor inactivo de la renina y que su función estaría relacionada con la generación de A-II. De hecho, en modelos experimentales la infusión de prorrrenina recombinante humana no se convierte en renina ni incrementa la PA, lo que indica que no se activaría en los fluidos biológicos⁴⁸⁻⁵⁰. Por otro lado, en el plasma de sujetos nefrectomizados no hay renina y los valores de A-II son muy bajos a pesar de que los de prorrrenina sólo han disminuido en un 50%⁵¹; ello confirmaría que la prorrrenina circulante presenta una baja actividad intrínseca (< 2-3% de la prorrrenina activada) y que la activación proteolítica de la prorrrenina tendría un pobre papel en la síntesis de angiotensinas⁵².

Sin embargo, diversos hallazgos indican que la prorrrenina tiene un papel activo. Así:

- En ratas transgénicas macho en las que se inducía la expresión de prorrrenina en el hígado, la concentración plasmática de prorrrenina era 400 veces mayor que la normal y presentaban hipertrofia, fibrosis cardíaca e importantes lesiones renales, a pesar de que la renina plasmática y las cifras de PA eran normales⁵³. Este fenotipo confirma que la prorrrenina produciría alteraciones cardíacas y renales independientes de cambios en la cantidad de renina o de la PA, aunque no debemos olvidar que estas alteraciones estructurales aparecen con valores plasmáticos de prorrrenina dos órdenes de magnitud mayores que los que se observan en estados patológicos.

- En ratones transgénicos que expresaban la prorrrenina humana en el hígado y el angiotensinógeno humano en el corazón, aumentaba la concentración cardíaca (no la plasmática) de A-I⁵⁴. Ello indica que en el corazón, tejido en el que no se sintetiza renina, la prorrrenina circulante sería captada por los cardiomiocitos, donde contribuiría a la síntesis local de A-II.

- Como hemos mencionado, hay correlación entre valores plasmáticos de prorrrenina elevados y las complicaciones microvasculares de la diabetes y ello a pesar de que estos pacientes presentan bajos niveles de ARP. Además, en los pacientes diabéticos la respuesta vasodilatadora renal del captopril se correlaciona mejor con los niveles plasmáticos de prorrrenina que con los de renina, lo que de nuevo indica que la prorrrenina



Generación de AI			
Superficie celular	Sí	No	No
Intracitoplásmica	No	No	Sí
Activación de prorenina			
Proteolítica	No	Sí	No
No proteolítica	Sí	No	Sí
Vía de señalización	MAPK	?	?
Receptor de aclaramiento	No	Sí	?

Fig. 3. El receptor de prorenina/renina facilita la producción de angiotensina I a partir del angiotensinógeno en la superficie celular. El complejo formado por la manosa-6-fosfato y el receptor tipo 2 del factor de crecimiento insulinoide induce la internalización y activación de la prorenina, pero no conduce a la síntesis intracelular de angiotensina I; es decir, que actuaría como un receptor de aclaramiento plasmático de prorenina y renina. El posible receptor de prorenina permitiría su internalización y posterior generación intracelular de angiotensina I. A-I: angiotensina I; MAPK: proteinasas activadas por mitógenos.

circulante podría tener un efecto directo independiente de la síntesis renal de A-II⁵⁵.

Estos hallazgos nos llevan a plantear varias preguntas: ¿cuáles son las proteínas implicadas en el transporte de prorenina/renina a través de las membranas celulares?, ¿existe un receptor implicado en las acciones de prorenina y renina? Y si es así, ¿cuáles son las vías de señalización? o ¿estas vías son similares o distintas de las implicadas en los efectos de la A-II?

El receptor de la prorenina/renina

La búsqueda de una proteína transportadora de prorenina/renina se inició hace más de 20 años, al observarse que, tras realizar una nefrectomía bilateral, la renina vascular disminuía más lentamente que la plasmática⁵⁶ y, posteriormente, tras la demostración de la presencia del SRA local-tisular. Pronto se identificaron en las membranas celulares varias proteínas de unión (*renin binding proteins*) para prorenina y renina. Una era la proteína intracelular fijadora de renina (P)RnBP, que presenta una estructura idéntica a la N-acil-D-glucosamina-2-epimerasa; sin embargo, esta proteína inhibía la renina y no participaba en la activación del SRA⁵⁷. De hecho, la delección de la (P)RnBP no modifica la PA o los valores plasmáticos de renina⁵⁸. Por otro lado, prorenina y renina están altamente glucosiladas y presentan residuos de manosa-6-fosfato

(M6P), uniéndose al complejo M6P-receptor tipo 2 del factor de crecimiento insulinoide (M6P/IGF2R) con una constante de disociación (Kd) de 1 nmol^{27,45,59,60}; ello conduce a la internalización y rápida activación de la prorenina, pero no a la síntesis intracelular o extracelular de A-II (fig. 3). Es decir, que el complejo M6P/IGF2R actuaría como un receptor de aclaramiento plasmático de prorenina y renina que determinaría los valores extracelulares de prorenina^{27,45}.

Nguyen et al²⁹ clonaron y secuenciaron un receptor para prorenina y renina —(P)RR— en cultivos de células mesangiales humanas, células musculares lisas vasculares del subendotelio glomerular y arterias renales y coronarias. La expresión del ARNm de este receptor alcanza los niveles más altos en cerebro, corazón y placenta; en menor grado en hígado, riñón (células mesangiales y de los túbulos distal y colector), células musculares lisas vasculares renales y coronarias y sanguíneas (macrófagos, células T y granulocitos) y, en mínimo grado, en pulmón, músculo esquelético y retina^{29,61}.

En células yuxttaglomerulares renales transfectadas con el ADNc del (P)RR, se induce la expresión de una proteína de membrana por la que la prorenina activa y la renina presentan una alta afinidad ($K_i = 0,4$ nmol) y de la que se disocian muy lentamente (semivida de 4 h para la renina) (fig. 3)²⁹. El (P)RR presenta un único segmento transmembrana de 350 aminoácidos, con un extremo N-terminal extracelular largo, no glucosilado

y muy hidrofóbico, que se encargaría de la unión de la prorenina y la renina y un extremo C-terminal intracitoplásmico muy corto, de unos 20 aminoácidos. Este receptor no muestra homología con otros receptores de la membrana celular, aunque ortólogos del gen que codifica el (P)RR están presentes tanto en vertebrados como en invertebrados¹⁰. De hecho, el segmento N-terminal muestra una alta homología sólo entre los mamíferos, mientras que el segmento C-terminal está muy conservado en vertebrados e invertebrados (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*). Ello indica que ambos dominios tendrían un destino evolutivo divergente. Así, mientras que el segmento transmembrana y el extremo C-terminal tendrían una función ancestral conservada que participaría en la supervivencia celular, el segmento N-terminal se encargaría de una nueva función evolutiva, la unión de la prorenina y la posterior activación de diversas vías de señalización.

Ratas transgénicas que sobreexpresan el (P)RR humano presentan un aumento de la PA y de la concentración plasmática de aldosterona y alta expresión de la ciclooxigenasa 2 en el córtex renal y, con el paso del tiempo, desarrollan proteinuria y glomerulosclerosis asociadas a un aumento en la expresión renal de cinasas activadas por mitógenos (MAPK) y factor de crecimiento transformador beta-1 (TGFβ₁)⁶³⁻⁶⁵. Sin embargo, la excreción urinaria de Na⁺ y los valores plasmáticos de renina y A-II y los renales de A-II son normales, por lo que este fenotipo sería independiente de la A-II. Por otro lado, en ratas transgénicas que sobreexpresan el (P)RR en células musculares lisas vasculares, aumentan la captación de prorenina en la aorta y los valores plasmáticos de aldosterona, mientras que la CPR y la ARP no se modifican; además, a los 6 meses de edad, estos animales presentan un aumento de las PA y la frecuencia cardíaca⁶⁵.

En 1998, Ludwig et al⁶⁶ demostraron que el extremo C-terminal del (P)RR se asociaba a la ATPasa vacuolar transportadora de H⁺ (ATP6AP2), que causa la acidificación citoplásmica y de diversas organelas intracelulares (lisosomas, endosomas, vesículas sinápticas). El complejo (P)RR/ATP6AP2 se encuentra en todos los tejidos del organismo de los vertebrados, aunque alcanza su mayor concentración en el sistema nervioso central. Lo interesante es que el extremo C-terminal del (P)RR es idéntico a la proteína M8-9/ATP6AP2 que se asocia a dicha ATPasa. Este hallazgo explica por qué en cardiomiocitos neonatales de rata el complejo (P)RR/ATP6AP2 se expresa fundamentalmente en el interior celular y en la fracción microsomal, mientras que es mínima su expresión en la superficie celular⁶⁷, tal como habían propuesto Nguyen et al²⁹. Además, indica que la renina intracelular podría participar en la regulación de otras funciones celulares. El tráfico de proteínas transmembrana a endosomas y lisosomas se realiza a través de zonas de señalización

presentes en su dominio citoplásmico. En la secuencia de la porción citoplásmica del (P)RR revela dos puntos teóricos de señalización, un residuo de tirosina (Y335DSI) que podría tener un papel en el transporte de proteínas a endosomas y lisosomas a través de un complejo proteico adaptador⁶⁸, y un motivo dibásico (K346IRMD), que funcionaría como una señal de retención de proteínas en el retículo endoplásmico por exclusión activa y/o el retrotransporte desde el aparato de Golgi al retículo endoplásmico⁶⁹.

Datos recientes indican que el (P)RR podría ser importante en otras funciones celulares independientes de la activación de la prorenina y la renina. Así, en ratones, peces cebra o *C. elegans*, la supresión del gen que codifica el (P)RR es letal^{62,70}. Además, células madre embrionarias de ratón deficientes en (P)RR no generan quimeras cuando se inyectan en blastocistos. Estos hallazgos indican que el (P)RR tendría un papel fundamental en la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular. Por otro lado, el hallazgo de que el gen que codifica el complejo (P)RR/ATP6AP2 se localiza en el cromosoma X permite explicar por qué la mutación (321 C>T) en este gen produce un cuadro caracterizado por retraso mental y epilepsia asociados al cromosoma X⁷¹. En estos pacientes, la renina se une al (P)RR y ello conlleva un aumento de su actividad catalítica, pero la activación de p42/p44 MAPK está parcialmente inhibida, lo que indica que el (P)RR neuronal participaría en el desarrollo del sistema nervioso central y las funciones cognitivas.

La captación de la renina plasmática es la principal fuente de renina cardíaca⁷², y se ha demostrado que participa en la patogenia de la hipertrofia y la fibrosis cardíacas. En cardiomiocitos aislados de ratas transgénicas Cyp1a1-ren-2d se ha descrito un receptor⁷³ que internaliza la prorenina no glucosilada, aumenta la concentración intracelular de A-II y activa el SRA intracardiaco (fig. 3); sin embargo, desconocemos si este receptor existe en otros modelos animales.

Papel de la región del asa de la prorenina

Suzuki et al⁷⁴ identificaron dos regiones localizadas en los primeros 19 aminoácidos del prosegmento de la prorenina, denominados compuerta (*gate*: T7PFKR10P) y región del asa (*handle*: I11PFLKR15P), que serían necesarias para la unión de la prorenina al (P)RR y su posterior activación no proteolítica. Posteriormente, sintetizaron péptidos señuelo (*decoy peptides*) cuya estructura se correspondía con la de la región del asa (*hand region peptides* [HRP]), y propusieron que se unirían de forma competitiva al (P)RR, impidiendo la unión de la prorenina a aquél (K_i = 6,6 nmol/l) y su posterior activación no proteolítica⁷⁵. Según esta hipótesis, y en contra de lo propuesto por Nguyen et al²⁹, sólo la prorenina se uniría al (P)RR, pero no la renina, ya que ésta carece de prosegmento.

En una serie de estudios publicados entre 2004 y 2007, ese grupo japonés propuso que los HRP permitirían reducir y en ocasiones revertir completamente las lesiones de diversos órganos diana en distintos modelos animales de diabetes e hipertensión arterial. En ratas unifrectomizadas y diabéticas tras la inyección de estreptozotocina, los HRP no modificaban la glucemia, pero reducían los valores renales (no los plasmáticos) de A-II y la fibrosis (la expresión de colágeno tipo IV) renal e inhibían completamente la proteinuria y la glomerulosclerosis, mientras que los IECA tan sólo mejoraban parcialmente estas alteraciones renales^{38,76,77}. Más aún, en ratones deficientes en el receptor AT1a tratados con estreptozotocina desaparece la respuesta vasoconstrictora de la A-II, pero persisten los efectos nefroprotectores de los HRP, por lo que éstos serían independientes de la generación local de A-II⁷⁸. Por otro lado, en ratas transgénicas que sobreexpresan el (P)RR, los HRP suprimían la proteinuria y la glomerulosclerosis, a pesar de que no alteraban los valores renales de A-II, mientras que los IECA no mejoraban el cuadro a pesar de que disminuían los niveles plasmáticos de A-II^{63,64}. En ratas espontáneamente hipertensas (SHR), los HRP normalizaban los niveles de A-II y atenuaban la fibrosis cardíaca⁷⁹. En ratas SHR con predisposición al ictus (SHRSP) alimentadas con dieta rica en sal aumenta la PA y la expresión del (P)RR a nivel cardíaco y renal, lo que se acompaña de lesiones cardíacas (hipertrofia y fibrosis) y renales (proteinuria y la glomerulosclerosis)⁷⁶. En este modelo, la administración continua de HRP por vía subcutánea inhibía la activación no proteolítica de la prorenina y la activación del SRA local, atenuando marcadamente la progresión de las lesiones cardíacas y renales; sin embargo, no se modificaban ni la PA ni el SRA circulante⁷⁶. Estos hallazgos indican que la activación tisular no proteolítica de la prorenina estaría implicada en la activación del SRA local (no del SRA circulante) y tendría un importante papel en la génesis y/o la progresión de las lesiones de los órganos diana.

Sin embargo, otros laboratorios no han podido confirmar que la administración de HRP modifique la PA, las lesiones renales o la mortalidad en ratas transgénicas que expresan el angiotensinógeno y la renina humanos⁸⁰. Susic et al⁸¹ implantaron bombas subcutáneas e infundieron HRP en SHR, pero no pudieron demostrar ningún efecto en la función ventricular, el contenido de colágeno cardíaco o la hemodinámica renal y coronaria. Los HRP de rata tampoco modificaban la PA, la hipertrofia cardíaca, el daño renal o la activación de p42/p44 MAPK en ratas Goldblatt 2-riñones 1-clip⁸². Estas discrepancias, que podrían atribuirse al modelo animal utilizado y la afección asociada (los animales diabéticos cursan con prorenina alta y renina baja, mientras que las SHR cursan con renina normal y las ratas con HTA vasculorrenal con niveles altos de prorenina y renina), obligan a revisar el papel del asa del prosegmento en las acciones de la prorenina.

Vías de señalización activadas por el (P)RR

La unión de prorenina y/o renina a su receptor produce dos tipos distintos de efectos. En primer lugar, aumenta la actividad catalítica de la renina 4-5 veces, acelerando la conversión del angiotensinógeno en A-I en la superficie de la membrana de las células de los órganos diana en íntimo contacto con la ECA o la quimasa y los receptores AT1; como consecuencia, aumenta la síntesis de A-II y se activa el SRA^{29,60}. Además, cuando la prorenina se une al (P)RR, sufre una activación no proteolítica y adquiere una actividad catalítica similar a la de la renina, por lo que en estas condiciones podría tener un papel fisiopatológico^{29,83}.

Por otro lado, la interacción de la prorenina y/o la renina con el (P)RR produce la activación de diversas vías de señalización que son independientes de la formación de A-II (fig. 4)^{29,61,84,85}:

– Prorenina y renina inducen la fosforilación de residuos de serina y tirosina localizados en el extremo C-terminal intracitoplásmico (Ser337, Tyr335, Tyr340) y de las cinasas reguladas por señales extracelulares Erk1/2 (p44/p42 MAPK), implicadas en la hipertrofia y la proliferación celular^{29,86}.

– A concentraciones fisiológicas, la renina aumenta la síntesis de ADN (medida por la recaptación de ³H-timidina) en células mesangiales humanas y estimula la proliferación de las células musculares lisas vasculares humanas^{87,88}. Estas acciones explicarían por qué la fibrosis y la hipertrofia observadas en ratas que sobreexpresan prorenina o el (P)RR son independientes de la A-II y de las cifras de PA^{53,65}.

– Prorenina y renina aumentan la concentración de TGFβ₁ en células mesangiales humanas y de rata; este efecto es independiente de la A-II, ya que no implica al receptor del factor de crecimiento epidérmico^{89,90}. El TGFβ₁, a su vez, activa la síntesis del inhibidor tipo-1 del activador del plasminógeno (PAI-1), que posee propiedades profibróticas y protrombóticas y de componentes de la matriz extracelular, como el colágeno tipo 1 y la fibronectina^{85,87,89,90}. Todos estos efectos profibróticos persisten en presencia de un IDR, un IECA o un ARA-II.

– En cardiomiocitos neonatales, incluso en ausencia de angiotensinógeno, la prorenina activa la p38 MAPK y fosforila la proteína de choque térmico (Hsp) 37⁶⁷. Ésta promueve la polimerización de los filamentos de actina, participa en el mantenimiento de la integridad del citoesqueleto y confiere protección contra el daño isquémico, la fragmentación celular y la apoptosis producida por radicales libres de oxígeno. La activación de Erk1/2 y la estimulación de Hsp 37 no se bloquean con un IDR, pero sí con antagonistas de la MAPK^{67,80,89,90}; además, dado que en cardiomiocitos neonatales la prorenina es incapaz de sintetizar A-II, todos estos efectos serían independientes de la síntesis de A-II.

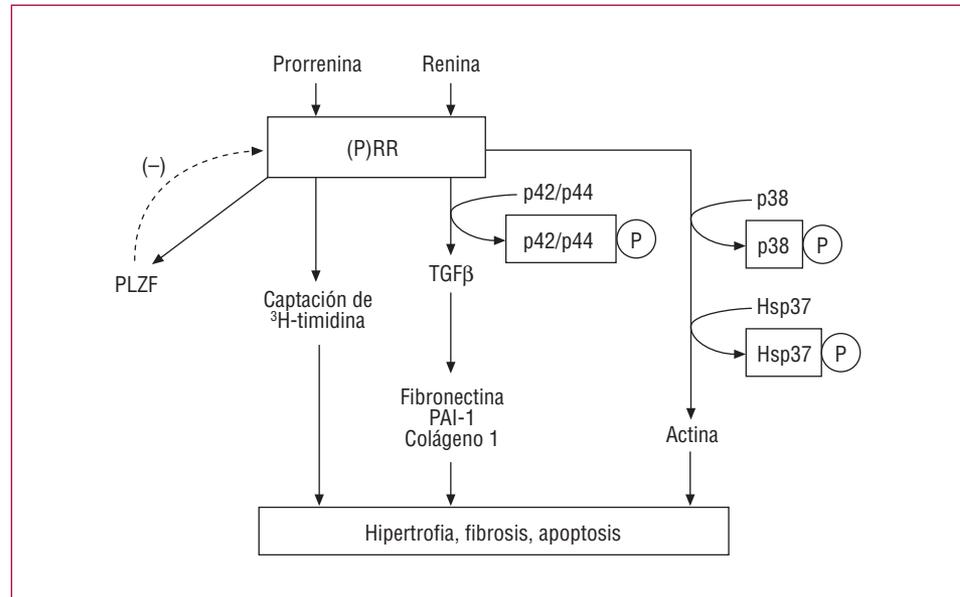


Fig. 4. Vías de señalización activadas tras la interacción de prorenina y renina con su receptor. Hsp37: proteína del choque térmico 37; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; p38, p42/p44: proteincinasas activadas por mitógenos, fosforiladas (P) o no; PLZF: factor de transcripción *promyelocytic leukemia zinc finger*; TGFβ₁: factor de crecimiento transformador beta.

– En células embrionarias renales (HEK293) y de carcinoma cervical humanas (HeLa-3), la estimulación del (P)RR por la renina induce la interacción del dominio C-terminal del receptor con el factor de transcripción *promyelocytic leukemia zinc finger* (PLZF), la posterior translocación del PLZF al núcleo y, finalmente, la represión parcial de la transcripción del (P)RR⁸⁵. Éste sería un mecanismo de retroalimentación negativo que protegería de los posibles efectos deletéreos del aumento de los niveles de CPR producido por los IDR, ya que la menor expresión del (P)RR prevendría una excesiva activación del SRA. Sin embargo, desconocemos la importancia de este mecanismo en la clínica y si la prorenina produce el mismo efecto.

Mecanismo de acción de aliskiren

Los IDR se unen directamente al centro catalítico de la renina y/o de la prorenina activada e inhiben su capacidad para convertir el angiotensinógeno en A-I. Aliskiren se une específicamente al bolsillo S3^{SP} del centro catalítico de la renina y produce una potente (IC₅₀ = 0,7 nmol) y selectiva acción inhibitoria de la enzima (es 100.000 veces más potente para inhibir la renina que otras aspartil proteasas)^{24,25}; como consecuencia, bloquea la actividad catalítica de la renina y/o de la prorenina activada y la generación de A-I y A-II (fig. 2). Se ha señalado, además, que la unión de aliskiren al bolsillo S3^{SP} podría producir un cambio conformacional que evitaría que ésta se una al (P)RR y la posterior activación del SRA^{46,91,92}. Sin embargo, desconocemos si otros IDR tienen este efecto o es específico de aliskiren.

VENTAJAS DE LOS IDR

Los IDR podrían representar una estrategia terapéutica superior a la de otros fármacos que inhiben el SRA, ya que inhibirían no sólo las acciones mediadas por la síntesis de A-II, sino también las acciones directas de prorenina y renina a través de la estimulación del (P)RR (fig. 5). Por lo tanto, ofrecen la posibilidad de demostrar (*proof of concept*) si un bloqueo más completo del SRA se traduciría en una mayor protección de órganos diana que los IECA y/o los ARA-II, independientemente de la reducción de la PA producida.

En ensayos clínicos controlados, aliskiren ha demostrado ser un fármaco antihipertensivo tan efectivo en monoterapia como los IECA (ramipril, lisinopril) y los ARA-II (losartán, valsartán)^{14,18,93-95}. Sin embargo, la combinación de aliskiren y valsartán, a las máximas dosis recomendadas (300/320 mg/día) producía una disminución de la PA (17,1/12,2 mmHg) superior a la observada con dosis máximas de cada fármaco en monoterapia (13/9 y 12,8/9,7 mmHg, respectivamente)⁹³, algo que no sucede cuando se combina un IECA y un ARA-II⁹⁶. Además, mientras que valsartán aumenta la ARP (+160%), aliskiren la reduce (-73%) y esta reducción persiste con la combinación (-44%)⁹³. Si este aumento de la ARP limita la eficacia de IECA y ARA-II, sería razonable proponer que la combinación de un IDR y un ARA-II produciría una inhibición más completa del SRA, que podría traducirse en una mayor protección orgánica que la producida por un IECA o un ARA-II en monoterapia. Pero esta hipótesis sólo podrá ser confirmada cuando conozcamos los resultados del amplio programa de desarrollo clínico del aliskiren (tabla 3).

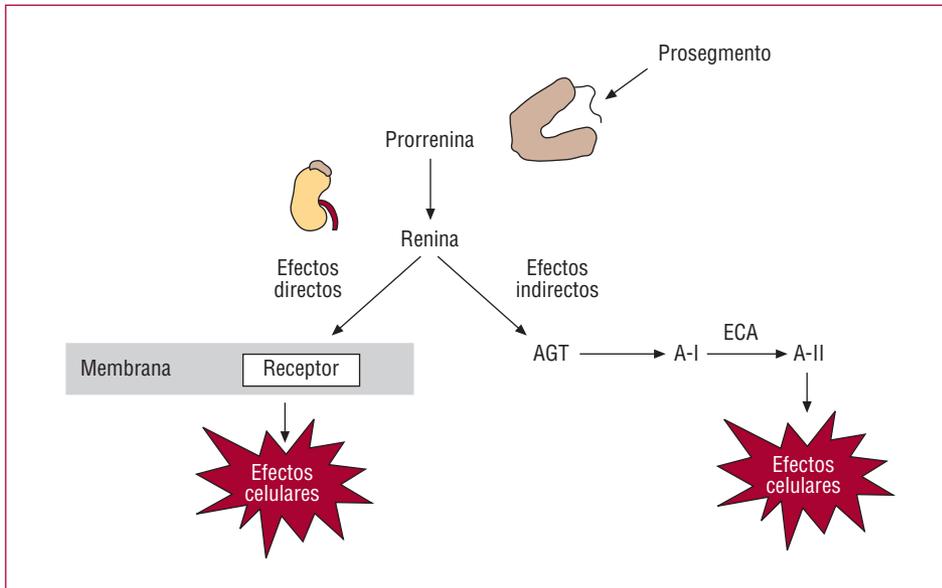


Fig. 5. Prorrrenina y renina producen efectos celulares directos, mediados por su interacción con su receptor, e indirectos, mediados por la conversión de angiotensinógeno en angiotensina I y de ésta en angiotensina II. AGT: angiotensinógeno; A-I/A-II: angiotensinas I y II; ECA: enzima de conversión de angiotensina.

TABLA 2. Preguntas que en un futuro debemos responder si queremos conocer el papel del receptor de prorrrenina/renina —(P)RR— y el mecanismo de acción, la seguridad y la eficacia de los inhibidores directos de la renina (IDR) para proteger los órganos diana y reducir la morbimortalidad cardiovascular y renal

1. El receptor de prorrrenina/renina	<ul style="list-style-type: none"> ¿Existen uno o más receptores para la prorrrenina y la renina? ¿Cuál es la estructura, la localización y la función del (P)RR en los distintos tejidos? ¿Cómo se regula la expresión de (P)RR? ¿Cuál es el papel de la región del asa de la prorrrenina? ¿Cuáles son las vías de señalización activadas por prorrrenina/renina? ¿Los efectos mediados por el (P)RR son independientes de los producidos por la A-II? ¿Los efectos producidos por la prorrrenina y la renina son similares?
2. Los IDR	<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál es su mecanismo de acción? ¿Todos los IDR producen el mismo tipo de bloqueo del (P)RR? ¿Producen otros efectos independientes del bloqueo del (P)RR? ¿Los IDR inhiben la actividad enzimática de prorrrenina y renina cuando se encuentran unidas a su receptor?
3. La clínica	<ul style="list-style-type: none"> ¿Inhiben las vías de señalización activadas tras la activación del (P)RR? ¿Los IDR reducen la morbimortalidad cardiovascular y renal? ¿Producen un efecto protector de los órganos diana superior, igual o inferior a los de IECA y ARA-II? ¿Este efecto protector es independiente de su eficacia antihipertensiva? ¿Cuál sería la combinación de fármacos que produce un bloqueo más completo del SRA y una mayor reducción de la morbimortalidad cardiovascular y renal?

Desde un punto de vista teórico, los IDR podrían ser particularmente efectivos en pacientes hipertensos que responden a otros inhibidores del SRA (IECA y/o ARA-II), en los que no toleran los IECA y en pacientes jóvenes y de raza blanca, que presentan, en general, niveles más altos de ARP que los ancianos y afroamericanos^{14,18,93-95}. También representan una nueva alternativa terapéutica que podría asociarse a otros antihipertensivos para conseguir un control más adecuado de las cifras de PA y, en particular, con los antihipertensivos (tales como tiacidas, antagonistas del calcio, IECA y

ARA-II) que producen un aumento de la ARP^{14,18,93-95,97}. Igualmente, los IDR serían particularmente eficaces en pacientes en los que aumenta la generación de A-II en el riñón por vías dependientes o no de la ECA (p. ej., diabéticos, afroamericanos sometidos a una dieta rica en sal) y en las situaciones en que el bloqueo del SRA se ha mostrado efectivo, como la insuficiencia cardiaca y la nefropatía diabética. También sería de esperar que los IDR fueran particularmente eficaces en pacientes diabéticos con complicaciones microvasculares que cursan con niveles de prorrrenina elevados^{14,30,37}.

Algunos estudios han demostrado que aliskiren produce una mayor vasodilatación renal que los IECA en voluntarios sanos con restricción de Na^+ , lo que podría explicarse por las propiedades farmacocinéticas del fármaco^{14,98}. Aliskiren se acumula en los riñones (glomérulos y vasos renales), donde produce una potente inhibición de la renina ($\text{IC}_{50} = 0,6 \text{ nmol}$), lo que unido a su prolongada semivida (30-40 h) permitiría inhibir la actividad catalítica de cada nueva molécula de renina liberada por el riñón a lo largo de las 24 h a pesar de que aumente la CPR^{14,99}. Esta acumulación conllevaría una inhibición de larga duración del SRA renal que permitiría explicar por qué el efecto antihipertensivo del fármaco persiste hasta 2 semanas después de suspender el tratamiento^{47,99} y quizá podría traducirse en una mayor protección de este órgano diana.

En ensayos clínicos controlados, aliskiren es un fármaco bien tolerado, que produce una incidencia de reacciones adversas similar a la del placebo y, dado que no inhibe el metabolismo de la bradicinina, el riesgo de tos y angioedema debería de ser mínimo. Este perfil de seguridad representa una clara ventaja frente a los IECA. La incidencia de hiperpotasemia aumenta en pacientes con diabetes o insuficiencia renal o cuando se combinan IDR con IECA y/o ARA-II.

LAS CONTROVERSIAS SOBRE LOS IDR

En este apartado analizaremos algunos debates suscitados tras la aparición de los IDR, que hacen referencia a su papel en el tratamiento de la HTA y su capacidad para reducir la morbimortalidad cardiovascular y renal.

El primer lugar está el hallazgo de que en monoterapia el aliskiren no produce, en general, un efecto antihipertensivo superior al de los IECA o los ARA-II^{14,18,93-95}, hecho que podría sorprender si, como hemos comentado, los IDR producen un bloqueo más completo del SRA. Sin embargo, existen varias explicaciones de esta aparente discrepancia.

– La HTA es un síndrome multigénico y multifactorial y el SRA es tan sólo uno de los mecanismos que participa en su génesis. Por lo tanto, aunque los IDR produzcan una inhibición más completa del SRA, seguiría produciéndose la activación de diversos mecanismos de compensación que podrían contrarrestar la reducción de la PA.

– A diferencia de los IECA y los ARA-II, no parece que los IDR aumenten algunos mediadores endógenos (p. ej., A[1-7], bradicinina, NO) que tienen efectos vasodilatadores y retrasan la progresión de las lesiones de órganos diana.

– Los IDR producen un aumento más marcado y duradero de la CPR que los IECA y los ARA-II, más marcado cuando los IDR se combinan con hidroclorotiazida o antagonistas del calcio. Este hallazgo ha lle-

vado a Seagly et al¹⁰⁰ a proponer que el aumento de la CPR podría contrarrestar la inhibición de la renina producida por el aliskiren; más aún, dado que, según esos autores, el bloqueo enzimático de la renina producido por el aliskiren es de aproximadamente un 75% (no del 100%), el aumento de la CPR podría representar una vía de escape de las acciones del aliskiren que explicaría por qué los IDR no reducen la PA más que los IECA y los ARA-II. Esta hipótesis estaría avalada por el hallazgo de que el porcentaje de inhibición de la ARP producido por distintas dosis de aliskiren es constante, lo que podría indicar que la generación de A-II persiste a pesar de la inhibición de la renina⁹⁵. Sin embargo, es posible que el marcado aumento de las CPR pudiera estar relacionado con la toma de muestras de plasma, el tiempo de incubación o las técnicas utilizadas para determinar la renina plasmática (radioinmunoanálisis, anticuerpos). En condiciones fisiológicas (37 °C, pH 7,4), la activación e inactivación de la prorenina es un proceso muy rápido³⁷, por lo que menos del 2% de la prorenina se encuentra en su forma activa (abierta). Los IDR se unen a la prorenina activa con igual afinidad que a la renina, pero previenen el proceso de inactivación^{46,92}, por lo que ahora predomina el estado activo; por lo tanto, en presencia de un IDR, un importante porcentaje de la prorenina será detectada como renina, lo que se traduce en una sobrestimación de la CPR. Aunque sería importante determinar la concentración plasmática de A-II en pacientes hipertensos tratados crónicamente con IDR, debemos tener presente que puede haber diferencias entre estos valores y los presentes en los tejidos, que son los que determinan la elevación de la PA y las lesiones de los órganos diana.

Seagly et al¹⁰⁰ llevaron el debate más allá. Basándose en que en modelos experimentales la activación del (P)RR activa vías de señalización que aumentan la fibrosis cardíaca y renal, que no se bloquean por IECA, ARA-II o IDR^{67,76,85,89,90}, propusieron que el aumento de la CPR podría también contrarrestar, en mayor o menor grado, la posible reducción de la morbimortalidad cardiovascular que los IDR pudieran producir. Sin embargo, parece bastante improbable que los IDR puedan incrementar la fibrosis, ya que otros fármacos antihipertensivos ampliamente utilizados (IECA, ARA-II, diuréticos, antagonistas del calcio) aumentan las concentraciones de ARP y CPR y, sin embargo, reducen la morbimortalidad cardiovascular en el paciente hipertenso^{85,89,90}. Por otro lado, tres recientes estudios (Aliskiren observation of heart failure treatment [ALOFT], Aliskiren in the evaluation of proteinuria in diabetes [AVOID] y Aliskiren in left ventricular assessment of hypertrophy [ALLAY]), que utilizaban marcadores subrogados de riesgo cardiovascular, no han podido demostrar que aliskiren produzca tales riesgos; por el contrario, indican que aliskiren podría

TABLA 3. Programa de desarrollo clínico del aliskiren

Ensayo clínico (acrónimo)	n	Objetivos	Duración	Objetivo primario
ACCELERATE*	—	Pacientes hipertensos recibirán una combinación a dosis fijas de aliskiren y amlodipino, con adición opcional de 12,5 mg de hidroclorotiazida	6 meses	Control de la presión arterial
Aliskiren versus ramipril for BP control in the elderly (AGELESS)	912	Comparar la eficacia de aliskiren frente a ramipril para reducir la PA en pacientes de edad ≥ 65 años con HTA sistólica	36 semanas	Reducción de la PAS media en sedestación
Aliskiren left ventricular assessment of hypertrophy (ALLAY)	480	Determinar el efecto de aliskiren, solo o combinado con losartán, en la regresión de la hipertrofia cardiaca en pacientes hipertensos	34 semanas	Cambio en la masa ventricular izquierda
Aliskiren observation of heart failure treatment (ALOFT)	320	Seguridad y tolerancia al agregar aliskiren o placebo al tratamiento estándar de pacientes con insuficiencia cardiaca crónica	12 semanas	Tolerancia y seguridad; cambio en BNP
Aliskiren in the evaluation of proteinuria in diabetes (AVOID)	754	Determinar el efecto de agregar aliskiren o placebo en la proteinuria de pacientes diabéticos tratados con losartán	24 semanas	Porcentaje de reducción del cociente albúmina/creatinina urinario
Aliskiren in type 2 diabetes using cardiorenal disease endpoints (ALTITUDE)	8.600	Determinar la eficacia y la seguridad de aliskiren en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, velocidad de filtración glomerular ≥ 30 y < 60 ml/min, proteinuria e historia de enfermedad cardiovascular	4 años	Tiempo hasta aparición de complicaciones cardiovasculares y renales diabéticas
APOLLO*	—	Pacientes con o sin hipertensión arterial y otros factores de riesgo	—	Prevención de morbimortalidad cardiovascular
Aliskiren quantitative atherosclerosis regression intravascular ultrasound study (AQUARIUS)	600	Pacientes coronarios	2 años	Si aliskiren retrasa la progresión de la arteriosclerosis coronaria
Aliskiren in post-MI patients to reduce remodeling (ASPIRE)	860	Determinar si aliskiren atenúa el remodelado ventricular izquierdo en pacientes con infarto de miocardio previo cuando se añade al tratamiento estándar	36 semanas	Cambios en el volumen telesistólico ventricular izquierdo determinados por ecocardiografía
Aliskiren trial on acute heart failure outcomes (ASTRONAUT)*	—	Pacientes hospitalizados por IC aguda	6 meses	Si aliskiren retrasa la muerte cardiovascular y las hospitalizaciones por IC
Aliskiren trial to minimize outcomes in patients with heart failure (ATMOSPHERE)*	—	Si la adición de aliskiren (150 mg) al tratamiento estándar reduce la concentración de BNP respecto a placebo en pacientes con IC	—	Tiempo hasta la aparición de muerte cardiovascular u hospitalización por IC
Aliskiren and valsartan versus placebo in lowering NT-proBNP in patients stabilized following an ACS (AVANT GARDE [TIMI 43])	1.152	Determinar si aliskiren, valsartán o su combinación mejoran el remodelado ventricular en pacientes de alto riesgo estabilizados tras un accidente coronario agudo	9 semanas	Reducción de la concentración plasmática de BNP y NT-proBNP
Aliskiren in visceral obesity at risk patients outcomes research (AVIATOR)	15.000	Pacientes prehipertensos (PAS 120-140 mmHg) y riesgo cardiovascular moderado-alto	—	Si aliskiren retrasa el tiempo hasta la aparición del primer evento cardiovascular
TARGET HIGHER*	—	Pacientes hipertensos con o sin microalbuminuria/diabetes tratados con aliskiren y valsartán	—	Control de la PA y la función renal

BNP: péptido natriurético tipo B; IC: insuficiencia cardiaca; NT-proBNP: fracción N-terminal del BNP.

*En fase de diseño.

tener efectos cardioprotectores y nefroprotectores. En el estudio ALOFT, la adición de aliskiren (150 mg/día) en 302 pacientes hipertensos con insuficiencia cardíaca (NYHA II-III, péptido natriurético tipo B [BNP] > 100 pg/ml) tratados con IECA/ARA-II, bloqueadores beta y antagonistas de la aldosterona, reducía la presión de llenado ventricular izquierdo, los valores plasmáticos de BNP y de N-terminal-proBNP (25%) y los urinarios de aldosterona (21%)¹⁰¹. En el estudio AVOID la adición de aliskiren (300 mg/día) durante 12 semanas en 599 pacientes hipertensos con diabetes mellitus tipo 2 y proteinuria tratados con losartán (100 mg/día) producía una reducción adicional (20%) del cociente albúmina/creatinina urinaria; además, más pacientes tratados con aliskiren presentaban una reducción de este parámetro un 50% mayor que con placebo (el 24,7 frente al 12,5%)¹⁰². Este hallazgo indica que la combinación de un IDR con un ARA-II produce un mayor efecto nefroprotector que el ARA-II en monoterapia. Finalmente, el estudio ALLAY analizó en 465 pacientes hipertensos, con índice de masa corporal ≥ 25 e hipertrofia ventricular izquierda la efectividad de aliskiren (300 mg/día), losartán (100 mg/día) o su combinación para modificar la hipertrofia ventricular izquierda evaluada por resonancia magnética¹⁰³. Tras 36 semanas de tratamiento, aliskiren se mostró tan eficaz como losartán para reducir la hipertrofia cardíaca, lo que no avala la hipótesis de que los IDR podrían aumentar la hipertrofia cardíaca. Es de señalar que en estos tres estudios aliskiren fue bien tolerado, y no se observó un aumento en las incidencias de hipotensión, hiperpotasemia o disfunción renal con respecto al grupo control.

INVESTIGACIONES FUTURAS

Los IDR ofrecen la posibilidad de demostrar si una inhibición más completa del SRA se traduce en una mayor protección cardiovascular y renal. En la actualidad existen importantes lagunas en nuestro conocimiento acerca del papel fisiopatológico de la prorrrenina/renina, las características estructurales de los receptores, los mecanismos que regulan su expresión (PLZF, SRA), las vías de señalización activadas tras su estimulación y si éstas son independientes de la A-II. Desde el punto de vista farmacológico, debemos conocer mucho mejor cuál es el mecanismo de acción de los IDR, las características del tipo de bloqueo que producen y si, además, inhiben las vías de señalización activadas tras la interacción de prorrrenina y renina con el (P)RR. Desde el punto de vista clínico, y debido al corto periodo transcurrido desde su aprobación, desconocemos la capacidad de aliskiren para reducir la morbimortalidad cardiovascular y proteger las lesiones de los órganos diana y cuáles podrían ser sus ventajas reales sobre los IECA y los ARA-II. Para responder a estas y otras preguntas (tabla 2), se ha diseñado un

ambicioso programa de desarrollo clínico que incluye a más de 35.000 pacientes y se resume en la tabla 3.

CONCLUSIONES

El reciente conocimiento de la estructura de la renina, la enzima que limita la activación del SRA y el hallazgo de que tanto la renina como la prorrrenina interactúan sobre un receptor específico, (P)RR, que activa vías de señalización independientes de la A-II, ha estimulado el desarrollo de nuevos IDR activos por vía oral. El aliskiren representa el primer miembro de esta nueva familia de fármacos que en ensayos clínicos controlados presenta una eficacia antihipertensiva similar a la de otros antihipertensivos y una seguridad similar a la del placebo, contrastada en ensayos clínicos controlados realizados en pacientes hipertensos. Los nuevos IDR podrían producir un bloqueo completo del SRA, ya que inhibirían no sólo las acciones mediadas por la A-II, sino también las que la prorrrenina y la renina ejercen a través de la estimulación del (P)RR. Ello debería traducirse en un mayor efecto protector de diversos órganos diana y una mayor reducción de la morbimortalidad cardiovascular y renal. Esto es lo que el amplio programa de desarrollo clínico de aliskiren, actualmente en marcha, debe demostrar en un futuro próximo.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tamargo J. Recuerdo fisiológico del sistema renina-angiotensina-aldosterona. *Medicine*. 1996;21:829-35.
2. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006;86:747-803.
3. Dzau V. The cardiovascular continuum and renin-angiotensin-aldosterone system blockade. *J Hypertens Suppl*. 2005;23:S9-17.
4. Watanabe T, Barker TA, Berk BC. Angiotensin II and the endothelium diverse signals and effects. *Hypertension*. 2005;45:163-9.
5. López-Sendón J, Swedberg K, Macmurray J, Tamargo J, Maggioni A, Dargy H, et al. Expert consensus document on angiotensin converting enzyme inhibitors in cardiovascular disease. The Task Force on ACE-inhibitors of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2004;25:1454-70.
6. Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Características farmacológicas de los ARA II. ¿Son todos iguales? *Rev Esp Cardiol*. 2006;6 Supl C:C10-24.
7. Skeggs LT, Kahn JR, Lentz KE, Shumway NP. Preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. *J Exp Med*. 1957;106:439-53.
8. Bühler FR, Laragh JH, Baer L, Vaughan ED Jr, Brunner HR. Propranolol inhibition of renin secretion: a specific approach to diagnosis and treatment of renin-dependent hypertensive diseases. *N Engl J Med*. 1972;287:1209-14.

9. Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science*. 1977;196:441-4.
10. Wong PC, Hart SD, Zaspel AM, Chiu AT, Ardecky RJ, Smith RD, et al. Functional studies of nonpeptide angiotensin II receptor subtype-specific ligands: DuP 753 (AII-1) and PD123177 (AII-2). *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;255:584-92.
11. Van den Meiracker AH, Man in't Veld AJ, Admiraal PJ, Van Eck HJ, Boomsma F, Derckx FH, et al. Partial escape of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition during prolonged ACE inhibitor treatment: does it exist and does it affect the antihypertensive response? *J Hypertens*. 1992;10:803-12.
12. 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.
13. Nussberger J, Wuerzner G, Jensen C, Brunner HR. Angiotensin II suppression in humans by the orally active renin inhibitor aliskiren (SPP100). Comparison with enalapril. *Hypertension*. 2002;39:E1-8.
14. Azizi M. Direct renin inhibition: clinical pharmacology. *J Mol Med*. 2008;86:647-54.
15. Alderman MH, Ooi WL, Cohen H, Madhavan S, Sealey JE, Laragh JH. Plasma renin activity: a risk factor for myocardial infarction in hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 1997;10:1-8.
16. Rongen GA, Lenders JWM, Smiths P, Thien T. Clinical pharmacokinetics and efficacy of renin inhibitors. *Clin Pharmacokinet*. 1995;29:6-14.
17. Lin C, Frishman WH. Renin inhibition: a novel therapy for cardiovascular disease. *Am Heart J*. 1996;131:1024-34.
18. Staessen JA, Li Y, Richart T. Oral renin inhibitors. *Lancet*. 2006;368:1449-56.
19. Wakerlin GE. Antibodies to renin as proof of the pathogenesis of sustained renal hypertension. *Circulation*. 1953;17:653-7.
20. Webb DJ, Manhem PJ, Ball SG, Inglis G, Leckie BJ, Lever AF, et al. A study of the renin inhibitor H142 in man. *J Hypertens*. 1985;3:653-8.
21. Wood JM, Gulati N, Forgiarini P, Fuhrer W, Hofbauer KG. Effects of a specific and long-acting renin inhibitor in the marmoset. *Hypertension*. 1985;7:797-803.
22. MacFadyen RJ, Jones CR, Doig JK, Birnbock H, Reid JL. Responses to an orally active renin inhibitor, remikiren (Ro 42-5892), after controlled salt depletion in humans. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995;25:347-53.
23. 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.
24. Rahuel J, Rasetti V, Maibaum J, Rüeger H, Göschke R, Cohen NC, et al. Structure-based drug design: the discovery of novel nonpeptide orally active inhibitors of human renin. *Chem Biol*. 2000;7:493-504.
25. Wood JM, Maibaum J, Rahuel J, Grütter MG, Cohen NC, Rasetti V, et al. Structure-based design of aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308:698-705.
26. Azizi M, Ménard J. Combined blockade of the renin-angiotensin system with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type I receptor antagonists. *Circulation*. 2004;109:2492-9.
27. Danser AH, Deinum J. Renin, prorenin and the putative (pro)renin receptor. *Hypertension*. 2005;46:1069-76.
28. Pilz B, Shagdarsuren E, Wellner M, Fiebeler A, Dechend R, Gratz P, et al. Aliskiren, a human renin inhibitor, ameliorates cardiac and renal damage in double-transgenic rats. *Hypertension*. 2005;46:569-76.
29. 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.
30. Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM, Schwartz HC, Bryer-Ash M. Increased plasma inactive renin in diabetes mellitus. A marker of microvascular complications. *N Engl J Med*. 1985;312:1412-7.
31. Danser AHJ, Van den Dorpel MA, Deinum J, Derckx FHM, Franken AAM, Peperkamp E, et al. Renin, prorenin, and immunoreactive renin in vitreous fluid from eyes with and without diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68:160-7.
32. Danser AHJ, Derckx FHM, Schalkkamp MADH, Hense HW, Riegger GAJ, Schunkert H. Determinants of interindividual variation of renin and prorenin concentrations: evidence for a sexual dimorphism of (pro)renin levels in human. *J Hypertens*. 1998;16:853-62.
33. Franken AA, Derckx FH, Man in't Veld AJ, Hop WC, Van Rens GH, Peperkamp E, et al. High plasma prorenin in diabetes mellitus and its correlation with some complications. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71:1008-15.
34. Wilson DM, Luetscher JA. Plasma prorenin activity and complications in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1990;323:1101-6.
35. Hsueh WA, Baxter JD. Human prorenin. *Hypertension*. 1991;17:469-79.
36. Yokota H, Mori F, Kai K, Nagaoka T, Izumi N, Takahashi A, et al. Serum prorenin levels and diabetic retinopathy in type 2 diabetes: new method to measure serum level of prorenin using antibody activating direct kinetic assay. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:871-3.
37. Deinum J, Ronn B, Mathiesen E, Derckx FHM, Hop WC, Schalkkamp MADH. Increase in serum prorenin precedes onset of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1999;42:1006-10.
38. 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.
39. Derckx FH, Alberda AT, De Jong FH, Zeilmaker FH, Makovitz JW, Schalkkamp MA. Source of plasma prorenin in early and late pregnancy: observations in a patient with primary ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987;65:349-54.
40. Itskovitz J, Rubattu S, Levron J, Sealey JE. Highest concentrations of prorenin and human chorionic gonadotropin in gestational sacs during early human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75:906-10.
41. Singh HJ, Rahman A, Larmie ET, Nila A. Raised prorenin and renin concentrations in pre-eclamptic placentae when measured after acid activation. *Placenta*. 2004;25:631-3.
42. Danser AH, Van Kesteren CA, Bax WA, Tavenier M, Derckx FH, Saxena PR, et al. Prorenin, renin, angiotensinogen, and angiotensin-converting enzyme in normal and failing human hearts. Evidence for renin binding. *Circulation*. 1997;96:220-6.
43. Sielecki AR, Hakayawa K, Fujinaga M, Murphy ME, Fraser M, Muir AK, et al. Structure of recombinant human renin, a target for cardiovascular-active drugs, at 2.5 Å resolution. *Science*. 1989;243:1346-51.
44. Neves FA, Duncan KG, Baxter JD. Cathepsin B is a prorenin processing of human prorenin enzyme. *Hypertension*. 1996;27:514-7.
45. Saris JJ, Derckx FH, De Bruin RJ, Dekkers DH, Lamers JM, Saxena PR, et al. High-affinity prorenin binding to cardiac man-6-P/IGF-II receptors precedes proteolytic activation to renin. *Am J Physiol*. 2001;280:H1706-15.
46. Derckx FHM, Deinum J, Lipovski M, Verhaar M, Fischli W, Schalkkamp MADH. Nonproteolytic "activation" of prorenin by

- active site-directed renin inhibitors as demonstrated by renin-specific monoclonal antibody. *J Biol Chem.* 1992;267:22837-42.
47. Zhao C, Vaidyanathan S, Yeh CM, Maboudian M, Armin Dieterich H. Aliskiren exhibits similar pharmacokinetics in healthy volunteers and patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacokinet.* 2006;45:1125-34.
 48. Lenz T, Sealey JE, Lappe RW, Carilli C, Oshiro GT, Baxter JD, et al. Infusion of recombinant human prorenin into rhesus monkeys. Effects on hemodynamics, renin-angiotensin-aldosterone axis and plasma testosterone. *Am J Hypertens.* 1990;3:257-61.
 49. Lenz T, Sealey JE, Maack T, James GD, Heinrikson RL, Marion D, et al. Half-life, hemodynamic, renal, and hormonal effects of prorenin in cynomolgus monkeys. *Am J Physiol.* 1991;260:R804-10.
 50. Müller DN, Hilgers KF, Mathews S, Breu V, Fischli W, Uhlmann R, et al. Effects of human prorenin in rats transgenic for human angiotensinogen. *Hypertension.* 1999;33:312-7.
 51. Sealey JE, Moon C, Laragh JH, Atlas SA. Plasma protein in normal, hypertensive, and anephric subjects and its effect on renin measurements. *Circ Res.* 1977;40:141-5.
 52. Campbell DJ, Kladis A, Skinner SL, Whitworth JA. Characterization of angiotensin peptides in plasma of anephric man. *J Hypertens.* 1991;9:265-74.
 53. Veniant M, Menard J, Bruneval P, Morley S, Gonzales MF, Mullins JJ. Vascular damage without hypertension in transgenic rats expressing prorenin exclusively in the liver. *J Clin Invest.* 1996;98:1966-70.
 54. Prescott G, Silversides DW, Reudelhuber TL. Tissue activity of circulating prorenin. *Am J Hypertens.* 2002;15:280-5.
 55. Stankovic AR, Fisher NDL, Hollenberg NK. Prorenin and angiotensin-dependent renal vasoconstriction in type 1 and type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:3293-9.
 56. Loudon M, Bing RF, Thurston H, Swales JD. Arterial wall uptake of renal renin and blood pressure control. *Hypertension.* 1983;5:629-34.
 57. Takahashi S, Inoue H, Miyake Y. The human gene for renin-binding protein. *J Biol Chem.* 1992;267:13007-13.
 58. Schmitz C, Gotthardt M, Hinderlich S, Leheste JR, Gross V, Vorum H, et al. Normal blood pressure and plasma renin activity in mice lacking the renin binding protein, a cellular renin inhibitor. *J Biol Chem.* 2000;275:15357-62.
 59. Van Kesteren CA, Danser AH, Derkx FH, Dekkers DH, Lamers JM, Saxena PR, et al. Mannose 6-phosphate receptor-mediated internalization and activation of prorenin by cardiac cells. *Hypertension.* 1997;30:1389-96.
 60. Danser AHJ, Batenburg WW, Van Esch HM. Prorenin and the (pro)renin receptor-an update. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22:1288-92.
 61. Campbell DJ. Critical review of prorenin and (Pro)renin receptor research. *Hypertension.* 2008;51:1-2.
 62. Burckle C, Bader M. Prorenin and its ancient receptor. *Hypertension.* 2006;48:549-51.
 63. Kaneshiro Y, Ichihara A, Takemitsu T, Sakoda M, Suzuki F, Nakagawa T, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in the renal cortex of human prorenin receptor gene-transgenic rats. *Kidney Int.* 2006;70:641-6.
 64. Kaneshiro Y, Ichihara A, Sakoda M, Takemitsu T, Nabi AH, Uddin MN, et al. Slowly progressive, angiotensin II-independent glomerulosclerosis in human (pro)renin receptor-transgenic rats. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:1789-95.
 65. Burckle C, Danser AHJ, Müller DN, Garrelds IM, Gasc J-M, Plehm R, et al. Elevated blood pressure and heart rate in human renin receptor transgenic rats. *Hypertension.* 2006;47:552-6.
 66. Ludwig J, Kerscher S, Brandt U, Pfeiffer K, Getlawi F, Apps DK, et al. Identification and characterization of a novel 9.2-kDa membrane sector-associated protein of vacuolar proton-ATPase from chromaffin granules. *J Biol Chem* 1998;273:10939-47.
 67. Saris JJ, 'tHoen PAC, Garrelds IM, Dekkers DHW, Den Dunnen JT, Lamers MJM, et al. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. *Hypertension.* 2006;48:564-71.
 68. Bonifacino JS, Traub LM. Signals for sorting of transmembrane proteins to endosomes and lysosomes. *Annu Rev Biochem.* 2003;72:395-447.
 69. Trombetta ES, Parodi AJ. Quality control and protein folding in the secretory pathway. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2003;19:649-76.
 70. Amsterdam A, Nissen RM, Sun Z, Swindell EC, Farrington S, Hopkins N. Identification of 315 genes essential for early zebrafish development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:12792-7.
 71. Ramser J, Abidi FE, Burckle CA, Lenski C, Toriello H, Wen G, et al. A unique exonic splice enhancer mutation in a family with X-linked mental retardation and epilepsy points to a novel role of the renin receptor. *Hum Mol Genet.* 2005;14:1019-27.
 72. Danser AHJ, VanKats JP, Admiraal PJJ, Derkx FHM, Lamers JM, Verdouw PD, et al. Cardiac renin and angiotensins: uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertension.* 1994;24:37-48.
 73. Peters J, Farrenkopf R, Clausmeyer S, Zimmer J, Kantachvesiri S, Sharp MG, et al. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. *Circ Res.* 2002;90:1135-41.
 74. Suzuki F, Hayakawa M, Nakagawa T, Nasir UM, Ebihara A, Iwasawa A, et al. Human prorenin has "gate and handle" regions for its non-proteolytic activation. *J Biol Chem.* 2003;278:22217-22.
 75. Nurun NA, Uddin NM, Nakagawa T, Iwata H, Ichihara A, Inagami T, et al. Role of "handle" region of prorenin prosegment in the non-proteolytic activation of prorenin by binding to membrane anchored (pro)renin receptor. *Front Biosci.* 2007;12:4810-7.
 76. Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Sakoda M, Nakagawa T, Nishiyama A, et al. Contribution of nonproteolytically activated prorenin in glomeruli to hypertensive renal damage. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2495-503.
 77. Takahashi H, Ichihara A, Kaneshiro Y, Inomata K, Sakoda M, Takemitsu T, et al. Regression of nephropathy developed in diabetes by (Pro)renin receptor blockade. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:2054-61.
 78. Ichihara A, Suzuki F, Nakagawa T, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Sakoda M, et al. Prorenin receptor blockade inhibits development of glomerulosclerosis in diabetic angiotensin II type 1a receptor-deficient mice. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:1950-61.
 79. Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Sakoda M, Suzuki F, Nakagawa T, et al. Nonproteolytic activation of prorenin contributes to development of cardiac fibrosis in genetic hypertension. *Hypertension.* 2006;47:894-900.
 80. Feldt S, Maschke U, Dechend R, Luft FC, Muller DN. The putative (pro)renin receptor blocker HRP fails to prevent (pro)renin signaling. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:743-8.
 81. Susic D, Lipton H, Knight M, Frohlich ED. Cardiovascular effects of nonproteolytic activation of prorenin. *Hypertension.* 2006;48:e113-4.
 82. Müller DN, Klanke B, Feldt S, Cordasic N, Hartner A, Schmieder RE, et al. (Pro)renin receptor peptide inhibitor "handle-region" peptide does not affect hypertensive nephrosclerosis in Goldblatt rats. *Hypertension.* 2008;51:676-81.
 83. Nabi AH, Kageshima A, Uddin MN, Nakagawa T, Park EY, Suzuki F. Binding properties of rat prorenin and renin to the recombinant rat renin/prorenin receptor prepared by a baculovirus expression system. *Int J Mol Med.* 2006;18:483-8.
 84. Nguyen G. Renin/prorenin receptors. *Kidney Int.* 2006;69:1503-6.

85. Scheffe JH, Menk M, Reinemund J, Effertz K, Hobbs RM, Pandolfi PP, et al. A novel signal transduction cascade involving direct physical interaction of the renin/prorenin receptor with the transcription factor promyelocytic zinc finger protein. *Circ Res*. 2006;99:1355-66.
86. Saris JJ, Van den Eijnden MMED, Lamers JMJ, Saxena PR, Schalekamp MADH, Danser AHJ. Prorenin-induced myocyte proliferation: no role for intracellular angiotensin II. *Hypertension*. 2002;39:573-7.
87. Nguyen G, Delarue F, Berrou J, Rondeau E, Sraer JD. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int*. 1996;50:1897-903.
88. Sakoda M, Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Nakazato Y, Nabi AH, et al. (Pro)renin receptor-mediated activation of mitogen-activated protein kinases in human vascular smooth muscle cells. *Hypertens Res*. 2007;30:1139-46.
89. 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.
90. Huang Y, Noble NA, Zhang J, Xu C, Border WA. Renin-stimulated TGF- β 1 expression is regulated by a mitogen-activated protein kinase in mesangial cells. *Kidney Int*. 2007;72:45-52.
91. Schmieder RE, Hilgers KF, Schlaich MP, Schmidt BM. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. *Lancet*. 2007;369:1208-19.
92. Menard J, Guyene TT, Peyrard S, Azizi M. Conformational changes in prorenin during renin inhibition in vitro and in vivo. *J Hypertens*. 2006;24:529-34.
93. Oparil S, Yarows SA, Patel S, Fang H, Zhang J, Satlin A. Efficacy and safety of combined use of aliskiren and valsartan in patients with hypertension: a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2007;370:221-9.
94. Jensen C, Herold P, Brunner HR. Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7:399-410.
95. Gradman AH, Kad R. Renin inhibition in hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:519-28.
96. Nakao N, Yoshimura A, Morita H, Takada M, Kayano T, Ideura T. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2003;361:117-24.
97. O'Brien E, Barton J, Nussberger J, Mulcahy D, Jensen C, Dicker P, et al. Aliskiren reduces blood pressure and suppresses plasma renin activity in combination with a thiazide diuretic, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, or an angiotensin receptor blocker. *Hypertension*. 2007;49:276-84.
98. Fisher ND, Hollenberg N. Renal vascular responses to renin inhibition with zankiren in men. *Clin Pharmacol Ther*. 1995;57:342-8.
99. Oh BH, Mitchell J, Herron JR, Chung J, Khan M, Keefe DL. Aliskiren, an oral renin inhibitor, provides dose-dependent efficacy and sustained 24-hour blood pressure control in patients with hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1157-63.
100. Sealey JE, Laragh JH. Aliskiren, the first renin inhibitor for treating hypertension: reactive renin secretion may limit its effectiveness. *Am J Hypertens*. 2007;20:587-97.
101. McMurray JJV, Pitt B, Latini R, Maggioni AP, Solomon SD, Keefe DL, et al. Effects of the oral direct renin inhibitor aliskiren in patients with symptomatic heart failure. *Circ Heart Fail*. 2008;1:17-24.
102. Parving HH, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Hollenberg NK; AVOID Study Investigators. Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*. 2008;358:2436-46.
103. Solomon SD, Appelbaum E, Manning WJ, Verma A, Berglund T, Lukashevich V et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren, either alone or in combination with losartan, compared to losartan, on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy: the aliskiren left ventricular assessment of hypertrophy (allay) trial. SCAI-ACC i2 Summit/ACC Annual Scientific Session. Chicago, marzo-abril de 2008.