



UNIVERSIDAD DE JAÉN  
*Facultad de Ciencias Experimentales*

Trabajo Fin de Grado

# **Implicaciones funcionales del sistema Renina- Angiotensina cerebral**

**Alumno: Rubén Cara Ortega**

**2017**



UNIVERSIDAD DE JAÉN  
*Facultad de Ciencias Experimentales*

GRADO EN **BIOLOGÍA**

Trabajo Fin de Grado

# **Implicaciones funcionales del sistema Renina- Angiotensina cerebral**

Rubén Cara Ortega

Universidad de Jaén, Junio 2017

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. RESUMEN.....  | 4  |
| ABSTRACT.....  | 5  |
| 2. INTRODUCCIÓN HISTÓRICA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA .... | 5  |
| 3. FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA .....            | 10 |
| a. CASCADA ENZIMÁTICA .....                                    | 10 |
| b. RECEPTORES .....  | 14 |
| 4. SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA LOCALES.....                   | 16 |
| 5. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA CEREBRAL .....                  | 18 |
| a. CONSECUENCIAS FISIOPATOLÓGICAS DE SU ALTERACIÓN ....        | 21 |
| b. POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS .....                            | 23 |
| 6. CONCLUSIONES .....  | 28 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA.....   | 28 |

## 1. RESUMEN

La renina, sustancia vasopresora de gran importancia en la regulación hormonal de la presión arterial, fue descubierta en 1898 por Tigerstedt y Bergman, estableciendo la base fundamental en la multitud de investigaciones posteriores orientadas a arrojar luz sobre este complejo e importante sistema, llamado sistema renina-angiotensina. Así, durante muchos años las investigaciones se centraron mayoritariamente en el estudio del papel que ejercía el sistema renina-angiotensina circulante sobre el control de la presión arterial y el equilibrio hidro-electrolítico. Pero no solo se descubrieron nuevos componentes implicados en diversas funciones, sino que además se descubrió que dichos componentes se encontraban no solo en el plasma sino en todo tipo de tejidos: renal, cardiaco o incluso en el endotelio vascular. No solo eso sino que además estos componentes locales podían tener funciones no solo complementarias a los componentes del sistema plasmático, sino funciones propias y específicas. En el cerebro también se encontraban todos los componentes del sistema, que poseían funciones destinadas al incremento de la presión arterial, pero además sus componentes peptídicos, las angiotensinas, podían actuar como neurotransmisores e intervenir en funciones aparentemente muy alejadas a las clásicas del sistema plasmático como pueden ser diversas funciones cognitivas. Es por ello que un conocimiento profundo del sistema renina-angiotensina cerebral nos permitirá obtener importantes sugerencias sobre posibilidades terapéuticas no sólo para el tratamiento de la hipertensión sino para el tratamiento de diversas patologías del sistema nervioso central. Con objeto de integrar los datos existentes en relación al Sistema Renina-Angiotensina cerebral y obtener sugerencias sobre sus funciones fisiológicas así como las consecuencias fisiopatológicas en caso de su alteración, se propone llevar a cabo una revisión de la bibliografía más relevante y un análisis razonado de los principales conocimientos que hasta hoy en día existen sobre el tema. Algo de especial interés en la actualidad dado el gran auge de las enfermedades cardiovasculares, que son una de las principales causas de mortalidad en la sociedad moderna, siendo la hipertensión su más importante y peligroso factor de riesgo.

## **ABSTRACT**

Renin, an important vasopressor substance in the hormonal regulation of blood pressure, was discovered in 1898 by Tigerstedt and Bergman, establishing the basis of the huge amount of following researches to clarify about this important and complex system, called renin angiotensin system. In this way, for many years researches were focused exclusively on the study of the role that the renin angiotensin system exerts on blood pressure control and hydroelectrolytic balance. But not only new components were discovered involved in various functions, but it was also discovered that those components were found not only in plasma but also in all types of tissues: renal, cardiac or even vascular endothelium. These local components could also have functions not only complementary to the ones of the circulatory system, but also their own specific functions. All the components of the system were also found in the brain, which had functions aimed at increasing blood pressure, but also its peptidic components, angiotensins, could act as neurotransmitters and participate in functions different from the classic ones of the circulatory system, such as several cognitive functions. That is why a deep knowledge of the brain renin-angiotensin system will let us to obtain important suggestions about therapeutic possibilities not only for the treatment of hypertension but also for the treatment of various pathologies of the central nervous system. In order to integrate the existing data in relation to brain renin angiotensin system and to obtain suggestions about its physiological functions as well as the physiopathological consequences when it is altered, we propose to perform a review of the most relevant bibliography and a reasoned analysis of the main knowledge about this subject until now. A really interesting thing nowadays due to the great rise of cardiovascular diseases, which are a major cause of mortality in modern society, being hypertension its most important and dangerous risk factor.

## **2. INTRODUCCIÓN HISTÓRICA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA**

El descubrimiento y descripción del sistema renina-angiotensina-aldosterona supone un buen ejemplo del popular dicho “Las grandes mentes piensan igual”, pues este se llevó a cabo de forma simultánea por dos equipos de investigación independientes, uno en Argentina y otro en Norteamérica, trabajando paralelamente pero llegando a las mismas conclusiones.

Los primeros pasos que dieron inicio al descubrimiento de este sistema datan de finales del siglo XIX. En 1898, el fisiólogo finés Robert Tigerstedt publicó, junto a su joven estudiante de 24 años Per Gunner Bergman, un artículo denominado “El riñón y la circulación” (Tigerstedt y Bergman, 1898). Trabajando con extractos de corteza renal, comprobaron que estos producían un efecto presor al ser inoculados en conejos. La sustancia que provocaba este efecto fue nombrada por los dos investigadores como **renina**. Los motivos por los que Tigerstedt decidió indagar en esta línea de investigación son difusos, no obstante, poco después la abandonó al marcharse del Instituto Karolinska en Estocolmo y regresar a su Finlandia natal (Hall, 2001).

Habría que esperar hasta 1934, cuando el patólogo Harry Goldblatt desarrolló el primer modelo experimental de hipertensión arterial. Este fue denominado riñón de Goldblatt, en honor a su creador, y consistía en obstruir la arteria renal, provocando con ello la isquemia y la liberación de renina, con función vasopresora (Goldblatt, 1934). El trabajo de Goldblatt llegó a manos del joven Juan Carlos Fasciolo, estudiante de Medicina en la Universidad de Buenos Aires que en 1934 estaba estudiando la hipertensión arterial nefrogénica con motivo de su tesis. Fasciolo decidió abordar dicha investigación bajo la recomendación del doctor Bernardo Houssay, si bien sus primeros intentos de desarrollar un modelo de hipertensión arterial experimental mediante la destrucción de la corteza renal en ratas no dieron buenos resultados. Tras leer el artículo de Goldblatt, decidió aplicar su modelo de hipertensión en perros. Así, en 1937 observó un aumento de la presión arterial al implantar el riñón isquémico de perros hipertensos en perros normotensos nefrectomizados. Esto confirmó sus sospechas de que la sustancia hipertensora se sintetizaba constantemente en el riñón, pero era metabolizada tan rápidamente que impedía que fuese detectada. El trabajo de Fasciolo demostró por primera vez la presencia de un mecanismo humoral implicado en la hipertensión arterial nefrogénica (Fasciolo et al, 1938).

Sería en 1938 cuando Alberto Carlos Taquini usó plasma venoso de riñones isquémicos mediante la técnica de Trendelenburg, consistente en la perfusión de los miembros traseros de rana o sapo en solución Ringer (Houssay y Taquini, 1938). Su experimento demostró que dicha sustancia actuaba directamente sobre los vasos sanguíneos, hipótesis que ya había discutido con Fasciolo y Houssay con

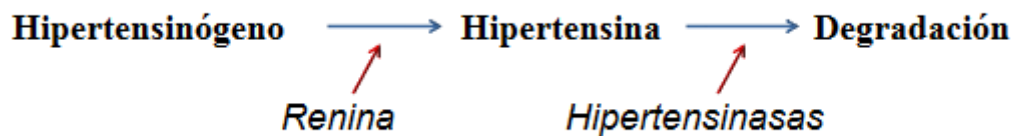
anterioridad. También demostró posteriormente que la misma sustancia provocaba la hipertensión al restablecer el flujo en los riñones isquémicos. Por su parte, Fasciolo y Eduardo Braun Menéndez constataron la presencia de esta sustancia en la sangre venosa del riñón inmediatamente después de que el flujo sanguíneo fuera interrumpido unos minutos (citado en Fasciolo, 1990).

Todo ese bagaje y la importancia que estaba tomando la misteriosa sustancia vasopresora motivaron finalmente a Houssay a reunir un equipo de investigación dedicado a esclarecer la naturaleza de la sustancia y aislarla. Eduardo Braun Menéndez, Luis Federico Leloir, Juan M. Muñoz y Fasciolo fueron los escogidos (Fig. 1). Taquini se encontraba trabajando en el extranjero en aquellos momentos, hecho al que él mismo se refirió posteriormente con las palabras “Erróneo en el tiempo como diría Borges, cuando ellos lograron identificarla yo estaba en Harvard” (Milei, 2005).



**Figura 1. Imagen tomada en 1940 con todos los integrantes del grupo de investigación argentino. De izquierda a derecha: Fasciolo, Muñoz, Taquini, Houssay, Braun Menéndez y Leloir (Milei, 2005).**

Finalmente en 1939, a partir de sangre venosa de riñones isquémicos, pudieron extraerla sustancia, a la que dieron el nombre de hipertensina. La inyectaron en animales y comprobaron que su efecto hipertensor solo duraba unos minutos. Experimentos posteriores permitieron dilucidar la relación de esta nueva sustancia con la renina, así como determinar la presencia de enzimas encargadas de su degradación. Con todos los datos obtenidos, se hipotetizó una posible reacción enzima-sustrato (Fig. 2) (Braun Menéndez et al, 1939a).



**Figura 2. Esquema básico de la reacción enzimática hipotetizada por el equipo de Braun Menéndez (Braun Menéndez et al, 1939a)**

La enzima renina secretada en el riñón actuaba sobre el precursor, que denominaron hipertensinógeno, produciendo la que también nombraron como hipertensina. A su vez, unas enzimas "hipertensinasas" se encargaban de degradar la hipertensina. Además de sencillo, este modelo encajaba satisfactoriamente con las experiencias previas. El efecto hipertensor a largo plazo estaría causado por un aporte continuo de renina, que generaría hipertensina constantemente a partir del hipertensinógeno. Sin embargo, una simple inyección de hipertensina tenía una corta duración debido a que esta era rápidamente degradada por las hipertensinasas (Braun Menéndez et al., 1939b).

La aldosterona (inicialmente denominada electrocortina) no se identificó hasta 1953, cuando Sylvia Agnes Sophia Tait aisló e identificó el mineralcorticoide mediante cromatografía (Simpson et al, 1953). Por ello, el equipo argentino no investigó al respecto de esta sustancia, dados los pocos datos que había en la época sobre ella, ni conocía su implicación en el sistema.

Paralelamente a los avances del equipo argentino, un equipo de investigadores norteamericanos formado por Irvine H. Page, Kenneth G. Kohlstaedt y Oscar M. Helmer se dedicó también al estudio de este sistema, llegando por su cuenta a



conclusiones similares. Usando extractos de parénquima renal, concentraron la renina y la inocularon en preparados de cola de perro y oreja de conejo. Al ver que la vasoconstricción sólo ocurría al perfundir el preparado con suero, concluyeron que la sustancia que activaba la renina debía encontrarse en el suero (Page y Helmer, 1940). No obstante, Taquini asistió a la reunión de la American Heart Association donde Page y sus compañeros expusieron sus conclusiones en 1939, y dado que él estaba al tanto de los avances de sus colegas en Argentina, refutó al investigador norteamericano explicando que no era la renina la verdadera causante de la vasoconstricción, sino otra sustancia diferente que requería de la renina. Finalmente, el equipo aisló dicha sustancia en 1940 (apenas unos meses después que Houssay y sus colegas) y a la sustancia que los argentinos denominaron hipertensina, los norteamericanos bautizaron con el nombre de angiotonina (Page y Helmer, 1940).

Existía ahora el problema de que la misma sustancia tenía dos nomenclaturas distintas, lo cual podía inducir a confusión. Esto se solucionó en 1958 cuando Braun Menéndez y Page llegaron a un acuerdo por el que fusionaron ambos nombres y obtuvieron así una nueva nomenclatura. De este modo, la sustancia vasopresora pasó a denominarse angiotensina, el “activador” de la renina (que ahora se sabía que en realidad era el sustrato de la renina) angiotensinógeno, y angiotensinasas las distintas enzimas encargadas de la hidrólisis de la angiotensina. De esta manera se llegó a una solución pacífica y se evitó el conflicto (Braun Menéndez y Page, 1958).

Los avances en la materia se sucedieron uno tras otro a partir de la investigación de estos dos equipos y la sólida base que establecieron. En 1957, Leonard T. Skeggs describió las características del angiotensinógeno como sustrato de la renina y estableció el esquema básico del sistema, describiendo la enzima convertidora de angiotensina (ECA) como la encargada de convertir la angiotensina I (Ang I) en angiotensina II (Ang II), más activa (Skeggs et al, 1957). El descubrimiento de la ECA permitió a Miguel Ángel Ondetti desarrollar el captopril en 1975, el primer fármaco de una familia destinada a inhibir este enzima: inhibidores del enzima convertidor de angiotensina (IECA), y precursor de otros fármacos de similar principio y de gran importancia terapéutica en el tratamiento de la hipertensión (Ondetti, 1994). El descubrimiento de los principales receptores para la angiotensina (AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>) y sus correspondientes antagonistas supuso otro gran avance en la comprensión de este

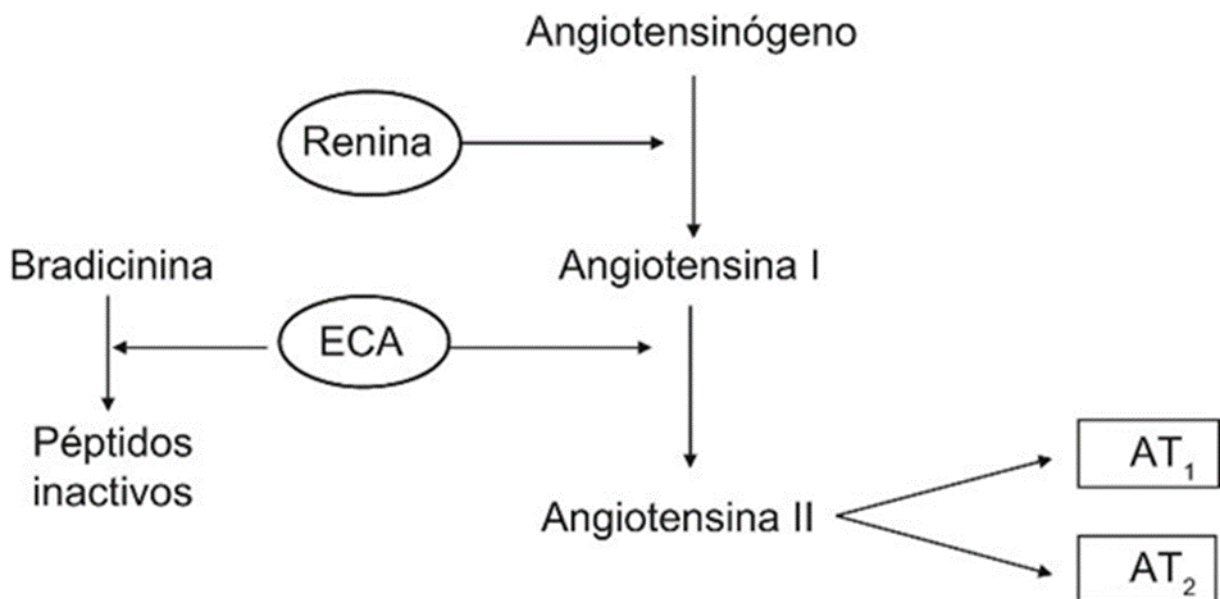
sistema y sus utilidades terapéuticas (Timmermans et al., 1993; de Gasparo et al, 2000).

En las últimas décadas el esquema básico se ha ido complicando, con el descubrimiento de nuevos elementos implicados en el sistema (angiotensinas III y IV entre otras, además de varias angiotensinasas) (Ramírez-Sánchez et al., 2013) y nuevos grupos de fármacos como los inhibidores directos de la renina (IDR) (Jensen et al., 2008), que han contribuido a ampliar nuestro conocimiento en este importante sistema y han dado renovado interés al estudio del mismo.

### 3. FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

#### a. CASCADA ENZIMÁTICA

Como comentamos anteriormente, el esquema básico propuesto por Skeggs et al. en 1957 (Fig. 3) se ha ido ampliando con los años y los sucesivos avances en la materia.

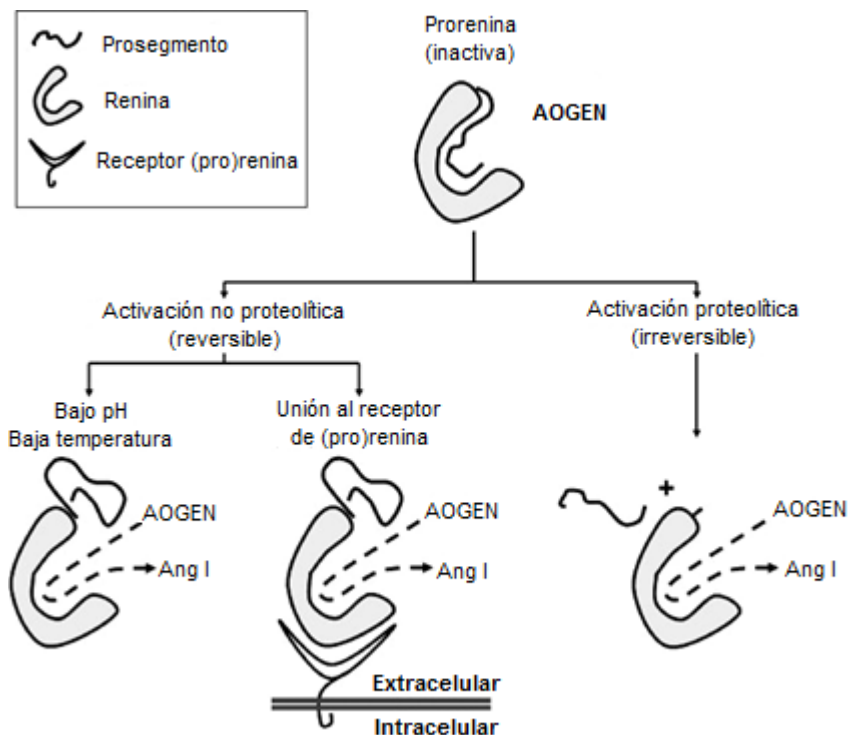


**Figura 3. Esquema clásico del sistema renina angiotensina propuesto por Skeggs et al (1957) y ampliado posteriormente por de Gasparo et al. (2000). ECA: Enzima convertidora de angiotensina; AT<sub>1</sub>: Receptor de angiotensina 1; AT<sub>2</sub>: Receptor de angiotensina 2.**

El sistema inicia su activación mediante la liberación de renina. La renina es una endopeptidasa cuya función es convertir su sustrato, el angiotensinógeno (AOGEN)

en un decapeptido denominado angiotensina I (Ang I) (Ang 1-10). La liberación de renina tiene lugar siempre desde el aparato yuxtaglomerular del riñón, en respuesta a determinados estímulos como el descenso de la presión arterial o el volumen de plasma.

Aparte de que la renina pueda ser directamente liberada por el aparato yuxtaglomerular, también puede provenir de un precursor inactivo, de nombre prorenina (PRR). Esta, aparte del riñón, puede ser sintetizada en lugares como el hígado o el corazón, y su activación puede darse de distintas formas (Fig. 4). La activación proteolítica es irreversible, y consiste en que una enzima, la proproteinconvertasa 1 o catepsina B rompe el prosegmento unido a la PRR, pasando a renina activa. La activación no proteolítica es reversible y conlleva un cambio conformacional en el prosegmento que altera su plegamiento, activando la proteína. Esto puede estar provocado bien por un descenso en el pH o la temperatura, o bien por la unión directa de la PRR a su receptor específico (PRR-R) (Danser y Deinum, 2005), esto último también puede tener efectos fisiológicos en el organismo tales como aumento de la contractilidad, hipertrofia cardiaca, fibrosis, apoptosis y glomeruloesclerosis (Nguyen et al., 2002). En cualquiera de los casos, la PRR se activa y adquiere su capacidad de catalizar el paso de angiotensinógeno a Ang I, mediante la rotura del enlace peptídico entre los aminoácidos Leu y Val del angiotensinógeno, quedando un péptido de diez aminoácidos que es la Ang I. Al ser este el principal producto de la actividad de la renina, su concentración en el plasma sanguíneo se ha usado como indicador de la actividad de la renina plasmática (Fernández Andrade, 2009).



**Figura4. Esquema de la activación proteolítica y no proteolítica de la prorenina. AOGEN: angiotensínógeno; Ang I: Angiotensina I (Danser et al., 2007).**

A partir de aquí la Ang I puede seguir varios caminos (Fig. 5). Lo habitual es que la Ang I pase a Ang II por acción de la ECA, enzima expresada mayormente por el epitelio pulmonar. La ECA es una dipeptidasa cuya función es romper el enlace entre Phe y His, y así eliminar dos residuos C-terminales de la Ang I (His-Leu), pasando de este modo a Ang II (Erdős EG, 1976; Erdős EG, 1977). La ECA es una enzima transmembrana, y pertenece al tipo de las zinc metalopeptidasas. En función de su peso molecular y localización, en los seres humanos podemos encontrar tres tipos de ECA: la ECA somática, de mayor peso; la ECA germinativa o testicular, de menor peso y localizada en el testículo; y la ECA plasmática (Fyhrquist y Saijonmaa, 2008).

La Ang II es la principal angiotensina responsable de los efectos fisiológicos del sistema (o eso se pensaba): su unión al  $AT_1$  provoca vasoconstricción, liberación de aldosterona, proliferación celular y retención de sodio y agua (Fyhrquist et al., 1995; Hall, 2001). Sin embargo, los efectos de la unión de Ang II al  $AT_2$  parecen ser antagónicos. La aminopeptidasa A (GluAP) elimina el residuo amino-terminal de Asp del Ang II, pasando a Ang III, que tiene un efecto vasopresor más débil que la Ang II y una vida más corta (Blair-West et al., 1980).

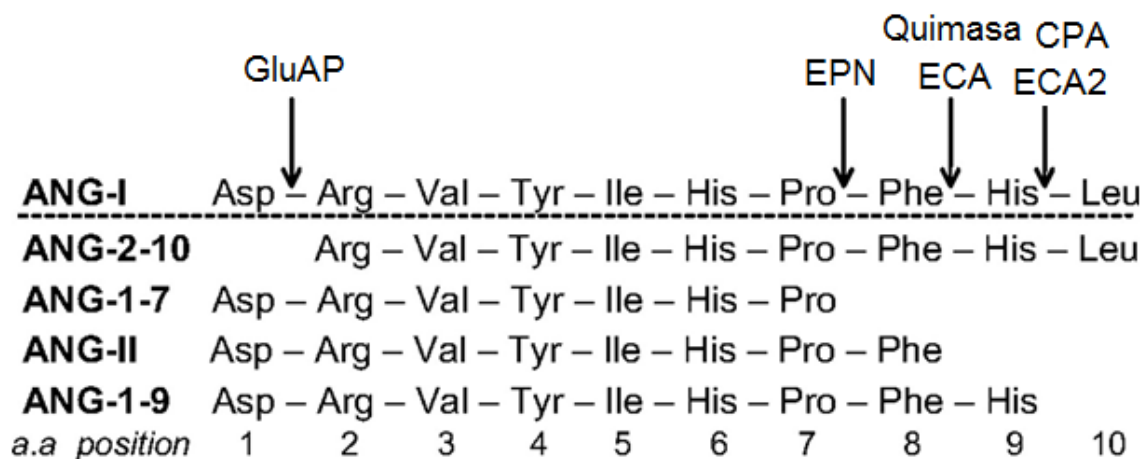
La Ang III se une a los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>, por los que presenta aproximadamente la misma afinidad, y estimula la liberación de aldosterona (Campbell et al., 1974).

La ECA también está implicada en la degradación y eliminación de la bradicinina, un péptido con un fuerte efecto vasodilatador (Erdős EG, 1977). Por tanto, la inhibición de esta enzima mediante los IECA permite un aumento en los niveles de bradicinina y una disminución de la presión arterial, no obstante, un exceso de bradicinina es causante de una tos seca característica en los pacientes tratados con IECA (Overlack, 1996), por lo que su uso puede ser desaconsejable en determinadas ocasiones.

La Ang I también puede ser metabolizada por la aspartil-aminopeptidasa (AspAP), que elimina el residuo amino-terminal de Asp del Ang I transformándola en Ang 2-10, la cual puede reaccionar con ECA para dar lugar a Ang III. La Ang 2-10 es antagonista de la Ang II y probablemente de la Ang III, aunque no es seguro que en el cerebro tenga estos mismos efectos (Ramírez-Sánchez et al., 2013).

También puede actuar sobre la Ang I una endopeptidasa neutra (NEP) que elimina los tres últimos aminoácidos C-terminales (Phe-His-Leu) dando lugar a la Ang 1-7 (Velez et al., 2009). La Ang 1-7 también puede proceder de la Ang II por acción de una carboxipeptidasa P o de la ECA2 que eliminan la Phe del extremo C-terminal (Clarke y Turner, 2012). La Ang 1-7 puede derivar en Ang 1-5 si actúa sobre ella la ECA, o derivar en Ang 2-7 si sobre ella actúa la GluAP (Alghamri et al., 2014). La Ang 1-7 se une a los receptores Mas contrarrestando la función de la Ang II. Esto se traduce en vasodilatación, por lo que un incremento de este péptido tiene efectos beneficiosos frente a la hipertensión (Schindler et al., 2007). También se le atribuye que puede tener un efecto protector.

Sobre la Ang I también puede actuar la ECA2, convirtiéndose en Ang 1-9 por la escisión del residuo C-terminal (Leu) (Donoghue et al., 2000). La ECA a su vez separa los dos últimos aminoácidos del extremo C-terminal de la Ang 1-9 (Phe-His), siendo metabolizada a Ang 1-7, la cual sigue los pasos mencionados anteriormente. No parece tener más función que esa, servir de precursor para la Ang 1-7, aunque algunos sugieren que podría unirse al receptor AT<sub>2</sub> y equilibrar a la Ang II (Ocaranza y Jalil, 2012).



**Figura 5. Esquema simplificado de los distintos tipos de angiotensinas que se obtienen a partir de la Ang I, y las enzimas peptidasas implicadas en su formación. GluAP: aminopeptidasa A; EPN: endopeptidasa neutra; ECA: enzima convertidora de angiotensina; CPA: carboxipeptidasa A; ECA2: enzima convertidora de angiotensina 2 (Velez et al., 2009).**

A partir de la Ang III (Ang 2-8) se obtiene Ang IV (Ang 3-8) por la acción de la arginil-aminopeptidasa (ArgAP) o la alanil-aminopeptidasa (AlaAP), ambas tienen la función de eliminar el residuo N-terminal de Arg. Entre las funciones de la Ang IV está regular el flujo sanguíneo local en determinados órganos como el cerebro y estimular la producción de oxitocina con el consecuente efecto ansiolítico. También se ha demostrado que mejora la tolerancia a glucosa y la señalización de insulina en ratones hiperglucémicos, y que tiene funciones cognitivas. Su principal receptor es el AT<sub>4</sub>, apenas siente afinidad por AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> (Swanson et al., 1992).

## **b. RECEPTORES**

Actualmente, se reconocen 4 receptores para los distintos tipos de angiotensinas.

El receptor principal y más profusamente estudiado es el receptor AT<sub>1</sub>. La Ang II tiene a este como su principal y más afín receptor, aunque también responde a la Ang III. La unión de la Ang II al AT<sub>1</sub> es la principal responsable de los efectos fundamentales del SRA: incremento de la presión arterial por vasoconstricción, equilibrio hídrico del organismo por retención de sodio y agua, proliferación celular, liberación de aldosterona (Carpenter et al., 1961) y activación del sistema simpático (Fyhrquist et al., 1995) (Hall, 2001). El bloqueo de este receptor mediante bloqueadores del

receptor de angiotensina (ARB) permite tratar casos como hipertensión, arterioesclerosis o problemas cardíacos (Barreras y Gurk, 2003).

Recientemente, se ha descubierto que existen dos isoformas de este receptor en el cerebro de la rata. El AT<sub>1</sub> clásico es ahora denominado AT<sub>1A</sub>, se expresa en el órgano subfornical y en el núcleo paraventricular del hipotálamo y regula procesos de proliferación celular y las ya conocidas funciones de la Ang II. El AT<sub>1B</sub> se ha encontrado junto al AT<sub>1A</sub> en la corteza cerebral y el hipocampo, y parecen tener funciones relacionadas con los procesos cognitivos (Johren et al., 1995).

El segundo receptor, el AT<sub>2</sub>, se une tanto a la Ang II como a la Ang III (y en menor medida a la Ang 1-9). Está presente en gran proporción en numerosas partes del sistema nervioso, como el bulbo raquídeo, el tálamo, la amígdala o el cerebelo, entre otros (Guimond y Gallo-Payet, 2012). Al contrario que con el anterior, las funciones de este receptor han tardado más en esclarecerse, pero estudios mediante el uso de sus agonistas apoyan la idea de que sus funciones hasta cierto punto son antagónicas a las del AT<sub>1</sub> (Chow y Allen, 2016). La unión del AT<sub>2</sub> con la Ang II provoca vasodilatación e inhibe la proliferación celular, además de inhibir la síntesis de renina y favorecer la producción de NO. Todo esto confiere a estos receptores un gran interés en el tratamiento de la hipertensión (de Gasparo et al. 2000).

Tanto AT<sub>1</sub> como AT<sub>2</sub> pertenecen a la familia de los receptores acoplados a proteínas G (GPCR), receptores caracterizados por 7 dominios transmembrana que usan como transductores de señal las llamadas proteínas G (Kobilka, 2007). Las proteínas G son trímeros formados por 3 subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). La unión al receptor activa la proteína G, y esta a su vez activa a un enzima unido a membrana, la fosfolipasa C (PLC). Una vez activo, la PLC hidroliza un fosfolípido de membrana, el fosfatidilinositol difosfato (PIP<sub>2</sub>). Este fosfolípido se rompe en dos, uno hidrófilo, el trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>); y otro lipófilo, el diacil glicerol (DAG).

El IP<sub>3</sub> hidrosoluble pasa al citosol y moviliza los depósitos internos de calcio, uno de ellos es el RER. El IP<sub>3</sub> se une a los canales de calcio aumentando su permeabilidad, por lo que el calcio sale al citosol. El calcio se une a proteínas de unión al calcio (CBP). El complejo calcio-calmodulina es capaz de activar una protein quinasa, y ésta

llevar a cabo la fosforilación de determinadas proteínas y con ello, se produce la respuesta celular. Hay una fosforilasa que la fosforila.

El DG, a su vez, activa una protein quinasa que puede llevar a cabo también la fosforilación de determinadas proteínas, pero también puede provocar el aumento de la permeabilidad de los canales de calcio. El calcio entraría en la célula y se seguiría el mismo protocolo anterior con respecto al calcio del RER (de Gasparo et al., 2000; Sayeski et al., 1998).

Por el contrario, el receptor  $AT_4$  no es un receptor acoplado a proteína G, y muestra una elevada afinidad por la Ang IV. Está ampliamente distribuido por numerosos tejidos como el cerebral, renal, adrenal, pulmonar y cardíaco (Wright et al., 1995). Este receptor ha resultado ser idéntico a la aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) (Albiston et al., 2001), lo que sugiere que puede estar relacionado con funciones cognitivas. En efecto, este receptor se encuentra colocalizado junto al transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) en vesículas intracelulares, por lo que en presencia de insulina ambos pasan a expresarse en la membrana plasmática y se activa la absorción de glucosa, lo que en las neuronas se traduce por una mejora en los procesos cognitivos (Gard, 2008). Las personas diabéticas, debido a su falta de insulina, presentan alteraciones en la expresión y activación de estos receptores, lo que los convierte en un objetivo terapéutico a tener en cuenta.

Finalmente, el receptor Mas es un oncogén que se une a la Ang 1-7 (Santos et al., 2003). Sus funciones son a grandes rasgos antagónicas a las de la Ang II y el  $AT_1$ , entre ellas vasodilatación por mediación de bradicinina, liberación de NO y eliminación renal de sodio (Schindler et al., 2007).

#### **4. SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA LOCALES**

Con todos los avances en el estudio del sistema renina-angiotensina anteriormente descrito, éste parecía estar cerca de ser definitivamente dilucidado. Por tanto, grande fue la sorpresa y no menor fue la controversia cuando empezaron a detectarse componentes del SRA en lugares insospechados como el cerebro o el páncreas, inexplicable bajo el paradigma existente. En un principio se achacaron estos descubrimientos a posibles contaminaciones, pero pronto empezó a hacerse evidente que no era así, y que algo más subyacía en este fenómeno. Esto llevó a suponer a



varios investigadores la existencia de una serie de SRA menores de acción local y específica, además del SRA endocrino general. Estos sistemas locales se caracterizan por presentar los componentes propios del sistema (angiotensinas y enzimas asociadas) y tener acción a nivel local (con funciones propias y específicas), aunque también interactúan con el sistema general (Paul et al., 2006).

El descubrimiento de estos sistemas locales obligó a replantear profundamente todo lo que se sabía hasta el momento del SRA. Su actuación ya no solo podía entenderse por su funcionamiento a nivel plasmático, sino que también había que tener en cuenta su carácter paracrino. A veces, las acciones mediadas por uno o por otro sistema son difíciles de distinguir, no obstante, hoy existe la idea clara de que tanto el sistema general endocrino como los sistemas locales paracrinos actúan de forma coordinada en la regulación de distintos procesos como el tono vascular, la función renal y por supuesto la presión arterial.

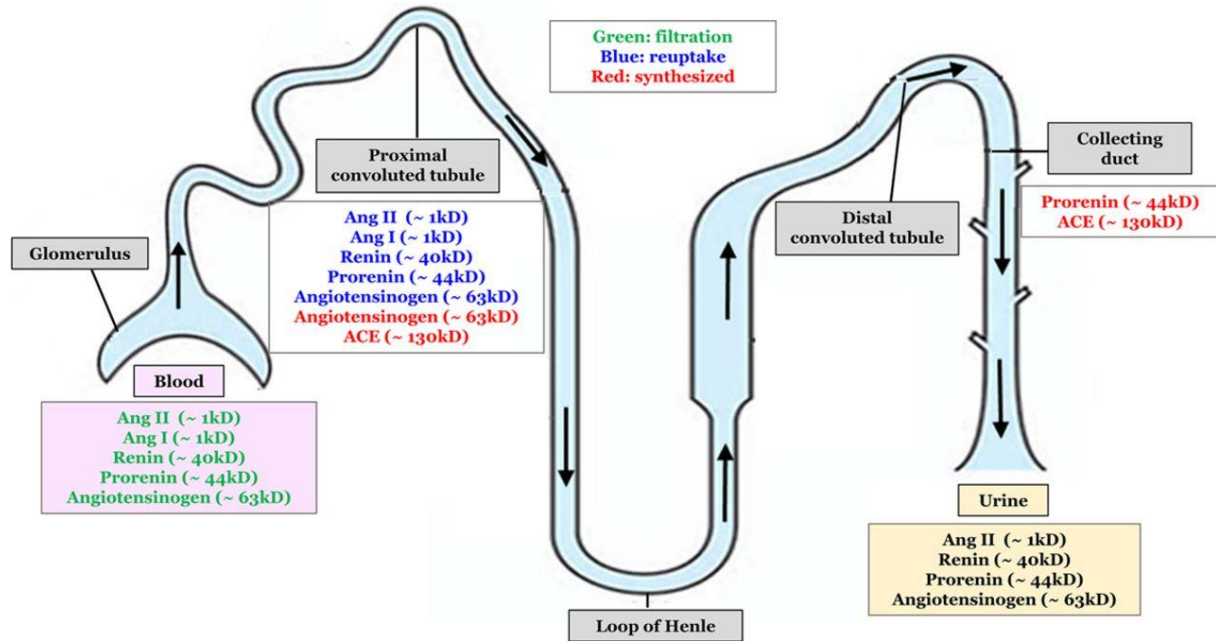
Se han descrito estos sistemas de acción local en numerosos puntos del organismo como riñón, corazón, cerebro, páncreas, tejido adiposo, entre otros (Campbell, 1987).

El **SRA intrarrenal** fue el primero de los sistemas locales que se describió. La detección de una elevada expresión de angiotensinógeno y renina en los túbulos contorneados proximales, así como en las células del túbulo proximal, por encima de los niveles plasmáticos (Rohrwasser et al., 1999; Schunkert et al., 1992), llevaron a plantear la existencia de una producción local de estos compuestos. Además, la prorrenina, el angiotensinógeno y la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se sintetizan en varios segmentos de la nefrona (Navar et al., 2011). Estudios in vivo revelaron que la administración local de bloqueantes del receptor  $AT_1$  provocaba efectos tales como aumento del flujo plasmático, mayor tasa de filtración o excreción de sodio y agua. (Carey y Siragy, 2003).

Los receptores  $AT_1$  están ampliamente distribuidos a lo largo del riñón, incluyendo las células del músculo liso vascular de las arteriolas aferentes, las arteriolas eferentes y las células mesangiales, entre otros (Miyata et al., 1999).

En el glomérulo se filtran Ang I y Ang II, renina, prorrenina y AOPEN, pero todas ellas son reabsorbidas ampliamente en el túbulo contorneado proximal, en el cual también se da una abundante síntesis local de ECA y AOPEN. Prorrenina y ECA son

sintetizadas en las células principales del conducto colector. La prorrenina es secretada por las células principales. Proorrenina, renina, AOPEN y Ang II se excretan en la orina y sus niveles aumentan después del desarrollo de la hipertensión y en varias enfermedades renales (Fig. 6).



**Figura 6. Resumen del origen de los componentes del sistema renina-angiotensina intrarrenal encontrado a lo largo de la nefrona (Roman et al., 2016).**

En el **corazón** se han identificado numerosos componentes del SRA. La renina ha sido detectada en aurículas y ventrículos, así como en el músculo liso de las arterias y venas coronarias. Se ha detectado la expresión del ARNm de renina en el ventrículo izquierdo y en las aurículas izquierda y derecha. Resulta complicado esclarecer si esta renina procede mayormente de la síntesis local en el tejido cardíaco o del secuestro de la renina plasmática, ya que en ciertos aspectos los SRA cardíaco y endocrino se superponen (Dostal y Baker, 1999).

En este proyecto, sin embargo, nos centraremos en el sistema renina-angiotensina cerebral.

## 5. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA CEREBRAL

En 1961, Bickerton y Buckley fueron los primeros en demostrar que la Ang II del sistema nervioso central actuaba directamente en el incremento de la presión arterial, así como la presencia de renina en el mismo. Habría que esperar aún una década

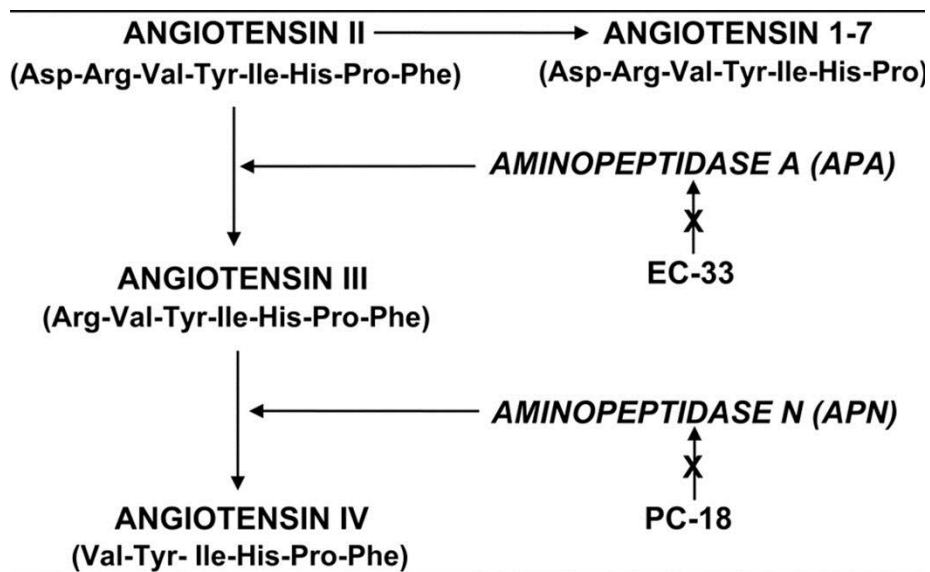
más para que la existencia del sistema renina-angiotensina cerebral quedara totalmente demostrada en 1971 (Ganten et al., 1971). No obstante, a pesar de los más de 40 años transcurridos, buena parte de su particular funcionamiento sigue siendo un misterio.

La regulación hormonal en el cerebro está fuertemente condicionada por la presencia de la barrera hematoencefálica, un obstáculo altamente selectivo que establece una separación entre la circulación general y el líquido extracelular encefálico. Esta barrera es producida y mantenida principalmente por los astrocitos, y permite el paso de agua, gases y otras sustancias vitales para las funciones cerebrales, tales como glucosa y aminoácidos. No obstante, es por lo general bastante restrictiva con respecto al resto de sustancias, provocando un eficaz aislamiento del encéfalo con respecto al resto del organismo. Debido a esta estructura, la mayor parte de la Ang II que circula por el torrente sanguíneo no puede acceder a los receptores de angiotensina cerebrales, por lo que el cerebro debe sintetizar su propia Ang II al margen de la producción sistémica, a partir de angiotensinógeno, renina y ECA. Por tanto, el SRA cerebral es especialmente relevante en comparación con el resto de sistemas locales, dado que el cerebro depende casi por completo de él para la regulación de la presión arterial. Excepciones a esto son las porciones encefálicas carentes de barrera hematoencefálica, como por ejemplo, los órganos circunventriculares. Gracias a su epitelio fenestrado, la Ang II de la sangre puede acceder a estos órganos con normalidad, y así activar sus receptores dando lugar a un incremento en la presión arterial, la sed y el llamado “apetito por la sal” (Morimoto et al., 2002).

Como el resto de sistemas locales, el cerebro puede sintetizar todos los componentes del SRA. El SRA cerebral presenta además la peculiaridad de que los componentes del mismo pueden no solo ejercer su función en el control de la presión arterial y el equilibrio hidro-electrolítico, sino que además pueden actuar como neurotransmisores. Estas funciones extra les darían control sobre procesos de índole cognitivo tales como el aprendizaje, la memoria o la ansiedad entre otros (Wright y Harding, 2008). No obstante, los mecanismos que intervienen en estos procesos todavía no se conocen en profundidad.

Debe destacarse que, en contra de lo que se dio casi por sentado, la Ang II no era la principal forma activa del sistema como ocurría en el SRA sistémico, sino que en este caso era la Ang III la principal encargada del control de la presión arterial. Esto fue difícil de observar en primera instancia, ya que la inyección intracerebroventricular (ICV), es decir, inyección directa en el encéfalo traspasando la barrera hematoencefálica, tanto de Ang II como de Ang III daban resultados muy similares, debido a que la Ang II puede convertirse en Ang III *in vivo*. Sin embargo, experimentos en ratones demostraron que la inyección ICV de (S) 3-amino-4-mercaptobutilsulfónico (EC33), un inhibidor de la aminopeptidasa A (GluAP), provocaba el cese de la acción presora de la Ang II suministrada vía exógena. Dado que la aminopeptidasa A es la que media el paso de Ang II a Ang III, estos datos apuntaban a que la conversión de Ang II a Ang III era necesaria para que la presión arterial se viera incrementada, por lo que la regulación de esta enzima cobra vital importancia en el control del SRA cerebral, y por tanto, la convierte en un prometedor objetivo terapéutico en el tratamiento de la hipertensión (Reaux et al., 1999), como desarrollaremos más adelante.

El mismo equipo también constató que la inyección ICV de 2-amino-4-metilsulfonilbutanotiol (PC18), un inhibidor de AlaAP incrementaba la vida media de la Ang III, lo cual se traducía en un aumento de la presión arterial (Fig. 7). Esto también fue observado posteriormente en experimentos con ratas normotensas e hipertensas, demostrando que las hipertensas eran más sensibles a la inyección ICV de Ang II y Ang III y permanecían con la presión arterial elevada más tiempo que las normotensas. A su vez, la inyección de bestatina, un inhibidor de la AlaAP y la ArgAP, enzimas que se encargan del paso de Ang III a Ang IV, mantenía el efecto hipertensor durante más tiempo. Lo cual ponía de manifiesto que la inhibición o el descenso de la actividad de estas peptidasas favorecía que Ang II y Ang III ampliaran su vida media y pudieran mantener la presión arterial alta por más tiempo (Wright et al., 1986). La mayor vida media de Ang III también favorece la liberación de vasopresina (Zini et al., 1996).



**Figura 7. Rutas metabólicas de las angiotensinas II y III en el cerebro. APA: GluAP. APN: AlaAP.**

En el cerebro, las dos isoformas del receptor  $AT_1$  se han asociado a la regulación de la activación barorreflexa y simpática, además de estar implicadas en el aumento de la hipertensión, lo que las vincula a enfermedades cardiovasculares como fibrosis o isquemia (Baltatu et al., 2000).

#### **a. CONSECUENCIAS FISIOPATOLÓGICAS DE SU ALTERACIÓN**

La alteración patológica más frecuente del SRA tanto cerebral como general es la hipertensión arterial. La hipertensión afecta a más del 15% de la población mundial, siendo actualmente uno de los problemas cardiovasculares más extendidos y preocupantes en todo el planeta. A pesar de que la hipertensión ya es preocupante en sí misma, es además un factor de riesgo muy importante en el desarrollo de otro tipo de patologías relacionadas con el sistema cardiovascular, tales como apoplejía, arteriosclerosis, enfermedad coronaria o incluso infarto de miocardio. Se sabe también que constituye también un factor de riesgo para enfermedades del sistema nervioso, como Alzheimer u otros tipos de demencia (Mancia et al., 2007).

La hipertensión puede ser provocada por numerosos factores internos y externos, a menudo mal conocidos. El SRA es el principal regulador fisiológico de la presión arterial y por tanto, su alteración es uno de los factores más relevantes en el desarrollo de esta patología así como en su tratamiento (Carretero y Oparil, 2000).

Aunque aún se tienen muchas dudas sobre los mecanismos precisos por los que el exceso de actividad del SRA cerebral desemboca en hipertensión, se sabe de algunos de ellos, como el aumento en el tono vasomotor simpático (Veerasingham y Raizada, 2003). Un estudio detectó que la Ang II activa una serie de neuronas en diversas partes del cerebro, especialmente en el órgano subfornical. Este órgano tiene importantes funciones en el control de la osmorregulación. La administración de saralasin, un antagonista de la Ang II, tenía un efecto contrario, inhibiendo a estas neuronas (Phillips y Felix, 1976).

Un descubrimiento interesante fue constatar que la Ang 1-7 estaba implicada en la activación de un efecto antihipertensivo, lo cual tiene un gran interés como posible vía de actuación en la lucha contra la hipertensión (Moriguchi et al., 1995).

Cabe destacar también la menos conocida Ang IV y su receptor específico, el AT<sub>4</sub> (ya identificado como la propia IRAP, la aminopeptidasa regulada por insulina), que parecen jugar un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo en el cerebro, así como efectos positivos en la memoria y en el tratamiento de ciertos tipos de amnesia (Wright y Harding, 2004). El AT<sub>4</sub> está distribuido ampliamente en diversas zonas del sistema nervioso central, como el núcleo basal de Meynert, en el hipocampo o en el neocórtex, todas ellas regiones de gran importancia en los procesos cognitivos. Análogos de este metabolito se han propuesto en los últimos años como nuevos candidatos en el tratamiento de la hipertensión, como explicaremos más adelante.

En 2010 se llevó a cabo un experimento que pretendía comprobar las funciones del SRA cerebral. Para ello se usó un modelo de ratón transgénico para dos genes (sRA), el de la renina humana controlado por su promotor de sinapsina específico de neurona y el gen del angiotensinógeno humano controlado por su propio promotor. Dado que la unión entre renina y angiotensinógeno es de una gran especificidad según la especie, la escisión de angiotensina humana en Ang I, y con ello el efecto de hipertensión, solo tendrá lugar en los tejidos en los cuales ambos genes se estén expresando. La hiperactividad del SRA cerebral se daba solo en las regiones del cerebro en las que el angiotensinógeno se expresaba de forma normal. Los resultados indicaban que la hiperactividad del SRA cerebral provocaba importantes consecuencias metabólicas en los ratones, tales como polidipsia, poliuria, incremento



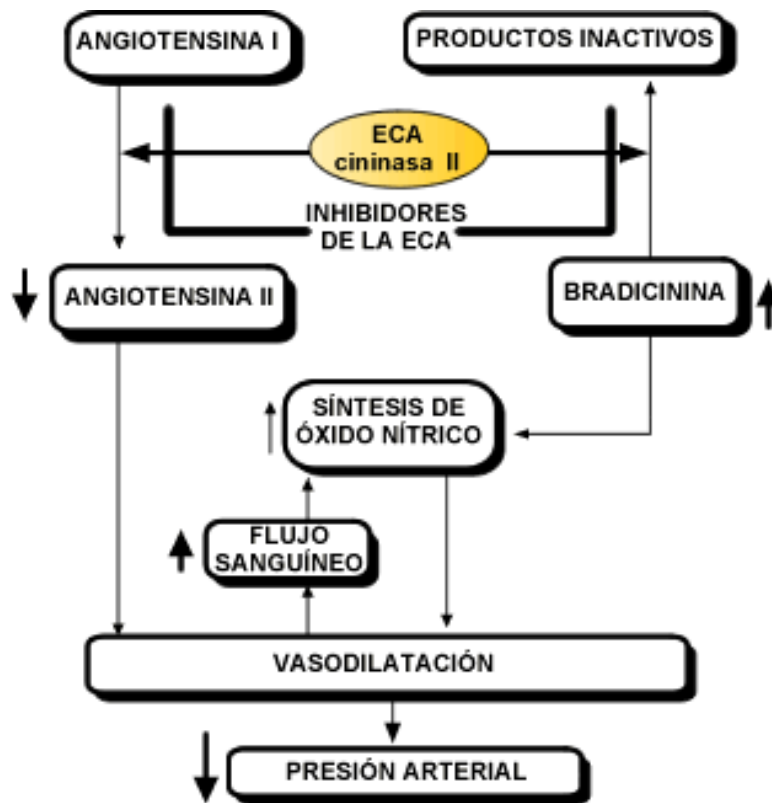
compuestos o su unión a sus receptores específicos, mediante la interrupción de sus rutas metabólicas en algún punto. De este modo se desarrollaron numerosas familias de fármacos de gran eficacia.

El primer compuesto que se descubrió efectivo en este cometido fue uno llamado teprotide, un nonapéptido obtenido a partir del veneno de la serpiente *Bothrops jararaca*, obtenido por el científico brasileño Sérgio Henrique Ferreira en 1970. Pruebas con este péptido y algunos de sus análogos probaron ser eficaces combatiendo la hipertensión, pero no sería hasta 1977 en que se sintetizaría realmente el primer compuesto comercial de esta clase, el captopril. Este compuesto pertenece al grupo de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), que tienen la facultad de inhibir la acción de la ECA, lo que impide el paso de Ang I a Ang II. Los niveles de Ang II bajan en consecuencia, y se consigue de ese modo un efecto hipotensor apreciable. A su vez, dado que la ECA se encarga también de degradar la bradicinina, los IECA favorecen una mayor concentración de este péptido, que regula la secreción de diversas sustancias vasodilatadoras como las prostaglandinas o el óxido nítrico. Se consigue de este modo un efecto doble, en el que por un lado se inhibe la síntesis de vasoconstrictores como la Ang II y por el otro se favorece la liberación de vasodilatadores por la vía de la bradicinina (Ondetti et al., 1977).

No obstante, diversos estudios revelan que una exposición prolongada a estos fármacos tiene un efecto adverso, denominado “escape de angiotensina”, y es que el organismo compensa esta falta de Ang II de tres formas. La primera es incrementando la liberación de sustrato Ang I, dado que la inhibición de la ECA por los IECA es competitiva, por lo que un aumento en las concentraciones de Ang I reduce el efecto inhibitor de los IECA. La segunda es favoreciendo las reacciones de síntesis de Ang II ajenas a la ECA, algunas de ellas son por medio de la CAGE (enzima generadora de angiotensina sensible a cimostatina) o la quimasa. Finalmente, el número de receptores AT<sub>1</sub> aumenta. Como consecuencia de todo esto se genera un efecto compensatorio que reduce notablemente la eficacia de estos fármacos a largo plazo. Además se han descrito ciertos efectos adversos relacionados claramente con el uso de los IECA, es frecuente la aparición de una característica tos seca en los pacientes que los toman. Se postula la posibilidad de que esta tos sea debida a que el exceso en la concentración de bradicinina, al no ser degradada por la ECA, provoca



una sensibilización de los nervios sensoriales en las vías respiratorias. Por tanto, se piensa que la administración suplementaria de bloqueadores de bradicinina a los pacientes tratados con IECA podría paliar o minimizar este problema (Fox et al., 1996).



**Figura 9. Las dos vías del mecanismo de acción de los IECA.**

Muchos otros compuestos análogos al captopril se sintetizaron a partir de entonces, con efectos similares. Algunos ejemplos son el benazepril, el fosinopril, el ramipril o el enalapril, entre otros (Overlack, 1996). En conjunto, estos fármacos han conseguido grandes resultados terapéuticos, reduciendo notablemente la morbimortalidad en la insuficiencia cardíaca (CONSENSUS, 1987) o combatiendo eficazmente la insuficiencia renal crónica (EUCLID, 1997).

Los IECA no tienen problema para cruzar la barrera hematoencefálica, por lo que su administración general afecta al SRA cerebral local. Se ha observado que el tratamiento con captopril puede retrasar significativamente el decaimiento en el aprendizaje y la memoria asociado a la edad, si bien parece ser que la reducción de la presión arterial no sería el detonante de este efecto (Wyss et al., 2003).

Otra familia de fármacos muy relacionada con los anteriores son los bloqueadores o antagonistas del receptor de angiotensina, abreviados BRA o ARA-II, cuyo primer representante comercial fue denominado losartán. En la actualidad se han desarrollado muchos más, tales como el candersartán, el irbesartán o el valsartán. Habitualmente son administrados como una alternativa a los IECA por sus menores efectos adversos, o en conjunto con estos o con otros antihipertensivos como los diuréticos. Como su nombre indica, estos actúan bloqueando el receptor  $AT_1$ , evitando que la Ang II se una a él y desencadene la respuesta hipertensora. Como además establecen un bloqueo no competitivo, ni siquiera el aumento en la concentración de Ang II puede compensar su efecto. A diferencia de los anteriores, no inhibe a la ECA, por lo que la síntesis de Ang II se desarrolla normalmente así como la degradación de la bradicinina, lo que parece reducir las complicaciones que se observaban con los IECA. Además, al no poder unirse al  $AT_1$ , la Ang II ya sea de origen vía ECA o vía no ECA tiende a unirse y estimular los receptores  $AT_2$ , los cuales continúan libres. Esto favorece a su vez que se estimule la liberación de prostaglandinas y óxido nítrico, compensando el efecto de la bradicinina que en este caso es degradada por la ECA antes de estimular a estas sustancias (Gorostidi Pérez et al., 2002).

Muchos investigadores han apostado fuertemente por esta vía, ya que resultan muy indicados en casos de hipertensión leve o moderada, además de su efecto como renoprotector en pacientes diabético tipo II con nefropatía diabética ya establecida (Brenner et al., 2001; Lewiset al., 2001). Sin embargo, están contraindicados en embarazadas, pues se ha observado que son tóxicos para el feto hasta un punto que puede ocasionarle la muerte (Saji et al., 2001). Aún no están claros sus efectos a largo plazo ya que ha pasado aún poco tiempo para observarlos y los estudios clínicos están aún en proceso. Algunos sugieren que el uso combinado de BRA y IECA resulta más efectivo que el uso de ambos por separado en el tratamiento del fallo renal, sin embargo, el artículo que era el principal valedor de esta hipótesis tuvo que ser retirado por obtener resultados contradictorios (Kunz et al., 2008).

Los inhibidores directos de la renina (IDR) constituyen una de las familias de fármacos antihipertensivos más recientes. Si bien el primer IDR, la pepstatina, que fue desarrollado en 1972 (Gross et al. 1972), presentaba una serie de inconvenientes que lo hacían inadecuado para su uso clínico, por lo que se tuvo que esperar 40 años

hasta que se sintetizara el primer representante de uso clínico de esta familia, el aliskiren (Gradman et al., 2005).

Estos fármacos bloquean la actividad de la renina, así como de la prorenina. De este modo se impide la conversión de angiotensinógeno en Ang I, uno de los primeros pasos de la cascada enzimática y uno de los más limitantes. Esto resulta especialmente útil teniendo en cuenta que uno de los efectos de los fármacos anteriores (IECA y BRA) es un gran incremento en los niveles de renina plasmática, por lo que el uso de los IDR puede compensar este problema (Hollenberg, 2010).

La capacidad de los IDR en el tratamiento de la hipertensión se ha demostrado muy similar a la de los BRA, no encontrándose diferencias significativas en los grupos tratados con uno u otro fármaco. Además, un uso combinado de ambos ha demostrado un efecto hipotensor más efectivo que el uso de ambos por separado (Zhenfeng et al., 2011).

Los inhibidores de la GluAP o APA, entre los que se cuentan sustancias como el anteriormente mencionado EC33, impiden la transformación de Ang II en Ang III, el cual tiene un papel principal como regulador de la presión arterial actuando a nivel central. EC33 puede atravesar la barrera hematoencefálica gracias a que este es administrado como un profármaco, QGC001, consistente en dos EC33 unidos por un puente disulfuro que se separan *in vivo* dentro del tejido, si bien, no está claro el mecanismo exacto por el que el QGC001 es capaz de atravesar la barrera. Este compuesto ha demostrado buenos resultados en la reducción de la presión arterial de ratas hipertensas (Fournie-Zaluski et al., 2004), además de potenciar su efecto en combinación con un IECA como enalapril (Marc et al., 2012).

Finalmente, la investigación con los análogos de la Ang IV se ha incrementado recientemente. Aunque estos no pueden atravesar la barrera hematoencefálica y su vida media es corta, siguen suscitando interés dada su capacidad de inhibir la actividad aminopeptidasa y sus efectos positivos en enfermedades con alteraciones cognitivas como el Parkinson o el Alzheimer. Las investigaciones se centran en encontrar análogos de pequeño tamaño molecular que solventen estos problemas, como el compuesto Dihexa, que ha demostrado ser efectivo favoreciendo la formación de nuevas sinapsis, resultando en la mejora de la memoria y las funciones motoras (Wright et al., 2015).

## 6. CONCLUSIONES

A la vista de tales observaciones, se concluye que el SRA cerebral juega un papel primordial en el desarrollo y evolución de numerosas enfermedades cardiovasculares y neurológicas, y que los tradicionalmente considerados componentes “menores” del SRA cerebral tienen un papel más relevante del supuesto hasta ahora. Los componentes peptídicos del SRA cerebral actúan como neurotransmisores a nivel sináptico y, por tanto, el SRA cerebral representa un objetivo terapéutico de primer orden para el tratamiento no sólo de la hipertensión y otros trastornos cardiovasculares, sino también numerosos desórdenes del sistema nervioso incluyendo la ansiedad o alteraciones de la memoria. Debemos pues prestar especial atención a las angiotensinas y a las enzimas que las metabolizan presentes en el cerebro, en especial las que median rutas metabólicas menos “ortodoxas” que la clásica transformación de la Ang I en Ang II. Aún es poco conocida la función en el cerebro de algunos de estos componentes como la Ang 1-7, la Ang 2-10 o la Ang IV, el estudio de los mismos permitirá explorar nuevas vías de actuación en el tratamiento de las patologías mencionadas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Albiston AL, McDowall SG, Matsacos D, Sim P, Clune E, Mustafa T, Lee J, Mendelsohn FA, Simpson RJ, Connolly LM, Chai SY. Evidence That the Angiotensin IV (AT<sub>4</sub>) Receptor Is the Enzyme Insulin-regulated Aminopeptidase. *J Biol Chem*, 2001; 276: 48623-48626.

Alghamri MS, Morris M, Meszaros JG, Elased KM, Grobe N. Novel role of aminopeptidase-A in angiotensin-(1-7) metabolism post myocardial infarction. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 2014; 306: H1032-H1040.

Baltatu O, Silva JA Jr, Ganten D, Bader M. The brain renin-angiotensin system modulates angiotensin II-induced hypertension and cardiac hypertrophy. *Hypertension*, 2000; 35: 409-412.

Barreras A, Gurk-Turner C. Angiotensin II receptor blockers. *Proceedings (Baylor University Medical Center)*, 2003; 16: 123-126.

Blair-West JR, Coghlan JP, Denton DA, Fei DT, Hardy KJ, Scoggins BA, Wright RD. A dose-response comparison of the actions of angiotensin II and angiotensin III in sheep. *J Endocrinol*, 1980; 87: 409-417.

Braun Menéndez E, Fasciolo JC, Leloir LF, Muñoz JM. La substancia hipertensora de la sangre del riñón isquemado. *Rev Soc Arg Biol*, 1939a; 15: 420–425.

Braun Menéndez E, Fasciolo JC. Acción vasoconstrictora e hipertensora de la sangre venosa del riñón en isquemia incompleta aguda. *Rev Soc Arg Biol*, 1939b; 15: 161-172

Braun-Menéndez E, Page IH. Suggested revision of nomenclature: angiotensin. *Science*, 1958; 127: 242.

Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, Remuzzi G, Snapinn SM, Zhang Z, Shahinfar S, RENAAL Study Investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*, 2001; 345: 861-869.

Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. *Journal of Clinical Investigation*, 1987; 79: 1-6.

Campbell WB, Brooks SN, Pettinger WA. Angiotensin II- and Angiotensin III-Induced Aldosterone Release in vivo in the Rat. *Science*, 1974; 184: 994-996.

Carey RM, Siragy HM. Newly Recognized Components of the Renin-Angiotensin System: Potential Roles in Cardiovascular and Renal Regulation. *Endocr Rev*, 2003; 24: 261-271.

Carpenter CCJ, Davis JO, Ayers CR. Relation of renin, angiotensin II, and experimental renal hypertension to aldosterone secretion. *Journal of Clinical Investigation*, 1961; 40: 2026-2042.

Carretero OA, Oparil S. Essential Hypertension Part I: Definition and Etiology. *Circulation*, 2000; 101: 329-335.

Chow BS, Allen TJ. Angiotensin II type 2 receptor (AT<sub>2</sub>R) in renal and cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*, 2016; 130: 1307-1326.

Clarke NE, Turner AJ. Angiotensin-converting enzyme 2: the first decade. *Int. J. Hypertens*, 2012; 307315.

CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med*, 1987; 316: 1429-1435.

Danser AH, Batenburg WW, van Esch JH. Prorenin and the (pro)renin receptor—an update. *Nephrol Dial Transplant*, 2007; 22: 1288-1292.

Danser AH, Deinum J. Renin, Prorenin and the putative (pro)renin receptor. *Hypertension*, 2005; 46: 1069–1076.

de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*, 2000; 52: 415-472.

Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A Novel Angiotensin-Converting Enzyme–Related Carboxypeptidase (ACE2) Converts Angiotensin I to Angiotensin 1-9. *Circulation Research*, 2000; 87: e1-e9.

Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res*, 1999; 85: 643-650.

Erdös EG. Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Am J Med*, 1976; 60: 749-759.

Erdös EG. The angiotensin I converting enzyme. *Fed Proc*, 1977; 36: 1760-1765.

Fasciolo JC, Houssay BA, Taquini AC. The blood-pressure raising secretion of the ischaemic kidney. *The Journal of Physiology*, 1938; 94: 281–293.

Fasciolo JC. The experimental observation that led to discovery of angiotensin. 1939 Buenos Aires, Argentina. *Hypertension*, 1990; 16: 194-198.

Fernández Andrade C. Renina: descubierta en 1898, inhibida en 2008. Historia de su investigación. Evolución y desarrollo de sus inhibidores. *Rev Esp Cardiol*, 2009; 9: 1-23.

Fournie-Zaluski MC, Fassot C, Valentin B, Djordjijevic D, Reaux-Le Goazigo A, Corvol P, Roques BP, Llorens-Cortes C. Brain renin-angiotensin system blockade by systemically active aminopeptidase A inhibitors: A potential treatment of salt-dependent hypertension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004; 101: 7775-7780.

Fox AJ, Lalloo UG, Belvisi MG, Bernareggi M, Chung KF, Barnes PJ. Bradykinin-evoked sensitization of airway sensory nerves: a mechanism for ACE-inhibitor cough. *Nat Med*, 1996; 2: 814-817.

Fyhrquist F, Metsärinne K, Tikkanen I. Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *J Hum Hypertens*, 1995; 9: S19-24.

Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. *Journal of Internal Medicine*, 2008; 264: 224–236.

Ganten D, Boucher R, Genest J. Renin activity in brain tissue of puppies and adult dogs. *Brain Res*, 1971; 33: 557-559.

Gard PR. Cognitive-enhancing effects of angiotensin IV. *BMC Neurosci*, 2008; 9: 6.

Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension, I: the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*, 1934; 59: 347-379.

Gorostidi Pérez M, Concejo Alfaro B, Prieto Díaz MÁ, Marín Iranzo R. Antagonistas de los receptores de la angiotensina II. Una revisión farmacoterapéutica. *Hipertensión*, 2002; 19: 129-138.

Gradman A, Schmieder R, Lins R, Nussberger J, Chiang Y, Bedigian M. Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose-dependent antihypertensive

efficacy and placebo-like tolerability in hypertensive patients. *Circulation*, 2005; 111: 1012–1018.

Grobe JL, Grobe CL, Beltz TG, et al. The Brain Renin-Angiotensin System Controls Divergent Efferent Mechanisms to Regulate Fluid and Energy Balance. *Cell metabolism*, 2010; 12: 431-442.

Gross F, Lazar J, Orth H. Inhibition of the renin-angiotensinogen reaction by pepstatin. *Science*, 1972; 175: 656.

Guimond MO, Gallo-Payet N. The Angiotensin II Type 2 Receptor in Brain Functions: An Update. *International Journal of Hypertension*, 2012; 35:1758.

Hall JE. Historical Perspective of the Renin Angiotensin System. *Angiotensin Protocols*, 2001; 51: 3-5.

Hollenberg NK. Direct renin inhibition and the kidney. *Nat Rev Nephrol*, 2010; 6: 49-55.

Houssay BA, Taquini AC. Acción vasoconstrictora de la sangre venosa del riñón isquemiado. *Rev Soc Arg Biol*, 1938; 14: 5-14.

Jensen C, Herold P, Brunner HR. Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nat Rev Drug Discov*, 2008; 7: 399-410.

Johren O, Inagami T, Saavedra J. M. AT<sub>1</sub>A, AT<sub>1</sub>B, and AT<sub>2</sub> angiotensin II receptor subtype gene expression in rat brain. *Neuroreport*. 1995; 6: 2549–2552.

Kobilka BK. G Protein Coupled Receptor Structure and Activation. *Biochimica et biophysica acta*, 2007; 1768: 794-807.

Kunz R, Wolbers M, Glass T, Mann JF. The COOPERATE trial: a letter of concern. *Lancet*, 2008; 371:1575-1576.

Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, et al, for the Collaborative Study Group. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 2001; 345: 851-860.



Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B; Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension; European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*, 2007; 25: 1105–1187.

Marc Y, Gao J, Balavoine F, Michaud A, Roques BP, Llorens-Cortes C. Central antihypertensive effects of orally active aminopeptidase A inhibitors in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 2012; 60: 411-418.

Milei J. Alberto C. Taquini and the 'links' that led to the discovery of angiotensin: on the 100th anniversary of his birth. *J Hypertens*, 2005; 23: 1267-1269.

Miyata N, Park F, Li XF, Cowley AW JR. Distribution of angiotensin AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> receptor subtypes in the rat kidney. *Am J Physiol*, 1999; 277: 437–446.

Moriguchi A, Tallant EA, Matsumura K, Reilly TM, Walton H, Ganten D, Ferrario CM. Opposing Actions of Angiotensin-(1-7) and Angiotensin II in the Brain of Transgenic Hypertensive Rats. *Hypertension*. 1995; 25: 1260-1265.

Morimoto S, Cassell MD, Sigmund CD. Glia- and neuron-specific expression of the renin–angiotensin system in brain alters blood pressure, water intake, and salt preference. *J Biol Chem*, 2002; 277: 33235–33241.

Navar LG, Kobori H, Prieto MC, Gonzalez-Villalobos RA. Intratubular renin-angiotensin system in hypertension. *Hypertension*, 2011; 57: 355-362.

Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, Bouzhir L, Giller T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *The Journal of Clinical Investigation*, 2002; 109: 1417–1427.

Ocaranza MP, Jalil JE. Protective Role of the ACE2/Ang-(1–9) Axis in Cardiovascular Remodeling. *Int. J. Hypertens*, 2012; 2012: 594361.

Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science*, 1977; 196:441-444.

Ondetti MA. From peptides to peptidases: a chronicle of drug discovery. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1994; 34: 1-16.

Overlack A. ACE inhibitor-induced cough and bronchospasm. Incidence, mechanisms and management. *Drug Saf*, 1996; 15: 72-78.

Page IH, Helmer OM. A crystalline pressor substance (angiotonin) resulting from the reaction between renin and renin-activator. *Exp Med*, 1940; 71: 29-42.

Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*, 2006; 86: 747-803.

Phillips MI, Felix D. Specific angiotensin II receptive neurons in the cat subfornical organ. *Brain Res*, 1976; 109: 531-540.

Ramírez-Sánchez M, Prieto I, Wangenstein R, Banegas I, Segarra AB, Villarejo AB, Vives F, Cobo J, de Gasparo M. The Renin-Angiotensin System: New Insight into Old Therapies. *Current Medicinal Chemistry*, 2013; 20: 1313-1322.

Reaux A, Fournie-Zaluski MC, David C, et al. Aminopeptidase A inhibitors as potential central antihypertensive agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999; 96: 13415-13420.

Rohrwasser A, Morgan T, Dillon HF, Zhao L, Callaway CW, Hillas E, Zhang S, Cheng T, Inagami T, Ward K, Terreros DA, Lalouel JM. Elements of a paracrine tubular renin-angiotensin system along the entire nephron. *Hypertension*, 1999; 34: 1265-1274.

Roman RJ, Fan F, Zhuo JL. Intrarenal Renin-Angiotensin System: Locally Synthesized or Taken up Via Endocytosis? *Hypertension*, 2016; 67: 831-833.

Saji H, Yamanaka M, Hagiwara A, Ijiri R. Losartan and fetal toxic effects. *Lancet*, 2001; 357: 363.

Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DMR, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SVB, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G-protein coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003; 100: 8258–8263.

Schindler C, Bramlage P, Kirch W, Ferrario CM. Role of the vasodilator peptide angiotensin-(1–7) in cardiovascular drug therapy. *Vascular Health and Risk Management*, 2007; 3: 125–137.

Schunkert H, Ingelfinger JR, Jacob H, Jackson B, Bouyounes B, Dzau VJ. Reciprocal feedback regulation of kidney angiotensinogen and renin mRNA expressions by angiotensin II. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1992; 263: 863–869.

Simpson SA, Tait JF, Wettstein A, Neher R, von Euw J, Reichstein T. Isolation from the adrenals of a new crystalline hormone with especially high effectiveness on mineral metabolism. *Experientia*, 1953; 9: 333–335.

Skeggs LT, Kahn JR, Lentz K, Shumway NP. The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. *The Journal of Experimental Medicine*, 1957; 106: 439–453.

Swanson GN, Hanesworth JM, Sardinia MF, Coleman JK, Wright JW, Hall KL, Miller-Wing AV, Stobb JW, Cook VI, Harding EC, Harding JW. Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3–8), a putative angiotensin IV receptor. *Regul Pept*, 1992; 40: 409–419.

The EUCLID Study Group. Randomised placebo-controlled trial of lisinopril in normotensive patients with insulin-dependent diabetes and normoalbuminuria or microalbuminuria. *Lancet*, 1997; 349: 1787-1792.

Tigerstedt R, Bergman PG: Niere und kreislauf. *Scand Arch Physiol*, 1898; 8: 223.

Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev*, 1993; 45: 205–251.

Veerasingham SJ, Raizada MK. Brain renin–angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *British Journal of Pharmacology*, 2003; 139: 191–202.

Velez JC, Ryan KJ, Harbeson CE, Bland AM, Budisavljevic MN, Arthur JM, Fitzgibbon WR, Raymond JR, Janech MG. Angiotensin I is largely converted to angiotensin (1-7) and angiotensin (2-10) by isolated rat glomeruli. *Hypertension*, 2009; 53: 790-797.

Wright JW, Harding JW. The angiotensin AT<sub>4</sub> receptor subtype as a target for the treatment of memory dysfunction associated with Alzheimer's disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2008; 9: 226–237.

Wright JW, Krebs LT, Stobb JW, Harding JW. The angiotensin IV system: Functional implications. *Front Neuroendocrinol*, 1995; 16: 23–52.

Wright JW, Sullivan MJ, Quirk WS, Batt CM, Harding JW. Heightened pressor effect and dipsogenicity to intracerebroventricularly applied angiotensin II and III in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens Suppl*, 1986; 4: 408-411.

Wright JW, Kawas LH, Harding JW. The development of small molecule angiotensin IV analogs to treat Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Prog Neurobiol*, 2015; 125: 26-46.

Wright JW, Harding JW. The brain angiotensin system and extracellular matrix molecules in neural plasticity, learning, and memory. *Prog Neurobiol*, 2004; 72: 263-293.

Wyss JM, Kadish I, Van Groen T. Age-related decline in spatial learning and memory: attenuation by captopril. *Clin Exp Hypertens*, 2003; 25: 455–474.

Zhenfeng Z, Huilan S, Junya J, Dong L, Shan L. A systematic review and meta-analysis of aliskiren and angiotension receptor blockers in the management of essential hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2011; 12: 102-112.

Zini S, Fournie-Zaluski MC, Chauvel E, Roques BP, Corvol P, Llorens-Cortes C. Identification of metabolic pathways of brain angiotensin II and III using specific aminopeptidase inhibitors: predominant role of angiotensin III in the control of vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996; 93: 11968-11973.