



Sistema Renina Angiotensina Renal: El papel de la Angiotensina 1-7 y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 en el riñón.

Leticia Figueira ¹.

J Villalobos ².

VL Colina ³.

¹Postgrado de Farmacología. Universidad Central de Venezuela (UCV)

²Cátedra de Fisiología, Escuela de Medicina Luís Razetti, UCV. Caracas - Venezuela. Sección de Investigación Cardio-Renales, Instituto de Medicina Experimental Universidad Central de Venezuela villazu@gmail.com

³Sección de Investigación Cardio-Renales, Instituto de Medicina Experimental Universidad Central de Venezuela

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 10 de Junio del 2009 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

El sistema renina angiotensina (SRA) juega un papel muy importante en diversos procesos fisiopatológicos, siendo la Angiotensina II (Ang II) uno de los principales mediadores conocidos desde hace mucho tiempo. Sin embargo, un gran conjunto de evidencias ha permitido conocer la existencia de otros péptidos biológicamente activos producidos en este sistema, como la Ang

1-7, la cual es un heptapéptido formado por la acción de la Enzima Convertidora de Angiotensina tipo 2 (ECA-2). La Ang 1-7 actúa a través de los receptores de Ang tipo 1, 2 y el receptor Mas. Entre sus acciones principales a nivel renal, cabe destacar la acción vasodilatadora, antiproliferativa, reguladora del balance hidroelectrolítico, la cual lo realiza a través de la modulación de la excreción renal de sodio, tanto en los segmentos proximal como distal de la nefrona. Por lo tanto, la Ang 1-7, la ECA-2 y el receptor Mas, podrían constituir potenciales blancos de utilidad terapéutica en el manejo de la enfermedad renal.

PALABRAS CLAVE: SRA, Ang 1-7, ECA-2, receptor Mas.

RENIN ANGIOTENSIN SYSTEM:ROLE OF ANGIOTENSIN 1-7 AND ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME 2 IN THE KIDNEY

SUMMARY

The renin-angiotensin system (RAS) plays an important role in various pathophysiological processes, and angiotensin II (Ang II) is a major mediator known for a long time. A large body of evidence has shown the existence of other biologically active peptides produced in this system, such as Ang 1-7, which is an heptapeptide formed by angiotensin converting enzyme type 2 (ACE-2). Ang 1-7 act by Ang II type 1, 2 receptor and Mas receptor. Among its major actions at renal system are vasodilatations, antiproliferation, fluid regulation and electrolyte balance, which is done by modulation of renal sodium excretion in both the proximal and distal segments of nephron. Therefore, Ang 1-7, ACE-2 receptor and Mas receptor could be potential therapeutic targets in the management of renal disease.

KEY WORDS: RAS, Ang 1-7, ECA-2, Mas receptor.

SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA RENAL: EL PAPEL DE LA ANGIOTENSINA 1-7 Y LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA 2 EN EL RIÑÓN.

INTRODUCCIÓN

Sistema Renina – Angiotensina Clásico

El sistema renina – angiotensina (SRA) fue descrito por Robert Tigerstedt en el siglo XIX ^[1]. Este sistema es una cascada enzimática - hormonal, que regula la función cardiovascular, adrenal y renal; controlando el balance hidroelectrolítico y la presión arterial ^[2]. El SRA clásico, (Figura 1) se inicia cuando la renina, una aspartil proteasa de naturaleza glicoproteica, sintetizada en el aparato yuxtaglomerular, es liberada de estas células durante estados hipovolémicos y de hipotensión ^[3]. Este proceso de secreción de renina, está controlado por: 1.- la mácula densa (células modificadas del túbulo contorneado distal), sensible a la concentración de cloruro de sodio (NaCl) del volumen del flujo; 2.- el baroreceptor intrarenal sensible a variaciones en la presión sanguínea en la arteriola aferente, donde el incremento o la disminución de la presión arterial, inhiben o estimula la liberación de renina, respectivamente y 3.- los receptores β - adrenérgicos, los cuales involucran la liberación de norepinefrina de los terminales nerviosos postganglionares simpáticos, con la activación de los receptores β - adrenérgicos ubicados en las células yuxtaglomerulares, con la consecuente liberación de renina. ^[4]. La renina liberada,

escinde al angiotensinógeno (Agt), sintetizado en el hígado, para dar lugar al decapeptido, angiotensina I (Ang I), el cual no tiene actividad biológica. Por medio de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), una glicoproteína de 180 KDa, la Ang I es hidrolizada, para dar lugar a la angiotensina II (Ang II), un octapéptido, biológicamente activo [5]; el cual a través de los receptores de Ang tipo 1 (AT1) y tipo 2 (AT2), promueve sus acciones biológicas. El receptor AT1, es un receptor de siete dominios transmembrana, perteneciente a la familia de receptores acoplado a proteína G [6], el cual está acoplado positivamente a la proteína quinasa C, y negativamente a la adenil ciclasa, mediante las proteínas $G_{\alpha q}$ y $G_{\alpha i}$ [7], la Ang II a través de estos receptores produce vasoconstricción, reabsorción renal de sodio, proliferación, diferenciación y crecimiento celular, estimulación de la secreción de aldosterona, incremento de la actividad del sistema nervioso simpático, estimulación de la sed y del apetito por la sal [2]. La Ang II, también se une a otro receptor, el AT2, el cual es un receptor de siete dominios transmembrana, que muestra una secuencia 34% idéntica a la del receptor AT1. El receptor AT2 muestra su mayor expresión durante el desarrollo fetal, descendiendo sus niveles en el nacimiento [8]. La vía de señalización de este receptor, parece involucrar vías dependientes e independientes de las proteínas G; ya que el receptor está acoplado a una proteína $G_{\alpha 2}$ y $G_{\alpha 3}$ [9]; asimismo, la estimulación del receptor AT2, activa fosfatasa de fosfotirosina, especialmente la fosfatasa 2A de serina / treonina, fosfatasa de proteína quinasa, lo cual resulta en la inactivación de las Proteínas Quinasas activada por mitógeno (MAPKs) [10]. De igual manera, existen evidencias que indican que la estimulación del receptor AT2, permite la apertura del canal de rectificación de potasio, activa a la fosfolipasa A2 y la generación de prostaglandinas y ceramida [11]. Las acciones de la Ang II mediadas por este receptor, son generalmente contra-regulatorias a las obtenidas por el receptor AT1, ya que su activación provoca vasodilatación, inhibición de la proliferación celular y apoptosis.

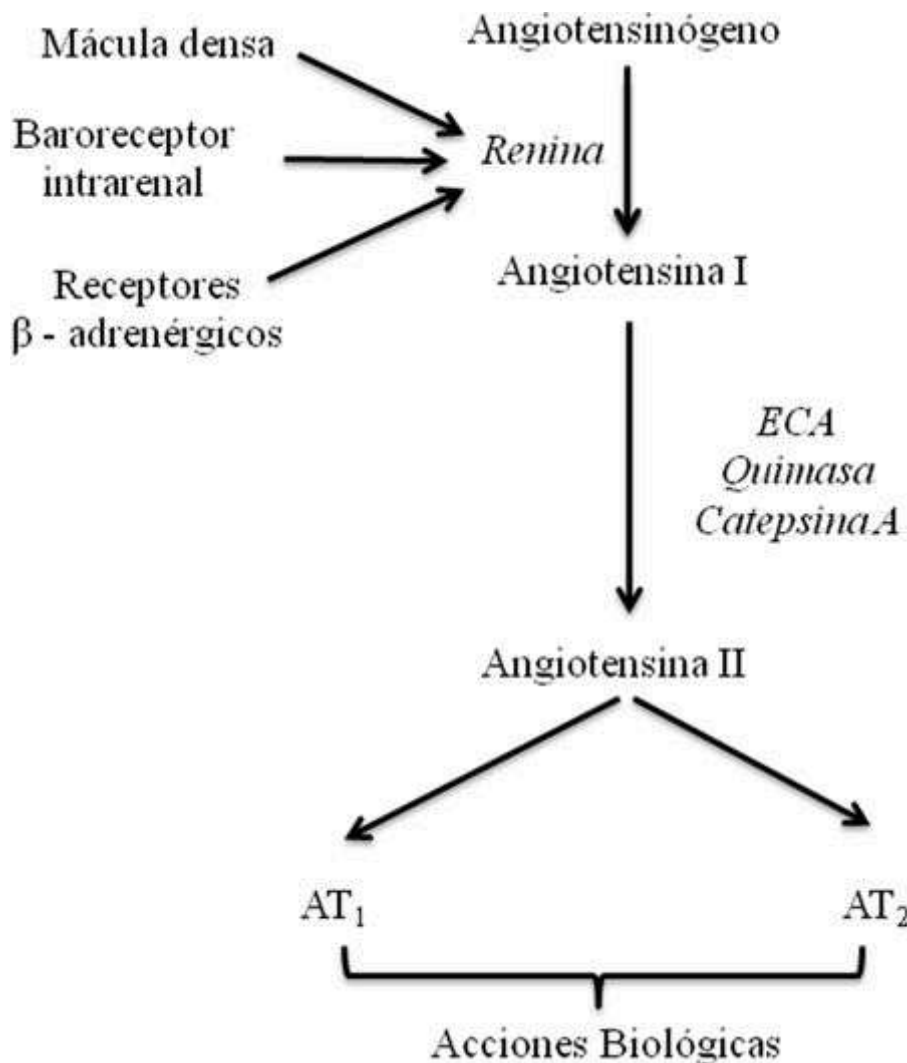


Figura 1. *Sistema Renina – Angiotensina Clásico*. El proceso de liberación de la renina es controlado por la mácula densa, el baroreceptor intrarrenal y los receptores β -adrenérgicos. La renina liberada por las células del aparato yuxtaglomerular, hidroliza al angiotensinógeno para formar Angiotensina I, que por acción de la ECA, se obtiene la Angiotensina II. Existen otras enzimas que pueden hidrolizar a la Angiotensina I para formar Angiotensina II, como la quimasa y catepsina A. La Angiotensina II media sus acciones biológicas al unirse a sus receptores metabotrópicos AT₁ y AT₂. ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina. AT₁: Receptor de Angiotensina de tipo 1. AT₂: Receptor de Angiotensina de tipo 2. (Tomado de Carey y Siragi, 2003) [3]

Sistema Renina Angiotensina Tisular o Local

Diversos estudios han demostrado la existencia y la importancia del SRA local o tisular en diferentes órganos como el riñón, cerebro, corazón, vasos sanguíneos periférico y glándulas adrenales [12-16]. Para poder hablar de la existencia de un SRA local se deben cumplir diferentes requisitos, los cuales son; la presencia de ARN mensajero (ARNm) para todos los componentes del sistema necesarios para la biosíntesis de un producto biológicamente activo, por consiguiente se requiere la demostración de ARNm para cada uno de los componentes: renina, Agt y ECA; el producto biológicamente activo debe ser sintetizado en el tejido; los receptores para el producto biológicamente activo deben estar presentes en el tejido; el producto

biológicamente activo debe ser regulado dentro del tejido, independientemente de la regulación sistémica; y la reducción o eliminación de las acciones del producto, genera respuesta fisiológica [2].

SISTEMA RENINA – ANGIOTENSINA RENAL

El SRA es un poderoso regulador fisiológico de la función renal; éste, fue el primer SRA tisular descrito. Las primeras evidencias de la existencia de este sistema, fueron obtenidas de estudios in vivo, donde se observó incremento del flujo plasmático renal, de la tasa de filtración glomerular y de la excreción renal de agua y sodio, luego de la administración de un bloqueante del receptor de Ang II. Años más tarde, se demostró que todos los componentes del SRA como la renina, Agt y ECA estaban localizados de manera sitio específica en el riñón [2]; observando que la mayoría del ARNm y el péptido Agt, así como la ECA se encontraban ubicados en el túbulo proximal, sugiriendo que las células de los túbulos proximales, proveen el sustrato para la formación de Ang I y II, intratubular e intersticial [2,17]; de hecho, la Ang II, se encuentra en concentraciones mil veces superiores en el fluido intersticial renal con respecto al plasma; lo cual ha llevado a aceptar que la mayoría de la Ang II renal es formada dentro del riñón [18]. Adicionalmente, la Ang II puede autoamplificar la activación del SRA, mediante la estimulación de la síntesis de Agt [19,20]. Por otra parte, se ha descrito la ubicación de los receptores de la Ang II, en las arteriolas renales, células mesangiales glomerulares y sobre la membrana basal y apical de las células del túbulo proximal; demostrando que los receptores AT1 están ampliamente distribuidos en las células musculares lisas de las arteriolas aferente y eferente, células mesangiales, borde en cepillo y membrana basolateral de las células del túbulo proximal, epitelio de la porción ascendente delgada del asa de Henle, túbulo distal, conducto colector, podocitos y en las células de la mácula densa, sugiriendo que la Ang II puede regular las funciones en cada uno de los segmentos renales, ante diversas situaciones fisiológicas o patológicas [2]. Entre las acciones renales que ejerce la Ang II sobre estos receptores, se encuentran la vasoconstricción, tanto de la arteriola aferente como la eferente; contracción de las células mesangiales, lo cual ocasiona una reducción del flujo sanguíneo renal, de la tasa de filtración glomerular y de la carga de sodio filtrada. Asimismo, a nivel tubular, la Ang II ejerce un efecto directo sobre el transporte tubular de sodio, incrementando la actividad del intercambiador Na^+/H^+ en el túbulo proximal, del cotransporte $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ de la membrana basolateral y de la Na^+/K^+ -ATPasa. En la nefrona distal, la Ang II modula la actividad del intercambiador Na^+/H^+ y el canal de sodio epitelial [2]. Por otra parte, la Ang II disminuye el flujo sanguíneo medular, incrementando la reabsorción pasiva de sodio en el asa de Henle; por lo tanto, el efecto neto de estas acciones vasculares y tubulares es disminuir la excreción de sodio. El receptor AT2, también ha sido descrito en el riñón, expresándose en las células del epitelio glomerular, túbulos corticales y células intersticiales [21,22]. Este receptor parece intervenir en la reabsorción de sodio en los túbulos proximales, de manera directa (mediante los receptores) o indirectamente, vía óxido nítrico–GMP cíclico (ON-GMPc) intersticial, induciendo natriuresis, efecto contrario al ejercido por el receptor AT1 [23,24]. Es preciso destacar que desde hace muchos años se había creído que la Ang II, a través de sus receptores AT1 y AT2, era la única molécula responsable de los efectos del SRA; sin embargo, se ha observado que otros péptidos, tales como la Angiotensina III, Angiotensina IV y Angiotensina 1-7 (Ang 1-7) son biológicamente activos [25-28]. Entre los mediadores del SRA, el heptapéptido Ang 1-7, es de particular interés, ya que sus acciones fisiológicas son distintas a las ejercidas por la

Ang II, a través del receptor AT1 [29,30]. Asimismo, se ha demostrado en el riñón la presencia de todos los componentes necesarios para la producción de Ang 1-7; ya que se ha mostrado la colocalización de la Enzima Convertidora de Angiotensina-2 (ECA-2), Ang 1-7 y de su receptor a nivel de los túbulos proximales [31,32], sugiriendo que la Ang 1-7 es sintetizada en el riñón y ejerce sus efectos a este nivel, formando parte del SRA, como un péptido biológicamente activo.

Enzima Convertidora de Angiotensina - 2 (ECA-2)

Entre la década de los ochenta y los noventa, los hallazgos sobre las vías de producción de la Ang 1-7, revelaron que la misma se podía producir de varias maneras; ya que a partir de Ang I y Ang II, muchas enzimas podían generar Ang 1-7; estas enzimas son la prolil - endopeptidasas [33], endopeptidasas neutras [34] y propil carboxipeptidasas [35]; sin embargo, como carecen de especificidad; no se le dieron la relevancia pertinente como integrantes del SRA, a pesar de poseer efecto antihipertensivo, ya que degradan a la Ang II y generan Ang 1-7. Fue hasta el año 2000, cuando dos grupos de investigadores, de manera independiente identificaron a una enzima homóloga a la ECA [36,37], la cual el grupo de Donoghue y col., la denominaron ECA-2 [38], y Tipnis y col., la llamaron carboxipeptidasa insensible a captopril [39]; siendo adoptado posteriormente el nombre ECA-2. La ECA-2 fue descrita inicialmente, como la enzima responsable de la hidrólisis de la Ang I, para generar Ang 1-9 [36,38]; sin embargo, su verdadera función fue descrita, por la demostración de que la Ang II era el sustrato preferente de la ECA-2 [37,39]; siendo la eficiencia catalítica de la ECA-2, 500 veces superior para la Ang II que para la Ang I, favoreciendo la degradación de Ang II y la consecuente formación de Ang 1-7. La ECA-2 es una glicoproteína unida a la membrana de las células tubulares y del endotelio renal, miocitos cardíacos y testículo, de 805 aminoácidos, codificada por un gen ubicado en el cromosoma X [36,37]. Entre las características más resaltantes de esta enzima, es que es una zinc-metaloproteasa [40,41], que tiene una secuencia 42% idéntica y 61% similar a la ECA; por otra parte, la ECA-2 tiene un dominio de unión al zinc HEXXH, el cual es homólogo al sitio activo de la ECA, pero que no es afectado por sus inhibidores (IECA). A diferencia de la ECA, la ECA-2 es una carboxipeptidasa, en lugar de una dipetidil carboxipeptidasa, que no metaboliza a la bradikinina, pero que hidroliza a la kinina pro inflamatoria, Arg9-Bradikinina [36,37, 42]. La ECA-2 tiene como función catalizar la hidrólisis de la Ang I en Ang 1-9; de la Ang II en Ang 1-7 (Figura 2); por lo tanto la ECA-2 es un inhibidor efectivo de la formación de Ang II, mediante la estimulación de una vía alternativa para la degradación de Ang I y Ang II; indicando su papel como una enzima antihipertensiva. Bajo condiciones fisiológicas, la ECA-2 se expresa en una amplia variedad de tejidos, órganos y especies, como en corazón, testículos, pulmones, hígado, sistema nervioso central, placenta y riñón de ratones, ratas y hombres [25,43-46]; siendo el riñón, el órgano que tiene la mayor expresión genética de ECA-2 en ratas [47]. Asimismo, se ha evidenciado la expresión de ECA-2 en cultivo de podocitos [48,49]. En cuanto a la expresión de la ECA-2 a nivel renal en ratones, se ha evidenciado, colocalización de la ECA y ECA-2 en la membrana apical de las células del borde en cepillo del túbulo proximal; sin embargo, en el glomérulo renal ambas enzimas están localizadas en estructuras diferentes, encontrándose la ECA-2 principalmente en las células epiteliales glomerulares, y en menor extensión en las células mesangiales glomerulares; por su parte la ECA, sólo se expresa en las células endoteliales [50]. Por su parte, en ratas, la expresión de ECA-2 es mayor en los glomérulos renales que en los túbulos [51]; encontrándose ARNm en todos los segmentos de la nefrona, excepto en la porción delgada ascendente del asa de Henle, y mayor expresión en los túbulos proximal, en los conductos colector y vasa recta [52,53].

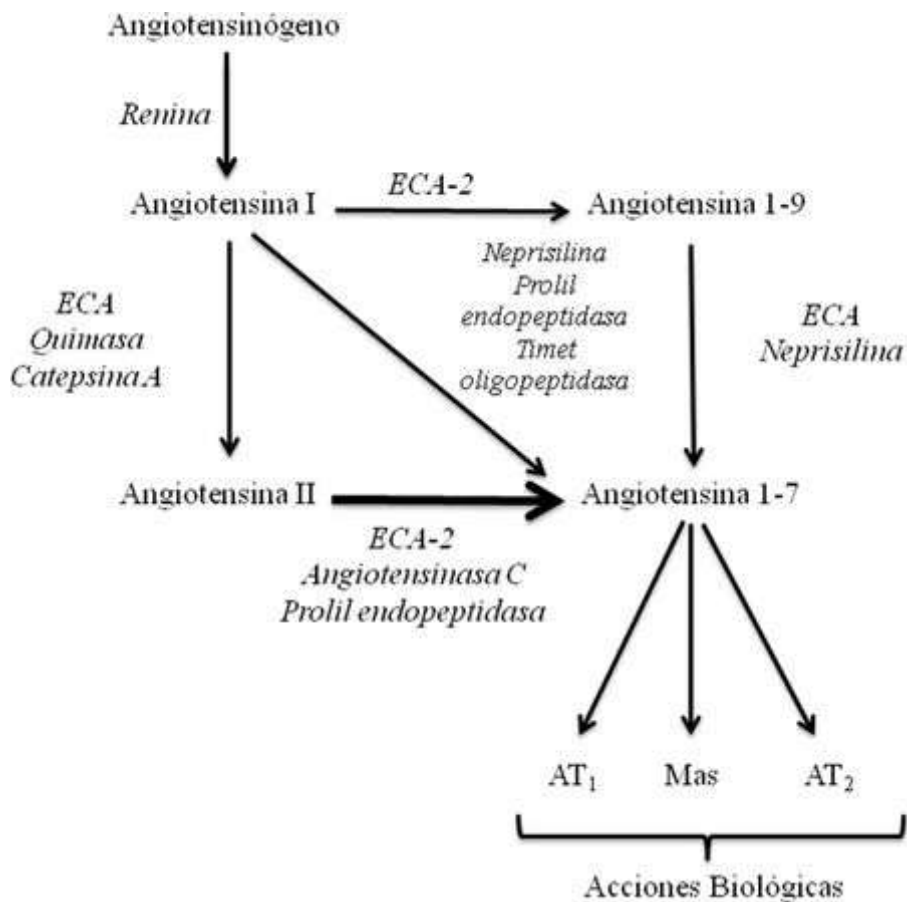


Figura 2.-Vías de Obtención de la Angiotensina 1-7. La Ang 1-7 se puede obtener a partir de la Ang II por la acción de varias enzimas como la ECA-2, Angiotensinasa C y prolil endopeptidasa. La conversión de Ang 1-9 a Ang 1-7 se realiza por la ECA y la neprililina, previo paso de la ECA-2 que cataliza la hidrólisis de la Ang I para formar Ang 1-9. Sin embargo, la ECA-2 es más afín por la Ang II que por la Ang I. Por otra parte, se puede obtener Ang 1-7 directamente de la Ang I, mediante la neprililina, la prolil endopeptidasa o timet oligopeptidasa. La Ang 1-7 puede actuar a través de sus receptores, el receptor Mas, AT₁ y AT₂, mediando sus acciones biológicas. (Tomado de Carey y Siragi, 2003) [3]

Por su parte, en riñones de humanos aparentemente sanos, la ECA-2 se expresa en la membrana apical de las células epiteliales tubulares y glomerulares, así como en las células musculares lisas y en el endotelio de las arterias interlobulares, sin encontrarse expresión en el endotelio glomerular [54]. La localización de la ECA-2 y de otros elementos del SRA a lo largo del epitelio de los túbulos contorneado proximal, evidencia la formación de Ang 1-7 por acción de la ECA-2 a este nivel [55]. Diferentes estudios, han demostrado la importancia de la ECA-2 en la enfermedad renal [56,57]; ya que se ha observado que en ratones macho con ablación genética de la ECA-2 (ECA-2-/-), desarrollan expansión del mesangio glomerular de manera dependiente de la edad, con incremento en la deposición de colágeno fibrilar tipo I / III, y de la proteína de la matriz extracelular fibronectina; evidenciándose daño vascular glomerular, a nivel de la microvasculatura del ovillo de los capilares glomerulares y de la arteriola aferente glomerular; asimismo, en estos animales, el desarrollo de glomeruloesclerosis, está asociado a daño en la barrera de filtración, evidenciándose un incremento en la excreción de albúmina urinaria. Sin

embargo, dichas alteraciones son prevenidas mediante tratamiento con un inhibidor del receptor AT₁, como el irbesartan. Es importante tener en cuenta que estos cambios, no estuvieron acompañados con incremento de la presión arterial sistémica, ni de los niveles de glicemia; lo cual indica que los cambios patológicos glomerulares en estos ratones pueden ocurrir sin que exista una elevación de los parámetros anteriormente mencionados [57]. Sin embargo, un grupo de investigadores han reportado un incremento de la presión arterial (además de los cambios renales antes descritos), en otras cepas de ratones con ablación genética de la ECA-2; indicando que la raza de los ratones puede modificar el efecto de la ECA-2 sobre la homeostasis de la presión arterial [58,59]. De igual manera, la expresión renal de las enzimas ECA y ECA-2 puede verse alterada en estados patológicos, modificando el balance entre la Ang II y Ang 1-7. Estudios sobre la expresión glomerular de ECA y ECA-2 en ratones hembras genéticamente obesos y diabéticos, revelan una mayor expresión de ECA y menor de ECA-2, que la encontrada en los ratones controles (no diabéticos); por lo tanto el patrón de ECA/ECA-2 elevado, incrementa la formación de Ang II, y disminuye su degradación [50], favoreciendo las acciones de la Ang II. Se ha observado en ratas y ratones diabéticos, una disminución de la proteína nefrina (proteína del diafragma podocito-glomérulo), lo cual está asociado con el incremento en la albuminuria observado en estos animales; y esto podría ser debido a una alteración del tráfico de la nefrina por la Ang II en los podocitos [60-62], debido al cambio en la expresión enzimática de ECA y ECA-2, con el consecuente desequilibrio entre Ang II y Ang 1-7. De igual manera, en pacientes con enfermedad renal inducida por diabetes tipo II, en las células del túbulo proximal, se ha evidenciado una disminución de la expresión de ECA-2, lo cual puede contribuir a la progresión del daño renal [63]. Por otra parte, en ratones diabéticos la inhibición farmacológica de la ECA-2 durante 16 semanas, mediante MLN-4760, un inhibidor selectivo de la ECA-2, a nivel glomerular ha mostrado producir un incremento en la albuminuria y en la deposición de fibronectina, que fue prevenido, por la coadministración de un bloqueante del receptor AT₁ [50]; pudiendo observarse la importancia que tiene la ECA-2 en el tratamiento de la nefropatía diabética. Por todo lo anteriormente señalado se puede decir que, estos hallazgos indican que el SRA debe ser visto y manejado como un sistema de función dual (Figura 3), donde existe un balance entre la acción vasoconstrictora / vasodilatadora, proliferativa / antiproliferativa, de acuerdo a la relación ECA / ECA-2; ya que cuando el balance ECA/ECA-2 es mayor, se incrementa la generación de Ang II y el catabolismo de Ang 1-7, favoreciendo los efectos inducidos por la Ang II como la vasoconstricción, proliferación; por lo contrario, cuando el balance ECA/ECA-2 es menor, se favorece la acción vasodilatadora, antiproliferativa inducida por la Ang 1-7 [64]. Es por ello que, tanto la inhibición farmacológica de la ECA-2, como la supresión genética de esta enzima, conlleva a efectos deletéreos a nivel renal, favoreciendo la albuminuria, la expansión mesangial, cambios en la filtración glomerular y en ocasiones a un incremento de la presión arterial; indicando la importancia que tiene la ECA-2 como una enzima renoprotectora, debido a la formación de la Ang 1-7. Es por ello, que el balance ECA / ECA-2 debe ser tomado en cuenta en la terapia farmacológica de las enfermedades que afectan al riñón.

ANGIOTENSINA 1-7

La Ang 1-7, es un heptapéptido conocido desde la década de los 80, cuando estudios sobre el metabolismo de la Ang I marcada radioactivamente en homogenatos de tallo cerebral de perros, demuestran que el principal pico radiactivo en el efluente de la cromatografía líquida de alta

presión, corresponde a este péptido; preservándose este pico, en muestras incubadas en presencia de un IECA y suprimiéndose la formación de Ang II radioactiva, indicando que la formación de la Ang 1-7 sigue una ruta independiente de la ECA [65]. Por mucho tiempo, se consideró a la Ang 1-7, como un producto inactivo del SRA [33]; sin embargo, este concepto comenzó a cambiar al final de los años 80 con los estudios de Schiavone y col [66], quienes demostraron que la Ang 1-7 era equipotente a la Ang II en liberar vasopresina in vivo y con los estudios de Campagnole – Santos y col [67], quienes reportaron que la administración de Ang 1-7 a nivel del núcleo del tracto solitario ocasionaba una disminución de la presión arterial en ratas; demostraron la importancia de la Ang 1-7 como un integrante biológicamente activo del SRA. La Ang 1-7 puede ser sintetizada a partir de la Ang I, Ang II o Ang 1-9 (Figura 2). La síntesis de la Ang 1-7 a partir de la Ang I requiere de alguna de las siguientes tres endopeptidasas tisulares denominadas neprilisina, prolil endopeptidasa y timet oligopeptidasa [68]. La conversión de Ang II en Ang 1-7 es catalizada por la prolilcarboxipeptidasa (angiotensinasa C) y por la prolil endopeptidasa [69]. Por su parte, la obtención de Ang 1-7 a partir de Ang 1-9, es mediada por la neprilisina y por la ECA. Asimismo, la Ang 1-7 se puede formar por la acción de ECA-2 a partir de la Ang II o de la Ang I [36]; siendo la conversión de la Ang II a la Ang 1-7 la vía preferida, con una eficiencia 500 veces superior que desde la Ang I.

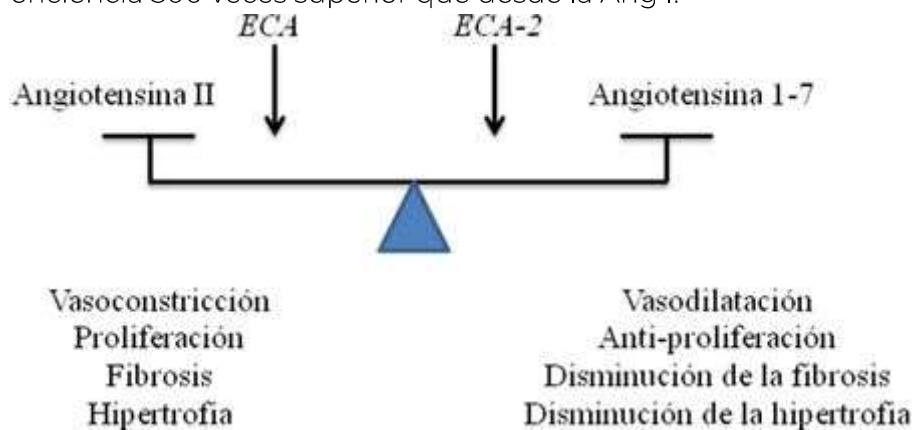


Figura 3. Relación ECA/ECA-2. Dependiendo del balance ECA/ECA-2, se obtendrá los efectos de la Ang 1-7 o Ang II; ya que si la relación ECA/ECA-2 es alta, se tendrá mayores niveles de Ang II que de Ang 1-7, observándose vasoconstricción, proliferación, fibrosis, hipertrofia; por su parte, si la relación ECA/ECA-2 es baja, se favorece la formación de Ang 1-7, y predominarán sus efectos, como la vasodilatación, anti proliferación. ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina. ECA-2: Enzima Convertidora de Angiotensina - 2 (Tomado de Ferrario CM. y col., 1997 2006) [68]

Para el año 2000, todavía no estaba del todo entendido, el conocimiento sobre el o los tipos de receptores a través de los cuales la Ang 1-7 ejerce sus acciones; sin embargo, debido a que algunos de los efectos de la Ang 1-7 podían ser bloqueados con inhibidores selectivos de estos receptores, se sabía que la Ang 1-7 podía ejercer algunas de sus acciones, al interactuar con los receptores AT1 y AT2. Sin embargo, la baja afinidad de la Ang 1-7 por los receptores AT1 y AT2 [70], así como la existencia de efectos de la Ang 1-7, que no eran bloqueados por los antagonistas de los receptores AT1 y AT2 (como el antidiurético), llevaron a plantear la existencia de un receptor selectivo para la Ang 1-7. En el año 2003, Santos y col [71], utilizando los riñones de ratones mostraron que la supresión genética del receptor Mas elimina la unión de la Ang 1-7; y ocasiona la pérdida de la acción antidiurética de la misma después de la carga aguda de agua (Figura 4); demostrando que la Ang 1-7 es el ligando endógeno del receptor Mas, un receptor de siete dominios transmembrana acoplado a proteína G, inicialmente descrito como un receptor

huérfano [72]. El receptor Mas es codificado por el protooncogen Mas, el cual se detectó y caracterizó por sus propiedades tumorigénicas in vivo [73]. El ARN de este receptor, se expresa en diversos tejidos como testículos, cerebro, corazón, riñón; demostrándose su presencia en las células del túbulo contorneado proximal [32], donde también se encuentran localizados la ECA-2 y la Ang 1-7; evidenciándose una correspondencia entre la ubicación del ligando y de su receptor a este nivel. En cuanto a la vía de señalización del receptor Mas, todavía no está completamente señalada; sin embargo se ha encontrado que la Ang 1-7 a través de este receptor puede inhibir la fosforilación de las MAPKs, y puede suprimir el incremento del factor crecimiento transformante β inducido por la Ang II [32,74, 75]. Por otra parte, la Ang 1-7 estimula la producción de ácido araquidónico en las células musculares lisas de aorta de conejos, cerdos y ratas, y participa en la formación de la prostaglandina I₂ (PGI₂), mediante la acción de la ciclooxygenasa y la fosfolipasa A₂ [76].

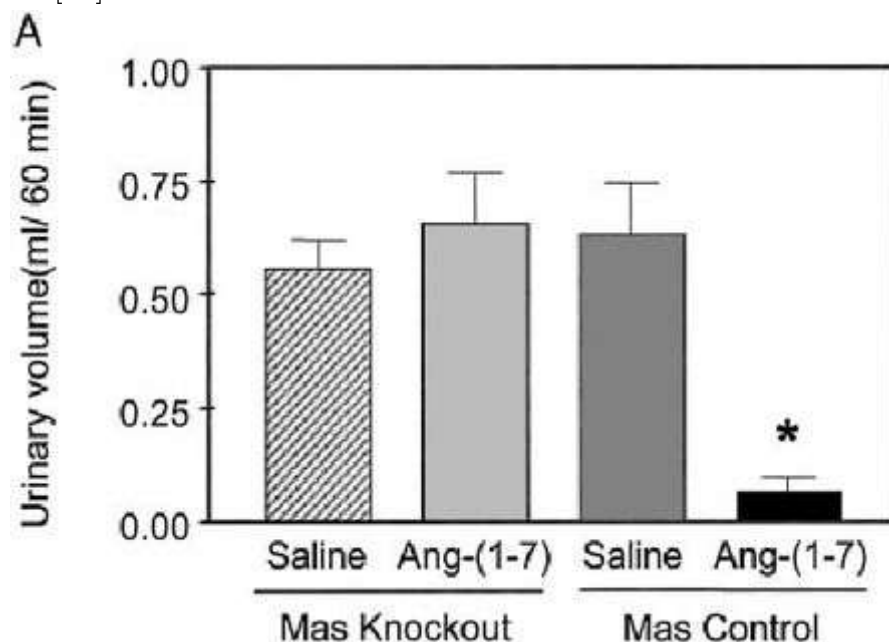


Figura 4. Efecto antidiurético de la Ang 1-7 en ratones con carga de agua.

Se observa el efecto antidiurético de la Ang 1-7 tras la administración de 4 pmol /10 g de Ang 1-7 por vía intraperitoneal en ratones macho Mas controles, quienes recibieron carga de agua; por su parte, los ratones deficientes del receptor Mas, pierden la capacidad de respuesta a la acción antidiurética de la Ang 1-7. Resultados presentados como media + desviación estándar. * $p < 0,05$, comparado con los ratones tratados con vehículo (Tomado de Santos y col., 2003) [71]

Asimismo, la Ang 1-7 a través del receptor Mas, incrementa la producción de óxido nítrico (NO), al activar la sintasa de óxido nítrico endotelial, a través de un mecanismo que involucra la fosforilación de la Ser 1777 y la defosforilación de la Thr 495, lo cual lleva a la activación de la vía fosfatidil inositol 3 quinasa (PIK3-AKT) [77]. Por otra parte, se ha demostrado que la Ang 1-7 interfiere con la entrada de Ca^{++} extracelular en células de músculo liso [78] e inhibe la actividad de la tirosina kinasa en la pituitaria anterior de ratas [79]. La Ang 1-7 cumple diversos efectos a nivel cardíaco, renal y sistémico; los cuales generalmente son opuestos a los inducidos por la Ang II, ya que promueve la vasodilatación, que es mediada por la liberación de NO y PGI₂, y por la potenciación de la acción de la bradikina [80,81]; debido a la interacción entre el SRA y la

bradiquinina (la cual puede ser de dos tipos), la potenciación de la acción de la bradikina por la Ang 1-7, y la mediación de la acción vascular de la Ang 1-7 por parte de las kininas, lo cual resulta en vasodilatación [82]. Asimismo, la Ang 1-7 promueve la inhibición del crecimiento de las células vasculares. A nivel cardíaco, la Ang 1-7 ha demostrado ser cardioprotectora, debido a que reduce o previene la fibrosis a este nivel [58,59,83,84], además tiene acción antiarritmogénica, antitrombótica, y de antiproliferación celular [85-88]. Por lo tanto, la mayoría de las acciones de la Ang 1-7 son opuestas a las de la Ang II, por lo que contra - regula la vasoconstricción, la acción arritmogénica, protrombótica y proliferativa inducida por la Ang II [89,90]. Es bien conocido que los riñones son el principal órgano blanco de la acción de la Ang 1-7 [91]; a pesar de ello, en este órgano el papel de este péptido no está completamente establecido, pero se conoce que está involucrado en la regulación del balance electrolítico, así como en la regulación de la presión arterial [25], estos efectos están relacionados con la modulación de la excreción renal de sodio, tanto en los segmentos de los túbulos proximal y distal de la nefrona [26], y en parte a la regulación de la reabsorción transcelular de sodio [25,27,92,93]. La reabsorción transcelular de sodio en el túbulo proximal, involucra dos tipos de transportadores activos primarios, la bomba Na^+/K^+ ATPasa sensible a ouabaína y la bomba Na^+ - ATPasa insensible a ouabaina, sensible a furosemida [94,95]. Estas bombas están ubicadas a nivel basolateral, y están involucradas en la génesis del gradiente electroquímico de sodio [96]. Los efectos de la Ang 1-7 a nivel renal son un tanto confusos y contradictorios; ya que algunos estudios indican la acción diurética y natriurética de este péptido en ratas [25,91], y otros estudios en ratas y ratones con carga de agua, señalan su acción antidiurética, al estimular la liberación de arginina - vasopresina y reducir la tasa de filtración glomerular; sugiriendo una posible interacción entre el receptor Mas, AT1, AT2 y el receptor arginina-vasopresina [96,97]. Por otra parte, también se han encontrado datos contradictorios, en cuanto a la natriuresis, pues en estudios con animales anestesiados euvolémicos, la Ang 1-7 promueve la natriuresis [25,97]; por su parte, en ratas no anestesiadas la Ang 1-7 no produce el mismo efecto [25,98]. Sin embargo, estos datos discordantes en cuanto a la excreción renal de sodio y agua, pueden ser debido, al efecto bifásico que ha demostrado tener la Ang 1-7 sobre el transporte de agua y bicarbonato a nivel del túbulo proximal; ya que a bajas concentraciones (1 pM), la Ang 1-7, estimula la reabsorción de bicarbonato y agua; por otro lado, altas concentraciones (10 nM), inhiben la reabsorción, asociándose dicho efecto a la modulación del intercambiador Na^+/H^+ [99]. También, se ha demostrado que la Ang 1-7 tiene un efecto bifásico sobre la actividad de la bomba Na^+ -ATPasa, involucrada en la reabsorción de Na^+ a nivel del túbulo proximal; donde, concentraciones de 1nM de Na^+ , estimulan al máximo la actividad de la enzima y concentraciones superiores a éstas, ocasionan disminución de su actividad; sin embargo, la Ang 1-7 puede ayudar a contrarrestar la acción de la Ang II; ya que la Ang 1-7 revierte progresivamente la estimulación de la actividad de la Na^+ -ATPasa inducida por la Ang II; indicando su papel como regulador de la reabsorción de Na^+ según las condiciones fisiológicas; ya que bajo condiciones donde la Ang II promueve la reabsorción máxima de Na^+ en el túbulo proximal, la Ang 1-7 puede regular hacia la baja este proceso, conllevando a una fina regulación de la excreción de Na^+ [26]; en este sentido, la Ang 1-7 puede funcionar como un agonista o antagonista de la Ang II sobre la actividad de la bomba Na^+ -ATPasa, dependiendo de su concentración; lo cual representa un importante mecanismo de regulación del volumen extracelular [4]. Del mismo modo, hallazgos recientes, han mostrado que la inhibición, de la actividad de la bomba Na^+ -ATPasa de los túbulos proximal de la corteza externa renal, por la Ang 1-7 (Figura 5), es mediada por el receptor AT2, mediante la activación de una proteína Gi/O , con la consecuente activación de la vía GMPc / PKG [100]; por su parte, en los túbulos proximal de la

corteza interna renal, la inhibición de la actividad de la bomba Na⁺-ATPasa por la Ang 1-7 mediada por los receptores AT₂, es por la activación de la vía Gs/AMPC/Proteína Kinasa A (PKAA) [101], por lo tanto estos hallazgos indican a nivel renal que, a pesar de la baja expresión de los receptores AT₂ (en comparación a los AT₁), éstos cumplen una importante función en la regulación hidroelectrolítica, y que la vía de señalización acoplada al receptor AT₂, puede depender del tipo celular y de su ubicación a nivel renal. Por otra parte, la Ang 1-7 provoca vasodilatación de la arteriola aferente renal, de manera independiente de los receptores AT₁ y AT₂; debido a que aumenta la liberación de NO, lo cual indica que la Ang 1-7 juega una importante función en la regulación hemodinámica renal [102]; de igual manera, como se mencionó anteriormente, la Ang 1-7 puede ayudar a contrarrestar los efectos de la Ang II generada en el túbulo proximal, ayudando a proteger al riñón contra el desarrollo y progresión de fibrosis tubulointersticial; ya que suprime el incremento del factor crecimiento transformante β inducido por la Ang II [32]. Estos antecedentes indican que la Ang 1-7 es renoprotectora; por lo tanto el empleo de agonistas del receptor Mas en modelos animales, ha demostrado tener utilidad a nivel renal; ya que la administración de 24 μ g/Kg de Ang 1-7, durante 4 semanas por vía intraperitoneal en ratas espontáneamente hipertensas tratadas crónicamente con el inhibidor de la síntesis de óxido nítrico L-NAME (80 mg/L durante 4 semanas), demostró mejorar la función renal, ya que disminuye la proteinuria y la presión arterial comparado con los animales hipertensos no tratados con la Ang 1-7. Asimismo, este heptapéptido mostró mejorar los cambios histológicos observados en las arteriolas glomerulares de estas ratas, ya que los animales tratados con Ang 1-7 mostraron un moderado engrosamiento de la capa media de las arteriolas glomerulares; por su parte las ratas no tratadas evidenciaron necrosis fibrinoide de la pared arteriolar glomerular con o sin cambios escleróticos. De igual manera el agonista no peptídico del receptor Mas, AVE 0991 (24 μ g/Kg) mostró los mismos efectos beneficiosos sobre la función renal, que los mostrados por la Ang 1-7 [103]. Por lo tanto, el tratamiento con agonistas del receptor Mas, demostró tener efectos favorables a nivel renal, por lo que estas moléculas podrían constituir una potencial alternativa terapéutica, en el manejo de la nefropatía en hipertensos.

Metabolismo de la Ang 1-7

Una vez que la Ang 1-7 es sintetizada, ésta es metabolizada por diferentes enzimas. Las enzimas involucradas en el metabolismo de la Ang 1-7, incluye las aminopeptidasas, neprilisina y a la ECA. La aminopeptidasa, produce Ang 2-7 y 3-7, al hidrolizar el aminoácido N- terminal (Asp), o el dipéptido N- terminal (Asp-Arg) de la Ang 1-7. Por otra parte, la ECA hidroliza el enlace Ile-His, produciendo el pentapéptido Ang 1-5 y un dipéptido [47]. La neprilisina, ha mostrado hidrolizar a la Ang 1-7 entre el residuo Tyr 4-Ile 5, dando lugar a Ang 1-4 y el tripéptido Ile-His-Pro [104]. A nivel renal, el metabolismo de la Ang 1-7 ha sido estudiado por diferentes grupos de investigadores; demostrando que la neprilisina, es la principal enzima encargada del metabolismo de este péptido a nivel renal [104]. De hecho, en el año 2000, Allred y col [105] estudiaron el metabolismo de este péptido, empleando preparaciones del borde en cepillo de la corteza renal de ratas; sus resultados revelaron que el empleo de inhibidores de la neprilisina (SCH 39370) conllevaron a un incremento en las concentraciones de Ang 1-7, debido a su menor metabolismo; sin embargo, el bloqueo de esta enzima, no elimina el metabolismo de la Ang 1-7, pero incrementa su tiempo de vida media. Asimismo, las acciones renales de los inhibidores de la neprilisina, son atribuidos a la preservación de la bradikinina, o del péptido natriurético; así como de la protección de la degradación de la Ang 1-7 [106,107].

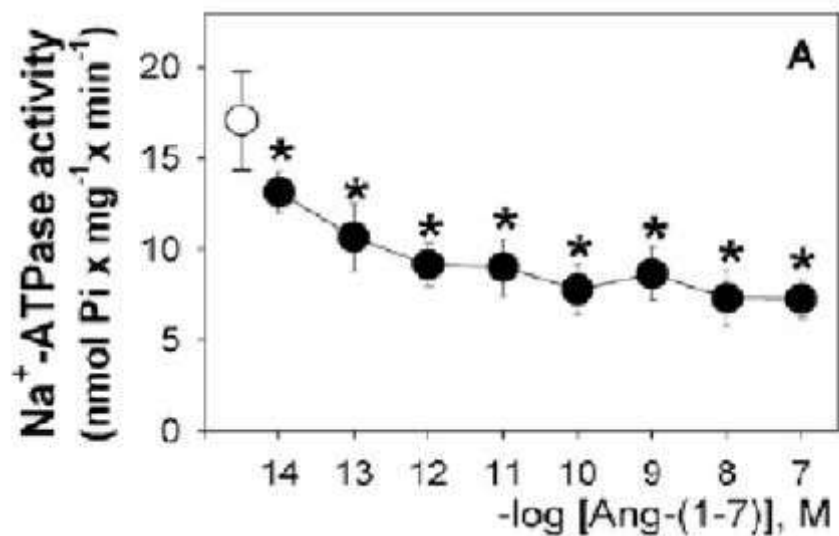


Figura 5.- Inhibición de la actividad de la Na⁺-ATPasa por la Ang 1-7.

Se observa una disminución de la actividad de la bomba, dosis dependiente (Círculos rellenos). Actividad de la bomba Na⁺-ATPasa en ausencia de Ang 1-7 (Círculo vacío). Los resultados son expresados como la media + desviación estándar. * p<0,05, comparado con el control (Tomado de Lara L., 2006) [100]

De igual manera, estudios en humanos han revelado que a nivel renal, la neprilisina juega un papel fundamental en el metabolismo de la Ang 1-7, ya que en pacientes hipertensos, el omapatrilat, un inhibidor de la neprilisina y ECA, incrementó la concentración sérica de Ang 1-7 y disminuyó la presión arterial de los mismos [108], demostrando que el abordaje farmacológico del metabolismo de la Ang 1-7, puede ser una estrategia eficaz para el tratamiento de la hipertensión arterial; ya que la Ang 1-7 permanecería por más tiempo para ejercer sus efectos.

DISCUSIÓN

El SRA juega un papel muy importante en la fisiopatología de diversas enfermedades, como las cardíacas y renales [109]. Anteriormente se consideraba a la Ang II como el único péptido biológicamente activo de este sistema; sin embargo hoy en día se sabe que el SRA se debe visualizar de manera más amplia, ya que intervienen diferentes péptidos, receptores y sistemas [25-28]; entre estos otros péptidos destaca la Ang 1-7, la cual es formada por la acción de la ECA-2 [39]. En diversos modelos animales, esta enzima ha demostrado tener potencial terapéutico, ya que su inhibición, ocasiona daños en la función renal [50,56]. En este sentido, la estrategia terapéutica estaría dirigida a incrementar la actividad de la ECA-2, favoreciendo la degradación de la Ang II y formación de la Ang 1-7 [57]. La Ang 1-7 es un heptapéptido que contra-regula las acciones vasoconstrictora, proliferativa, pro fibrótica, coagulante y protrombótica de la Ang II [88]. Asimismo, la Ang 1-7 participa en la regulación del balance hidroelectrolítico, evidenciándose acciones duales en la reabsorción de agua y sodio; debido a que a bajas concentraciones, la

misma tiene efecto antidiurético, y a elevadas concentraciones un efecto diurético y natriurético [26,99]. Por otra parte, se ha observado en modelos animales, que la Ang 1-7 mejora la función renal y cardíaca [103]. Sin embargo, las propiedades farmacocinéticas negativas de este péptido, restringen su empleo, por lo que sería vital desarrollar análogos más estables de la Ang 1-7, que tengan mayor tiempo de vida media [90]. Por otra parte, se ha observado que la terapia con los IECA, y/o los bloqueantes de los receptores AT₁, incrementan la concentración de Ang 1-7; como consecuencia de que los IECA, provocan un incremento en los niveles de Ang 1-7, porque disminuye su degradación, y aumenta los niveles de Ang I (que también es sustrato para la Ang 1-7). Por otra parte el aumento de la Ang 1-7 mediante el uso de los bloqueantes de receptores AT₁, podría ser una consecuencia de la formación de Ang 1-7 a partir de la Ang II [47,109, 110]. Por todo lo anteriormente mencionado, la ECA-2, la Ang 1-7 y los otros agonistas del receptor Mas, podrían constituir un potencial blanco farmacológico para el abordaje de diversas enfermedades de índole cardiovascular y renal [57,111-113].

REFERENCIAS

1. Aurell M. The renin-angiotensin system: the centenary jubilee. *Blood Press* 1998; 7: 71-75.
2. 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.
3. Harris J, Gomez R. Renin angiotensin system genes in kidney development. *Microsc Res Tech* 1997; 39: 211-221.
4. Caruso-Neves C, Rangel L, Laea L, Lopes A. Regulation of the renal proximal tubule second sodium pump by angiotensin. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 1079 – 1084.
5. Kumar R, Boim M. Diversity of pathways for intracellular angiotensin II synthesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 33 – 39.
6. Sasaki K, Yamano Y, Bardhan S, Iwai N, Murray J, Hasegawa M, Matsuda Y, Inagami T. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature* 1999; 351: 230–233.
7. De Gasparo M, Catt K, Inagami T, Wright J, Unger T. International Union of Pharmacology. XXIII. The angiotensin receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415–472.
8. Mukoyama M, Nakajima M, Horiuchi M, Sasamura H, Pratt R, Dzau V. Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors. *J. Biol. Chem* 1993; 268: 24539–24542.
9. Hansen J, Servant G, Baranski T, Fujita T, Iiri T, Sheikh S. Functional reconstitution of the angiotensin II type 2 receptor and G (i) activation. *Circ Res* 2000; 87: 753–759.
10. Horiuchi M, Akishita M, Dzau V. Recent progress in angiotensin II type-2 receptor research in the cardiovascular system. *Hypertension* 1999; 33: 613–621.
11. Berry C, Touyz R, Dominiczak A, Webb R, Johns D. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology and interactions with ceramide. *Am J Physiol* 2001; 281: H2332–H2365.

12. Yosypiv I. A new role for the Renin-Angiotensin system in the development of the ureteric bud and renal collecting system. *Keio J Med* 2008; 57: 184-189.
13. Kobori H, Nangaku M, Navar L, Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev* 2007; 59: 251 – 287.
14. Franco M, Pérez O, Martínez F. Interaction of intrarenal adenosine and angiotensin II in kidney vascular resistant. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 63 -67.
15. Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med* 2008; 264: 224 – 236.
16. Dostal D. The cardiac renin-angiotensin system: novel signaling mechanisms related to cardiac growth and function. *Regul Pept* 2000; 91:1-11.
17. Robrwasser A, Morgan R, Dillon H, Zhao L, Callaway C, Hillas E, Zhang S, Cheng T, Inagami T, Ward K, Teveros D, Lalouel J. Elements of a paracrine tubular renin-angiotensin system along the entire nephron. *Hypertension* 1999; 34: 1265-1274.
18. Nishiyama A, Seth D, Navar L. Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats. *Hypertension* 2002; 39: 129-134.
19. Ingelfinger J, Jung F, Diamont D, Havervan L, Lee E, Brem A, Tang S-S. Rat proximal tubule cell line transformed with origin-defective SV40DNA: autocrine ANG II feedback. *Am J Physiol* 1999; 276: F218-F227.
20. Kobari H, Harrison-Bernard L, Navar L. Enhancement of angiotensinogen expression in angiotensin II-dependent hypertension. *Hypertension* 2001; 37: 1329-1335.
21. Ozono R, Wang Z, Moore A, Inagami T, Siragy H, Carey R. Expression of the subtype-2 angiotensin II (AT₂) receptor protein in the rat kidney. *Hypertension* 1997; 30: 1238-1246.
22. Ardaillou R. Angiotensin II receptors. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: S30 –S39.
23. Haithcock D, Jiao H, Cui X-L, Hopfer U, Douglas J. Renal proximal tubular AT₂ receptor: signaling and transport. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: S69-S74.
24. Jin X, Siragy H, Carey R. Renal interstitial guanosine cyclic 3',5'- monophosphate induces natriuresis by a direct tubule mechanism. *Hypertension* 2001; 38: 309-316.
25. Santos R, Campagnole-Santos M, Andrade S. Angiotensin-(1-7): an update. *Regul Pept* 2000; 91: 45-62.
26. Simões-e-Silva A, Baracho N, Passaglio K, Santos R. Renal actions of angiotensin-(1-7). *Braz J Med Biol Res* 1997; 30: 503-513.
27. Caruso-Neves C, Lara L, Rangel L, Grossi A, Lopes A. Angiotensin (1-7) modulates the ouabain-insensitive Na⁺-ATPase activity from basolateral membrane of the proximal tubule. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1467: 189- 197.

28. Varagic J, Trask A, Jessup J, Chappell M, Ferrario C. New angiotensins. *J Mol Med* 2008; 86: 663 – 671.
29. Ferrario C, Brosnihan K, Diz D, Jaiswal N, Khosla M, Milsted A, Tallant E. Angiotensin-(1-7): a new hormone of the angiotensin system. *Hypertension* 1991; 18: III-126–III-133.
30. Katovich M, Grobe J, Raizada M. Angiotensin-(1-7) as an antihypertensive, antifibrotic target. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10: 227-232.
31. Brosnihan K, Neves L, Joyner J, Averill D, Chappell M, Sarao R, Penninger J, Ferrario C. Enhanced renal immunocytochemical expression of ANG-(1-7) and ACE2 during pregnancy. *Hypertension* 2003; 42: 749–753.
32. Su Z, Zimpelmann J, Burns K. Angiotensin-(1-7) inhibits angiotensin II-stimulated phosphorylation of MAP kinases in proximal tubular cells. *Kidney Int* 2006; 69: 2212–2218.
33. Greene L, Spadaro A, Martins A, Perussi De Jesus W, Camargo A. Brain endo-oligopeptidase B: a post-proline cleaving enzyme that inactivates angiotensin I and II. *Hypertension* 1982; 4, 178–184.
34. Yamamoto K, Chappell M, Brosnihan K, Ferrario C. In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1992; 19: 692–696.
35. Welches W, Santos R, Chappell M, Brosnihan K, Greene L, Ferrario C. Evidence that proli endopeptidase participates in the processing of brain angiotensin. *J Hypertens* 1991; 9: 631–638.
36. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1–9. *Circ Res* 2000; 87: E1–E9.
37. Tipnis S, Hooper N, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner A. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captoprilinsensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem* 2000; 275: 33238–33243.
38. Lambert D, Hooper N, Turner A. Angiotensin – converting enzyme 2 and new insights into the rennin – angiotensin system. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 781-786.
39. Soler M, Lloveras J, Batlle D. Angiotensin converting enzyme 2 and its emerging role in the regulation of the rennin angiotensin system. *Med Clin* 2008; 131: 230 – 236.
40. Acharya K, Sturrock E, Riordan J, Ehlers M. ACE revisited: a new target for structure-based drug design. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 891–902.
41. Ingelfinger J. Angiotensin – converting enzyme 2: implications for blood pressure and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 79 – 84.
42. Soler M, Wysocki J, Batlle D. Angiotensin converting enzyme 2 and the kidney. *Exp Physiol* 2007; 93: 549 – 556.

43. Gembardt F, Sterner-Kock A, Imboden H, Spalteholz M, Reibitz F, Schultheiss H, Siems W, Walther T. Organ-specific distribution of ACE2 mRNA and correlating peptidase activity in rodents. *Peptides* 2005; 26: 1270–1277.
44. Doobay M, Talman L, Obr T, Tian X, Davisson R, Lazartigues E. Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R373–R381.
45. Xie X, Chen J, Wang X, Zhang F, Liu Y. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. *Life Sci* 2006; 78: 2166–2171.
46. Valdes G, Neves L, Anton L, Corthorn J, Chacon C, Germain A, Merrill D, Ferrario C, Sarao R, Penninger J, Brosnihan K. Distribution of angiotensin-(1–7) and ACE2 in human placentas of normal and pathological pregnancies. *Placenta* 2006; 27: 200–207.
47. Ferrario C. Angiotensin-Converting Enzyme 2 and Angiotensin-(1-7): An Evolving Story in Cardiovascular Regulation. *Hypertension* 2006; 47: 515-521.
48. Wysocki J, Soler M, Ye M, Batlle D. ACE2 is critically important for angiotensin II metabolism in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: TH-PO877.293A.
49. Velez J, Bland A, Arthur J, Raymond J, Janech M. Characterization of renin-angiotensin system enzyme activities in cultured mouse podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F398–F407.
50. Ye M, Wysocki J, William J, Soler M, Cokic I, Batlle D. Glomerular localization and expression of Angiotensin converting enzyme 2 and Angiotensin-converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3067–3075.
51. Hamming I, Cooper M, Haagmans B, Hooper N, Korstanje R, Osterhaus A, Timens W, Turner A, Navis G, van Goor H. The emerging role of ACE2 in physiology and disease. *J Pathol* 2007; 212: 1–11.
52. Li N, Zimpelmann J, Cheng K, Wilkins J, Burns K. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1–7 by rat proximal tubules. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288: F353–F362.
53. Tikellis C, Johnston C, Forbes J, Burns W, Burrell L, Risvanis J, Cooper M. Characterization of renal angiotensin-converting enzyme 2 in diabetic nephropathy. *Hypertension* 2003; 41: 392–397.
54. Lely A, Hamming I, van Goor H, Navis G. Renal ACE2 expression in human kidney disease. *J Pathol* 2004; 204: 587–593.
55. Chappell M. Emerging evidence for a functional angiotensin–converting enzyme 2–angiotensin–(1-7)–Mas receptor axis. More than regulation of blood pressure?. *Hypertension* 2007; 50: 596 – 599.
56. Oudit G, Herzenberg A, Kassiri Z, Wong D, Reich H, Khokha R, Crackower M, Backx P, Penninger J, Scholey J. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2006; 168: 1808–1820 .
57. Batlle D, Soler M, Wysocki J. New aspects of the renin angiotensin system: angiotensin converting enzyme 2 a potential target for treatment of hypertension and diabetic nephropathy.

58. Gurley S, Allred A, Le T, Griffiths R, Mao L, Philip N, Haystead T, Donoghue M, Breitbart R, Acton S, Rockman H, Coffman T. Altered blood pressure responses and normal cardiac phenotype in ACE2-null mice. *J Clin Invest* 2006; 116: 2218–2225.
59. Diez-Freire C, Vazquez J, Correa de Adjounian M, Ferrari M, Yuan L, Silver X, Torres R, Raizada M. ACE2 gene transfer attenuates hypertension-linked pathophysiological changes in the SHR. *Physiol Genomics* 2006; 27: 12–19.
60. Macconi D, Abbate M, Morigi M, Angioletti S, Mister M, Buelli S, Bonomelli M, Mundel P, Endlich K, Remuzzi A, Remuzzi G. Permselective dysfunction of podocyte-podocyte contact upon angiotensin II unravels the molecular target for renoprotective intervention. *Am J Pathol* 2006; 168: 1073–1085.
61. Sung S, Ziyadeh F, Wang A, Pyagay P, Kanwar Y, Chen S. Blockade of vascular endothelial growth factor signaling ameliorates diabetic albuminuria in mice. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3093–3104.
62. Hauser P, Collino F, Bussolati B, Camussi G. Nephron and endothelial injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 3 -8.
63. Reich H, Oudit G, Penninger J, Choley J, Herzenberg A. Decreased glomerular and tubular expression of ACE2 in patients with type 2 diabetes and kidney disease. *Kidney Int* 2008; 74: 1610-1616.
64. Santos R, Ferreira A, Imoes C. Recent advances in the angiotensin – converting enzyme 2-angiotensin (1-7) – Mas axis. *Exp Physiol* 2008; 93: 519-527.
65. Santos R, Brosnihan K, Chappell M, Pesquero J, Chernicky C, Greene L. Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem. *Hypertension* 1988; 11: 1153–1157.
66. Schiavone M, Santos R, Brosnihan K, Khosla M, Ferrario C. Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophyseal system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 85: 4095–4098.
67. Campagnole-Santos M, Diaz D, Santos R, Khosla M, Brosnihan K, Ferrario C. Cardiovascular effects of angiotensin-(1-7) injected into the dorsal medulla of rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1989; 257, H324–H329.
68. Ferrario C, Chappell M, Tallant E, Brosnihan K, Diz D. Counterregulatory actions of angiotensin-(1-7). *Hypertension* 1997; 30: 535-541.
69. Kumamoto K, Stewart T, Johnson A, Erdos E. Prolylcarboxypeptidase (angiotensinase C) in human lung and cultured cells. *J Clin Invest* 1981; 67: 210-215.
70. Rowe B, Saylor D, Speth R, Absher D. Angiotensin-(1-7) binding at angiotensin II receptors in the rat brain. *Regul Pep* 1995; 56: 139 –146.
71. Santos R, Simoes A, Maric C, Silva D, Machado R, Buhr I, Heringer S, Pinheiro S, Lopes M, Bader M, Mendes E, Lemos V, Campagnole-Santos M, Schultheiss H, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1-

- 7) is an endogenous ligand for the G protein – coupled receptor Mas. PNAS 2003; 100: 8258-8263.
72. Gembardt F, Grajewski S, Vahl M, Schultheiss H, Walther T. Angiotensin metabolites can stimulate receptors of the Mas related genes family. Mol Cell Biochem 2008; 319: 115-123.
73. Young D, Waitches G, Birchmeier C, Fasano O, Wigler M. Isolation and characterization of a new cellular oncogene encoding a protein with multiple potential transmembrane domains. Cell. 1986; 45:711–719.
74. Deelman L, Sharma K. Mechanisms of kidney fibrosis and the role of antifibrotic therapies. Curr Opin Nephrol Hypertens 2009; 18: 85 – 90.
75. Gallagher P, Ferrario C, Tallant E. MAP kinase/phosphatase pathway mediates the regulation of ACE2 by angiotensin peptides. Am J Physiol Cell Physiol 2008; 295: C1169-74.
76. Trachte G, Meixner K, Ferrario C, Khosla M. Prostaglandin production in response to angiotensin-(1-7) in rabbit isolated vas deferens. Prostaglandin 1990; 39: 385–389.
77. Li P, Chappell M, Ferrario C, Brosnihan K. Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide. Hypertension 1997; 29: 394–400.
78. Chansel D, Vandermeersch S, Andrzej O, Curat C, Ardaillou R. Effects of angiotensin IV and angiotensin-(1-7) on basal angiotensin II-stimulated cytosolic Ca²⁺ in mesangial cells. Eur J Pharmacol 2001; 414: 165–175.
79. Rebas E, Zabczynska J, Lachowicz A. The effect of angiotensin 1-7 on tyrosine kinase activity in rat anterior pituitary. Biochem Biophys Res Commun 2006; 347: 581 – 585.
80. Brosnihan K, Li P, Ferrario C. Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. Hypertension 1996; 27: 523-528.
81. Gauthier K, Zhang D, Cui L, Nithipatikom K, Campbell W. Angiotensin II relaxations of bovine adrenal cortical arteries: role of angiotensin II metabolites and endothelial nitric oxide. Hypertension 2008; 52: 150-155.
82. Fernandes L, Fortes Z, Nigro D, Tostes R, Santos R, Carvalho M. Potentiation of bradykinin by angiotensin-(1-7) on arterioles of spontaneously hypertensive rats studies in vivo. Hypertension 2001; 37: 703–709.
83. Grobe J, Mecca A, Lingis M, Shenoy V, Bolton T, Machado J. Prevention of angiotensin II-induced cardiac remodeling by angiotensin-(1-7). Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007; 292: H736–H742.
84. Benter I, Yousif M, Anim J, Cojocel C, Diz D. Angiotensin-(1-7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006; 290: H684–H691.
85. Carvalho M, Duarte F, Faria-Silva R, Fauler B, da Mata Machado L, de Paula R, Campagnole-Santos M, Santos R. Evidence for Mas-mediated bradykinin potentiation by the angiotensin-(1-7) nonpeptide mimic AVE 0991 in normotensive rats. Hypertension 2007; 50: 762–767.

86. Sampaio W, Henrique de Castro C, Santos R, Schiffrin E, Touyz R. Angiotensin-(1-7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells. *Hypertension* 2007; 50: 1093–1098.
87. Santos S, Fernandes L, Mario E, Ferreira A, Porto L, Alvarez-Leite J, Botion L, Bader M, Alenina N, Santos R. Mas deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism. *Diabetes* 2007; 57: 340–347.
88. Stewart J, Lazartigues E, Lucchesi P. The angiotensin converting enzyme 2/ Ang (1-7) axis in the heart: a role for Mas communication? *Circ Res* 2008; 103: 1197 – 1199.
89. Ferreira A, Santos R, Almeida A. Angiotensin-(1-7): cardioprotective effect in myocardial ischemia/reperfusion. *Hypertension* 2001; 38: 665-668.
90. Iusuf D, Henning R, Van Gilst W, Roks A. Angiotensin 1-7 pharmacological properties and pharmacotherapeutic perspectives. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 303-312.
91. Chappell M, Diz D, Yunis C, Ferrario C. Differential actions of angiotensin-(1-7) in the kidney. *Kidney Int Suppl* 1998; 68: S3-S6.
92. Kucharewicz I, Pawlak R, Matys T, Chabielska E, Buczek W. Angiotensin- (1-7): an active member of the renin–angiotensin system *J. Physiol. Pharmacol* 2002; 53: 533–540.
93. Lara L, Bica R, Sena S, Correa J, Marques-Fernandes M, Lopes A, Caruso-Neves C. Angiotensin-(1-7) reverses the stimulatory effect of angiotensin II on the proximal tubule Na⁺-ATPase activity via an A779-sensitive receptor. *Regul. Pept* 2002; 103: 17–22.
94. Proverbio F, Marín R, Proverbio T. The “second” sodium pump and cell volume. *Curr. Top. Membr. Transp.* 1989; 34: 105–119.
95. Caruso-Neves C, Coelho-Souza S, Vives D, Goes G, Lara L, Lopes A. Modulation of ouabain-insensitive Na⁺-ATPase activity in the renal proximal tubule by Mg²⁺, MgATP and furosemide. *Int. J. Biochem. Cell Biol* 2002; 34: 1586–1593.
96. Pinheiro S, Simoes e Silva A, Sampaio W, Paula R, Mendes E, Bontempo E. Nonpeptide AVE 0991 is an angiotensin-(1-7) receptor Mas agonist in the mouse kidney. *Hypertension* 2004; 44: 490–496.
97. Santos R, Ferreira A, Pinheiro S, Sampaio W, Touyz R, Campagnole-Santos M. Angiotensin-(1-7) and its receptor as a potential targets for new cardiovascular drugs. *Expert Opin Investig Drugs* 2005; 14: 1019–1031.
98. Ferreira A, Pinheiro S, Castro C, Silva G, Simões e Silva A, Almeida A. Renal function in transgenic rats expressing an angiotensin-(1-7)-producing fusion protein. *Regul Pept* 2006; 137: 128–133.
99. Garcia N, Garvin J. Angiotensin 1-7 has a biphasic effect on fluid absorption in the proximal straight tubule. *JASN* 1994; 5: 1133-1138.
100. Lara L, Calvacante F, Axelband F, De souza A, Lopes A, Caruso C. Involvement of the Gi/o/cGMP/PKG pathway in the AT2-mediated inhibition of outer cortex proximal tubule Na⁺-

ATPase by Ang-(1-7). *Biochem. J* 2006; 395: 183-190

101. De Souza A, Lopes A, Pizzino C, Fossari R, Miguel N, Cardozo F, Abi-Abib R, Fernandes M, Santos D, Caruso-Neves C. Angiotensin II and angiotensin-(1-7) inhibit the inner cortex Na⁺-ATPase activity through AT₂ receptor. *Regul. Pept* 2004; 100: 167-175.

102. Jeffrey Y, Carretero O. Vasodilatation action of angiotensin-1-7 on isolated rabbit afferent arterioles. *Hypertension* 2002; 39: 799 – 802.

103. Benter I, Yousif M, Anim J, Cojocel C, Diz D. Angiotensin-(1-7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H684-H691.

104. Chappell M, Allred A, Ferrario C. Pathways of angiotensin – 1-7 metabolism in the kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 22 – 26.

105. Allred A, Diz D, Chappell M. Pathways for angiotensin 1-7 metabolism in pulmonary and renal tissues. *Am J Physiol* 2000; 279: F841 – F850.

106. Ura N, Carretero O, Erdos E. Role of renal endopeptidase 24.11 in kinin metabolism in vitro and in vivo. *Kidney Int* 1987; 32: 507 – 513.

107. Lima C, Paula R, Resende F, Khosla M, Santos R. Potentiation of the hypotensive effects of bradykinin by short term infusion of angiotensin 1-7 in normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 30: 542 – 548.

108. Ferrario C, Smith R, Brosnihan B, Chappell M, Campese V, Vesterqvist O, Liao W, Ruddy M, Grim C. Effects of omapatrilat on the renin – angiotensin system in salts sensitive hypertensive. *Am J Hypertens* 2002; 15: 557-564.

109. Anderson S, Komers R. Inhibition of the renin – angiotensina system: is more better ? *Kidney Int* 2009; 75: 12 – 14.

110. Ferrario C, Jessup J, Chappell M, Averill D, Brosnihan K, Tallant E, Diz D, Gallagher P. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin converting enzyme 2. *Circulation* 2005; 111: 2605-2610.

111. Balsamo A, Calderone V, Rapposelli S. New emerging prospects in the pharmacotherapy of hypertension. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008; 6: 1-19.

112. Raizada M, Ferrerira A. ACE2: a new target for cardiovascular disease therapeutics. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 112-119.

113. Trask A, Ferrario C. Angiotensin 1-7 pharmacology and new perspectives in cardiovascular treatments. *Cardiovasc Drug Rev* 2007; 25: 162 – 174.