

Η προέλευση των συστατικών των ιστικών συστημάτων ρενίνης-αγγειοτενσίνης

Π.Α. Σαραφίδης
Α.Ν. Λαζαρίδης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης (ΣΡΑ) είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο της αρτηριακής πίεσης και τη διατήρηση της ισορροπίας υγρών και ηλεκτρολυτών του οργανισμού του ανθρώπου αλλά και πολλών άλλων ειδών του ζωικού βασιλείου. Η παρουσία του σε πολύ πρώιμα στάδια της εξέλιξης των οργανισμών υπογραμμίζει την τεράστια σημασία του. Η εντατική έρευνα του ΣΡΑ αποκάλυψε πριν από λίγα χρόνια ότι εκτός από το κλασικό ΣΡΑ της κυκλοφορίας ή ενδοκρινικό ΣΡΑ, τα διάφορα συστατικά του συστήματος μπορούν να παραχθούν από διάφορους ιστούς και όργανα των θηλαστικών, σχηματίζοντας ιστικά ΣΡΑ με παρακρινική ή/και αυτοκρινική λειτουργία. Η ύπαρξη ιστικών ΣΡΑ θεωρείται σήμερα τεκμηριωμένη στους νεφρούς, την καρδιά, τα αγγεία, τα επινεφρίδια, τον εγκέφαλο και σε άλλα όργανα και ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού. Χαρακτηριστικό των συστημάτων αυτών είναι ότι η δράση τους δεν είναι πάντα συμπληρωματική του ΣΡΑ της κυκλοφορίας αλλά πολλές φορές ανεξάρτητη. Τα δεδομένα για την εμπλοκή των ιστικών ΣΡΑ στην παθογένεια της αρτηριακής υπέρτασης, της καρδιακής ανεπάρκειας και άλλων παθολογικών καταστάσεων γίνονται ολοένα και περισσότερα, αποδεικνύοντας την τεράστια σημασία τους. Ένα από τα βασικότερα ερωτήματα στα οποία η έρευνα έπρεπε να δώσει απάντηση ήταν η προέλευση των συστατικών των ιστικών ΣΡΑ, ιδιαίτερα της ρενίνης και του αγγειοτενσινογόνου. Με την πάροδο των ετών προέκυψαν πολλά στοιχεία τόσο υπέρ της τοπικής παραγωγής των ουσιών αυτών στους διάφορους ιστούς, όσο και υπέρ της πρόσληψης τους από το πλάσμα, καθώς επίσης και στοιχεία για την παραγωγή αγγειοτενσινών στους ιστούς μέσω άλλων οδών, όπως μέσω χυμάσης. Στην παρούσα ανασκόπηση εκτίθενται όλα αυτά τα δεδομένα και περιγράφεται η οργάνωση των ιστικών ΣΡΑ.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης (ΣΡΑ) της κυκλοφορίας ξεκινά με την παραγωγή και απελευθέρωση από ειδικά κύτταρα του νεφρού, τα παρασπειραματικά κύτταρα, της ορμόνης ρενίνης υπό την επίδραση μίας πλειάδας ερεθισμάτων. Η ρενίνη δρα στην αιματική κυκλοφορία στο αγγειοτενσινογόνο, μία α_2 -σφαιρίνη που παράγεται στο ήπαρ, και με πρωτεολυτική διάσπαση αφαιρεί ένα δεκαπεπτίδιο, την αγγειοτενσίνη I (ΑγγI). Στη συνέχεια, το μετατρεπτικό ένζυμο

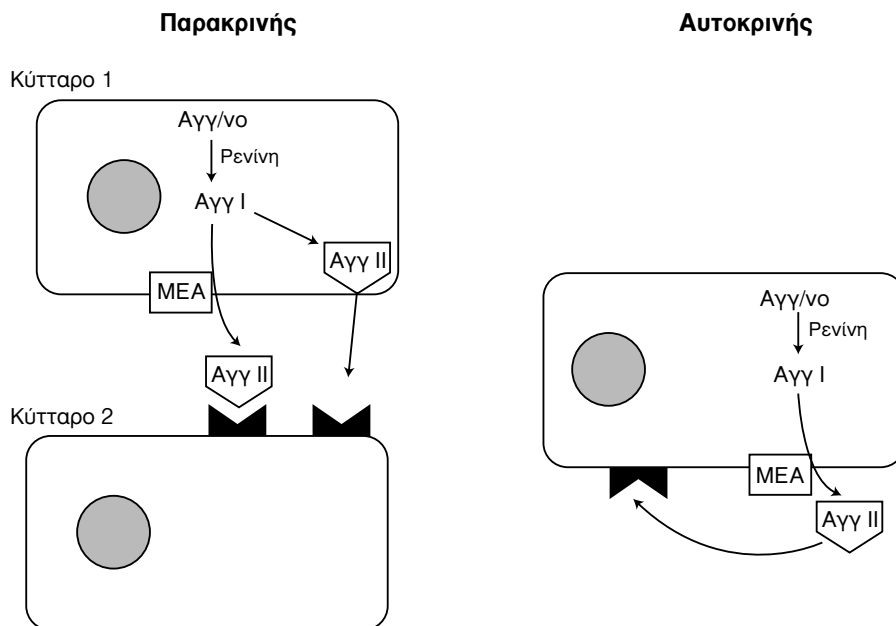
Α' Παθολογική Κλινική ΑΠΘ,
Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ,
Θεσσαλονίκη

της αγγειοτενσίνης (ΜΕΑ) αφαιρεί δύο ακόμη αμινοξέα απ' την ΑγγI και έτσι παράγεται το οκταπεπτιδίο αγγειοτενσίνη II (ΑγγII), το δραστικό τελικό προϊόν του συστήματος¹. Η μετατροπή της ΑγγI σε ΑγγII λαμβάνει χώρα σε διάφορα σημεία της κυκλοφορίας, κυρίως όμως στα πνευμονικά τριχοειδή από ΜΕΑ που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το ΜΕΑ είναι ταυτόσημο με το ένζυμο κινινάση II που αδρανοποιεί τη βραδυκινίνη, τη δραστική αγγειοδιασταλτική ουσία του συστήματος καλλι-κρεΐνης-κινινών². Με δράση διαφόρων άλλων ενζύμων, η ΑγγI και η ΑγγII μπορούν να μετατραπούν σε άλλα ενεργά πεπτιδία με σαφώς μικρότερη βιολογική σημασία, όπως η Αγγ-(1-7), η ΑγγIII και η ΑγγIV ή σε ανενεργή θραύσματα³.

Η ΑγγII ασκεί τις διάφορες δράσεις της μέσω σύνδεσης στα δύο είδη υποδοχέων της, τους AT_1 και AT_2 υποδοχείς^{4,5}. Οι AT_1 υποδοχείς μεσολαβούν σε όλες τις γνωστές «κλασικές» δράσεις της ΑγγII, όπως είναι η αγγειοσυσπασση, η διέγερση του φλοιού των επινεφριδίων προς έκκριση αλδοστερόνης, η αύξηση της συμπαθητικής δραστηριότητας και της ευαισθησίας των αγγείων στις κατεχολαμίνες, η αύξηση της επιθυμίας για H_2O και α-

λάτι, η διέγερση της έκκρισης αντιδιουρητικής ορμόνης (antidiuretic hormone, ADH), η ρύθμιση της αιμοδυναμικής του νεφρού μέσω σύσπασης του απαγωγού αρτηριδίου του σπειράματος, η άμεση επαναρρόφηση Na^+ στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο και μακροπρόθεσμα η διέγερση της αύξησης και του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων και των μυοκαρδιακών κυττάρων. Ο ρόλος των AT_2 υποδοχέων δεν ήταν γνωστός μέχρι πριν από λίγα χρόνια, τελευταία όμως ολοένα πληθαίνουν τα δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η σύνδεση της ΑγγII στους AT_2 υποδοχείς «μετριάξει» τα αποτελέσματα της σύνδεσης στους AT_1 , καθώς οδηγεί σε αναστολή της αύξησης και του πολλαπλασιασμού του κυττάρου, προαγωγή της κυτταρικής απόπτωσης και ελάττωση της αγγειοσυσπασσης⁶.

Η ανεύρεση παραγωγής ορισμένων από τα συστατικά του ΣΡΑ από κύτταρα διαφόρων ιστών αποτέλεσε το έναυσμα για μία τεράστια ερευνητική δραστηριότητα, προϊόν της οποίας είναι σήμερα η γνώση ότι εκτός από το κλασικά περιγραφόμενο ενδοκρινικό ή κυκλοφορούν ΣΡΑ, σε διάφορα όργανα του ανθρώπου και άλλων θηλαστικών σχηματίζονται ανεξάρτητα ιστικά ΣΡΑ.



Σχ. 1. Αναπαράσταση της παρακρινούς και αυτοκρινούς λειτουργίας των ιστικών ΣΡΑ. Παρακρινής λειτουργία: από το παραγωγό κύτταρο απελευθερώνεται ΑγγII που δρα σε υποδοχείς της στην επιφάνεια ενός γειτονικού κυττάρου. Αυτοκρινής λειτουργία: η παραγόμενη ΑγγII δρα σε υποδοχείς της στην επιφάνεια του παραγωγού κυττάρου. Η μετατροπή της ΑγγI σε ΑγγII μπορεί να λάβει χώρα είτε ενδοκυττάρια, είτε από ΜΕΑ της κυτταρικής μεμβράνης (από (9), τροποποιημένο).

Τα ιστικά αυτά ΣΡΑ εμφανίζουν παρακρινή ή/και αυτοκρινή λειτουργία, σε αντίθεση με την τυπικά ενδοκρινή λειτουργία του ΣΡΑ της κυκλοφορίας (Σχ. 1). Στον οργανισμό του ανθρώπου έχει επιβεβαιωθεί η ύπαρξη ιστικών ΣΡΑ στους νεφρούς, τα αγγεία, τον εγκέφαλο, την καρδιά, τα επινεφρίδια αλλά και σε διάφορα άλλα όργανα όπως οι όρχεις, οι ωοθήκες, η υπόφυση, ο λιπώδης ιστός, το δέρμα και το πάγκρεας. Τα δεδομένα για την εμπλοκή των ιστικών ΣΡΑ στον έλεγχο του αγγειακού τόνου, της αιμοδυναμικής του νεφρού, της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου και κατά συνέπεια στην παθογένεια μιας σειράς παθολογικών καταστάσεων, όπως η αρτηριακή υπέρταση, η καρδιακή ανεπάρκεια, η αναδιαμόρφωση του καρδιακού μυός μετά από έμφραγμα και άλλες, ολοένα και πληθαίνουν αναδεικνύοντας την τεράστια σημασία τους.

Χαρακτηριστικό των ιστικών ΣΡΑ είναι ότι η δράση τους δεν είναι πάντα συμπληρωματική του ΣΡΑ της κυκλοφορίας, αλλά λειτουργούν και ανεξάρτητα⁷. Το γεγονός αυτό συμφωνεί απόλυτα με μία σειρά πειραματικών παρατηρήσεων. Πολλές φορές στα παραπάνω νοσήματα το ΣΡΑ της κυκλοφορίας δεν εμφανίζεται ενεργοποιημένο, αλλά η χρήση αναστολέων του μεταρρεπτικού ενζύμου (αΜΕΑ) ή αποκλειστών των ΑΤ₁-υποδοχέων της ΑγγII (ΑΤ₁-αποκλειστών) έχει ευεργετική επίδραση, προφανώς λόγω καταστολής των επιμέρους ενεργοποιημένων ιστικών ΣΡΑ. Ακόμη, διάφορες μελέτες έδειξαν ότι μετά από χρήση αΜΕΑ η πτώση της συστηματικής αρτηριακής πίεσης και η ελάττωση της δραστηριότητας του ΜΕΑ στο πλάσμα δεν σχετίζονται χρονικά, ενώ η αντιυπερτασική και η καρδιοπροστατευτική δράση των αΜΕΑ είναι μερικώς ανεξάρτητη της αναστολής του ΜΕΑ στο πλάσμα^{8,9}.

Για να είναι ένα ιστικό ΣΡΑ λειτουργικό, θα πρέπει να παράγει ικανές ποσότητες του δραστικού τελικού προϊόντος (στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων είναι η ΑγγII), να περιέχει υποδοχείς για το τελικό προϊόν και να απαντά σε χυμικά, νευρικά ή/και μηχανικά ερεθίσματα¹⁰. Θεωρώντας δεδομένο ότι το ΜΕΑ ανευρίσκεται πρακτικά σε όλους τους ιστούς και τα σωματικά υγρά τίθεται το ερώτημα της προέλευσης των άλλων δύο βασικών συστατικών του ΣΡΑ, της ρενίνης και του αγγειοτενσινογόνου. Στην παρούσα ανασκόπηση εκτίθεται η πορεία της έρευνας και αναλύονται τα βασικά δεδομένα για την τοπική

παραγωγή από διάφορους ιστούς της ρενίνης και του αγγειοτενσινογόνου. Στη συνέχεια, παρατίθενται στοιχεία για την πρόσληψη των παραπάνω συστατικών από το πλάσμα που ευθύνεται για μέρος τουλάχιστον της συνολικής παραγωγής ιστικής ΑγγII και περιγράφονται άλλες οδοί που μπορεί να δώσουν γένεση στην ΑγγII στους ιστούς. Τέλος, περιγράφεται συνοπτικά η πιθανή οργάνωση των ιστικών ΣΡΑ.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΟΠΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΣΡΑ ΣΤΟΥΣ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

A. Ρενίνη

Σχεδόν 40 χρόνια έχουν περάσει από το 1964, όταν οι Gould et al. έδειξαν για πρώτη φορά την παρουσία δραστηριότητας της ρενίνης στο αγγειακό τοίχωμα¹¹. Από τότε προέκυψε ένας μεγάλος όγκος ερευνητικών δεδομένων που καθιστούν σήμερα αναμφισβήτητη την παραγωγή ρενίνης ή τουλάχιστον προρενίνης από διάφορους ιστούς (Πίν. 1). Αρχικά οι ερευνητές στηρίζονταν στη μέτρηση της ενζυματικής δραστηριότητας της ρενίνης και την παραγωγή διαφόρων αγγειοτενσινών από τους ιστούς, κάτι που δεν θεωρήθηκε απόλυτα ακριβές μια και οι αγγειοτενσίνες αυτές μπορεί να ήταν προϊόν δράσης στο αγγειοτενσινογόνο άλλων ενζύμων των ιστών (π.χ. της καθεψίνης D) και όχι της ρενίνης¹². Οι επόμενες σειρές μελετών έλαβαν υπόψη αυτήν την παρατήρηση και για να βελτιώσουν την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων τους πραγματοποιούσαν τις μετρήσεις σε pH=6,5, που είναι το ιδανικό για τη δράση της ρενίνης. Στη συνέχεια η ανάπτυξη των τεχνικών ανοσοϊστοχημείας και μοριακής βιολογίας προσέδωσε εξαιρετική α-

Πίνακας 1. Κατανομή των mRNA ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου σε διάφορα όργανα

	mRNA ρενίνης	mRNA αγγειοτενσινογόνου
Νεφροί	+ + + + +	+ +
Ήπαρ	+	+ + + + +
Καρδιά	+	+
Αορτή	+	+ +
Επινεφρίδια	+ +	+
Εγκέφαλος	+	+ + +
Λιπώδης ιστός	+	+ + +
Πάγκρεας	+	+

κρίβεια στις μετρήσεις και στην ουσία επισφράγιζε τις προηγούμενες ενδείξεις. Οι έμμεσες και άμεσες παρατηρήσεις για την παραγωγή ρενίνης από τους διάφορους ιστούς μπορούν να συνοψιστούν στις παρακάτω (Πίν. 2):

Πίνακας 2. Στοιχεία υπέρ της παραγωγής ρενίνης σε εξωνεφρικές θέσεις

1. Υψηλά ποσά ρενίνης σε κάποιους ιστούς
2. Παρουσία ρενίνης σε περιοχές με ιδιαίτερη αιμάτωση, όπως ο εγκέφαλος και οι όρχεις
3. Αύξηση της προρενίνης στο φλεβικό αίμα σε σχέση με το αρτηριακό σε ορισμένα όργανα
4. Αύξηση της ρενίνης σε ορισμένους ιστούς μετά από νεφρεκτομή
5. Παραγωγή ρενίνης σε καλλιέργειες διαφόρων ειδών κυττάρων
6. Ενδοκυττάρια παρουσία ρενίνης σε ορισμένους ιστούς
7. Ανίχνευση του mRNA της ρενίνης σε διάφορους ιστούς

1. υψηλά ποσά ρενίνης σε κάποιους ιστούς που δεν μπορούν να εξηγηθούν από την πρόσληψη ρενίνης από το πλάσμα. Τέτοιοι ιστοί είναι για παράδειγμα κάποια μέρη του αναπαραγωγικού συστήματος¹³ ή οι σιελογόνοι αδένες μυών, στους οποίους άλλωστε απομονώθηκε για πρώτη φορά το DNA της ρενίνης¹⁴.

2. παρουσία ρενίνης σε περιοχές εντός του αιματοεγκεφαλικού φραγμού¹⁵, αλλά και σε άλλα όργανα με ιδιαίτερη αιμάτωση όπως οι όρχεις¹⁶ και πιθανώς το υαλοειδές σώμα του οφθαλμού¹⁷. Σ' αυτές τις περιοχές είναι σχεδόν αδύνατο η ρενίνη να προέρχεται από πρόσληψη από το πλάσμα.

3. αύξηση της προρενίνης στο φλεβικό αίμα, σε σχέση με το αρτηριακό, σε όργανα όπως οι όρχεις και τα επινεφρίδια ανθρώπου χωρίς ανάλογη αύξηση της ρενίνης, κάτι που συμφωνεί με τοπική σύνθεση στα όργανα αυτά¹⁸.

4. αύξηση της ρενίνης σε ορισμένους ιστούς μετά από νεφρεκτομή. Μετά από αμφοτερόπλευρη νεφρεκτομή με μη ανιχνεύσιμα επίπεδα δραστηριότητας ρενίνης στο πλάσμα (plasma renin activity, PRA), παρατηρείται αύξηση της ρενίνης σε ιστούς όπως τα επινεφρίδια¹⁹ ή το αγγειακό τοίχωμα²⁰.

5. παραγωγή ρενίνης και αγγειοτενσινών σε καλλιέργειες διαφόρων ειδών κυττάρων όπως ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων²¹ και φλοιοεπινεφριδιακά κύτταρα²².

6. ενδοκυττάρια παρουσία ρενίνης. Σε συγκεκριμένα κύτταρα ορισμένων ιστών, η ρενίνη έχει εντοπισθεί ενδοκυττάρια με τεχνικές ανοσοϊστο-

χημείας²³. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων, όπου η ρενίνη έχει εντοπιστεί σε συγκεκριμένες περιοχές ενδοκυττάρια²⁴. Παρότι δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πρόσληψη από το πλάσμα, η ανεύρεση της ρενίνης σε συγκεκριμένες περιοχές του κυττάρου υποστηρίζει την τοπική σύνθεση.

7. ανίχνευση του mRNA της ρενίνης. Από τις αρχές της δεκαετίας του '80, η χρήση των ειδικών τεχνικών μοριακής βιολογίας αποκάλυψε την παρουσία του mRNA της ρενίνης σε μια μεγάλη ποικιλία εξωνεφρικών ιστών, επιβεβαιώνοντας τις παραπάνω παρατηρήσεις²⁵⁻²⁷. Η παρουσία βέβαια του mRNA από μόνη της δεν είναι αρκετή για να αποδείξει τη σύνθεση ρενίνης, καθώς υπάρχουν στοιχεία ότι πολλά γονίδια, αν όχι όλα, υφίστανται μεταγραφή σε όλα τα κύτταρα σε πολύ χαμηλά επίπεδα, χωρίς να ακολουθήσει η διαδικασία της μετάφρασης²⁸. Τα εξαιρετικά χαμηλά αυτά επίπεδα mRNA μπορούν να ανιχνευθούν μόνο με πολύ ευαίσθητες τεχνικές, όπως αυτή της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR). Σε ότι αφορά όμως τη ρενίνη, τα επίπεδα του mRNA που ανιχνεύθηκαν υπερβαίνουν κατά πολύ τα παραπάνω χαμηλά ποσά. Ακόμη, το mRNA της ρενίνης έχει βρεθεί σε συγκεκριμένα κύτταρα των ιστών²³ τα οποία όμως διαφέρουν από ιστό σε ιστό. Η ρενίνη δηλαδή στους διάφορους ιστούς δεν παράγεται αποκλειστικά από έναν τύπο κυττάρων, π.χ. από ενδοθηλιακά ή μεσεγγυματικά κύτταρα, αλλά από διάφορους, ανάλογα με τον ιστό.

B. Αγγειοτενσινογόνο

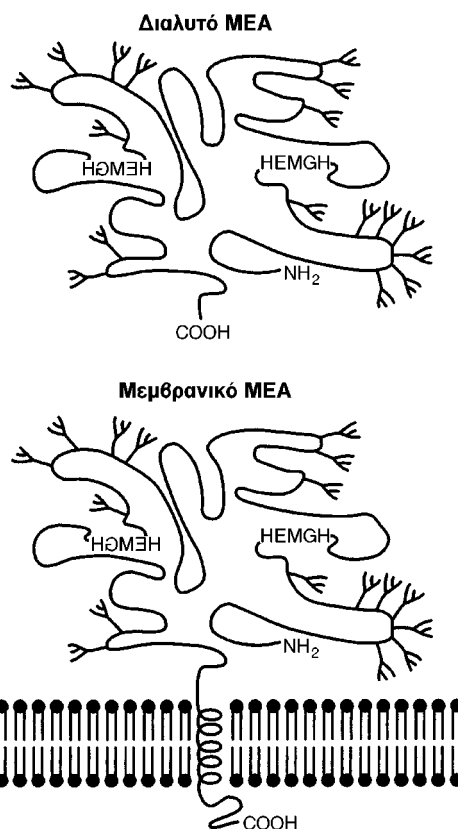
Όπως ακριβώς με τη ρενίνη, τα πρώτα στοιχεία για την παρουσία του αγγειοτενσινογόνου σε εξωηπατικούς ιστούς προήλθαν από έρευνες που χρησιμοποιούσαν κυρίως ανοσοϊστοχημικές μεθόδους^{15,24,29}. Στη συνέχεια ανεβρέθη το mRNA του αγγειοτενσινογόνου σε μια μεγάλη ποικιλία ιστών και οργάνων, όπως οι νεφροί, ο εγκέφαλος, η καρδιά, τα επινεφρίδια και ο λιπώδης ιστός (Πίν. 1) και μάλιστα σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων των οργάνων αυτών^{24,30,31}. Θα πρέπει ακόμη να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει αναλογία ανάμεσα στα επίπεδα mRNA ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου που ανεβρέθησαν στα διάφορα όργανα. Επίσης, τα κύτταρα που παράγουν τις δύο αυτές ουσίες δεν είναι τα ίδια και

βρίσκονται σε διαφορετικές περιοχές του οργάνου, κάτι που φαίνεται να συμβαίνει για παράδειγμα στο νεφρό^{23,32}, την αορτή³³ και τα επινεφρίδια^{24,34} και υποδηλώνει αξιοσημείωτη οργάνωση των ιστικών ΣΡΑ.

Γ. Μετατροπικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης

Το ΜΕΑ είναι μία διπεπτυλο-καρβοξυπεπτιδάση που αφαιρεί ένα διπεπτιδίο από την ΑγγΙ και τη μετατρέπει σε ΑγγΙΙ. Το ένζυμο δεν είναι ειδικό καθώς διασπά μία πλειάδα πεπτιδίων, με πιο χαρακτηριστικό από αυτά τη βραδυκινίνη. Το ΜΕΑ ανευρίσκεται υπό δύο μορφές: η πρώτη είναι η καλούμενη «μεμβρανική» μορφή, όπου το ένζυμο είναι συνδεδεμένο με μία υδρόφοβη περιοχή 17 αμινοξέων του C-τελικού άκρου με την κυτταρική μεμβράνη. Με πρωτεολυτική διάσπαση κοντά στο σημείο αυτό, κάτι που συμβαίνει φυσιολογικά in vivo προκύπτει η δεύτερη μορφή, το «διαλυτό» ΜΕΑ (Σχ. 2). Με την πρώτη μορφή το ΜΕΑ ανευρίσκεται πρακτικά σε όλους τους ιστούς των θηλαστικών, ενώ με τη δεύτερη στο πλάσμα και στα υπόλοιπα σωματικά υγρά^{35,36}. Το μεμβρανικό ΜΕΑ μπορεί περαιτέρω να διαιρεθεί σε δύο μορφές, η πρώτη των οποίων εμφανίζεται σε όλα τα όργανα πλην των όρχεων και έχει μοριακό βάρος 150.000-180.000 Daltons (Da), ενώ η δεύτερη ανευρίσκεται μόνο στα κύτταρα του όρχεως και έχει μοριακό βάρος περίπου 90.000 Da³⁷. Οι δύο αυτές μορφές προκύπτουν από ένα και μόνο γονίδιο, με τη διαφορά ότι στον όρχι υπάρχει διαφορετικό σημείο έναρξης της μεταγραφής που δίνει γένεση σε ένα μικρότερο mRNA³⁸.

Ιδιαίτερα πλούσια σε ΜΕΑ είναι η κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων, συμπεριλαμβανομένων των τριχοειδών³⁹. Όπως αναφέρθηκε, η μετατροπή της ΑγγΙ της κυκλοφορίας σε ΑγγΙΙ γίνεται κυρίως στα πνευμονικά τριχοειδή. Παράλληλα, η παρουσία του ΜΕΑ στα τριχοειδή πρακτικά όλων των οργάνων κάνει εξαιρετικά εύκολη την πρόσβαση σ' αυτό της ΑγγΙ που προέρχεται από τοπική παραγωγή. Επιπλέον, υπάρχουν αρκετά στοιχεία ότι το ΜΕΑ ανευρίσκεται σε διαφόρους τύπους επιθηλιακών κυττάρων σε ίσες ή και μεγαλύτερες πυκνότητες από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως για παράδειγμα σε κύτταρα της ψηφιακροειδούς παρυφής του εγγύς νεφρικού σωληναρίου, της επιθηλιακής κάλυ-



Σχ. 2. Η διαλυτή και η μεμβρανική μορφή του ΜΕΑ. Η διαφορά τους είναι μία υδρόφοβη περιοχή 17 αμινοξέων του C-τελικού άκρου μέσω της οποίας η μεμβρανική μορφή συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη. Η αλληλουχία HEMGH (His-Glu-Met-Gly-His σύμφωνα με το διεθνή κώδικα τον αμινοξέων) αναπαριστά τη θέση σύνδεσης του ψευδαργύρου των δύο ενεργών περιοχών του ενζύμου. Πιθανές θέσεις γλυκοζυλίωσης σημειώνονται με την παρουσία μικρών διακλαδώσεων (από (36), τροποποιημένο).

ψης του εντέρου, των χοριοειδών πλεγμάτων, του πλακούντα και άλλα^{35,36}. Τέλος, εκτός απ' την εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου ήδη από εικοσαετίας και πλέον υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι το ΜΕΑ ανευρίσκεται και ενδοκυτταρικά, δίνοντας γένεση σε ΑγγΙΙ εντός του κυττάρου⁴⁰.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΩΝ ΕΚΤΟΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗ ΡΕΝΙΝΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

Παρά τις αποδείξεις που υπάρχουν σήμερα για παραγωγή ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου από τα κύτταρα διαφόρων ιστών, δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα ένα μέρος της παραγό-

μενης στους ιστούς ΑγγII να προέρχεται από πρόσληψη των συστατικών του ΣΡΑ από το πλάσμα, τουλάχιστον για ορισμένα ιστικά ΣΡΑ⁴¹. Η αρχική πεποίθηση ότι η ρενίνη της κυκλοφορίας δίνει γένεση σε ΑγγII αποκλειστικά στο πλάσμα αμφισβητήθηκε για πρώτη φορά στις δεκαετίες του '60 και '70 με πειράματα κατά τα οποία η έγχυση αμινοπεπτιδάσης ή αντιορού ΑγγII ελάττωνε σημαντικά τα αποτελέσματα της έγχυσης ΑγγII, όχι όμως και τα αποτελέσματα της έγχυσης ρενίνης^{42,43}. Αυτό υποδηλώνει ότι ένα μέρος της ΑγγII που παράγεται από τη ρενίνη ίσως παράγεται εκτός του πλάσματος και γι' αυτό το λόγο οι δράσεις του δεν αναστέλλονται από την αμινοπεπτιδάση ή τον αντιορό. Επίσης, πειράματα σε νεφρεκτομηθέντες επίμυες έδειξαν ότι μετά από έγχυση ρενίνης, η ρενίνη που ανιχνευόταν στο αορτικό τοίχωμα παρέμενε υψηλή για αρκετές ώρες, ενώ η ρενίνη του πλάσματος έπεφτε πολύ γρήγορα⁴⁴.

Διάφορες ομάδες ερευνητών πραγματοποίησαν πειράματα σε απομονωμένες αγγειακές κοίτες πειραματόζων που απέδειξαν τη γένεση αγγειοτενσινών (αυτόματα ή μετά από πρόκληση) ακόμη και αρκετές ώρες μετά τον αγγειακό αποκλεισμό^{45,46}. Οι Hilgers et al. κατέδειξαν ότι η αυτόματη παραγωγή αγγειοτενσινών σταματούσε αν είχε προηγηθεί αμφοτερόπλευρη νεφρεκτομή, ενώ η γένεση ΑγγII αυξανόταν μετά από προσθήκη στο παρασκευάσμα ρενίνης ή αγγειοτενσινογόνου⁴⁷, στοιχεία συμβατά με πρόσληψη συστατικών του ΣΡΑ από το πλάσμα. Αναλυτικότερες έρευνες με χρήση ραδιοεπισημασμένης ΑγγII κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το μεγαλύτερο μέρος της ΑγγII που παράγεται εκτός του πλάσματος προέρχεται από τη ρενίνη του πλάσματος και μάλιστα οι μεταβολές στα ποσά της τοπικά παραγόμενης ΑγγII πορεύονται παράλληλα με την PRA^{48,49}. Μια σειρά άλλων πειραματικών παρατηρήσεων οδήγησαν στην υπόθεση ότι η ρενίνη του πλάσματος προσκολλάται στην ενδοθηλιακή επιφάνεια των αγγείων, με πολύ αργό ρυθμό αποκόλλησης μετά από νεφρεκτομή⁵⁰. Με χρήση ραδιοεπισημασμένης ρενίνης αποδείχθηκε η παραπάνω προσκόλληση της ρενίνης σε πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας⁵¹. Έχει επίσης προταθεί η παρουσία ειδικής πρωτεΐνης για τη σύνδεση της ρενίνης⁵². Η παρουσία της ρενίνης, του MEA και των AT₁ υποδοχέων σε μία επιφάνεια δύο διαστάσεων, όπως είναι η κυτταρική μεμβράνη, πολλαπλασιάζει την ταχύτητα των αντιδράσεων κατά 2-3 φορές σε σχέση με την ύπαρξη

των στοιχείων αυτών σε χώρο τριών διαστάσεων⁵³. Αν συμβαίνει κάτι τέτοιο, είναι προφανώς ενδεικτικό της παραγωγής ΑγγII από το αγγειακό ΣΡΑ με πρώτη ύλη τη ρενίνη του πλάσματος.

Εκτός από τα παραπάνω, πολλά άλλα πειράματα υποστηρίζουν την παραγωγή αγγειοτενσινών εκτός του πλάσματος από συστατικά του πλάσματος. Οι μεγάλες διαφορές όμως που παρατηρούνται μεταξύ ειδών και μεταξύ των ιστών του ίδιου οργανισμού είναι το εμπόδιο για τον καθορισμό της ακριβούς ποσοτικής συμμετοχής των συστατικών του πλάσματος στη συνολική παραγωγή αγγειοτενσινών από τους ιστούς. Παρόλα αυτά, η συμμετοχή, έστω και σε ένα μικρό ποσοστό, των συστατικών του πλάσματος στη συνολική παραγωγή αγγειοτενσινών στους ιστούς παράλληλα με την τοπική παραγωγή της ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου από τους ιστούς πρέπει να θεωρείται δεδομένη. Ειδικά για τη ρενίνη έχουν διατυπωθεί τρεις εναλλακτικές υποθέσεις για την πρόσληψή της από τους ιστούς, άλλες με λιγότερα και άλλες με περισσότερα υποστηρικτικά στοιχεία. Η πρώτη υπόθεση υποστηρίζει την «εκλεκτική πρόσληψη» της ρενίνης από τα κύτταρα των ιστών και στοιχεία για κάτι τέτοιο υπάρχουν για τα ηπατικά κύτταρα⁵⁴. Η δεύτερη αναφέρεται σε πρόσδεση της προρενίνης σε ειδικούς υποδοχείς των κυττάρων, οι οποίοι σταθεροποιούν την προρενίνη στην «ανοικτή» θέση και επιτρέπουν έτσι την αποκοπή της ΑγγI από το αγγειοτενσινογόνο¹⁸. Οι διάφοροι ιστοί θα μπορούσαν να διαφέρουν στο ποσό του ειδικού αυτού υποδοχέα. Τέλος, η τρίτη υπόθεση υποστηρίζει τον «εκλεκτικό αποκλεισμό» της ρενίνης στους διαφόρους ιστούς. Έχει ήδη μάλιστα βρεθεί σε διάφορους ιστούς το mRNA μίας πρωτεΐνης που συνδέεται με τη ρενίνη και την απενεργοποιεί^{55,56}. Αυτό το ενδοκυττάριο ένζυμο είναι παρόμοιο με τη N-ακετυλο-D-γλυκοζαμινο-2-επιμεράση, η οποία ενέχεται στο μεταβολισμό νευροαμινών⁵⁷ και μάλιστα η ενδοφλέβια ένεσή της οδηγεί σε πτώση της αρτηριακής πίεσης⁵⁸. Απομένει στην έρευνα να απορρίψει ή να επαληθεύσει τις παραπάνω υποθέσεις.

ΑΛΛΕΣ ΟΔΟΙ ΙΣΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗΣ

Στους διαφόρους ιστούς εκτός από τη ρενίνη υπάρχουν και άλλες αγγειοτενσινάσες, που μπο-

ρούν να απελευθερώσουν ΑγγΙ ή ακόμη και απευθείας ΑγγΙΙ από το αγγειοτενσινογόνο. Τα πιο χαρακτηριστικά από τα ένζυμα αυτής της κατηγορίας είναι η τονίνη και η καθειψίνη G⁵⁹⁻⁶¹. Παράλληλα, υπάρχουν πολλά στοιχεία υπέρ της ύπαρξης στους ιστούς ενζύμων διαφόρων του ΜΕΑ που μπορούν να μετατρέψουν την ΑγγΙ σε ΑγγΙΙ, με κλασικό παράδειγμα τη χυμάση⁶¹⁻⁶³. Η αρχική εντύπωση ήταν ότι τα ένζυμα αυτά ήταν μη-ειδικές οξίνες πρωτεάσες που απελευθερώνονται από τα λυσοσώματα, χωρίς φυσιολογικό ρόλο στην παραγωγή ΑγγΙΙ. Υπάρχουν όμως μία σειρά από δεδομένα που αναιρούν την παραπάνω πρόταση, καταδεικνύοντας τη σημασία των «εναλλακτικών» αυτών οδών:

1. Αν υποθεθεί ότι η ΑγγΙΙ παράγεται και ενδοκυττάρια, τότε τα ένζυμα αυτά μπορεί όντως να συμμετέχουν στην παραγωγή της, καθώς είναι πλέον γνωστό ότι πολλές ενδοκυττάρια διεργασίες λαμβάνουν χώρα σε ειδικά διαμερίσματα του κυττάρου με όξινο pH⁵⁹.

2. Η παρατήρηση ότι ορισμένα από αυτά τα ένζυμα έχουν υψηλή ειδικότητα υποστρώματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η χυμάση, μία ουδέτερη πρωτεάση που αναφέρεται σε ορισμένες μελέτες ως το κύριο ένζυμο παραγωγής ΑγγΙΙ στην ανθρώπινη καρδιά^{62,63}. Η υψηλή της ειδικότητα για την ΑγγΙ καταδεικνύει ότι ο φυσιολογικός της ρόλος αφορά το μεταβολισμό αυτού του πεπτιδίου.

3. Η γνώση μας σήμερα ότι πεπτιδία αγγειοτενσίνης, όπως η Αγγ-(1-7), που μπορεί να είναι το προϊόν αυτών των ενζύμων, έχουν φυσιολογική σημασία⁶⁴.

4. Η παρουσία ορισμένων τέτοιων ενζύμων σε συγκεκριμένους ιστούς με υψηλή βιολογική σημασία, όπως για παράδειγμα στον έξω χιτώνα της αορτής⁶¹, όπου η παραγόμενη ΑγγΙΙ τροποποιεί την ευαισθησία του αγγειακού τοιχώματος στις κατεχολαμίνες.

5. Τέλος, οι ενδείξεις που υποστηρίζουν ότι τέτοιου είδους ένζυμα μπορούν να παράγουν ικανές ποσότητες ΑγγΙΙ. Αυτές οι παρατηρήσεις έγιναν μετά από προσθήκη αγγειοτενσινογόνου ή ΑγγΙ σε διάφορα ιστικά παρασκευάσματα⁶⁵⁻⁶⁷. Παρατηρήθηκε μάλιστα ότι η παραγωγή ΑγγΙΙ μειώθηκε περισσότερο με προσθήκη στα παρασκευάσματα μη ειδικών αναστολέων πρωτεασών από ότι με προσθήκη ειδικών αναστολέων του ΜΕΑ.

Παρότι λοιπόν χρειάζονται ακόμη έρευνες για να διαπιστωθεί με σαφήνεια το αν και κατά

πόσον άλλες μεταβολικές οδοί οδηγούν στη γένεση δραστηρικής ΑγγΙΙ στους διαφόρους ιστούς, δεν μπορεί να μη ληφθεί υπόψη μία τέτοια πιθανότητα, ειδικά για ορισμένα ιστικά ΣΡΑ.

Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΙΣΤΙΚΩΝ ΣΡΑ

Παρά τη διεξοδική περιγραφή των ιστικών ΣΡΑ από πολλούς συγγραφείς, στις διάφορες εργασίες συχνά δεν γίνεται αναφορά στη μοίρα των τοπικά παραγόμενων συστατικών του ΣΡΑ. Σε γενικές γραμμές θα μπορούσαν να διακριθούν τρία διαφορετικά σενάρια δράσης, τα οποία περιγράφονται συνοπτικά παρακάτω.

1. Η ρενίνη και το αγγειοτενσινογόνο που παράγονται τοπικά προστίθενται στη συνολική εξωκυττάρια δεξαμενή των ουσιών αυτών για έναν ιστό. Παρατηρήσεις όπως η παραγωγή προρενίνης από διαφόρους ιστούς¹⁸, η ύπαρξη κυκλοφορούσας ρενίνης και αγγειοτενσινών μετά από αμφοτερόπλευρη νεφρεκτομή⁶⁸ ή η έκκριση ρενίνης από καλλιέργειες διαφόρων ειδών κυττάρων^{21,22}, υποστηρίζουν την παραπάνω θεωρία. Μ' αυτόν τον τρόπο οι τοπικά παραγόμενες ποσότητες ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου σε έναν ιστό προστίθενται σ' αυτές που φθάνουν στον ιστό αυτό από την κυκλοφορία, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή ΑγγΙΙ. Φάρμακα που αποκλείουν το ΣΡΑ θα έχουν παρόμοια δράση στα συστατικά της κυκλοφορίας και στα συστατικά που παράγονται τοπικά, εφόσον βέβαια τα φάρμακα αυτά διαχέονται ικανοποιητικά στον εξωκυττάρια χώρο του συγκεκριμένου ιστού⁶⁹.

2. Είτε μέσω ρενίνης και αγγειοτενσινογόνου, είτε μέσω άλλων ενζύμων παράγεται ΑγγΙΙ και δημιουργούνται ιστικά ΣΡΑ εντελώς ανεξάρτητα του ενδοκρινικού. Αυτό πρακτικά μπορεί να συμβεί σε δύο περιπτώσεις. Η πρώτη αφορά ιστούς που εμφανίζουν κάποιου είδους φραγμό στην αιμάτωσή τους, όπως κλασικά συμβαίνει με τον εγκέφαλο. Η ύπαρξη εγκεφαλικού ΣΡΑ θεωρείται σήμερα τεκμηριωμένη και θα περιγραφεί στη συνέχεια. Η δεύτερη περίπτωση είναι η ύπαρξη των συστατικών του ΣΡΑ ενδοκυττάρια, κάτι που συμβαίνει σε αρκετές ομάδες κυττάρων^{23,70}. Το ερώτημα που προέκυψε αρχικά ήταν πώς σ' αυτά τα κύτταρα ανευρίσκεται mRNA ρενίνης, ενώ στα παρασπειραματικά κύτταρα το mRNA αντιστοιχεί σε μόριο προ-προ-ρενίνης. Η απάντηση δόθηκε σχετικά πρόσφατα, όταν ερευνητές έδειξαν ότι αυτό το

mRNA της ρενίνης προκύπτει από διαφορετικό σημείο έναρξης της μεταγραφής στο DNA του κυττάρου⁷¹. Ακόμη, υπάρχει πάντα η πιθανότητα η ΑγγII να παράγεται ενδοκυττάρια από άλλα ένζυμα, όπως ήδη αναφέρθηκε⁵⁹. Το σενάριο της ενδοκυττάριας παραγωγής ΑγγII υποστηρίζεται και από την ύπαρξη ενδοπυρηνικών υποδοχέων της ΑγγII που έχει από παλαιότερα περιγραφεί^{72,73}. Σ' αυτήν την περίπτωση η επίδραση των φαρμάκων που παρεμβαίνουν στο ΣΡΑ δεν μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι διάφοροι αΜΕΑ μπορούν είτε να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό⁷⁴ είτε να εισέλθουν στο κύτταρο⁴⁵.

3. Η ρενίνη και το αγγειοτενσινογόνο που παράγονται τοπικά έχουν άλλες δράσεις, ανεξάρτητες της παραγωγής ΑγγII. Το σενάριο αυτό είναι το λιγότερο τεκμηριωμένο. Ωστόσο, η δομική ομοιότητα της ρενίνης με τις ασπαρτυλ-πρωτεάσες⁷⁵ και του αγγειοτενσινογόνου με ένζυμα του τύπου της α₁-αντιθρυσίνης⁷⁶, όπως επίσης και το μεγάλο μέγεθος του μορίου του αγγειοτενσινογόνου (452 αμινοξέα) σε σχέση με την ΑγγI⁷⁷, είναι ενδεικτικά πιθανών άλλων δράσεων. Υπέρ αυτής της θεωρίας είναι και το γεγονός ότι σε πολλούς ιστούς οι συγκεντρώσεις της ρενίνης και του αγγειοτενσινογόνου δε βαίνουν παράλληλα, όπως κλασικά συμβαίνει στους όρχεις. Τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στο ΣΡΑ προφανώς δεν έχουν καμία επίδραση σ' αυτές τις λειτουργίες, με εξαίρεση ίσως τους αναστολείς της ρενίνης, οι οποίοι όμως δεν έχουν ακόμη περάσει στην κλινική πράξη.

Από όλα όσα εκτέθηκαν, σαν γενικό συμπέρασμα προκύπτει ότι τα δεδομένα που υπάρχουν σήμερα αποδεικνύουν την ύπαρξη και τον πολύ σημαντικό ρόλο των ιστικών ΣΡΑ πέραν πάσης αμφιβολίας. Η ρενίνη και το αγγειοτενσινογόνο για την παραγωγή των αγγειοτενσινών μπορεί να προέρχονται από τοπική παραγωγή, από πρόσληψη από το πλάσμα ή και τα δύο, ανάλογα με τον ιστό, ενώ σε ορισμένους ιστούς η παραγωγή του τελικού προϊόντος γίνεται και μέσω άλλων ενζύμων. Εναπόκειται στην έρευνα να προσθέσει λεπτομέρειες στα ήδη υπάρχοντα δεδομένα σχετικά με τον τρόπο παραγωγής των αγγειοτενσινών σε κάθε ιστό, βοηθώντας έτσι την κατανόηση του φυσιολογικού και παθοφυσιολογικού ρόλου των διαφόρων ιστικών ΣΡΑ.

SUMMARY

Sarafidis PA, Lasaridis AN. The source of the components of the tissue renin-angiotensin systems. *Arterial Hypertension 2000; 11: 15-25.*

The Renin-Angiotensin System (RAS) is responsible for the blood pressure control and the fluid and electrolyte balance of the human organism and many other species of the animal kingdom. Its presence in very early stages of species' evolution underlines its great importance. The intensive research on RAS revealed a few years ago that, apart from the classical circulatory or hormonal RAS, the various components of the system could be produced from several mammalian tissues and organs, forming tissue RASs with paracrine and/or autocrine function. Today, the existence of tissue RASs in the kidneys, the heart, the vasculature, the adrenals, the brain and other organs and tissues of the human organism is confirmed. A basic characteristic of these systems is that their actions are not always supplementary to the circulatory RAS but often independent. The data concerning the involvement of the tissue RASs in the pathogenesis of arterial hypertension, cardiac failure and other diseases become more and more, proving their great importance. In the past, one of the major questions to which research should answer was that about the source of the components of the tissue RASs, especially of renin and angiotensinogen. During the years, data in favor of local synthesis and uptake from the plasma came out, as well as evidence for the production of angiotensins in the tissues through other pathways, such as the chymase pathway. In the present review we discuss all these data and the organization of the tissue RASs.

Key words: renin, angiotensinogen, angiotensin, angiotensin converting enzyme, chymase.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Nicholls MG, Robertson JIS, Inagami T. The renin-angiotensin system in the twenty-first century. *Blood Pressure 2001; 10: 327-343.*
2. Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Shölkens BA. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev 1995; 47: 25-49.*
3. Ferrario CM. Angiotensin formation and degradation. In Izzo JL, Black HR eds. *Hypertension Primer*, 2nd ed. Baltimore: Lipincott Williams & Wilkins, 1999: 21-22.
4. Stroth U, Unger T. The renin-angiotensin system and its receptors. *J Cardiovasc Pharmacol 1999; 33(Suppl 1): S21-28.*

5. Goodfriend TL, Elliot ME, Catt KJ. Angiotensin receptors and their antagonists. *N Engl J Med* 1996; 334: 1649-1654.
6. Chung O, Kühn H, Stoll M, Unger T. Physiological and pharmacological implications of AT1 versus AT2 receptors. *Kidney Int* 1998; 54(Suppl 67): S95-S99.
7. Dzau VJ. Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation* 1988; 77: I4-I13.
8. Unger T, Ganten D, Lang RE, Schölkens BA. Persistent tissue converting enzyme inhibition following chronic treatment with Hoe498 and MK421 in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7: 36-41.
9. Lee MA, Böhm M, Paul M, Ganten D. Tissue renin-angiotensin systems: their role in cardiovascular disease. *Circulation* 1993; 87(Suppl IV): S7-S13.
10. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or regulator of cardiac function? *Circ Res* 1999;85:643-650
11. Gould AB, Skeggs LT, Kahn JR. Presence of renin activity in blood vessel walls. *J Exp Med* 1964; 119: 389-399.
12. Reid IA. Is there a brain renin-angiotensin system? *Circ Res* 1977; 41: 147-153.
13. Shaw KJ, Do YS, Kjos S, et al. Human decidua is a major source of renin. *J Clin Invest* 1989; 83: 2085-2092.
14. Panthier JJ, Foote S, Chambraud B, Strosberg AD, Corvol P, Rougeon F. Complete amino acid sequence and maturation of mouse submaxillary gland renin precursor. *Nature* 1982; 298: 90-92.
15. Genain CP, Van Loon GR, Kotchen TA. Distribution of renin activity and angiotensinogen in rat brain. Effects of dietary sodium chloride intake on brain renin. *J Clin Invest* 1985; 76: 1939-1945.
16. Parmentier M, Inagami T, Pochet R, Desclin JC. Pituitary-dependent renin-like immunoreactivity in the rat testis. *Endocrinology* 1983; 112: 1318-1323.
17. Deinum J, Derckx FHM, Danser AHJ, Schalekamp MADH. Identification and quantification of renin and prorenin in the bovine eye. *Endocrinology* 1990; 126: 1673-1682.
18. Sealey JE, Rubattu S. Prorenin and renin as separate mediators of tissue and circulating systems. *Am J Hypertens* 1989; 2: 358-366.
19. Baba K, Doi Y, Franco-Saenz R, Mulrow PJ. Mechanisms by which nephrectomy stimulates adrenal renin. *Hypertension* 1986; 8: 997-1002.
20. Saito H, Nakamaru M, Ogihara T, et al. Effect of vasodilator prostaglandins on the vascular renin-angiotensin system. *Life Sci* 1988; 43: 1557-1563.
21. Tang SS, Stevenson L, Dzau VJ. Endothelial renin-angiotensin pathway. Adrenergic regulation of angiotensin secretion. *Circ Res* 1990; 66: 103-108.
22. Naruse M, Shizume K, Inagami T. Renin and angiotensins in cultured mouse adrenocortical tumour cells. *Acta Endocrinol* 1985; 108: 545-549.
23. Deschepper CF, Mellon SH, Cumin F, Baxter JD, Ganong WF. Analysis by immunocytochemistry and in situ hybridization of renin and its mRNA in kidney, testis, adrenal and pituitary of the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7552-7556.
24. Racz K, Pinet F, Gasc JM, Guyene TT, Corvol P. Coexpression of renin, angiotensinogen and their messenger ribonucleic acids in adrenal tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:730-737.
25. Paul M, Wagner D, Metzger R, et al. Quantification of renin mRNA in various mouse tissues by a novel solution hybridization assay. *J Hypertens* 1988; 6: 247-252.
26. Okura T, Kitami Y, Iwata T, Hiwada K. Quantitative measurement of extra-renal renin mRNA by polymerase chain reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 25-31.
27. Lou YK, Smith DL, Robinson BG, Morris BJ. Renin gene expression in various tissues determined by single-step polymerase chain reaction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1991; 18: 357-362.
28. Chelly J, Concordet JP, Kaplan JC, Kahn A. Illegitimate transcription: transcription of any gene in any cell type. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2617-2621.
29. Thomas WG, Sernia C. Immunocytochemical localization of angiotensinogen in the rat brain. *Neuroscience* 1988; 25: 319-341.
30. Campbell DJ, Habener JF. Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 1986; 78: 31-39.
31. Sawa H, Tokuchi F, Mochizuki N, et al. Expression of the angiotensinogen gene and localization of its protein in the human heart. *Circulation* 1992; 26: 138-146.
32. Ingelfinger JR, Zuo WM, Fon EA, Ellison KE, Dzau VJ. In situ hybridization evidence for angiotensinogen messenger RNA in the rat proximal tubule. *J Clin Invest* 1990; 85: 417-423.
33. Naftilan AJ, Zuo WM, Ingelfinger J, Ryan TJ, Pratt RE, Dzau VJ. Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall. An hypothesis for the intrarenal renin angiotensin system. *J Clin Invest* 1991; 87: 1300-1311.
34. Campbell DJ, Habener JF. Hybridization in situ studies of angiotensinogen gene expression in rat adrenal and lung. *Endocrinology* 1989; 124: 218-222.
35. Ehlers MRW, Riordan JF. Angiotensin-converting enzyme. *Biochem Mol Biol* 1990; 76: 1217-1230.
36. Skidgel RA, Erdös EG. Angiotensin I-converting enzyme. In: Izzo JL, Black HR, eds. *Hypertension Primer*, 2nd ed. Baltimore: Lipincott Williams & Wilkins, 1999: 19-20.
37. Soubrier F, Wei L, Hubert C, Clauser E, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Molecular biology of the angiotensin I converting enzyme: II. Structure-function. Gene-polymorphism and clinical implications. *J Hypertens* 1993; 11: 599-604.
38. Ehlers MRW, Fox EA, Strydom DJ, Riordan JF. Molecular cloning of human testicular angiotensin-converting enzyme: the testis isozyme is identical to the C-terminal half of endothelial angiotensin-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7741-7745.

39. Jandeleit K, Jackson B, Perich R, Paxton D, Johnston C. Angiotensin-converting enzyme in macro- and microvessels of the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1991; 18: 353-356.
40. Okamura T, Clemens DL, Inagami T. Renin, angiotensin and angiotensin-converting enzyme in neuroblastoma cells: evidence for intracellular formation of angiotensins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 214: 6940-6943.
41. Danser AHJ, Van Kats JP, Admiraal PJJ, et al. Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertension* 1994; 24: 37-48.
42. Daum A, Uehleke H. Unterschiedliche beeinflussung der blutdruckwirkung von renin und angiotensin durch aminopeptidase. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol Exp Pathol* 1966; 254: 327-333.
43. Thurston H, Swales JD. Action of angiotensin antagonists and antiserum upon the pressor response to renin: further evidence for the local generation of angiotensin II. *Clin Sci Mol Med* 1974; 46: 273-276.
44. Loudon M, Bing RF, Thurston H, Swales JD. Arterial wall uptake of renal renin and blood pressure control. *Hypertension* 1983; 5: 629-634.
45. Mizuno K, Nakamaru M, Higashimori K, Inagami T. Local generation and release of angiotensin II in peripheral vascular tissue. *Hypertension* 1988; 11: 223-229.
46. Campbell DJ, Ziogas J, Kladis A. Metabolism of tetradecapeptide, angiotensinogen and angiotensin I and II by isolated perfused rat hindlimbs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1990; 17: 335-350.
47. Hilgers KF, Mann JFE, Hilgenfeldt U, Ganten D. Vascular production and regulation of angiotensin. *Blood Vessels* 1991; 28: 201-209.
48. Admiraal PJJ, Derckx FHM, Danser AHJ, Pieterman H, Schalekamp MADH. Metabolism and production of angiotensin I in different vascular beds in subjects with hypertension. *Hypertension* 1990; 15: 44-55.
49. Danser AHJ, Koning MMG, Admiraal PJJ, et al. Production of angiotensins I and II at tissue sites in intact pigs. *Am J Physiol* 1992; 263: H429-H437.
50. Inagami T, Murakami T, Higuchi K, Nakajo S. Roles of renal and vascular renin in spontaneous hypertension and switching of the mechanism upon nephrectomy. Lack of hypotensive effects of inhibition of renin, converting enzyme and angiotensin II receptor blocker after bilateral nephrectomy. *Am J Hypertens* 1991; 4: 15S-22S.
51. Danser AHJ, Van Kastren CAM, Bax WA, et al. Prorenin, renin, angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme in normal and failing human hearts. Evidence for renin binding. *Circulation* 1997; 96: 220-226.
52. Nguyen G, Delarue F, Berrou J, Rondeau E, Sraer JD. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int* 1996; 50: 1897-1903.
53. Inagami T. The renin-angiotensin system. *Essays Biochem* 1994; 28: 147-164.
54. Kim S, Iwao H, Nakamura N, et al. Cellular and subcellular distribution of exogenously administered renal renin in rat liver and kidney. *Am J Physiol* 1987; 253: E621-E628.
55. Inoue H, Fukui K, Takahashi S, Miyake Y. Molecular cloning and sequence analysis of a cDNA encoding a porcine kidney renin-binding protein. *J Biol Chem* 1990; 265: 6556-6561.
56. Takahashi S, Inoue H, Miyake Y. The human gene for renin-binding protein. *J Biol Chem* 1992; 267: 13007-13013.
57. Maru I, Onta Y, Murata K, Tsukada Y. Molecular cloning and identification of N-acyl-D-glucosamine 2-epimerase from porcine kidney as a renin-binding protein. *J Biol Chem* 1996; 271: 16294-16299.
58. Knoll A, Schunkert H, Reichwald K, et al. Human renin binding protein: complete genomic sequence and association of an intronic T/C polymorphism with the prorenin level in males. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1527-1534.
59. Dzau VJ. Multiple pathways of angiotensin production in the blood vessel wall: evidence, possibilities and hypotheses. *J Hypertens* 1989; 7: 933-936.
60. Ikeda M, Sasaguri M, Maruta H, Arakawa K. Formation of angiotensin II by tonin-inhibitor complex. *Hypertension* 1988; 11: 63-70.
61. Okunishi H, Miyazaki M, Okamura T, Toda N. Different distribution of two types of angiotensin II-generating enzymes in the aortic wall. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 49: 1186-1192.
62. Urata H, Kinoshita A, Misono KS, Bumpus FM, Husain A. Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *J Biol Chem* 1990; 265: 22348-22357.
63. Kinoshita A, Urata H, Bumpus FM, Husain A. Multiple determinants for the high substrate specificity of an angiotensin II-forming chymase from the human heart. *J Biol Chem* 1991; 266: 19192-19197.
64. Ferrario CM, Chappell MC, Tallant EA, Brosnihan KB, Diz DI. Counterregulatory actions of angiotensin-(1-7). *Hypertension* 1997; 30: 535-541.
65. Ideishi M, Sasaguri M, Ikeda M, Arakawa K. Substrate-dependent angiotensin II formation in the peripheral circulation. *Life Sci* 1990; 46: 335-341.
66. Bund SJ, Aalkjaer C, Heagerty AM, Leckie B, Lever AF. The contractile effects of porcine tetradecapeptide renin substrate in human resistance vessels: evidence of activation by vascular wall renin and serin proteases. *J Hypertens* 1989; 7: 741-746.
67. Hirakata H, Fouad-Tarazi PM, Bumpus FM, et al. Angiotensin and the failing heart: Enhanced positive inotropic response to angiotensin I in cardiomyopathic hamster heart in the presence of captopril. *Circ Res* 1990; 66: 891-899.
68. Campbell DJ, Kladis A, Skinner SL, Whitworth JA. Characterization of angiotensin peptides in plasma of anephric man. *J Hypertens* 1991; 9: 265-274.

69. *Samani NJ, Kelly MP.* Possible fates of locally synthesized renin and angiotensinogen – implications for tissue renin-angiotensin systems, In: MacGregor GA, Sever PS, eds. Current advances in ACE inhibition, Vol. 2. London: Churchill Livingstone, 1991: 90-97.
70. *Inagami T, Nakamaru M, Pandey KN, et al.* Intracellular action of renin, angiotensin production and release. *J Hypertens* 1986; 4(Suppl 4): S11-S16.
71. *Sinn PL, Sigmund CD.* Identification of three human renin mRNA isoforms from alternative tissue-specific transcriptional initiation. *Physiol Genomics* 2000; 29: 25-31.
72. *Re RN, Vizard DL, Brown J, Bryan SE.* Angiotensin II receptors in chromatin fragments generated by micrococcal nuclease. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 119: 220-227.
73. *Tang SS, Rogg H, Schumacher R, Dzau VJ.* Characterization of nuclear angiotensin-II-binding sites in rat liver and comparison with plasma membrane receptors. *Endocrinology* 1992; 131: 374-380.
74. *Unger T, Badör E, Ganten D, Lang RE, Rettig R.* Brain angiotensin: pathways and pharmacology. *Circulation* 1988; 77: I40-I54.
75. *Dhanaraj V, Dealwis CG, Frazao C, et al.* X-ray analyses of peptide-inhibitor complexes define the structural basis of specificity for human and mouse renins. *Nature* 1992; 357: 466-472.
76. *Tanaka T, Ohkubo H, Nakanishi S.* Common structure organisation of the angiotensinogen and alpha 1-antitrypsin genes. *J Biol Chem* 1984; 259: 8063-8065.
77. *Lynch KR, Peach MJ.* Molecular biology of angiotensinogen. *Hypertension* 1991; 17: 263-269.