



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Enzima conversiva de la angiotensina 2 y su papel emergente en la regulación del sistema renina-angiotensina



María José Soler^a, Josep Lloveras^a y Daniel Batlle^b

^aDepartamento de Nefrología. Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

^bDivision of Nephrology & Hypertension. Department of Medicine. The Feinberg School of Medicine. Northwestern University. Chicago. EE.UU.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) es un importante regulador de la función cardiovascular y renal. Su bloqueo mediante los inhibidores de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA) y/o los antagonistas del receptor de la angiotensina II se acompaña de una reducción de los valores de presión arterial, reducción del riesgo cardiovascular y enlentecimiento de la progresión de la insuficiencia renal. El descubrimiento de la ECA2, una enzima homóloga de la ECA encargada de la degradación de la angiotensina II a angiotensina 1-7, ofrece una nueva línea de estudio en el SRAA. La presente revisión expone la importancia de la ECA2 en diferentes órganos: el corazón, el pulmón y el riñón. A su vez, se detalla la importancia de dicha enzima mediante los diversos estudios realizados en modelos genéticamente manipulados con delección del gen de la ECA2 y mediante la administración de un inhibidor de la ECA2. Los resultados de dichos estudios apuntan a un papel emergente de la ECA2 como una nueva diana terapéutica del SRAA.

Palabras clave: Enzima conversiva de la angiotensina. Sistema renina-angiotensina-aldosterona. Corazón. Pulmón. Riñón.

Angiotensin converting enzyme 2 and its emerging role in the regulation of the renin angiotensin system

The renin-angiotensin system (RAS) plays a key role in the regulation of cardiovascular and renal function. Thus, RAS blockade with an angiotensin-converting enzyme (ACE) and/or angiotensin receptor blocker decreases blood pressure, cardiovascular events, and delays the progression of kidney disease. The discovery of ACE2, a homologue of ACE, capable of degrading angiotensin II to angiotensin 1-7, may offer new insights into the RAS. In this review we discuss the possible protective role of ACE2 in different organs, namely heart, lungs and kidneys. The role of this enzyme is inferred from recent studies performed using genetically manipulated mice that lack the ACE2 gene and also mice treated with pharmacological ACE2 inhibitors. These results suggest that ACE2 might be a new therapeutic target within the RAS.

Key words: Angiotensin-converting enzyme. Renin-angiotensin system. Heart. Lungs. Kidneys.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) es un regulador de las funciones cardiovascular y renal. No es de extrañar, por lo tanto, que las alteraciones de este sistema desempeñen un papel fundamental en la fisiopatología de varias enfermedades cardiovasculares y renales¹⁻⁴. Una de las principales dianas no sólo en el tratamiento de la hipertensión arterial, sino también con la finalidad de retrasar la

Correspondencia: Dr. D. Batlle.
Division of Nephrology & Hypertension. Department of Medicine. The Feinberg School of Medicine.
Northwestern University. Chicago, IL 60611. USA.
Correo electrónico: d-batlle@northwestern.edu

Recibido el 31-10-2007; aceptado para su publicación el 23-1-2008.

progresión de la insuficiencia renal, es el bloqueo de dicho sistema⁵. El SRAA es una cascada hormonal que se inicia a través de la síntesis de renina en el aparato yuxtaglomerular. Está presente en muchos órganos y tejidos^{6,7}. La angiotensina I es un decapeptido inactivo al que la enzima conversiva de la angiotensina (ECA) convierte en angiotensina II, péptido biológicamente activo. La angiotensina II ejerce la mayoría de sus funciones, como la vasoconstricción y la reabsorción de sodio en el túbulo renal, a través del receptor de la angiotensina II tipo 1⁸. En contraste, al receptor de la angiotensina II tipo 2 se le atribuyen los efectos opuestos, entre ellos, vasodilatadores y antiproliferativos⁸.

Hasta la fecha, la mayor parte de la investigación, tanto básica como clínica, se ha centrado en los mecanismos que controlan la formación de la angiotensina II⁹⁻¹², es decir, los sustratos proximales, el angiotensinógeno, la ECA y otros mecanismos de formación independientes de la ECA. Recientemente, el descubrimiento de un mecanismo de degradación de la angiotensina II con una homóloga de la ECA, conocida como ECA2, ofrece la oportunidad de estudiar otro aspecto de la regulación del SRAA. La angiotensina II puede degradarse por lo menos en 3 metabolitos: a) desaspartil-angiotensina II (angiotensina III), con funciones similares a la angiotensina II pero menos eficaz por su acelerado metabolismo in vivo; b) angiotensina IV, que puede causar vasodilatación y natriuresis, y c) angiotensina 1-7, que puede formarse directamente desde la angiotensina II por la acción de la ECA2 (fig. 1). La angiotensina 1-7 tiene funciones opuestas a la angiotensina II, de tipo vasodilatador y antiproliferativo^{13,14}. La ECA2 también degrada la angiotensina I a angiotensina 1-9, un péptido inactivo.

En este artículo se revisan trabajos recientes que han permitido conocer la localización de la ECA2 en distintos órganos y se discute el posible papel que puede ejercer como mecanismo de protección renal, cardíaco y pulmonar.

La enzima conversiva de la angiotensina 2

La ECA2 es una enzima homóloga de la ECA y la única con actividad enzimática que se conoce^{15,16}. Está formada por 2 dominios: el catalítico aminoterminal y el carboxiterminal (fig. 2). Comparte un 42% de identidades con el dominio catalítico aminoterminal de la ECA¹⁵⁻¹⁷. El gen de la ECA2 se localiza en el cromosoma X (Xp22) y codifica 805 aminoácidos (fig. 2)¹⁸. Del mismo modo, el dominio carboxiterminal presenta un 48% de homología con la *collectrin*, una glucoproteína enzimáticamente inactiva que se presenta de forma exclusiva en el riñón y cuya función se desconoce¹⁸⁻²⁰.

Mientras que la ECA cataliza la angiotensina I a angiotensina II, la ECA2 facilita la conversión de la angiotensina II en angiotensina 1-7 y de la angiotensina I en angiotensina 1-9, entre otros^{21,22}. Inicialmente se describió la presencia de la ECA2 en el riñón, el corazón y los testículos^{15,16}. También se encuentra en el hígado, el sistema nervioso central y la pla-

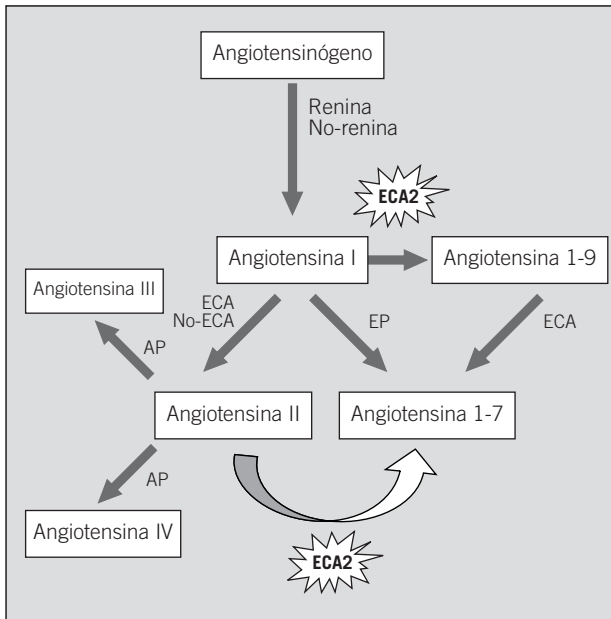


Fig. 1. Vías de formación de los péptidos biológicamente activos de la angiotensina II. Papel de la enzima conversiva de la angiotensina 2 (ECA2). AP: aminopeptidasa; EP: endopeptidasa.

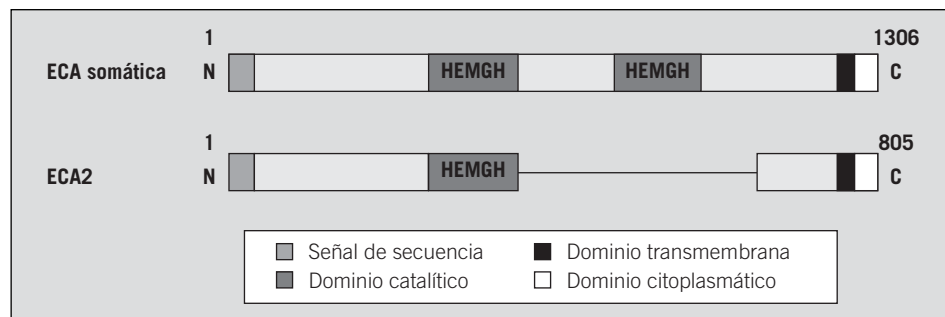
centa, entre otros órganos^{21,23,24}. Los valores altos de la ECA2 en el riñón y el corazón inducen a pensar que tiene un papel importante en la regulación cardiovascular y renal^{16,17,25,26}. La ECA2, una glucoproteína transmembranaria tipo I, es la primera carboxipeptidasa de mamífero identificada que contiene un cinc HEXXH (His-Glu-Xaa-Xaa-His) en el sitio de unión, y en términos estructurales pertenece a la familia de los péptidos, que incluye las metalocarboxipeptidasas²⁷. Sin embargo, la secuencia primaria de la ECA2 guarda un mayor parecido con la de la ECA que con las metalocarboxipeptidasas (PfuCP). Investigaciones recientes indican que la ECA2 estructuralmente forma parte del mismo grupo que no sólo incluye su homología, la ECA, sino también con la neuropilina y las PfuCP²⁷.

La enzima conversiva de la angiotensina 2 en el corazón y la vasculatura

En un trabajo fundamental, Crackover et al¹⁵ describieron que en ratones de 6 meses de edad con delección del gen de la ECA2 (ECA2^{-/-}) hay una reducción de la contractibilidad cardíaca y de la presión tanto ventricular como aórtica. Es interesante remarcar que la delección del gen de la ECA

en el ratón mutante ECA2^{-/-} eliminó completamente la disfunción cardíaca presente en el modelo con una única delección en el gen de la ECA. En otro modelo de delección del gen de la ECA2, los ratones presentaron morfología y función cardíacas normales²⁸. Sin embargo, tras sobrecarga de presión mantenida mediante constricción aórtica transversa, los ratones desarrollaron hipertrofia y dilatación cardíacas, con disminución de la contractibilidad cardíaca, que se previno con la administración de antagonistas del receptor de la angiotensina II tipo 1 (ARA-II)²⁸. A su vez, en los ratones ECA2^{-/-} aumentó la incidencia de muerte súbita cardíaca en comparación con los ratones ECA2^{+/-}. Hay que señalar que recientemente Gurley et al²⁹ han observado que, en ratones con diferentes genotipos, la delección del gen de la ECA2 no se acompaña de ninguna anomalía cardíaca aparente. En ratas Sprague-Dawley el infarto agudo de miocardio, inducido mediante ligadura de la arteria coronaria izquierda, aumenta la expresión génica cardíaca de la ECA y la ECA2³⁰. A su vez, en un estudio en humanos la actividad de la ECA2 estaba aumentada en los ventrículos de pacientes con insuficiencia cardíaca, tanto secundaria a miocardiopatía dilatada idiopática como a hipertensión pulmonar idiopática primaria, en comparación con controles sanos³¹. El tratamiento con ARA-II en el modelo murino de infarto agudo de miocardio inducido tras ligadura de la arteria coronaria aumentó 3 veces la expresión génica de la ECA2 en el miocardio viable, en comparación con el grupo con infarto agudo de miocardio tratado con vehículo³². En otro estudio, en un modelo experimental murino (ratas Lewis) el tratamiento con inhibidores de la ECA aumentó la expresión génica de la ECA2 en el corazón³³. El tratamiento con los antagonistas del receptor de la aldosterona aumentó la actividad cardíaca de la ECA2³⁴. A su vez, los macrófagos procedentes del suero de los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva presentaron un aumento de la actividad de la ECA2 tras tratamiento con espironolactona³⁴. Nuestro laboratorio encontró que la expresión de la ECA2 en la vasculatura renal aumenta después del tratamiento con un ARA-II tipo 1 (telmisartán)³⁵. Sorprendentemente, el primer modelo transgénico de la ECA2 descrito no ofreció ninguna evidencia beneficiosa en el corazón³⁶. Al contrario de lo que se esperaba, el modelo murino con sobreexpresión de la ECA2 presentó una alta incidencia de muerte súbita, relacionada con la expresión del gen³⁶. Los ratones transgénicos jóvenes del modelo de la ECA2 desarrollaron defectos importantes de la conducción y problemas del ritmo con bloqueo auriculoventricular completo³⁶. Se atribuyeron dichos problemas al tipo de transgénico, ya que posteriormente, en un segundo modelo en que se usó un vector lentivírico con sobreexpresión del gen murino de la ECA2 en el corazón de las ratas Sprague-Dawley, se observó protección frente a la fibrosis y la hipertrofia secundaria a la infusión de angiotensina II³⁷.

Fig. 2. Estructuras del dominio de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA) somática y de la ECA2. Cada una de ellas es una proteína integral tipo 1 con un péptido de señal, representado en color blanco, y un dominio transmembranario, en color negro. La proteína de unión del cinc (HEMGH) se repite 2 veces en la ECA y sólo aparece una vez en la ECA2, y se localiza en la región homóloga indicada en color gris oscuro. Los números representan los aminoácidos de cada proteína. (Modificada de Oudit GY et al.⁶⁹)



Enzima conversiva de la angiotensina 2 y presión arterial

En el riñón, un órgano fundamental en la regulación de la presión arterial³⁸, Crackover et al¹⁵ estudiaron la expresión de los valores de la ECA2 en diferentes modelos murinos de hipertensión arterial. La expresión proteica y del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la ECA2 en ratas SABRA sensibles a la sal e hipertensas (SBH/y) está disminuida en comparación con sus controles, ratas SABRA resistentes a la sal y normotensas (SBN/y)¹⁵. La disminución de la expresión de la ECA2 en las ratas SBH/y se observó tanto si se administraba una dieta normal como una dieta rica en sal¹⁵. Del mismo modo, en los modelos de rata espontáneamente hipertensa (SHR) y rata espontáneamente hipertensa con predisposición al accidente cerebrovascular (SHRSP), la expresión proteica y del ARNm de la ECA2 está disminuida en comparación con los respectivos controles, las ratas Wistar Kyoto^{15,39}. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia en la expresión tanto proteica como del ARNm en el modelo experimental murino de hipertensión secundaria al retraso intrauterino mediante la restricción de nutrientes durante la gestación (ratas FR30)⁴⁰.

Se estudió la expresión de la ECA2 en el corazón de ratas transgénicas con el gen murino de la renina [mRen2]^{27,41}. Así, en las ratas [mRen2]²⁷, un modelo que presenta una intensa hipertensión e hipertrofia cardíaca, la actividad enzimática y la expresión proteica de la ECA2 están aumentadas en comparación con las controles⁴¹. En contraste con dichos resultados, en el modelo SHR la expresión proteica y del ARNm de la ECA2 en el corazón está disminuida en comparación con los respectivos controles, las ratas Wistar Kyoto³⁹.

La presión arterial sistólica en ratones deficientes en el gen de la ECA2 fue ligeramente mayor que en los controles en el genotipo C57BL/6, pero no en todos los genotipos estudiados²⁹. La infusión de angiotensina II en ratones con delección del gen de la ECA2 produjo un aumento de la presión arterial sistólica que fue 2 veces mayor al aumento que se observó en los controles²⁹. La delección del gen de la ECA2 potencia los efectos de la remodelación cardíaca de la angiotensina II^{15,28,29}.

Wakahara et al⁴² han estudiado la expresión génica y los valores de ARNm de la ECA y la ECA2 en la corteza renal de pacientes hipertensos en comparación con controles sanos. El cociente ECA/ECA2 estaba aumentado en la corteza renal de pacientes hipertensos en comparación con los controles sanos no hipertensos⁴². En cambio, en los monocitos procedentes de pacientes prehipertensos la actividad enzimática de la ECA2 se encontró aumentada en comparación con los pacientes controles no hipertensos⁴³. Sin embargo, no se observó ningún cambio en cuanto a la actividad enzimática de la ECA2 en los monocitos procedentes de pacientes hipertensos en comparación con los controles normotensos⁴³. Esto podría hacer pensar en un papel protector de la ECA2 en los pacientes prehipertensos. Los datos en este campo son claramente escasos y la información disponible hasta ahora en humanos es insuficiente para llegar a ninguna conclusión. En estudios preliminares se ha visto que la administración de una forma recombinante de ECA2 humana es capaz de disminuir la presión arterial en ratones infundidos con angiotensina II. Esta sería una prueba más concluyente del papel de esta enzima en la hipertensión arterial⁴⁴.

La enzima conversiva de la angiotensina 2 en el pulmón

La importancia del SRAA en el pulmón se conoció tras la identificación de la ECA2 como receptor del *Coronavirus* en el síndrome respiratorio agudo grave^{45,46}. La ECA2 se expre-

sa tanto en pulmones sanos como en los patológicos^{47,48}. En pulmones sanos, está presente en las células epiteliales alveolares (tipos 1 y 2) y en los capilares endoteliales^{47,48}.

La ECA2 es capaz de proteger los pulmones murinos frente a una lesión aguda grave producida experimentalmente^{45,49}. Este hallazgo, de gran potencial clínico, se realizó en el síndrome de distrés respiratorio secundario a broncoaspiración ácida, endotoxinas y sepsis peritoneal⁴⁹. Usando estos modelos experimentales, los ratones ECA2^{-y} presentaron enfermedad grave en comparación con los ratones ECA2^{+y}. La pérdida de la expresión de la ECA2 en ratones mutantes llevó a un aumento de la permeabilidad vascular y del edema pulmonar, a la acumulación de neutrófilos y al empeoramiento de la función pulmonar. El tratamiento con la proteína recombinante de la ECA2 mejoró los síntomas de la lesión pulmonar aguda⁴⁹ tanto en el ratón ECA2^{+y} como en el ECA2^{-y}. Sobre la base de estos estudios, parece que la ECA2 desempeña un papel protector en la lesión pulmonar aguda. El tratamiento con ARA-II o la delección adicional en el gen de la ECA2 rescató el fenotipo pulmonar grave en la lesión pulmonar aguda⁴⁹ en el ratón ECA2^{-y}.

Los ratones con delección del gen de la ECA2 sometidos a sobrecarga de volumen mediante constricción aórtica transversal presentan congestión pulmonar y un aumento de la relación del peso pulmón/peso corporal (mg/g), en comparación con los ratones normales²⁸. Dicho aumento es reversible con el tratamiento con ARA-II²⁸.

En el modelo experimental en ratas Sprague Dawley, en ambos sexos, se demostró una disminución de la expresión de la ECA2 en el pulmón asociada con el envejecimiento⁴⁸. Sin embargo, en dicho proceso de envejecimiento la disminución de la ECA2 fue mucho más espectacular en los machos que en las hembras. Del mismo modo, la expresión de la ECA2 en el pulmón a los 24 meses fue mayor en las ratas hembras que en los machos⁴⁸.

La enzima conversiva de la angiotensina 2 en el riñón

En un principio se pensó que la ECA2 estaba restringida al riñón, el corazón y los testículos^{15,16}. Luego se vio que su expresión es más generalizada^{23,40,45}. Es interesante señalar que la actividad enzimática de la ECA2 es mucho mayor en el tejido procedente de la corteza renal que en el tejido cardíaco²⁵. Dichos resultados apuntan a que la ECA2 es una enzima importante en el riñón debido a su abundante presencia en dicho órgano. A su vez, la ECA2 puede desempeñar un papel importante en las diferentes funciones que dependen del riñón, como la regulación de la presión arterial. En 2004, nuestro laboratorio describió la expresión de la ECA2 en los túbulos renales corticales del modelo experimental murino de diabetes db/db y sus respectivos controles db/m²⁶. La expresión proteica de la ECA2 en la corteza renal de los ratones diabéticos db/db, a las 8 semanas de edad, está aumentada en comparación con los ratones controles no diabéticos db/m²⁶. Por el contrario, la expresión proteica de la ECA está muy disminuida en el túbulo proximal renal en comparación con controles no diabéticos^{25,26}. En el mismo sentido, la expresión génica de la ECA en la corteza renal de los ratones diabéticos db/db está disminuida en comparación con los controles db/m²⁶. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la expresión génica de la ECA2 en la corteza renal de los ratones diabéticos db/db en comparación con los controles²⁶. El hallazgo de la disminución de la expresión de la ECA, junto con un aumento de la ECA2, nos hizo postular que esta combinación puede aportar un mecanismo renoprotector en fases precoces de la nefropatía diabética, limitando la acu-

mulación renal de angiotensina II al favorecer la degradación de ésta²⁶. Hay que tener en cuenta que la degradación de la angiotensina II por la ECA2 lleva a la formación de angiotensina 1-7, péptido activo que puede tener acciones favorables para el riñón^{13,50}.

Nuestro laboratorio también describió la localización de ambas enzimas, ECA y ECA2, en el borde en cepillo del túbulo renal proximal⁵¹. En riñones procedentes de ratón, en el túbulo proximal tanto la tinción de la ECA2 como de la ECA se marcó en el borde en cepillo. La tinción para la ECA2 también se observó más débilmente en el citoplasma⁵¹. Las células epiteliales distales y del túbulo colector mostraron asimismo expresión de la ECA2.

La ECA y la ECA2, así pues, se localizan ambas en el túbulo renal proximal, pero en el glomérulo no tienen la misma localización⁵¹. Lo más destacado de estos hallazgos es que en el glomérulo la ECA2 se localizó de forma abundante en las células epiteliales del glomérulo, es decir, en el podocito, y en menor cantidad en las células mesangiales⁵¹. En las células endoteliales del glomérulo no se detectó la presencia de la ECA2. Sin embargo, se encontró abundante presencia de la ECA en las células endoteliales del glomérulo⁵¹. Así, mientras que la ECA2 es una enzima que en el glomérulo se encuentra localizada en el podocito y en las células mesangiales, la ECA se halla en las células endoteliales⁵¹.

Otros estudios han descrito la ubicación de la ECA2 en el riñón. En riñones humanos, la ECA2 se localizó en los túbulos proximal, distal y colector, el glomérulo y la vasculatura renal⁵². Lely et al⁵² describieron la localización de la ECA2 en las arterias interlobulares del endotelio y en las células de la musculatura lisa. Además, observaron la presencia de la ECA2 en el endotelio de arteriolas y pequeños vasos, pero no en los capilares peritubulares, en tejidos procedentes de humano⁵². A su vez, se observó la presencia de la ECA2 de forma lineal en el urotelio, la pelvis renal y los uréteres en tejido renal humano⁵².

Por lo que se refiere al estudio de la actividad enzimática de la ECA, hay varios ensayos bastante fiables basados en diferentes métodos: la espectrofotometría⁵¹, la fluorimetría⁵³, la cromatografía líquida de alta resolución⁵⁴ y la radiometría⁵⁵. Sin embargo, son menos los ensayos sobre la actividad enzimática de la ECA2^{30,33,36,56}, dado el reciente descubrimiento de dicha enzima. Wysocki et al²⁵ han desarrollado un ensayo para medir la actividad de la ECA2 usando como sustrato el 7-Mca-YVADAPK(Dnp). La rotura de dicho sustrato tanto por la ECA como por la ECA2 permitió medir al mismo tiempo la actividad de dichas enzimas. La señal de fluorescencia fue parcialmente desactivada por inhibidores específicos de ambas enzimas (ECA y ECA2), pero no de otras metaloproteasas como la carboxipeptidasa A²⁵.

En 2 modelos de nefropatía diabética experimental (ratón db/db y diabetes inducida mediante estreptozotocina), tanto la expresión proteica como la actividad enzimática de la ECA2 están aumentadas en la corteza renal, en comparación con los respectivos controles²⁵. En cambio, en la corteza renal la expresión proteica, la actividad enzimática y la expresión génica de la ECA en ambos modelos están disminuidas en comparación con los respectivos controles²⁵.

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado la disminución de la expresión gomerular de la ECA2 en los ratones diabéticos db/db, en comparación con los controles no diabéticos (db/m)⁵¹. Por el contrario, la expresión de la ECA en el glomérulo de los ratones diabéticos db/db está aumentada en comparación con los respectivos controles no diabéticos db/m⁵¹. Estos resultados apuntan a que la expresión aumentada de la ECA en el glomérulo se relaciona con un aumento de la expresión de la ECA en las células endote-

liales del glomérulo⁵¹. Con el mismo razonamiento, la disminución gomerular de la expresión proteica de la ECA2 refleja una disminución de la expresión de dicha enzima en los podocitos y posiblemente también en las células mesangiales. Esta distribución en sí misma indica que la ECA2 es una enzima que puede tener un papel crucial en la nefropatía diabética. En particular, la presencia de la ECA2 en los podocitos puede desempeñar un papel en la regulación del SRAA intraglomerular favoreciendo la degradación de angiotensina II localmente y evitando así la acumulación excesiva, con el consiguiente aumento de la permeabilidad glomerular. En este sentido, en la nefropatía diabética la disminución de la expresión de la ECA2 intraglomerular puede ser perjudicial, ya que puede llevar a la acumulación de angiotensina II.

En la nefropatía diabética se observa una dicotomía entre la expresión de la ECA/ECA2 en la corteza renal y en el glomérulo. Anderson et al⁵⁷ ya describieron resultados en esta dirección por lo que se refiere a la expresión de la ECA en ratas con diabetes inducida mediante estreptozotocina. Estos autores encontraron una disminución de la actividad enzimática de la ECA en la corteza renal, lo que coincide con nuestros estudios en ratones diabéticos⁵⁷.

Estudios de inhibición de la enzima conversiva de la angiotensina 2 e implicaciones en la nefropatía diabética

Se han descrito diversos inhibidores de la ECA2. Entre los inhibidores selectivos de primera clase figura una serie de componentes no peptídicos cuya concepción se basó en la especificidad del sustrato de la ECA2 y en la necesidad de un carboxilato localizado centralmente para coordinar el inhibidor, como en el caso del MLN-4760⁵⁸. Usando otra estrategia, mediante el cribado de diferentes peptidotecas restringidas, se ha identificado otro tipo de inhibidores peptídicos estables como el DX600⁵⁹.

En 2 modelos experimentales de nefropatía diabética, el ratón db/db y la nefropatía diabética tras tratamiento con estreptozotocina, nuestro laboratorio utilizó el inhibidor de la ECA2, MLN-4760, para estudiar el efecto de la inhibición de dicha enzima en la función renal. La administración del inhibidor de la ECA2 durante semanas produjo un incremento significativo de la expresión urinaria de albúmina^{51,60}. Además, dicho aumento estuvo directamente relacionado con el receptor de la angiotensina II tipo 1, ya que el bloqueo de éste con el telmisartán previno el aumento de la excreción urinaria de albúmina en comparación con el grupo diabético (db/db) en el que tan sólo se administró el inhibidor de la ECA2⁵¹. A su vez, en el glomérulo la inhibición de la ECA2 se acompaña de un aumento de las lesiones histológicas que se observan normalmente en la nefropatía diabética⁶⁰. En el modelo de diabetes db/db, tras la inhibición de la ECA2 se observó un aumento de la expresión de la fibronectina glomerular, reflejo de un aumento de la acumulación de dicha proteína en el mesangio⁵¹. Este efecto podría estar mediado por el aumento de los valores de angiotensina II intraglomerular, ya que se sabe que la angiotensina II produce un incremento de la expresión de fibronectina en las células mesangiales del glomérulo⁵¹.

En el modelo experimental de nefropatía diabética inducida mediante estreptozotocina, la inhibición crónica de la ECA2 con un inhibidor específico, el MLN-4760, empeoró las lesiones renales de dicha enfermedad⁶⁰. Es interesante comentar que, a su vez, la administración de MLN-4760 se asocia a un aumento de la expresión glomerular de la ECA (fig. 3). Así, con la inhibición crónica de la ECA2 se produce una doble activación del SRAA: la disminución de la degra-

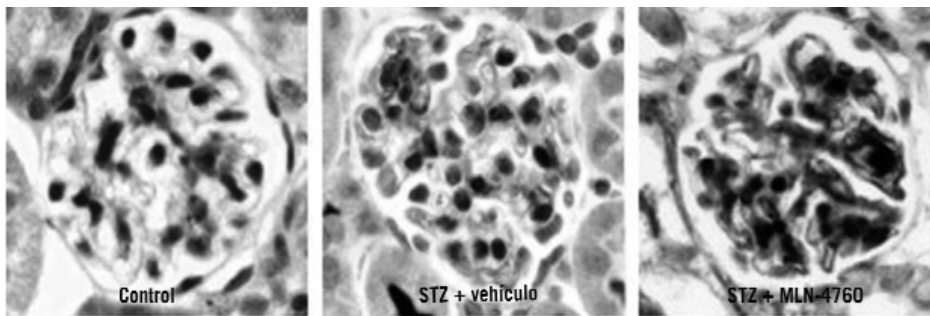


Fig. 3. Tinción inmunohistoquímica para la enzima conversiva de la angiotensina en el glomérulo, en ratón control (izqda.), en ratón con diabetes inducida por estreptozotocina (STZ) al que administramos vehículo (centro) y en ratón con diabetes inducida por STZ al que se administró MLN-4760 (dcha.) en el glomérulo.

dación de la angiotensina II, con el consiguiente aumento de los valores de angiotensina II intraglomerular, y el incremento de la expresión de la ECA, que conduce a un aumento de la formación de angiotensina II a partir de la angiotensina I. Además, la disminución de la degradación de angiotensina II llevará a una disminución de la formación de angiotensina 1-7, un péptido que tiene un efecto antiproliferativo^{13,14,62}.

Wong et al⁶³ describieron que, en ratones diabéticos heterocigotos Akita (*Ins2^{WT/C96Y}*) de 3 meses de edad, la delección del gen de la ECA2 (*ECA2^{-/-}*) se acompaña del aumento de la excreción urinaria de albúmina y de la hipertrofia glomerular, del aumento de la expansión de la matriz mesangial y de la expresión de fibronectina y actina alfa de músculo liso, y del aumento del grosor de la membrana basal glomerular, en comparación con los ratones diabéticos *ACE2^{+4y} Ins2^{WT/C96Y}*. El tratamiento con ARA-II produce una disminución de la excreción urinaria de albúmina en los ratones *ACE2^{+4y} Ins2^{WT/C96Y}*, lo que indicaría que la angiotensina II es el péptido responsable del empeoramiento de las lesiones de la nefropatía diabética en dicho modelo experimental⁶³.

En la nefropatía diabética, se cree que tras la inhibición de la ECA2 habrá un incremento de la acumulación de angiotensina II, y se supone que la angiotensina 1-7 debería de estar disminuida. Hay estudios que indican que la angiotensina 1-7, péptido activo, puede atenuar la hipertrofia secundaria a acumulación de angiotensina II^{64,65}. En contraste con dichos resultados, tras la administración del inhibidor de la ECA2 a ratones con diabetes inducida por estreptozotocina se observó atrofia de la médula y la papila renales. Hay que señalar que dichas lesiones habían sido descritas con anterioridad por Esther et al⁶⁶ en ratones con delección en el gen de la ECA.

Paralelamente, tras la inhibición de la ECA2 en la nefropatía diabética experimental hemos observado un aumento de la expresión glomerular de la ECA⁶⁰. Esto indica que una parte de los efectos debidos a la inhibición de la ECA2 pueden estar relacionados con el aumento de la ECA⁶⁰. En este sentido hay que tener en cuenta que un discreto aumento de la expresión génica de la ECA en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina, con 3 copias para el gen de la ECA, produce una elevación de la albuminuria, probablemente secundaria a la hiperactividad del SRAA⁶⁷. Esto invita a pensar que en la nefropatía diabética los valores elevados de la ECA contribuyen de forma importante al daño glomerular. En resumen, la combinación de valores elevados de la ECA con valores disminuidos de la ECA2, es decir, el aumento del cociente ECA/ECA2, sólo puede conducir a un incremento de la formación de angiotensina II, con una disminución de la degradación de ésta²⁶. Del mismo modo, la disminución de la ECA2 conducirá a una disminución de la formación de angiotensina 1-7, péptido con acciones vasodilatadoras y antiproliferativas^{13,14}. La importancia relativa de cada uno de es-

tos péptidos ha de investigarse con el uso de bloqueadores y agonistas específicos, así como con modelos de ablación genética. En el riñón y en el pulmón creemos que los datos hasta ahora publicados indican que los efectos beneficiosos de la ECA2 deberían ser en gran parte el resultado de una disminución de los valores locales de angiotensina II. Es posible, sin embargo, que en el corazón la ECA2 ejerza efectos beneficiosos debido a un aumento de los valores de angiotensina 1-7, un péptido que posee efectos antifibróticos en este órgano^{62,65}. En cualquier caso, es muy posible que la ECA2 pueda ser una diana terapéutica para las enfermedades pulmonares, renales y cardiovasculares^{51,68}.

Conclusiones

La expresión de la ECA2 en el organismo mamífero es generalizada. En el riñón, se localiza principalmente en el túbulo renal proximal, en el glomérulo y en las arteriolas renales. En el túbulo renal proximal, la ECA y la ECA2 se localizan ambas en el borde en cepillo. Sin embargo, en el glomérulo la ECA y la ECA2 no tienen la misma localización: mientras que la ECA se encuentra en las células endoteliales, la ECA2 se localiza principalmente en las células epiteliales y, en menor cuantía, en las células mesangiales.

Para el estudio de la actividad enzimática de la ECA y la ECA2 se ha desarrollado un ensayo fluorométrico que permite medir al mismo tiempo la actividad de ambas. La actividad enzimática de la ECA2 en el tejido procedente de la corteza renal es mucho mayor que en el tejido cardíaco.

En la nefropatía diabética experimental, se observa que la ECA se sobreexpresa en el glomérulo, mientras que la expresión de la ECA2 está disminuida. En cambio, en la corteza renal existe un aumento de la expresión de la ECA2, con una disminución en la expresión de la ECA.

Tanto la inhibición como la delección del gen de la ECA2 se han asociado a un efecto perjudicial en el riñón, con aumento de la albuminuria y empeoramiento de las lesiones histológicas renales. A su vez, la inhibición de la ECA2 se acompaña de la sobreexpresión glomerular de la ECA. En el riñón, la combinación de elevadas concentraciones glomerulares de la ECA con valores disminuidos de la ECA2 conducirá a un aumento de la formación de angiotensina II intraglomerular, con una disminución de la degradación de ésta, y a la aparición de sus consiguientes efectos nocivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res*. 1999;85:643-50.
2. Ito M, Oliverio MI, Mannon PJ, Best CF, Maeda N, Smithies O, et al. Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:3521-5.

3. Kregg JH, John SW, Langenbach LL, Hodgins JB, Hagaman JR, Bachman ES, et al. Male-female differences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. *Nature*. 1995;375:146-8.
4. Zaman MA, Oparil S, Calhoun DA. Drugs targeting the renin-angiotensin-aldosterone system. *Nat Rev Drug Discov*. 2002;1:621-36.
5. Bakris GL. Protecting renal function in the hypertensive patient: clinical guidelines. *Am J Hypertens*. 2005;18:112S-9S.
6. Dzau VJ. Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation*. 1988;77:4-13.
7. Schlueter W, Keilani T, Battle DC. Tissue renin angiotensin systems: theoretical implications for the development of hyperkalemia using angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Med Sci*. 1994;307 Suppl 1:81-6.
8. Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey RM. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16:120-6.
9. Lee FT, Cao Z, Long DM, Panagiotopoulos S, Jerums G, Cooper ME, et al. Interactions between angiotensin II and NF-kappaB-dependent pathways in modulating macrophage infiltration in experimental diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:2139-51.
10. Singh R, Singh AK, Leehey DJ. A novel mechanism for angiotensin II formation in streptozotocin-diabetic rat glomeruli. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;288:F1183-F90.
11. Valles P, Wysocki J, Battle D. Angiotensin II and renal tubular ion transport. *ScientificWorldJournal*. 2005;5:680-90.
12. Valles P, Wysocki J, Salabat MR, Cokic I, Ye M, LaPointe MS, et al. Angiotensin II increases H⁺-ATPase B1 subunit expression in medullary collecting ducts. *Hypertension*. 2005;45:818-23.
13. Oliveira MA, Fortes ZB, Santos RA, Kosla MC, De Carvalho MH. Synergistic effect of angiotensin-(1-7) on bradykinin arteriolar dilation in vivo. *Peptides*. 1999;20:1195-201.
14. Strawn WB, Ferrario CM, Tallant EA. Angiotensin-(1-7) reduces smooth muscle growth after vascular injury. *Hypertension*. 1999;33:207-11.
15. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature*. 2002;417:822-8.
16. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res*. 2000;87:E1-E9.
17. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem*. 2000;275:33238-43.
18. Zhang H, Wada J, Hida K, Tsuchiyama Y, Hiragushi K, Shikata K, et al. Collectrin, a collecting duct-specific transmembrane glycoprotein, is a novel homolog of ACE2 and is developmentally regulated in embryonic kidneys. *J Biol Chem*. 2001;276:17132-9.
19. Mount DB. Collectrin and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2007;16:427-9.
20. Danilczyk U, Sarao R, Remy C, Benabbas C, Stange G, Richter A, et al. Essential role for collectrin in renal amino acid transport. *Nature*. 2006;444:1088-91.
21. Valdés G, Neves LA, Anton L, Corthorn J, Chacon C, Germain AM, et al. Distribution of angiotensin-(1-7) and ACE2 in human placentas of normal and pathological pregnancies. *Placenta*. 2006;27:200-7.
22. Eriksson U, Danilczyk U, Penninger JM. Just the beginning: novel functions for angiotensin-converting enzymes. *Curr Biol*. 2002;12:R745-R52.
23. Paizis G, Tikellis C, Cooper ME, Schembri JM, Lew RA, Smith AI, et al. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2. *Gut*. 2005;54:1790-6.
24. Doobay MF, Talman LS, Obr TD, Tian X, Davison RL, 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-R81.
25. Wysocki J, Ye M, Soler MJ, Gurley SB, Xiao HD, Bernstein KE, et al. ACE and ACE2 activity in diabetic mice. *Diabetes*. 2006;55:2132-9.
26. Ye M, Wysocki J, Naaz P, Salabat MR, LaPointe MS, Battle D. Increased ACE 2 and decreased ACE protein in renal tubules from diabetic mice: a renoprotective combination? *Hypertension*. 2004;43:1120-5.
27. Guy JL, Jackson RM, Acharya KR, Sturrock ED, Hooper NM, Turner AJ. Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2): comparative modeling of the active site, specificity requirements, and chloride dependence. *Biochemistry*. 2003;42:13185-92.
28. Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, Ito N, Ikushima M, Kaibe M, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II. *Hypertension*. 2006;47:718-26.
29. Gurley SB, Allred A, Le TH, Griffiths R, Mao L, Philip N, et al. Altered blood pressure responses and normal cardiac phenotype in ACE2-null mice. *J Clin Invest*. 2006;116:2218-25.
30. Burrell LM, Risvanis J, Kubota E, Dean RG, MacDonald PS, Lu S, et al. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart J*. 2005;26:369-75.
31. Zisman LS, Keller RS, Weaver B, Lin Q, Speth R, Bristow MR, et al. Increased angiotensin-(1-7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme homologue ACE2. *Circulation*. 2003;108:1707-12.
32. Ishiyama Y, Gallagher PE, Averill DB, Tallant EA, Brosnihan KB, Ferrario CM. Upregulation of angiotensin-converting enzyme 2 after myocardial infarction by blockade of angiotensin II receptors. *Hypertension*. 2004;43:970-6.
33. Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, Averill DB, Brosnihan KB, Tallant EA, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*. 2005;111:2605-10.
34. Keidar S, Gamliel-Lazarovich A, Kaplan M, Pavlotzky E, Hamoud S, Hayek T, et al. Mineralocorticoid receptor blocker increases angiotensin-converting enzyme 2 activity in congestive heart failure patients. *Circ Res*. 2005;97:946-53.
35. Soler MJ, Wysocki J, William J, Ye M, Cokic I, Battle D. ACE2 is preferentially localized in the tunica media layer in renal vasculature and its expression increases after administration of a type 1 receptor antagonist. In: Council for High Blood Pressure, editor. San Antonio: American Heart Association; 2006.
36. Donoghue M, Wakimoto H, Maguire CT, Acton S, Hales P, Stagliano N, et al. Heart block, ventricular tachycardia, and sudden death in ACE2 transgenic mice with downregulated connexins. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35:1043-53.
37. Huentelman MJ, Grobe JL, Vázquez J, Stewart JM, Mecca AP, Katovich MJ, et al. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats. *Exp Physiol*. 2005;90:783-90.
38. Koike G, Winer ES, Horiuchi M, Brown DM, Szpirer C, Dzau VJ, et al. Cloning, characterization, and genetic mapping of the rat type 2 angiotensin II receptor gene. *Hypertension*. 1995;26:998-1002.
39. Zhong JC, Huang DY, Yang YM, Li YF, Liu GF, Song XH, et al. Upregulation of angiotensin-converting enzyme 2 by all-trans retinoic acid in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2004;44:907-12.
40. Riviere G, Michaud A, Breton C, VanCamp G, Laborie C, Enache M, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and ACE activities display tissue-specific sensitivity to undernutrition-programmed hypertension in the adult rat. *Hypertension*. 2005;46:1169-74.
41. Trask AJ, Averill DB, Ganten D, Chappell MC, Ferrario CM. Primary role of angiotensin-converting enzyme-2 in cardiac production of angiotensin-(1-7) in transgenic Ren-2 hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H3019-H24.
42. Wakahara S, Konoshita T, Mizuno S, Motomura M, Aoyama C, Makino Y, et al. Synergistic expression of angiotensin-converting enzyme (ACE) and ACE2 in human renal tissue and confounding effects of hypertension on the ACE to ACE2 ratio. *Endocrinology*. 2007;148:2453-7.
43. Keidar S, Strizevsky A, Raz A, Gamliel-Lazarovich A. ACE2 activity is increased in monocyte-derived macrophages from prehypertensive subjects. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22:597-601.
44. Ye M, Wysocki J, Rodríguez E, Schuster M, Loibner H, Penninger J, et al. Recombinant ACE2 attenuates angiotensin II induced hypertension. *Actas de 61st Annual High Blood Pressure Research Conference*; 2007, septiembre 26-29; Tucson, AZ.
45. Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med*. 2005;11:875-9.
46. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426:450-4.
47. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis GJ, Van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203:631-7.
48. Xie X, Chen J, Wang X, Zhang F, Liu Y. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. *Life Sci*. 2006;78:2166-71.
49. Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. 2005;436:112-6.
50. Li N, Zimpelmann J, Cheng K, Wilkins JA, Burns KD. 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-F62.
51. Ye M, Wysocki J, William J, Soler MJ, Cokic I, Battle D. Glomerular localization and expression of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:3067-75.
52. Lely AT, Hamming I, Van Goor H, Navis GJ. Renal ACE2 expression in human kidney disease. *J Pathol*. 2004;204:587-93.
53. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol*. 1971;20:1637-48.
54. Meng QC, Balcells E, Dell'Italia L, Durand J, Oparil S. Sensitive method for quantitation of angiotensin-converting enzyme (ACE) activity in tissue. *Biochem Pharmacol*. 1995;50:1445-50.
55. Rohrbach MS. [Glycine-1-¹⁴C]hippuryl-L-histidyl-L-leucine: a substrate for the radiochemical assay of angiotensin converting enzyme. *Anal Biochem*. 1978;84:272-6.
56. Douglas GC, O'Bryan MK, Hedger MP, Lee DK, Yarski MA, Smith AI, et al. The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homolog, ACE2, is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis. *Endocrinology*. 2004;145:4703-11.

57. Anderson S, Jung FF, Ingelfinger JR. Renal renin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical, and molecular biological correlations. *Am J Physiol.* 1993;265:F477-F86.
58. Dales NA, Gould AE, Brown JA, Calderwood EF, Guan B, Minor CA, et al. Substrate-based design of the first class of angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) inhibitors. *J Am Chem Soc.* 2002;124:11852-3.
59. Huang L, Sexton DJ, Skogerson K, Devlin M, Smith R, Sanyal I, et al. Novel peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme 2. *J Biol Chem.* 2003;278:15532-40.
60. Soler MJ, Wysocki J, Ye M, Lloveras J, Kanwar Y, Battle D. ACE2 inhibition worsens glomerular injury in association with increased ACE expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Kidney Int.* 2007;72:614-23.
61. Block K, Ricono JM, Lee DY, Bhandari B, Choudhury GG, Abboud HE, et al. Arachidonic acid-dependent activation of a p22(phox)-based NAD(P)H oxidase mediates angiotensin II-induced mesangial cell protein synthesis and fibronectin expression via Akt/PKB. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8:1497-508.
62. Brosnihan KB, Li P, Ferrario CM. Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension.* 1996;27:523-8.
63. Wong DW, Oudit GY, Reich H, Kassiri Z, Zhou J, Liu QC, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 (Ace2) accelerates diabetic kidney injury. *Am J Pathol.* 2007;171:438-51.
64. Su Z, Zimpelmann J, Burns KD. Angiotensin-(1-7) inhibits angiotensin II-stimulated phosphorylation of MAP kinases in proximal tubular cells. *Kidney Int.* 2006;69:2212-8.
65. Wang LJ, He JG, Ma H, Cai YM, Liao XX, Zeng WT, et al. Chronic administration of angiotensin-(1-7) attenuates pressure-overload left ventricular hypertrophy and fibrosis in rats. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* 2005;25:481-7.
66. Esther CR Jr, Howard TE, Marino EM, Goddard JM, Capecci MR, Bernstein KE. Mice lacking angiotensin-converting enzyme have low blood pressure, renal pathology, and reduced male fertility. *Lab Invest.* 1996;74:953-65.
67. Huang W, Gallois Y, Bouby N, Bruneval P, Heudes D, Belair MF, et al. Genetically increased angiotensin I-converting enzyme level and renal complications in the diabetic mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:13330-4.
68. Ingelfinger JR. ACE2: a new target for prevention of diabetic nephropathy? *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2957-9.
69. Oudit GY, Grackower MA, Backx PH, Permyer JM. The role of ACE2 in cardiovascular physiology. *Trends Cardiovasc Med.* 2003;13:93-101.