

ИНТРАЦЕЛУЛАРНАТА РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВА СИСТЕМА В СЪРЦЕТО – НОВО ПРЕДИЗВОКАТЕЛСТВО ПРЕД ФАРМАКОТЕРАПИЯТА

Г. Кръстева, Е. Лакова*, Д. Пендичева, Г. Ставрева

*Сектор „Експериментална и клинична фармакология”, *Сектор „Патофизиология”
Медицински факултет, Медицински университет, 5800 Плевен, ул. „Кл. Охридски”1
krusteva_med@abv.bg*

INTRACELLULAR RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM IN THE HEART – A NEW CHALLENGE FOR PHARMACOTHERAPY

G. Krasteva, E. Lakova*, D. Pendicheva, G. Stavreva

*Division of Experimental and Clinical Pharmacology, *Division of Pathophysiology, Medical
Faculty, Medical University, 5800 Pleven, 1 Kl. Ohridski str., Bulgaria, krusteva_med@abv.bg*

ABSTRACT

The physiological implications of the renin-angiotensin system (RAS) continue to expand with the identification of intracellular RAS (iRAS). The functional iRAS is described in cardiac and vascular cells. The iRAS may play an important role in cardiac remodeling under pathologic conditions that is not completely blocked by ACE inhibitors and AT1-receptor blockers. The clearest example of “intracrine” pharmacology in the RAS is provided by renin inhibitor aliskiren with its ability to block both extracellular and intracellular generation of AT-II. The knowledge of the iRAS may assist in the understanding and effective treatment of the cardiovascular disorders.

Key words: *intracellular RAS, intracellular AT-II, chymase, hyperglycemia, renin inhibitors*

Традиционното разбиране за ренин-ангиотензиновата система (RAS) като циркулираща система с краткосрочно регулиращо действие върху циркулаторния обем и кръвното налягане се разшири неимоверно с представата за локалните RAS като регулатор на хроничното тъканно въздействие и осъществяването на органно ремоделиране при патологични условия. Първоначално локалните RAS са разглеждани като изцяло екстрацелуларни системи с паракринно действие. Съвременни изследвания предоставят доказателства за съществуването на пълна, функционираща RAS вътре в клетките, описвана като интрацелуларна или интракринна (iRAS) [2, 9, 11, 13, 15]. Интрацелуларната RAS се дефинира от присъствието в клетките на всички необходими RAS-компоненти и условия за взаимодействие между тях, резултиращо в синтез на ангиотензин-II (AT-II), както и от наличие на рецептори за осъществяване на неговото действие [9].

Компонентите на iRAS се синтезират и задържат в клетката или се доставят чрез интернализация от екстрацелуларното пространство. *Ангиотензиногенът* (ATG) – единственият познат до сега прекурсор на AT-II се секретира екстрацелуларно благодарение на наличието на сигнална секвенция и на гликозилизацията. Степента на гликозилизация на ATG е свързана с промени в секреторната ефективност и вътреклетъчното му разпределение [7]. Във вентрикуларни сърдечни миоцити на новородени плъхове в условия на високо глюкозно съдържание са регистрирани намалена секреция на ATG и увеличение на интрацелуларната му ретенция. *Ренинът* може да се синтезира локално или да се поеме от циркулацията. Интернализацията на гликозилираните форми на (про)ренин се осъществява от манозо-6-фосфатния рецептор, което се смята за клирънсен механизъм. Негликозилирани молекули се поемат от клетката с посредничеството на неидентифициран рецептор, различен от сравнително добре проучения мембранен (про)ренинов рецептор [(P)RR]. Доказано е експериментално, че интернализиращият (про)ренин увеличава синтеза на AT-I и AT-II в кардиомиоцитите. Описан е още несекреторен, алтернативен транскрипт на ренина в мозък и

сърце (ренин-в), който е една ензимно активна, интрацелуларна изоформа. Установено е увеличение на несекреторния интрацелуларен ренин в левия вентрикул след инфаркт на миокарда. Превръщането на ATG в AT-I в клетките може да се осъществи и по ренин независим път с участието на *катепсин D*, както е случаят в гладко-мускулните съдови клетки [4, 8]. Въпреки че *ангиотензин-конвертиращият ензим* (ACE) е известен като мембранен ектоензим, интрацелуларни форми на ACE са установени в мезангиални клетки, сърдечни миоцити и фибробласти. ACE-независим път за превръщане на AT-I в AT-II, медиран от вътрклетъчния ензим *химаза*, присъства в сърдечни, съдови и бъбречни тъкани, особено при патологични условия [5, 9]. Редица функционални изследвания, използващи антагонисти на *ангиотензиновите рецептори*, доказват наличието на няколко (поне три) субтипа такива рецептори вътреклетъчно. Някои от тях притежават характеристики, подобни на AT1-рецепторите, а други са различни както от AT1, така и от AT2-рецепторите [1, 3, 4].

Проучванията върху iRAS са все още в начален етап. Най-задълбочени и позволяващи формирането на определени изводи и обобщения са изследванията на *сърдечни миоцити и фибробласти*. Базалните нива на сърдечната RAS по принцип са ниски, но при патологични условия се наблюдава активиране. Интересен опит за имитиране на патологична активация са изследванията върху клетъчни култури от сърдечни миоцити и фибробласти, изложени на въздействие с глюкоза или изопротеренол – един опростен начин за наподобяване на диабет и симпатикова стимулация. Продукцията на AT-II е изследвана поотделно в клетъчния лизат (интрацелуларно) и в средата на клетъчната култура (екстрацелуларно) [9]. Оказва се, че двата стимула резултират в различни профили на ангиотензинова продукция. При въздействие с изопротеренол миоцитите и фибробластите отговарят с еквивалентен синтез на AT-II вътреклетъчно и извънклетъчно. Вътреклетъчният синтез се осъществява в секреторните пътища и е едно допълнение към екстрацелуларния продукт. Образоването на AT-II се предотвратява напълно от приложението на ACE инхибитор (беназеприлат) и ренинов инхибитор (алискирен). В среда с високо съдържание на глюкоза фибробластите отново реагират с екстра- и интрацелуларна продукция на AT-II, контролирана от ренин и ACE. За разлика от тях миоцитите демонстрират драматично повишение на интрацелуларния AT-II (iAT-II) без промяна в екстрацелуларните нива. Генерирането на iAT-II изцяло се инхибира от приложението на ренинов или химазен инхибитор (химостатин), но не и от ACE инхибитор. Тези изследвания показват, че iAT-II в миоцитите може да се синтезира по алтернативни пътища и на различни субклетъчни места в зависимост от стимулите (патологичните условия) в средата [5,19].

Гладко-мускулните съдови клетки притежават пълен комплект от RAS-компоненти с изключение на ренин. AT-I се получава от ATG по ренин-независим път с посредничеството на катепсин D както при нормални, така и при високи стойности на глюкозата. „Хиперглицемичните“ условия понижават експресията на ACE и ACE-зависимото образуване на AT-II и повишават химаза-зависимото му генериране. Измереното общо количество AT-II се повишава около два пъти спрямо това в нормалната среда, което е предимно за сметка на интрацелуларната (химаза-зависима) форма [9]. Налага се впечатлението, че стимулацията с глюкоза е общ механизъм за активиране на iRAS, а последната може да бъде значим фактор за свързаните с диабета усложнения като нефропатия и кардиомиопатия. У хора е описана химазо-подобна, AT-II-формираща активност в *мононуклеарни клетки*, която корелира позитивно с нивата на серумния холестерол [12].

Физиологичната и патофизиологичната роля на iRAS все още не са ясно детерминирани. Необходимо е да се установи дали тя е общ феномен или е ограничена в рамките на определени тъкани, клетки и патологични условия; дали е част от локалните RAS или е самостоятелно функционираща единица. Ефектите на iAT-II, описани в много клетки (сърдечни, съдови, бъбречни, невронални и др.), говорят по-скоро за широката и

релевантност. Макар че активацията и регулацията на iRAS се осъществяват на целуларно ниво, независимо от циркулиращата или локалната RAS, тя може да се разглежда като *продължение или алтернативна форма на локалната RAS, която се манифестира само при определени патологични условия* [7, 18]. Съществува мнение, че понятието локална RAS трябва да се предефинира с включването на две компоненти – екстрацелуларна (интерстициална) с автокринна/паракринна роля и интрацелуларна (интракринна) [4]. Известно е, че екстрацелуларният AT-II (циркулиращ, интерстициален) има кратък полуживот, а AT1-рецепторите търпят десенситизация при дълготрайно въздействие на AT-II, което предопределя краткотрайността на ангиотензиновите ефекти. Синтезираният в клетките AT-II се отличава със значителна стабилност, вероятно защото се разполага на места, които не са свързани с протеинова деградация. [17]. Данните от изследванията върху сърдечните структури дават основание за твърдението, че *iAT-II е главен регулатор в активността на локалната RAS*, което го прави важен патогенетичен фактор в сърдечното и съдовото ремоделиране [8].

Клиничното значение на знанията за iRAS е свързано с възможността за позадълбочено проникване в патогенезата на органните увреждания при редица заболявания с висока активност на RAS, но и с проблеми пред терапевтичното им овладяване посредством наличните инхибитори на RAS. Изследванията при експериментален диабет и при пациенти с диабет, сочат към важната роля на iRAS в развитието на диабетната кардиомиопатия и нефропатия. При болни от диабет миокардните нива на iAT-II са 3 пъти по-високи от тези при контролите и още 2 пъти по-високи, когато е налице и хипертония. Особена значимост има фактът, че изследваните лица са били на лечение с ACE инхибитори. [9]. Постепенно се формира консенсус, че въпреки безспорния принос на ACE инхибиторите и AT1-блокери за подобряване прогнозата при сърдечно-съдовата патология, ползата от тях е под очакваната, което може да бъде отдалено на липсващ или недостатъчен ефект върху iRAS [5]. ACE инхибиторите и AT1-блокери са в състояние да повлияят екстракринната (циркулираща и паракринна/автокринна), но не и интракринната RAS [18]. Причините за това могат да бъдат както фармакодинамични – ACE независими пътища, атипични ангиотензинови рецептори, така и фармакокинетични – невъзможен достъп на лекарствата до интрацелуларната среда [5,16]. Дори ако някои ACE инхибитори и AT1-блокери успяват да се установят вътреклетъчно, техният инхибиращ ефект върху iRAS би бил частичен. При определени условия (хипергликемия, симпатикова стимулация) iAT-II, който се произвежда в секреторните пътища, допринася директно за увеличаване на екстрацелуларните нива на AT-II, какъвто е типичният случай със сърдечните фибробласти. Повишеният екстрацелуларен AT-II от своя страна подобно на интрацелуларния провокира оксидативен стрес, апоптоза на кардиомиоцити, сърдечна фиброза. Формирацията се порочен кръг може да бъде прекъснат от приложението на ACE инхибитори и AT1-блокери, които дори без да влияят пряко върху iRAS могат да ограничат последствията от патологичната и активация. Те, обаче, не могат да блокират стимулирания от глюкозата синтез и действие на iAT-II в сърдечните миоцити. Въздействието на активирания iRAS е възможно обяснение на прогресията от микроалбуминурия към протеинурия при пациенти с диабет, въпреки ACE-инхибиращата терапия, на резистентността към антихипертензивна терапия при болни с диабет тип 2 и високата сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност при хипертоници с диабет [17]. Въпреки че ACE инхибиторите и AT1-блокери оказват определена кардиоваскуларна протекция чрез благоприятни хемодинамични ефекти, частично инхибиране на локалната RAS и независими от RAS механизми (каликреин-кининова система, PPAR γ), все по-ясно се очертава необходимостта от по-широка протекция в контекста на разбиранята за iRAS. В тази посока има положителни очаквания от приложението на ренинови инхибитори. Мощният инхибитор на човешкия ренин – алискирен, инхибира активността на екстра- и интрацелуларния ренин, благодарение на

проникване и акумулация в клетките[10]. Високите тъканни концентрации на алискирен резултират в ефект върху таргетните органи дори в дози, които не повлияват кръвното налягане. За това свидетелстват изследвания, демонстриращи редукция на атеросклеротичните лезии, албинурията и сърдечната хипертрофия без понижаване на кръвното налягане. В условия на експериментален диабет алискирен е по-ефикасен в предотвратяването на оксидативен стрес и сърдечна фиброза в сравнение с кандесартан или беназеприл [17]. Причините за по-благоприятните ефекти на алискирен в сравнение с ACE инхибиторите и AT1-блокери не могат да се търсят в повлияване на AT-II независимите механизми, присъщи на (про)рениновото взаимодействие с рецептора, тъй като рениновите инхибитори не нарушават свързването на (про)ренина към (P)RR и не инхибират произтичащата от това активация на митоген-активираните протеинкинази (MAP) и експресията на профибротични молекули. Друга област, в която не може да се очаква резултатност от страна на рениновите инхибитори е локалната продукция на AT-II в гладката мускулатура на кръвоносните съдове, която протича по ренин-независим начин при нормални и „хипергликемични” условия [9].

Изследванията върху iRAS очертават интрацелуларното пространство като място за терапевтични въздействия и дават основание за въвеждане на понятието „интракринна” фармакология на RAS. Сред наличните инхибитори на RAS най-добре покрива представата за интракринно лекарство рениновият инхибитор алискирен. „Интракринни” не е сумарно обозначение за всички лекарства с интрацелуларно действие, а само за онези, които повлияват интрацелуларните ефекти на екстрацелуларни сигнални пептиди, които оказват вътреклетъчно действие след интернализация или след ретенция в клетката, която ги синтезира [16].

Знанията за iRAS хвърлят светлина върху някои важни аспекти в патогенезата на сърдечно-съдовите заболявания и същевременно разкриват нови проблеми и предизвикателства пред терапевтичното им овладяване. Създаването на терапевтични стратегии, базирани върху интракринната фармакология, изглежда обещаващо за постигане на по-цялостни и успешни резултати в контролирането на болестите, обвързани с активирането на ренин-ангиотензинова система.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Baker, K.M., R. Kumar, 2006. Intracellular angiotensin II induces cell proliferation independent of AT1 receptor, *Am J Physiol Cell Physiol*, 5, C995-C1001
2. De Mello, W.C., J. Danser, 2000. Angiotensin II and the heart: On the intracrine renin-angiotensin system, *Hypertension*, 6, 1183-1188
3. De Mello, W.C., 2006. On the pathophysiological implications of an intracellular renin receptor, *Circ. Res.*, 12, 1285-1286
4. Filipeanu, C.M. et al., 2001. Intracellular angiotensin II: from myth to reality? *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 4, 219-226
5. Frohlich, E.D., R.N. Re, 2009. The local cardiac renin-angiotensin aldosterone system. Novel aspect of the cardiac renin-angiotensin system. Springer Science+Business media, 75-89.
6. Grobe, J.L., D. Xu, K.D. Sigmund, 2008. An intracellular renin-angiotensin system in neurons: Fact, hypothesis, or fantasy. *Physiology*, 4, 187-193
7. Kumar, R., V.P. Singh, K.M. Baker, 2007. The intracellular renin-angiotensin system: a new paradigm, *Trends Endocrinol Metab*, 5, 208-214
8. Kumar, R., V.P. Singh, K.M. Baker, 2008. The intracellular renin-angiotensin system: implication in cardiovascular remodeling. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2, 168-173.
9. Kumar, R., M.A. Boim, 2009. Diversity of pathway for intracellular angiotensin II synthesis, *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1, 33-39

10. Kumar, R., V.P. Singh, K.M. Baker, 2009. The intracellular renin-angiotensin system in the heart, *Curr Hypertens Rep*, 2, 104-110
11. Li, X.C., J.L. Zhuo, 2008. Intracellular AnG II directly induces in vitro transcription of TGF- β 1, MCP-1, and NHE-3 mRNAs in isolated rat renal cortical nuclei via activation of nuclear AT1a receptors, *Am J Physiol Cell Physiol*, 4, C1034-C1045
12. Murakami, K. et al., 2007. Positive correlation between chymase-like angiotensin II-forming activity in mononuclear cells and serum cholesterol level, *J Cardiol*, 5, 291-298
13. Re, R.N., 1984. Cellular biology of the renin-angiotensin system. – *Arch Intern Med*, 10, 2037-2041
14. Re, R.N., 2007. Intracellular renin-angiotensin system: the tip of the intracrine physiology iceberg, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2, H905-H906
15. Re, R.N, J.L. Cook, 2008. The basis of the intracrine Pharmacology, *J Clin Pharmacol*, 3, 344-350
16. Re, R.N, J.L. Cook, 2010. The mitochondrial component of intracrine action. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 299, 3, H577-H583
17. Singh, V.P. et al., 2008. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis, *Diabetes*, 12, 3297-3306.
18. Singh, V.P. et al., 2007. High glucose induced regulation of intracellular ANG II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2, H939-H948
19. Singh, V.P, K.M. Baker, R. Kumar, 2008. Activation of the intracellular renin-angiotensin system in cardiac fibroblast by high glucose: role in extracellular matrix production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 4, H1675-H1684