



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.
2015; 29 (1): 31 - 35
http://www.fusabil.org

Emre MUTLU¹
Engin ŞAHNA²
Necip İLHAN³

¹ Ordu Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı,
Ordu, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

L-NAME ve Tuz ile Oluşturulan Deneysel Hipertansiyon Modelinde Böbrek Dokusunda Renin, AT1, AT2, ADE1, ADE2, Aldosteron Düzeylerine Novokininin, Perindopril ve Losartanın Etkileri

Amaç: Bir anjiotensin tip 2 (AT2) reseptör agonisti olan novokin'in renin, anjiotensin dönüştürücü enzim 1 (ADE1), anjiotensin dönüştürücü enzim 2 (ADE2), anjiotensin tip 1 (AT1) reseptör, anjiotensin tip 2 reseptör (AT2), aldosteron gibi kardiyovasküler ve renal patolojilerin gelişiminde katılımcı olan renin anjiotensin aldosteron sistemi komponentleri üzerine etkisinin incelenmesi, bu etkilerinin klinikte kullanılan AT1 antagonisti losartan ve ADE inhibitörü perindopril gibi RAAS blokörleri ilaçlar ile karşılaştırıldığında etkili olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: 4 hafta boyunca intraperitoneal nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü, L-NAME ve içme suyuyla %1 tuz verilerek HT oluşturuldu. Perindopril (2 mg/kg/gün), losartan (2 mg/kg/gün), novokin (0.1 mg/kg/gün) son 2 hafta boyunca intraperitoneal uygulandı. Renin, AT1, AT2, ADE1, ADE2, aldosteron düzeyleri böbrek dokusunda ELISA ile ölçüldü.

Bulgular: Novokin, perindopril ve losartan tedavisi alan gruplarda ADE2 ve AT2 reseptör seviyesinde böbrek dokusunda anlamlı artış gözlemlenirken aldosteron seviyesinde ise anlamlı azalma görüldü.

Sonuç: AT2 reseptör agonist novokin'in böbrek dokusu da koruyucu etkilerinin olabileceği düşünülebilir. Hipertansiyonun tedavisinde ve hedef organ hasarını önlemede AT2 agonistlerinin potansiyel yararlarını sergileyebilmek için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ahtar Kelimeler: Novokin, renin anjiotensin sistem, anjiotensin tip 2 reseptör.

The Effects of Perindopril, Novokin and Losartan on Renin, AT1, AT2, ACE1, ACE2, Aldosterone on Renal Tissue in Experimental Hypertension Model Induced by L-NAME and Salt

Objective: In this study we investigated the effects of novokin, an angiotensin type 2 (AT2) receptor agonist, on RAAS components such as renin, angiotensin converting enzyme 1 (ACE1), angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), angiotensin type 1 (AT1) receptor, angiotensin type 2 (AT2) receptor, aldosterone which are associated with cardiovascular pathology. We compared the effects of AT1R antagonist losartan, ACE inhibitor perindopril and AT2R agonist novokin on these parameters. We purposed to clarify how novokin affects the participant pathways which lead to renal damage, and we also evaluated whether novokin is effective compared to other RAAS blockers.

Materials and Methods: L-NAME was administrated intraperitoneally, salt was given with drinking water (1%) for 4 weeks. Perindopril (2mg/kg/day), losartan (2 mg/kg/day), novokin (0.1 mg/kg/day), were administrated intraperitoneally for the last 2 weeks. Renin, ACE1, ACE2, AT1R, AT2R, aldosterone were measured by ELISA in the renal tissue.

Results: In novokin, perindopril and losartan-treated group ADE2 and AT2 receptor levels in the renal tissue showed a significant increase while there was a significant decrease in the level of aldosterone.

Conclusions: These findings have suggested that novokin may exert a protective role in the renal injury. Further experimental studies are needed to exhibit potential benefits of AT2 receptor in hypertension and end organ damage.

Key Words: Novokin, renin angiotensin system, angiotensin type 2 receptor.

Giriş

Renin anjiotensin aldosteron sistemi (RAAS), kan basıncının ve ekstraselüler sıvı volümünün düzenlenmesinde normotansif ve hipertansif kişilerde önemli bir mediatördür (1, 2). Anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE)/Anjiotensin II (Ang II)/Anjiotensin tip 1 reseptör (AT1) ekseninin aktivasyonu vazokonstriksiyona, antiüremize, antinatriüremize, aldosteron ve antiüretik hormon salınımına neden olmakta hipertansiyon, renal ve kardiyovasküler hastalıklarla sonuçlanmaktadır (3). ADE veya AT1 reseptör blokajı kalp hastalıkları ve hipertansiyon tedavisinde oldukça sık kullanılmaktadır (4).

Geliş Tarihi : 27.01.2015
Kabul Tarihi : 27.03.2015

Yazışma Adresi Correspondence

Emre MUTLU
Ordu Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim
Dalı,
Ordu-TÜRKİYE

dremremutlu@yahoo.com

Ang II'nin diğer bir reseptörü olan anjiyotensin tip 2 (AT2) reseptörünün uyarılması vazodilatör, antiproliferatif, proapoptotik, antihipertrofik, antiaritmik, antitrombotik etkiler gösterir (5)

Aldosteronun AT1 reseptörü gibi tek başına NADPH oksidaz enzimi indükleyici ve organ patoloji gelişimini provoke edici etkileri olduğu belirtilmiştir (6). Yine aldosteronun NADPH oksidaz enzimini modüle ederek proinflamatuvar ve profibrotik etkiler gösterdiği direkt organ hasarına sebep olabileceği literatürde bildirilmektedir (7).

Lokal Ang II sentezinin keşfi, yeni Ang II metabolit ve reseptörleri renal ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinin mümkün olabileceğini ortaya koymaktadır. Örneğin ADE2/Ang(1-7)/Mas ve Anjiyotensin tip 2 (AT2) reseptör eksenini, AT1 reseptör aktivasyonu ile meydana gelen etkilere zıt yönde etkiler gösterir (8).

ADE2 AngII'yi Ang(1-7)'e çeviren bir monokarboksipeptidazdır. Ang II'nin yıkımını sağlayarak bu mediatörün AT1 reseptörü aracılığıyla toksik etkilere sebep olmasını engelleyebilmektedir. Ayrıca ADE2 nin ürettiği Ang(1-7), Mas reseptörünü indükleyerek vazodilatör, natriüretik, antiproliferatif, antihipertrofik, antifibrotik etkiler göstererek ve bradikinin NO sisteminin stimülasyonuna sebep olarak AT1 reseptörünün zararlı etkilerini antagonize edebilmektedir (9). ADE2 vazokonstriktif, hipertrofik, proliferatif etkiler gösteren Ang II'nin Ang(1-7)'ye dönüşümünde esas rolü almasına bağlı olarak bu enzimin hipertansiyon, kardiyovasküler ve renal hastalıkların fizyopatolojisinde anahtar olabileceği ortaya atılmıştır (10). Son deneysel ve klinik çalışmalar serum veya idrardaki ADE2 düzeyinin kardiyorenal hastalıkların diağnoz ve prognozunun tayininde yeni biyomarker gibi kullanılabilirliğini konusunda kanıtlar sağlamıştır.

Novokinin, AT2 reseptör agonisti, potent hipotansif bir peptiddir (11). Novokinin'in spontan hipertansif sıçanlarda 0.1 mg/kg dozda oral uygulanarak kan basıncını anlamlı şekilde düşürdüğü gözlenmiştir (12). AT2 reseptör antagonisti PD123319 verildiğinde hipotansif etkisi bloke olmuştur (12). Ayrıca AT2 reseptör defisit farelerde, novokinin hipotansif etki gösterememiştir. Novokinin spontan hipertansif sıçan mesenterik arterlerinde AT2 reseptörü aracılığıyla vazodilatör etki göstermiştir (12). Mesenterik arterlerdeki vazodilatör etkisi PD123319, siklooksijenaz inhibitörü indometazin ve prostaglandin reseptör antagonisti CAY10441 tarafından anlamlı şekilde bloke edilmiştir (12).

AT2 reseptör agonisti olan novokinin'in renin, ADE1, ADE2, AT1, AT2, aldosteron gibi RAAS komponentleri üzerine etkisini inceleyen yeterince araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada novokinin'in L-NAME ve tuz uygulanan NO blokajı ve tuz yüklemesi ile HT oluşturulan, sıçanlarda renal dokuda RAAS komponentleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. AT1R antagonisti losartanın, ADE

inhibitörü perindoprilin ve AT2R agonisti novokinin'in bu parametrelere etkisi karşılaştırmalı olarak incelendi.

Gereç ve Yöntem

Araştırmada 220-260 g ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar (n=35) kullanıldı. Sıçanlar standart şartlarda (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırmalı, sabit ısı odalarda) kafeslerde barındırıldı.

Her bir grupta 7 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı (n=35).

1. Grup: Kontrol; serum fizyolojik (0.5 cc/gün i.p. 4 hafta boyunca)

2. Grup: Hipertansiyon (HT); Sıçanlara 4 hafta boyunca içme suyunda %1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. verildi.

3. Grup: HT + perindopril; Sıçanlara 4 hafta boyunca içme suyunda %1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. verildi. İkinci haftadan sonra perindopril 2 mg/kg/gün i.p. 2 hafta verildi (13, 14).

4. Grup: HT + Losartan; Sıçanlara 4 hafta boyunca içme suyunda %1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. verildi. İkinci haftadan sonra losartan 2 mg/kg/gün i.p. 2 hafta boyunca uygulandı (14-15).

5. Grup: HT + Novokinin; Sıçanlara 4 hafta boyunca içme suyunda %1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. verildi. İkinci haftadan sonra novokinin 0.1 mg/kg/gün i.p. 2 hafta boyunca uygulandı (11).

Biyokimyasal Analizler: Renin (Eastbiopharm Katolog No: CK-E30226), ADE1 (Eastbiopharm Katolog No: CK-E30669), ADE2 (Sun Red Katolog No: 201-11-0814), Aldosteron (Cusabio Katolog No: CSB-607025), AT1 (Sunred Katolog No: 201-11-1635), AT2 (Eastbiopharm Katolog No: E90206) düzeyleri böbrek dokusunda ELİSA ile ölçüldü.

Kullanılan Kimyasallar: L-NAME, Perindopril, Losartan, novokinin (Sigma Aldrich Inc.St. Louis, MO. A.B.D) firmasından satın alındı.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen veriler ortalama (ort) ± standart hata (SH) olarak belirtildi. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için paket istatistik programı kullanıldı. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda "one-way ANOVA" ve "independent-t" testleri ile hesaplandı. Aynı grubun farklı zaman noktalarındaki değerleri arasındaki fark değerlendirmek için "paired t test" kullanıldı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

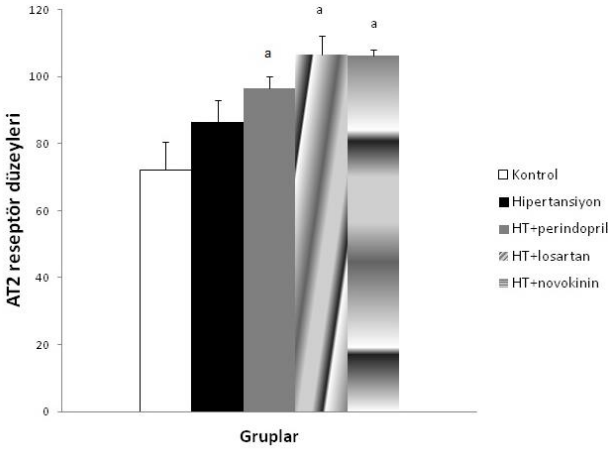
Bulgular

Böbrek dokusunda Renin, ADE1, ADE2, Aldosteron, AT1, AT2 düzeyleri: AT2 reseptör düzeyleri perindopril, novokinin ve losartan tedavisi alan gruplarda kontrole göre artış gösterdi (Şekil 1).

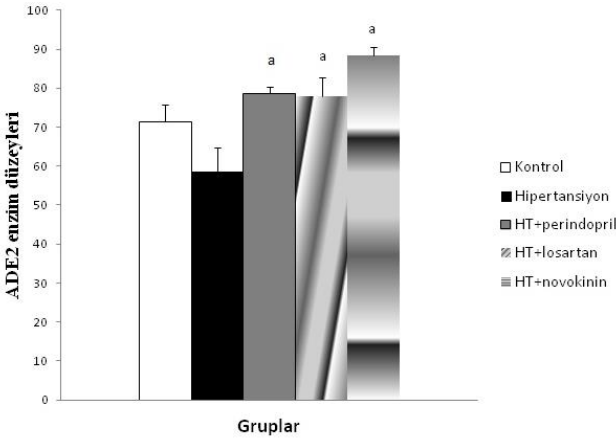
ADE2 enzim düzeyleri perindopril, novokin ve losartan tedavisi alan gruplarda hipertansiyona göre anlamlı yüksekti (Şekil 2).

Hipertansiyon grubunda aldosteron düzeyi kontrole göre artış göstermekle birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. Aldosteron düzeyleri novokin perindopril ve losartan uygulanan gruplarda hipertansiyona göre anlamlı düşüktü (Şekil 3).

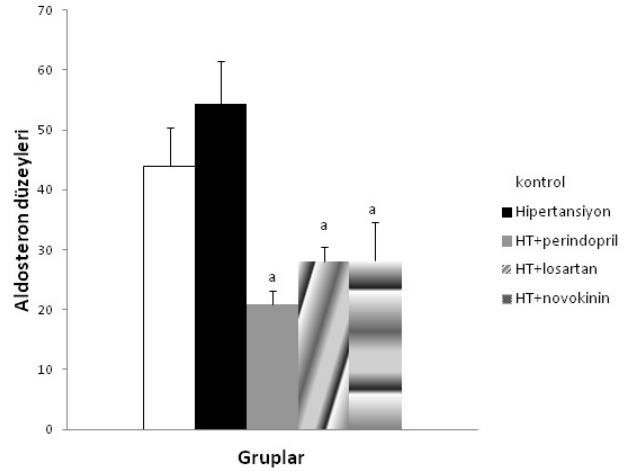
ADE1, renin ve AT1 reseptör düzeylerinde gruplar arası anlamlı fark görülmedi.



Şekil 1. Böbrek dokusunda AT2 reseptör düzeyleri a, Kontrol grubuna göre anlamlı; $P < 0.05$



Şekil 2. Böbrek dokusunda ADE2 düzeyleri a, Hipertansiyon grubuna göre anlamlı; $P < 0.05$



Şekil 3. Böbrek dokusunda aldosteron düzeyleri a, Hipertansiyon grubuna göre anlamlı; $P < 0.05$

Tartışma

AT2 reseptör agonisti novokin'in L-NAME ve tuz uygulanan sıçanlarda böbrek dokusunda ADE2 ve AT2 reseptör düzeyini artırdığı aldosteronu ise azalttığı ilk kez bu araştırmada belirlenmiştir.

Yapılan çalışmanın önemli bir bulgusu; L-NAME ve tuz alan grupta böbrek dokusunda ADE2 düzeyinin azalma eğiliminde olduğu gözlemlenirken, novokin, perindopril ve losartan uygulamasının ADE2 düzeyini yükseltmesiydi. Önceki araştırmalar ADE2 enziminin böbrek dokusunda yüksek seviyede ekspresye olduğunu, özellikle tubuler epitelyal hücrelerde, glomeruler epitelyal hücrelerde ve renal damarlarda lokalize olduğunu ortaya çıkarmıştır (16). ADE2 aktivitesinin diabetik böbrek hastalıkları, hipertansif böbrek hastalıklarında ve farklı renal hasar modellerinde değiştiği gösterilmiştir. Spontan hipertansif sıçanlarda yapılan bir çalışmada böbrek ADE2 ekspresyonunun düşük olduğu belirlenmiştir (17). Başka bir araştırmada ADE2 nin böbrek düzeyinin hipertansiyon başlangıcından önce değiştiği rapor edilmiştir (18). Deneysel hipertansiyon modelinde ARB'lerin ve ADE inhibitörlerinin herikisinde renal kortikal dokuda ADE2 ekspresyon düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir (19). 2 böbrek 1 klip modeliyle oluşturulan hipertansif sıçanlarda, renal ADE2 mRNA düzeyinin ve aktivitesinin düştüğü, buna karşın ADE ekspresyonunun arttığı, bu artışın ise Ang II yapımını yükselterek ADE2 düzeyinde düşüşe sebep olduğu belirtilmiştir (20). Yüksek tuz diyeti alan obez sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise ADE2/AT2R/MasR ekspresyonunun renal kortikal dokuda düştüğü buna karşın Ang II seviyesinin ise arttığı

bildirilmiştir (21). ADE2 ekspresyonundaki düşüşün belirgin AngII/AT1 düzeyindeki artışa bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Bernardi ve ark. (20) tarafından yapılan bir çalışmada ise yüksek tuz diyetinin glomeruler ADE/ADE2 mRNA ve protein düzeyini arttığı, bu artışın ise tuz diyetinin sebep olduğu oksidatif stresle ilişkili olabileceği ayrıca ADE/ADE2 oranının tuza bağlı renal hasarların değerlendirilmesinde kullanılabilmesi kabul edilmiştir. Bu çalışmada da hipertansif grupta ADE2 düzeyinin azalması L-NAME ve tuzun neden olduğu oksidatif stres artışının sonucuna bağlı olduğu önceki çalışmalar ışığında önesürülebilir.

ADE2 AngII'yi Ang(1-7)'e çeviren bir monokarboksipeptidazdır. Ang II'nin yıkımını sağlayarak bu mediatörün AT1 reseptörü aracılığıyla toksik etkilere sebep olmasını engelleyebilmektedir. Ayrıca ADE2 nin ürettiği Ang(1-7) Mas reseptörünü indükleyerek vazodilatator, natriüretik, antiproliferatif, antihipertrofik, antifibrotik etkiler göstererek ve bradikinin NO sisteminin stimülasyonuna sebep olarak AT1 reseptörünün zararlı etkilerini antagonize edebilmektedir (9). Bu bağlamda ADE2 enzimi organ koruyucu etkide kritik role sahiptir (22). Bizim çalışmamızda perindopril ve losartan RAAS'ı baskılayarak bu sistemin zararlı komponentlerinin ADE2 düzeyini azaltmasını engellemiş olduğu söylenebilir. İlâveten perindopril ve losartanın oksidatif stresi azaltmasında ADE2 seviyesinin yükselmesinde bir etken olduğu kabul edilebilir. Perindopril ve losartanın ADE2 seviyesini artırması bu ilaçların organ koruyucu etkinitesinde önemli rol oynayabileceğini önceki çalışmalarla bizim bulgularımızı birleştirerek ortaya koyabiliriz. Ayrıca novokinin de renal ADE2 enzim seviyesini anlamlı artırmıştır. Bu bulgunun yapılan araştırmanın ortaya koyduğu yeni ve farklı sonuçlardan biri olduğu söylenebilir. AT2 reseptör agonisti novokinin'in antioksidan etkisinin bulunması renal ADE2 düzeyini artırması için bir neden olduğu öne sürülebilir. Novokinin ADE2/Ang(1-7)/Mas reseptör yolağını yani RAAS'ın faydalı kısmını indükleyerek AT1 reseptör aracılığıyla meydana gelen toksik etkileri bozabilir ve böylece organ koruyucu etki sağlayabilir.

Böbrek dokusunda AT2 reseptör düzeyleri perindopril ve losartan uygulanan gruplarda artış gösterdi. ADE/AngII/AT1 reseptör eksenine ADE2/Ang(1-7)/Mas ve AT2 reseptör eksenine arasında negatif korelasyon olduğu bilinmektedir. Perindopril ve losartan ADE/AngII/AT1 reseptör eksenine yani RAAS'ın zararlı tarafını baskılayarak ADE2/Ang(1-7)/Mas ve AT2 reseptör eksenine yani RAAS'ın faydalı kısmının düzeyini artırmış olabilir. Novokinin oksidatif stres ve RAAS'ın toksik bileşenlerin yerel aktivasyonunu azaltabilir, böylece

novokinin böbrek dokusunda AT2 reseptör düzeyini artırabilir. Bu bulgu, kardiyak ve böbrek hastalıklarında novokinin terapötik değeri olup olmadığının tespiti için önemli olabilir.

Mevcut çalışmanın diğer bulgusu L-NAME ve tuz alan grupta, böbrekte aldosteron seviyesi yükselmesi, perindopril, novokinin ve losartan tedavisi alan grupta bu artış önlenmesidir. L-NAME ve tuz indüklü hipertansiyon modeliyle RAAS aktivasyonu arasındaki pozitif korelasyon ele alındığında, aldosteron seviyesindeki yükselme literatürdeki diğer araştırmalarla paralel bir sonuç olarak görölmektedir. AT2 reseptörünün antioksidan etkisi (23, 24) dolayısıyla novokinin RAAS'ın yerel aktivasyonunu engellemiş ve böbrek dokusundaki aldosteron seviyesini düşürmüş olabilir. Bu sonuç mevcut çalışmanın bir diğer önemli bulgusu olabilir. Çünkü aldosteron reaktif oksijen ürünleri (ROS) üretimi için gerekli olan NADPH oksidaz enziminin büyük altbirim olan p22phox seviyelerinde artışı indüklediği, oksidatif stres üzerine doğrudan etkisi olduğu tespit edilmiştir (6). Aldosteron pro-enflamatuar ve pro-fibrotik etki gösterir; NADPH oksidaz aktivasyonu ile aldosteronun neden olduğu oksidatif stres hedef hücre ve organ hasarına sebep olabilmektedir (7). Novokinin aldosteron seviyesini azaltma yeteneği sayesinde oksidatif stresi ve böbrek hasarı gelişimini azaltabilir. Benzer şekilde perindopril ve losartanın aldosteron seviyesini düşürmesi de bu ilaçların organ koruyucu etkisindeki diğer bir faktör olduğu söylenebilir.

Hipertansiyon kaynaklı kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları tüm dünyada en yaygın ölüm nedenidir. RAAS bu hastalıkların tedavisinde önemli bir hedef olmuştur. Bununla birlikte, ADE inhibitörleri veya ARB'ler ile RAAS blokajı yapılmakta ancak karşıt düzenleyici mekanizmalar nedeniyle yeterli başarı sağlanamamaktadır. Bu nedenle RAAS ile ilişkili yeni farmakolojik yaklaşımlar denenmektedir. Örneğin novokinin gibi AT2 reseptör agonistleri böbrek gibi hedef organlarda koruma sağlayabilir. AT2 reseptör agonistleri ADE inhibisyonu veya AT1 reseptör blokörleri ile kombine edilebilir; Ang II ve aldosteron üretimini, AT1 reseptör aracılı toksik etkileri bozabilirler.

AT2 reseptör agonisti olan novokinin'in L-NAME ve tuz uygulanan sıçanlarda renin, ADE1, ADE2, AT1, AT2, aldosteron seviyelerine böbrek dokusundaki etkisi bu çalışmada araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre novokinin ADE2 ve AT2 seviyesini artırırken aldosteron düzeyini ise düşürmüştür. Bu sonuçlar yeni çalışmalara ihtiyaç olmakla birlikte novokinin'in böbrek dokusu da koruyucu etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Jenum AK, Anderssen SA, Birkeland KI, et al. Promoting physical activity in a low-income multiethnic district: Effects of a community intervention study to reduce risk factors for type 2 diabetes and cardiovascular disease: A community intervention reducing inactivity. *Diabetes Care* 2006; 29: 1605-1612.
2. Lizakowski S, Tylicki L, Rutkowski B. Direct renin inhibition - a promising strategy for renal protection? *Med Sci Monit* 2013; 19: 451-457.
3. Escobar C, Echarri R, Barrios V. Emerging drug combinations to optimize renovascular protection and

- blood pressure goals. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2012; 5: 69-80.
4. Bohm M. Angiotensin receptor blockers versus angiotensin-converting enzyme inhibitors: Where do we stand now? *Am J Cardiol* 2007; 100: 38-44.
 5. Probstfield JL, O'Brien KD. Progression of cardiovascular damage: The role of renin-angiotensin system blockade. *Am J Cardiol* 2010; 105: 10-20.
 6. Park YM, Lim BH, Touyz RM, Park JB. Expression of NAD(P)H oxidase subunits and their contribution to cardiovascular damage in aldosterone/salt-induced hypertensive rat. *J Korean Med Sci* 2008; 23: 1039-1045.
 7. Oberleithner H. Aldosterone makes human endothelium stiff and vulnerable. *Kidney Int* 2005; 67: 1680-1682.
 8. Kanda T, Itoh H. The ACE2/Ang(1-7)/Mas receptor axis in cardiovascular and renal diseases. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1487-1491.
 9. Iwai M, Horiuchi M. Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. *Hypertens Res* 2009; 32: 533-536.
 10. Varagic J, Ahmad S, Nagata S, Ferrario CM. ACE2: angiotensin II/angiotensin-(1-7) balance in cardiac and renal injury. *Curr Hypertens Rep* 2014; 16: 420.
 11. Yamada Y, Yamauchi D, Usui H, et al. Hypotensive activity of novokin, a potent analogue of ovokin(2-7), is mediated by angiotensin AT(2) receptor and prostaglandin IP receptor. *Peptides* 2008; 29: 412-418.
 12. Yamada Y, Yamauchi D, Yokoo M, et al. A potent hypotensive peptide, novokin, induces relaxation by AT2- and IP-receptor-dependent mechanism in the mesenteric artery from SHR. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72: 257-259.
 13. Cousin M, Custaud MA, Baron-Menguy C, et al. Role of angiotensin II in the remodeling induced by a chronic increase in flow in rat mesenteric resistance arteries. *Hypertension* 2010; 55: 109-115.
 14. Griffiths CD, Morgan TO, Delbridge LM. Effects of combined administration of ACE inhibitor and angiotensin II receptor antagonist are prevented by a high NaCl intake. *J Hypertens* 2001; 19: 2087-2095.
 15. Murali B, Goyal RK. Effect of chronic treatment with losartan on streptozotocin induced diabetic nephropathy. *Clin Exp Hypertens* 2001; 23: 513-520.
 16. Soler MJ, Wysocki J, Battle D. ACE2 alterations in kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 2687-2697.
 17. Zhong JC, Huang DY, Yang YM, et al. Upregulation of angiotensin-converting enzyme 2 by all-trans retinoic acid in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 44: 907-912.
 18. Tikellis C, Cooper ME, Bialkowski K, et al. Developmental expression of ACE2 in the SHR kidney: A role in hypertension? *Kidney Int* 2006; 70: 34-41.
 19. Jessup JA, Gallagher PE, Averill DB, et al. Effect of angiotensin II blockade on a new congenic model of hypertension derived from transgenic Ren-2 rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 2166-2172.
 20. Bernardi S, Toffoli B, Zennaro C, et al. High-salt diet increases glomerular ACE/ACE2 ratio leading to oxidative stress and kidney damage. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 1793-800.
 21. Samuel P, Ali Q, Sabuhi R, Wu Y, Hussain T. High Na intake increases renal angiotensin II levels and reduces expression of the ACE2-AT(2)R-MasR axis in obese Zucker rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303: 412-419.
 22. Ma C, Xin H, Jiang XY, Wang YX, Zhang YS. Relationship between renal injury and the antagonistic roles of angiotensin-converting enzyme (ACE) and ACE2. *Genet Mol Res* 2014; 13: 2333-2342.
 23. Rehman A, Leibowitz A, Yamamoto N, et al. Angiotensin type 2 receptor agonist compound 21 reduces vascular injury and myocardial fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2012; 59: 291-299.
 24. Sabuhi R, Ali Q, Asghar M, Al-Zamily NR, Hussain T. Role of the angiotensin II AT2 receptor in inflammation and oxidative stress: Opposing effects in lean and obese Zucker rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: 700-706.