



## The effects of Mas receptor antagonist (A779) and renal perfusion pressure on serum nitrite concentration in male and female rats when angiotensin II receptors 1 & 2 were blocked

Azam Mansoori<sup>1,2</sup>, Sharebanoo Oryan<sup>2</sup>, Mehdi Nematbakhsh<sup>1,3\*</sup>

1. Water & Electrolytes Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2. Dept. of Biology, University of Kharazmi, Tehran, Iran

3. Dept. of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 14 Jul 2014

Accepted: 25 Sept 2014

### Abstract

**Introduction:** Renin angiotensin system has an important role in blood pressure and renal functions. Active angiotensin-converting enzyme 2 converts angiotensin I into angiotensin-(1-7) which is a vasodilator hormone and interacts with nitric oxide changes as well as other angiotensin II receptors. In this study we evaluated the role of Mas receptor antagonist (A779) and renal perfusion pressure (RPP) on serum nitric oxide metabolite (nitrite) concentration when angiotensin II receptors (AT1R & AT2R) were blocked.

**Methods:** After angiotensin II receptors blockage in anesthetized male and female rats, RPP was maintained at two levels 80 & 100 mmHg by occluder around aorta above the renal arteries, and the effects of placebo and A779 on concentration of serum nitrite level were studied.

**Results:** The results showed that when angiotensin II receptors were blocked, the serum level of nitrite in both sexes, was not dependent on angiotensin-(1-7) receptor and did not change statistically, but by increasing renal perfusion pressure and in the presence of angiotensin-(1-7) receptor the serum level of nitrite increased significantly ( $p < 0.05$ ) in male rats but not in female rats.

**Conclusion:** Using angiotensin II receptors blockades and by increase of RPP, the serum level of nitrite is sex-related. This study showed the importance of Mas receptor in male sex when AT1R & AT2R were blocked.

**Key words:** Angiotensin-(1-7), Mas receptor, Angiotensin II receptors, Nitrite

\* Corresponding author e-mail: [nematbakhsh@med.mui.ac.ir](mailto:nematbakhsh@med.mui.ac.ir)  
Available online at: [www.phypha.ir/ppj](http://www.phypha.ir/ppj)

## اثر بلوکر رسپتور A779 (Mas) و فشار پرفیوژن کلیوی بر غلظت نیتريت در حالت بلوک گیرنده‌های ۱ و ۲ آنژیوتانسین II در رت‌های نر و ماده

اعظم منصوری<sup>۱،۲</sup>، شهربانو عریان<sup>۲</sup>، مهدی نعمت بخش<sup>۱،۳\*</sup>

۱. مرکز تحقیقات آب و الکترولیت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

۲. گروه فیزیولوژی، دانشگاه خوارزمی، تهران

۳. گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

پذیرش: ۳ مهر ۹۳

دریافت: ۲۳ تیر ۹۳

### چکیده

**مقدمه:** سیستم رنین-آنژیوتانسین نقش مهمی را در اعمال کلیوی و فشارخون دارد. هومولوگ فعال ACE، آنزیم ۲ تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE<sub>2</sub>)، آنژیوتانسین ۱ را به آنژیوتانسین (۱-۷) تبدیل می‌کند که یک هورمون وازودیلاتوری است که در واکنش با تغییرات نیتريك اکسید و دیگر گیرنده‌های آنژیوتانسین II نیز قرار دارد. در این مطالعه نقش آنتاگونیست رسپتور آنژیوتانسین (۱-۷) (A779) در حالت بلوک گیرنده‌های آنژیوتانسین II بر تغییرات غلظت نیتريك اکسید در دو سطح متفاوت از فشار پرفیوژن کلیوی بررسی شد.

**روش‌ها:** در رت‌های نر و ماده بیهوش شده، بعد از اینکه رسپتورهای آنژیوتانسین II بلوک شدند، فشار پرفیوژن کلیوی در دو سطح ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌متر جیوه بوسیله اکولودر دور آئورت در بالای سطح سرخرگ کلیوی کنترل و سپس اثرات پلاسبو و A779 بر سطح سرمی متابولیت نیتريك اکسید (نیتريت) بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که در حالت بلوک شدن گیرنده‌های آنژیوتانسین II، سطح سرمی نیتريت در هر دو جنس مستقل از رسپتور آنژیوتانسین (۱-۷) بود و تغییر نکرد. اما با افزایش فشار پرفیوژن کلیوی و بدون بلوک شدن رسپتور آنژیوتانسین (۱-۷)، در رت‌های نر و نه در رت‌های ماده سطح سرمی نیتريت افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** زمانی که رسپتورهای آنژیوتانسین II بلوک باشند با افزایش فشار پرفیوژن کلیوی در حضور رسپتور Mas سطح نیتريت سرمی خون وابسته به جنس است که این مطالعه اهمیت رسپتور Mas را در جنس نر در حالت بلوک گیرنده‌های ۱ و ۲ آنژیوتانسین II نشان داد.

**واژه‌های کلیدی:** آنژیوتانسین (۱-۷)، رسپتور Mas، رسپتورهای آنژیوتانسین II، نیتريت

### مقدمه

آنژیوتانسین، آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE)، آنژیوتانسین ۱ (Ang I) را به آنژیوتانسین ۲ (Ang II) تبدیل می‌کند [۱۰]. هومولوگ فعال ACE، آنزیم ۲ تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE<sub>2</sub>)، آنژیوتانسین ۱ را به آنژیوتانسین (۱-۷) (Ang 1-7) و آنژیوتانسین (۱-۹) تجزیه می‌کند [۳۶]. آنژیوتانسین ۲ دارای دو رسپتور (رسپتور ۱ (AT1R) و رسپتور ۲ (AT2R)) و آنژیوتانسین (۱-۷) دارای یک رسپتور (رسپتور Mas (MasR)) است [۳۴]. فعالیت AT1R سبب تعدادی اعمال بیولوژیکی همچون احتباس سدیم، انقباض

سیستم رنین-آنژیوتانسین نقش مهمی در اعمال کلیوی و فشارخون دارد [۷] و این سیستم در پیشگیری و درمان اختلالات همودینامیک در سیستم قلبی عروقی مخصوصاً در فشار خون حائز اهمیت است [۴۲]. در سیستم رنین-

\* نویسنده مسئول مکاتبات: nematbakhsh@med.mui.ac.ir

وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

شود [۳، ۴]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که بیماری‌های کلیوی در مردان با کاهش NO همراه می‌شود و همچنین نشان داده شده است که رگ‌های کلیوی نرها بیشتر نسبت به ماده‌ها وابسته به NO است [۱، ۲۱، ۴۷]. از طرف دیگر تداخل احتمالی بین گیرنده‌های سیستم رنین-آنژیوتانسین و سنتز NO [۲۸] و شناخت این فرآیند می‌تواند راهگشای ایده‌های جدید درمانی باشد لذا این پروژه با هدف نقش رسپتور Mas بدون حضور دیگر گیرنده‌های آنژیوتانسین II بر تغییرات غلظت NO در دو سطح متفاوت از فشار پرفیوژن کلیوی بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

۲۸ رت نر ( $190 \pm 2/3$  گرم) و ۲۸ رت ماده ( $180 \pm 1/3$  گرم) از نژاد ویستار استفاده شد. رت‌ها در لانه‌های جدا در دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد با یک دوره ۱۲ ساعته تاریکی/روشنایی نگهداری شدند دوره تاریکی بین ساعت ۱۹ تا ۷ در نظر گرفته شد.

**جراحی:** رت‌ها با این اکتین یا تیوبوتاباریتال (Inactin; thiobutabarbital, 175 mg kg<sup>-1</sup> i.p. Sigma, St Louis, MO, U.S.A.) بیهوش شدند. کاتتر داخل شریان کاروتید چپ جهت ثبت فشار شریانی، شریان رانی چپ به منظور تعیین فشار پرفیوژن کلیوی [۲۸] و ورید ژوگولار چپ جهت انفوزیون جاگذاری شد. همچنین یک کاتتر در مثانه برای جمع‌آوری ادرار قرار داده شد. فشار پرفیوژن کلیوی با استفاده از اکولودری که دور آئورت در بالای سطح سرخرگ کلیوی جاگذاری شد کنترل می‌گردید. فشار پرفیوژن کلیوی از سرخرگ فمورال اندازه‌گیری شد. با برشی بر ناحیه پهلو، کلیه چپ در ظرف مخصوص کلیوی گذاشته شد و پس از مجزا کردن شریان و ورید کلیوی در ناف کلیه، پروب اندازه‌گیری جریان خون کلیوی (Transonic Systems, Ithaca, NY, U.S.A.) اطراف سرخرگ کلیوی فیکس شد و جریان خون کلیوی با استفاده از فلومتر مونیتور شد. دمای بدن حیوان در طی آزمایش مرتباً مونیتور شد. ۳۰ تا ۶۰ دقیقه برای زمان تعادل در نظر گرفته شد.

**فرآیند آزمایش:** پس از اتمام زمان تعادل، رت‌های نر و

ماهیچه صاف رگی، کاهش میزان فیلتراسیون گلوبولوی، افزایش هیپرتروفی سلول مزانژیال و آسیب کلیوی می‌شود [۳۴، ۴۴]. همچنین با تشکیل انواع واکنش‌دار اکسیژن (ROS) نشان داده شده است که نیتریک اکسید (NO) باعث وازوکانستریکشن غیر مستقیم می‌شود [۴۲]. AT2R و MasR اثرات AT1R را آنتاگونیست می‌کند [۴۱] و بنابراین باعث وازودیلاسیون می‌شود که جریان خون کلیوی را بهبود می‌دهد و فشار ناتریورز را افزایش می‌دهد [۶، ۱۸]. آنژیوتانسین (۱-۷) به عنوان یکی از محصولات فعال بیولوژیکی پایانی سیستم رنین آنژیوتانسین است [۵، ۱۰، ۱۳، ۳۰] و همچنین به عنوان یک هورمون وازودیلاتوری و ضد تکثیر نام برده می‌شود. آنژیوتانسین (۱-۷) خواص وازودیلاتوری را با تحریک رهایی پروستاگلاندین‌ها، NO و فاکتور هیپرپلازیه‌کننده مشتق شده از آندوتلیوم و واکنش متقابل با رسپتورهای برادی‌کینین انجام می‌دهد و آنتاگونیست فیزیولوژی آنژیوتانسین II است [۲۳]. عدم تعادل بین وظایف NO و آنژیوتانسین II در بسترهای رگی یکی از فاکتورهای پاتولوژی مهم در بیماری‌های قلبی عروقی در نظر گرفته می‌شود. بنابراین کاهش سنتز آنژیوتانسین II توسط بازدارنده‌های ACE یا جلوگیری از فعالیت آنژیوتانسین II بر AT1R، استراتژی فارماکولوژی مهمی برای درمان فشارخون می‌باشد که این عمل را از طریق افزایش وازودیلاتورهایی مانند NO انجام می‌دهد [۱۵].

مقاومت رگی کلیوی با جلوگیری از سنتز NO افزایش داده می‌شود. NO از ال-آرژنین توسط سنتز آندوتلیالی شکل می‌گیرد [۳۲] که به عنوان یک ترانسمیتر داخل سلولی مورد توجه قرار می‌گیرد و نقش مهمی را در تنظیمات جریان خون، افزایش وازودیلاسیون، پایین آوردن فشارخون سیستمیک، بازدارندگی از تجمع پلاکت‌ها و چسبندگی، بازدارندگی از چسبندگی لوکوسیت‌ها و تزاید ماهیچه صاف و بازدارندگی از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌های با دانسیته‌ی کم ایفا می‌کند [۱۷]. NO همچنین یک ماده ناتریورتیک می‌باشد که یک نقش مهم را در کنترل همودینامیک کلیه و دفع سدیم ایفا می‌کند [۲۶]. در رت‌های دارای فشارخون ذاتی، آنژیوتانسین (۱-۷) باعث شده که فشارخون سرخرگی توسط فرآیند دیورز و ناتریورز همراه با افزایش وازودیلاتورهای ادراری پایین آورده

اینکه سالین به جای A779 دریافت کردند.

گروه‌های ۷ و ۸: همانند گروه ۳ و ۴ تیمار شدند به جز

اینکه سالین به جای A779 دریافت کردند.

در پایان آزمایش رت‌ها کشته شده نمونه‌های خونی در پایان آزمایش از طریق کاتر جمع آوری شد. و مجدداً غلظت نیتريت سرم تعیین شد. سطح سرمی نیتريت با استفاده از الیزا و متد Griess (Promega Corporation, USA) اندازه‌گیری شد.

آنالیزهای آماری: آزمون t-test برای مقایسه سطح سرمی نیتريت بین گروه‌های آزمایش استفاده شد. تمامی داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین (Mean $\pm$ SEM) گزارش و P-value کمتر از ( $P < 0.05$ ) به عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. همه بررسی‌های آماری توسط نرم افزار SPSS-۱۶ انجام شد.

## یافته‌ها

اثر بلوک‌رستپور Mas (A779) بر سطح سرمی نیتريت: نتایج نشان داد در شرایطی که AT1R و AT2R مهار گردیده است (بدون اینکه دخالتی در فشار پرفیوژن کلیوی حیوانات بوسیله کولودر انجام شود) مهار یا آزاد بودن رسپتور Mas تغییرات معنی‌داری در غلظت نیتريت سرم بین جنس نر و ماده ایجاد نمی‌کند (شکل ۱).

نتایج نشان داد در شرایطی که AT1R و AT2R مهار گردیده است عدم مهار رسپتور Mas تغییرات معنی‌داری را در غلظت نیتريت سرم در دو فشار پرفیوژن کلیوی ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌متر جیوه در رت‌های ماده ایجاد نکرد در صورتیکه در رت‌های نر عدم مهار Mas موجب افزایش معنی‌دار سطح سرمی نیتريت در فشار پرفیوژن کلیوی ۱۰۰ میلی‌متر جیوه شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۲).

## بحث

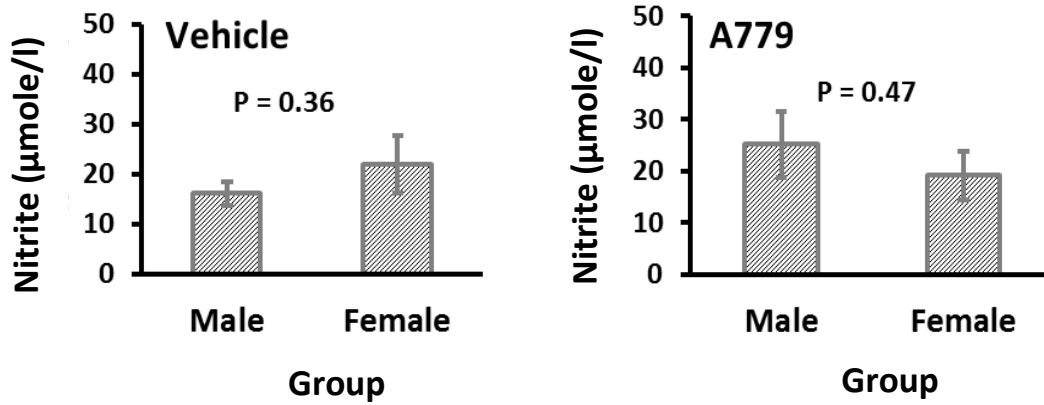
در این مطالعه دو نتیجه‌ی اصلی بدست آمد. اول اینکه موقعی که AT1R و AT2R بلوکه هستند تفاوت معنی‌داری در تراز نیتريت سرم در رت‌های نر و ماده در حضور و عدم

ماده در گروه‌های تیمار، A779 (آنتاگونیست MasR)، لوزارتان (آنتاگونیست AT1R)، و PD۱۲۳۳۱۹ (آنتاگونیست AT2R) را همزمان از طریق ورید ژوگولار به وسیله پمپ دریافت کردند و تا انتهای مطالعه ادامه یافت. لوزارتان از شرکت دارو پخش (تهران-ایران)، PD۱۲۳۳۱۹ از شرکت سیگما (Sigma St. Louis MO, USA) و A779 از شرکت Bioscience Inc., King of Prussia, PA, USA تهیه شد. رت‌های نر و ماده در گروه‌های کنترل همانند گروه تیمار به جز اینکه به جای A779، سالین دریافت کردند. لوزارتان، PD۱۲۳۳۱۹، و A779 به ترتیب ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به اضافه‌ی ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در ساعت، ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به اضافه‌ی ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در ساعت، و ۵۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن به اضافه‌ی ۵۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن در ساعت تزریق گردید. ۳۰ دقیقه پس از شروع تزریق آنتاگونیست‌ها این مرحله به عنوان فاز اول در نظر گرفته شد. در پایان این مرحله نمونه‌های خونی برای تعیین غلظت نیتريت (متابولیت NO) از طریق کاتر جمع‌آوری شد، فاز دوم به این ترتیب ادامه یافت که فشار پرفیوژن کلیوی با بستن سرخرگ‌های مزانتریک و سلیاک تغییر داده شد و سپس در ترازهای تقریباً ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌متر جیوه با استفاده از اکولودری که دور آنورت در بالای سطح سرخرگ کلیوی جا گذاری شد کنترل گردید. پس از انسداد سرخرگ‌های مزانتریک و سلیاک ۱۵ دقیقه دیگر به عنوان زمان تعادل در نظر گرفته شد و مجدداً ۳۰ دقیقه پس از این زمان خون‌گیری برای اندازه‌گیری نیتريت انجام شد میانگین فشار سرخرگی و جریان خون کلیوی بطور مداوم و در طول آزمایش اندازه‌گیری می‌شد. گروه‌های آزمایشی به صورت زیر گروه‌بندی شدند:

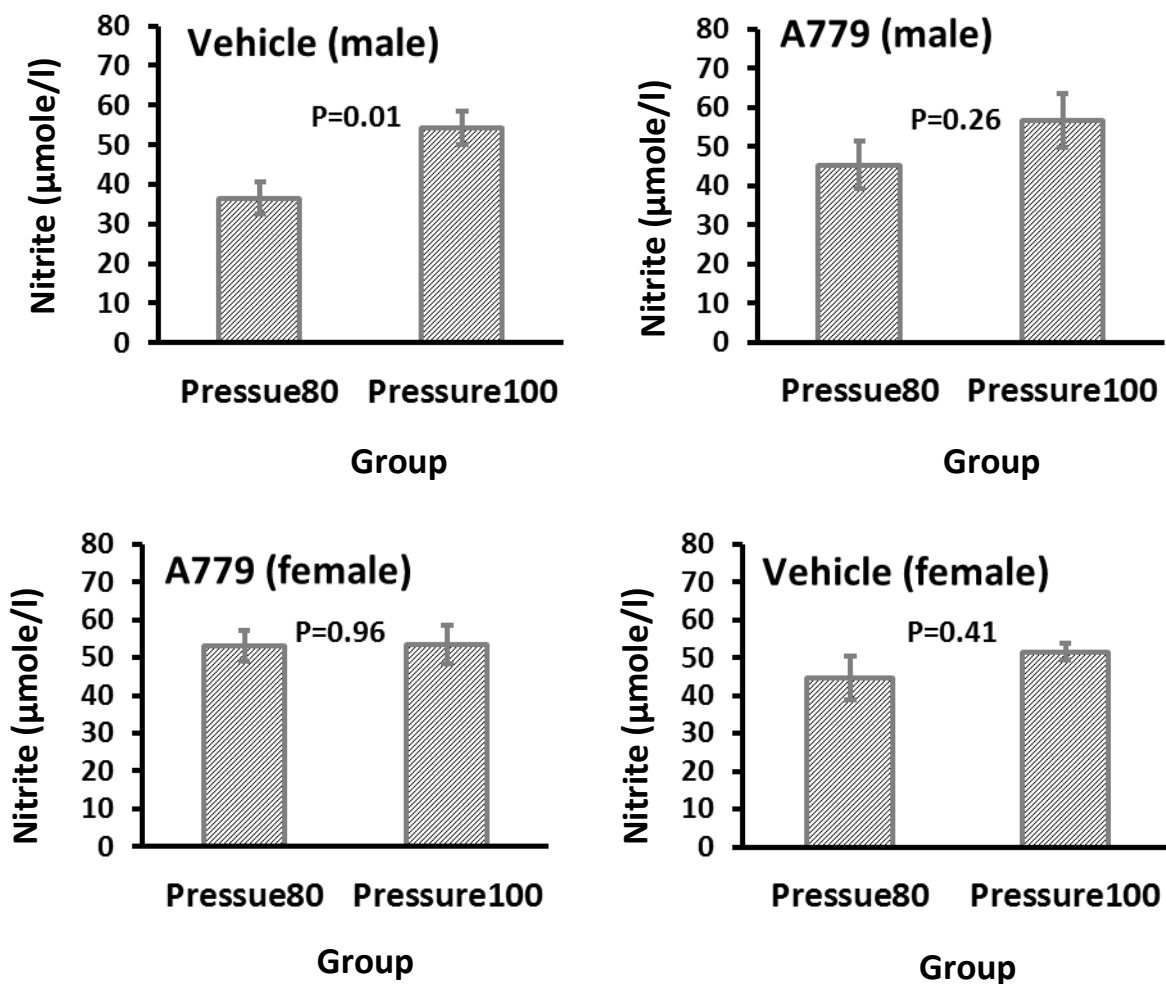
گروه‌های ۱ و ۲: حیوانات نر و ماده تیمار شده با A779، PD۱۲۳۳۱۹ و لوزارتان در فشار پرفیوژن کلیوی کنترل شده ۸۰ میلی‌متر جیوه برای ۳۰ دقیقه.

گروه‌های ۳ و ۴: حیوانات نر و ماده تیمار شده با A779، PD۱۲۳۳۱۹ و لوزارتان در فشار پرفیوژن کلیوی کنترل شده ۱۰۰ میلی‌متر جیوه برای ۳۰ دقیقه.

گروه‌های ۵ و ۶: همانند گروه ۱ و ۲ تیمار شدند به جز



شکل ۱- اثر بلوکر رسپتور Mas و پلاسبو در حالت فشار طبیعی بر سطح سرمی نیتريت در شرایط مهار AT1R و AT2R.



شکل ۲- اثر بلوکر رسپتور Mas و پلاسبو بر سطح سرمی نیتريت در شرایط مهار AT1R و AT2R در دو فشار متفاوت پرفیوژن کلیوی در رت‌های نر و ماده

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که با افزایش سن در جنس نر بیان پروتئین NOS کاهش می‌یابد که با بلوک AT1R، این کاهش در NOS تقلیل می‌یابد و mRNA پروتئین eNOS در نرها نیز شبیه به ماده‌ها می‌شود [۲] که

حضور گیرنده Mas مشاهده نشد و دوم این که تراز نیتريت سرم بعد از افزایش فشار در گروه کنترل در حضور رسپتور Mas به صورت معنی‌داری در نرها اما نه در ماده‌ها افزایش یافت.

این یافته مطابق با قسمت اول مطالعه ما می‌باشد که تراز نیتريت سرم در رت‌های نر و ماده بعد از بلوک AT1R و AT2R در حضور و عدم حضور رسپتور Mas تفاوت معنی‌داری نداشتند. صفری و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند اگر رسپتور Mas را به تنهایی یا همزمان با AT2R بلوکه کنیم تفاوت معنی‌داری در تراز نیتريت سرم بین رت‌های نر و ماده بعد از تزریق آنژیوتانسین II مشاهده نشد [۲۸]. این یافته‌ها در حالی است که Reckellhoff و همکاران همچنین نشان دادند موقعی که هیچ رسپتوری بلوکه نباشد، دفع ادراری متابولیت‌های NO و فراوانی پروتئین nNOS و eNOS در قشر کلیه، بین نرها و ماده‌ها مختلف نبود و همچنین هیچ اختلافی را در همودینامیک پایه کلیوی بین نر و ماده مشاهده نشد [۲۵] و طبق فاز اول در مطالعه ما مشخص شد، که حتی با بلوک رسپتورها تفاوت معنی‌داری در نیتريت سرم بین نر و ماده ایجاد نشد، مگر اینکه فشار افزایش یابد (فاز دوم مطالعه). در مورد نتیجه‌ی دوم که تراز نیتريت سرم بعد از افزایش فشار در گروه کنترل در حضور رسپتور Mas به صورت معنی‌داری در نرها اما نه در ماده‌ها افزایش یافت. به نظر می‌رسد که اختلافات جنسیت در فشار خون می‌تواند مرتبط به محور آنزیم ۲ تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE2)-آنژیوتانسین (۱-۷)-رسپتور Mas باشد [۲۰]. استفاده از بازدارنده AT1R، استراتژی فارماکولوژی مهمی برای درمان فشار خون به خصوص در نرها می‌باشد به علت این که وازودیلاتورهایی مانند NO و پروستاگلاندین‌ها در سلول‌های آندوتلیال شکل می‌گیرد و وظایف مهمی را در پاتوفیزیولوژی و فیزیولوژی کاردیوواسکولار بازی می‌کند [۲۹]. در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که وازودیلاسیون کرونری که توسط آنتاگونیست AT1R (لوزارتان) ایجاد شد به وسیله‌ی L-NAME که بازدارنده سنتز NO است جلوگیری شد و این نشان می‌دهد که کاهش فشار خون حاصل از بلوک AT1R حداقل قسمتی به وسیله NO واسطه‌گری می‌شود [۳۹]. همچنین به نظر می‌رسد که NO قابل دسترس در رگ‌های خونی کرونری رت‌های دارای فشار خون ذاتی بعد از استفاده از آنتاگونیست AT1R (لوزارتان) بهبود می‌یابد [۳۳]. همچنین در مطالعه دیگری بلوک AT1R با یک افزایش وازودیلاسیون کلیوی وابسته به NO همراه شد [۸] و چون در این مطالعه از بلوکر

AT1R و AT2R و رسپتور Mas باشد [۲۲]. آنژیوتانسین (۱-۷) آندوژن و یا پپتیدهای وابسته به آنژیوتانسین (۱-۷)، اثرات وازودیلاتوری خود را از طریق رسپتور Mas یا از طریق تقویت برادی‌کینین انجام می‌دهند [۱۲، ۴۵]. به این صورت که تولید NO و پروستاگلاندین‌ها را تحریک می‌کنند که باعث افزایش فشار ناتریورز و بهبود جریان خون کلیوی می‌شود [۱۹، ۳۷]. و مشخص شده است که پلی‌مورفیسم بودن ACE<sub>2</sub> در ماده‌ها، اثرات بلوک AT1R را در ماده‌ها کمتر می‌کند [۱۱]. همچنین آنژیوتانسین (۱-۷) افزایش یافته حاصل از بلوک AT1R می‌تواند فعالیت وازودیلاتوری برادی‌کینین را از طریق رهایی وازودیلاتورهای پروستاگلاندین‌ها، NO و یا فاکتور هیپرپلازیه‌کننده مشتق شده از آندوتلیوم افزایش دهد [۱۲، ۴۳، ۴۶] که این عمل را از طریق متصل شدن به ACE C-domain انجام می‌دهد و به عنوان بازدارنده ACE عمل کند [۲۴، ۴۳] که پلی‌مورفیسم بودن ACE در نرها ممکن است سبب مؤثرتر بودن تقویت برادی‌کینین توسط آنژیوتانسین (۱-۷) و وازودیلاتورهای حاصل از آن در نرها شود که مطابق با مطالعه‌ی حاضر می‌باشد [۲۷] که ممکن است باعث شود میزان نیتريت سرمی حاصل از افزایش فشار در نرها به صورت معنی‌داری بیشتر از ماده‌ها باشد.

## سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بخاطر حمایت مالی طرح تشکر می‌شود.

نتیجه‌گیری: در حضور رسپتور Mas موقعی که AT1R و AT2R بلوکه باشند، تراز نیتریت سرم در رت‌های نر افزایش یافت. چنین مشاهداتی در ماده‌ها مشاهده نشد که اهمیت رسپتور Mas را در کاهش فشار خون در رت‌های نر نشان می‌دهد.

## References

- beginning: novel functions for angiotensin-converting enzymes. *Curr Biol* 12 (2002) 745-752.
- [11] Fan X, Wang Y, Sun K f, Zhang W, Yang X, Wang S, Zhen Y, Wang J, Li W, Han Y, Polymorphisms of ACE2 gene are associated with essential hypertension and antihypertensive effects of Captopril in women. *Clin Pharmacol Ther* 82 (2007) 187-196.
- [12] Fernandes L, Fortes ZB, Nigro D, Tostes RC, Santos RA, De Carvalho MHC, Potentiation of bradykinin by angiotensin-(1-7) on arterioles of spontaneously hypertensive rats studied in vivo. *Hypertension* 37 (2001)703-709.
- [13] Ferrario CM, Iyer SN Angiotensin (1-7): a bioactive fragment of the renin-angiotensin system. *Regul Peptides* 78 (1998) 13-18.
- [14] Gorelik G, Carbini L, Scicli A, Angiotensin 1-7 induces bradykinin-mediated relaxation in porcine coronary artery. *J Pharmacol Exp Ther* 286 (1998) 403-410.
- [15] Hayakawa H, Rajj L, The link among nitric oxide synthase activity, endothelial function, and aortic and ventricular hypertrophy in hypertension. *Hypertension* 29 (1997) 235-241.
- [16] 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* 43 (2004) 970-976.
- [17] Ito S, Arima S, Ren YL, Juncos LA, Carretero OA, Endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide modulates angiotensin II action in the isolated microperfused rabbit afferent but not efferent arteriole. *J Clin Invest* 91 (1993) 2012.
- [18] Iyer SN, Chappell MC, Averill DB, Diz DI, Ferrario CM, Vasodepressor actions of angiotensin-(1-7) unmasked during combined treatment with lisinopril and
- [1] Ahmed SB, Fisher ND, Hollenberg NK, Gender and the renal nitric oxide synthase system in healthy humans. *Clin J Am Soc Nephrol* 2 (2007) 926-931.
- [2] Alba JD, Cardenas A, Moro M, Leza J, Lorenzo P, Bosca L, Lizasoain I, Down-Regulation of Neuronal Nitric Oxide Synthase by Nitric Oxide After Oxygen-Glucose Deprivation in Rat Forebrain Slices. *J Neurochem* 72 (1999) 248-254.
- [3] Benter IF, Diz DI, Ferrario CM, Cardiovascular actions of angiotensin (1-7). *Peptides* 14 (1993) 679-684.
- [4] Benter IF, Ferrario CM, Morris M, Diz DI, Antihypertensive actions of angiotensin-(1-7) in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 269 (1995) 313-319.
- [5] Campbell DJ, The renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems. *Int J Biochem Cell Biol* 35 (2003) 784-791.
- [6] Carey RM, Wang ZQ, Siragy HM, Novel actions of angiotensin II via its renal type-2 (AT2) receptor. *Curr Hypertens Rep* 1 (1999) 151-157.
- [7] De Mello WC, Danser AJ, Angiotensin II and the heart on the intracrine renin-angiotensin system. *Hypertension* 35 (2000) 1183-1188.
- [8] Demeilliers B, Mimran A, Jover B, Nitric oxide participates in the renal vasodilatory effect of candesartan in anesthetized rats. *J Am Soc Nephrol* 10 (1999) 208-212.
- [9] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan RA, Novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 87 (2000) 1-9.
- [10] Eriksson U, Danilczyk U, Penninger JM, Just the

- losartan. *Hypertension* 31 (1998) 699-705.
- [19] Iyer SN, Ferrario CM, Chappell MC, Angiotensin-(1-7) contributes to the antihypertensive effects of blockade of the renin-angiotensin system. *Hypertension* 31 (1998) 356-361.
- [20] Moon JY, ACE2 and angiotensin-(1-7) in hypertensive renal disease. *Electrolytes Blood Press* 9 (2011) 41-44.
- [21] Moroi M, Zhang L, Yasuda T, Virmani R, Gold HK, Fishman MC, Huang PL, Interaction of genetic deficiency of endothelial nitric oxide, gender, and pregnancy in vascular response to injury in mice. *J Clin Invest* 101 (1998) 1225-1232.
- [22] Neves L, Almeida A, Khosla M, Campagnole-Santos M, Santos R, Effect of angiotensin-(1-7) on reperfusion arrhythmias in isolated rat hearts. *Braz J Med Biol Res* 30 (1997) 801-809.
- [23] Oudit GY, Herzenberg AM, Kassiri Z, Wong D, Reich H, Khokha R, Crackower MA, Backx PH, Penninger JM, Scholey JW, Loss of angiotensin-converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 168 (2006) 1808-1820.
- [24] Prada JAH, Ferreira AJ, Katovich MJ, Shenoy V, Qi Y, Santos RA, Castellano RK, Lampkins AJ, Gubala V, Ostrov DA, Structure-based identification of small-molecule angiotensin-converting enzyme 2 activators as novel antihypertensive agents. *Hypertension* 51 (2008) 1312-1317.
- [25] Reckelhoff JF, Hennington BS, Moore AG, Blanchard EJ, Cameron J, Gender differences in the renal nitric oxide (NO) system. *Am J Hypertens* 11 (1998) 97-104.
- [26] Romero JC, Lahera V, Salom MG, Biondi ML, Role of the endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *J Am Soc Nephrol* 2 (1992) 1371-1387.
- [27] Ruggenenti P, Perna A, Zoccali C, Gherardi G, Benini R, Testa A, Remuzzi G, Chronic proteinuric nephropathies II Outcomes and response to treatment in a prospective cohort of 352 patients: differences between women and men in relation to the ACE gene polymorphism. *J Am Soc Nephrol* 11 (2000) 88-96.
- [28] Safari T, Nematbakhsh M, Role of Angiotensin Type 2 Receptor on Nitric Oxide Production Response to Angiotensin II Administration in Ovariectomised Rats Treated with Estradiol. *Int J Prev Med* 5 (2014) 238-240.
- [29] Sampaio WO, Dos Santos RAS, Faria-Silva R, Da Mata Machado LT, Schiffrin EL, Touyz RM, Angiotensin (1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertension* 49 (2007) 185-192.
- [30] Santos RA, Ferreira AJ, Pinheiro SV, Sampaio WO, Touyz R, Campagnole-Santos MJ, Angiotensin (1-7) and its receptor as a potential targets for new cardiovascular drugs. *Expert Opin Investig Drugs* 14 (2005) 1019-1031.
- [31] Santos RA, Haibara AS, Campagnole-Santos MJ, E Silva ACS, Paula RD, Pinheiro SV, De Fátima Leite M, Lemos VS, Silva DM, Guerra MT, Characterization of a new selective antagonist for angiotensin (1-7), D-pro7-angiotensin-(1-7). *Hypertension* 41 (2003) 737-743.
- [32] Schmidt HH, Walter U, NO at work. *Cell* 78 (1994) 919-925.
- [33] Sigmon DH, Newman JM, Beierwaltes WH, Angiotensin II: endothelium-derived nitric oxide interaction in conscious rats. *J Am Soc Nephrol* 4 (1994) 1675-1682.
- [34] Silva-Antonialli MM, Tostes RC, Fernandes L, Fior-Chadi DR, Akamine EH, Carvalho MHC, Fortes ZB, Nigro DA, lower ratio of AT1/AT2 receptors of angiotensin II is found in female than in male spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 62 (2004) 587-593.
- [35] Silva D, Vianna H, Cortes S, Campagnole-Santos M, Santos R, Lemos V, Evidence for a new angiotensin (1-7) receptor subtype in the aorta of Sprague-Dawley rats. *Peptides* 28 (2007) 702-707.
- [36] Skeggs LT, Lentz KE, Kahn JR, Hochstrasser H, Kinetics of the reaction of renin with nine synthetic peptide substrates. *J Exp Med* 128 (1968) 13-34.
- [37] Souza AP, Sobrinho DB, Almeida JF, Alves GM, Macedo LM, Porto JE, Vencio EF, Colugnati DB, Santos RA, Ferreira AJ, Angiotensin II type 1 receptor blockade restores angiotensin (1-7)-induced coronary vasodilation in hypertrophic rat hearts. *Clin Sci* 125 (2013) 449-459.
- [38] Stegbauer J, Vonend O, Oberhauser V, Rump LC, Effects of angiotensin (1-7) and other bioactive components of the renin-angiotensin system on vascular resistance and noradrenaline release in rat kidney. *J*



- Hypertens* 21 (2003) 1391-1399.
- [39] Sudhir K, MacGregor J, Gupta M, Barbant S, Redberg R, Yock P, Chatterjee K, Effect of selective angiotensin II receptor antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition on the coronary vasculature in vivo. Intravascular two-dimensional and Doppler ultrasound studies. *Circulation* 87 (1993) 931-938.
- [40] Sullivan JC, Sex and the renin-angiotensin system: inequality between the sexes in response to RAS stimulation and inhibition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 29 (2008) 1220-1226.
- [41] Sullivan JC, Bhatia K, Yamamoto T, Elmarakby AA, Angiotensin (1-7) Receptor Antagonism Equalizes Angiotensin II-Induced Hypertension in Male and Female Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension* 56 (2010) 658-666.
- [42] Toda N, Ayajiki K, Okamura T, Interaction of endothelial nitric oxide and angiotensin in the circulation. *Pharmacol Rev* 59 (2007) 54-87.
- [43] Tom B, De Vries R, Saxena PR, Danser AJ, Bradykinin potentiation by angiotensin (1-7) and ACE inhibitors correlates with ACE C-and N-domain blockade. *Hypertension* 38 (2001) 95-99.
- [44] Touyz RM, Schiffrin EL, Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Pharmacol Rev* 52 (2000) 639-672.
- [45] Ueda S, Masumori-Maemoto S, Wada A, Ishii M, Brosnihan KB, Umemura S, Angiotensin (1-7) potentiates bradykinin-induced vasodilatation in man. *J Hypertens* 19 (2001) 2001-2009.
- [46] Vanhoutte PM, Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture. *Hypertension* 13 (1989) 658-667.
- [47] Yoshida I, Bengal R, Torres VE, Gender-dependent effect of L-NAME on polycystic kidney disease in Han: SPRD rats. *Am J Kidney Dis* 35 (2000) 930-936.