مجله دیابت و لیپید ایران. تابستان ۱۳۸۸؛ دوره ۸(شماره ۴) ۳۴۶-۳۴۱

بررسی اثرات هارمین (Harmine) بر میزان تولید نیتریک اکساید (NO) و فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) سرمی در موش های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین

علی محمد شریفی*[۱و۲]، مرجان کلکته چی[۲]، فاطمه سمیعی[۲]، مرتضی کشاورز[۲]

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017

چکیده

مقدمه: از سازوکارهای شناخته شده ضایعات قلبی عروقی ناشی از دیابت، افزایش آنزیم مبدل آنژیوتانسین(ACE) و کاهش نیتریک اکساید(NO) در سرم می باشد. در این مطالعه اثر هارمین بر میزان فعالیت آنزیم ACE و همچنین میزان تولید نیتریک اکساید در دیابت مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه از ۱۸ موش در سه گروه کنترل ،دیابتی و دیابتی درمان شده با هارمین استفاده گردید. از استرپتوزوسین (STZ) جهت دیابتی کردن موش‌ها استفاده شد. پس از درمان موش‌های دیابتی شده با هارمین به مدت سه هفته، میزان ACE سرم به روش HPLC اندازه گیری گردید. میزان فعالیت نیتریک اکساید نیز به روش گریس اندازه گیری گردید. از آزمون t-student، در مقایسه نتایج استفاده شد.

یافته‌ها: میزان فعالیت ACE سرم در گروه دیابتی نسبت به کنترل افزایش معنی داری را نشان داد که در گروه درمان شده توسط هارمین به میزان معنی داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). میزان NO در سرم موش های دیابتی گروه دیابتی نسبت به کنترل بطور معنی‌داری کاهش یافت. میزان این کاهش ۵۰٪ بوده ($P<۰/۰۱$) که در گروه درمان شده توسط هارمین موجب افزایش معنی‌دار میزان نیتریک اکسید (NO) گردید بطوریکه میزان آن به حد تقریبی کنترل برگشت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: از مطالعه اخیر می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که هارمین ازطرفی موجب کاهش فعالیت آنزیم ACE و از طرف دیگر موجب افزایش و نرمال شدن میزان NO در سرم گروه درمان شده با هارمین می‌گردد که شاید در بهبود عواقب قلبی و عروقی ناشی از دیابت موثر باشند.

واژگان کلیدی: دیابت، هارمین، آنزیم مبدل آنژیوتانسین، نیتریک اکساید

۱- موسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی و مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

* ***نشانی:*** تهران، اتوبان همت ، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، دپارتمان فارماکولوژی و مرکز تحقیقات علوم داروئی رازی ، صندوق پستی ۱۴۱۵۵- ۶۱۸۳ ، تلفن: ۸۸۰۵۸۶۹۶، پست الکترونیک : sharifal@yahoo.com

تاریخ دریافت:۸۷/۹/۹ تاریخ درخواست اصلاح: ۸۸/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۲۴

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017

مقدمه

دیابت، یک بیماری متابولیک مزمن است که در اثر افزایش غلظت گلوکز خون ایجاد می‌گردد و این افزایش گلوکز در اثر کمبود انسولین در خون یا نقصان گیرنده‌های انسولین در سلول‌های جذب کننده گلوکز بوجود می آید [۱]. در حال حاضر ۲-۱٪ جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند [۲] و تخمین زده می‌شود که تا سال ۲۰۲۵؛ درصد بسیار بالاتری از جمعیت جهان به آن دچار شوند [۲]. اختلال تنظیم متابولیکی ناشی از دیابت سبب بروز تغییرات پاتوفیزیولوژیک ثانویه در ارگان‌های متعدد بدن مانند کلیه و قلب و عروق می‌شود. به طوری که بی‌ش از ۷۰٪ افراد دیابتی، فشار خون بالاتر از حد طبیعی دارند [۳]. در طی تحقیقات اخیر علت بسیاری از این عوارض را افزایش آنزیم مبدل آنژیوتانسین[1] (ACE) در سرم و بافت‌ها ذکر کرده‌اند. با توجه به هزینه‌های اقتصادی قابل توجهی که این عوارض سالانه بر دوش بیماران و سیستم بهداشتی جوامع می‌گذارند، امروزه توجه وافری به درمان و پیشگیری از دیابت و عوارض آن می‌شود [۴ و۵]. آنزیم ACE موجب تبدیل آنژیوتانسین ۱ به ۲ می‌شود که یک تنگ کننده عروقی قوی و تنظیم‌کننده و تعیین کننده میزان قطر عروق و در نتیجه تنظیم فشار خون در مدل‌های مختلف فشار خون در حیوانات و در انسان است [۶]. این آنزیم همچنین می‌تواند در واسکولوپاتی دیابتی نیز نقش داشته باشد [۵]. شواهدی دال بر افزایش فعالیت آنزیم ACE در سرم [۵و۷و۹] و همچنین در بافت‌هایی از قبیل آئورت [۱۴] و شش‌ها [۹-۷] در بطن [۱۰] و عروق مزانتر [۱۱] در موش‌های دیابتی توسط از استرپتوزوسین بدست آمده‌اند.

نیتریک اکسید یک مولکول مهم بوده که نقش مهمی را در پدیده‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک دارا می‌باشد[۱] . اختلال در عملکرد اندوتلیوم موجب نقص در تولید نیتریک اکسید گردیده که نقش مهمی در ایجاد مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲ و نارسایی کلیه و عوارض قلب و عروقی شامل پرفشاری‌خون‌و هیپرکلسترولمی داراست [۱۳]. همچنین شواهدی حاکی از افزایش فعالیت ACE و کاهش نیتریک اکسید در موش‌های دیابتی موجود میباشد [۱۴] .

[1]Angiotensin Converting Enzyme

هارمین یک فرم فعال گیاه Peganum Harmala است [۱۶و۱۵] .هارمین همچنین یک آلکالویید گیاهی از خانواده بتا کربولین می‌باشدکه ازگیاه اسپند بدست می‌آید و دارای اثرات متفاوت فارماکولوژیک بر سیستم اعصاب [۱۷و۱۸] و همچنین اثر آنتی اکسیدانی [۱۹]، اثر ضد تجمع پلاکتی [۲۰]، و اثر بر سیستم قلبی عروقی از جمله اثرات گشاد کنندگی عروق [۲۱] است اما سازوکار دقیق آن مشخص نمی‌باشد. در این مطالعه با توجه به اثر گشاد کنندگی عروق هارمین، اثرات آن بر میزان فعالیت ACE و همچنین میزان نیتریک اکسید در سرم موش های دیابتی شده با استرپتوزوسین (STZ) مورد بررسی قرارگرفت.

روش‌ها

تعداد ۱۸ سر موش نر از نژاد Sprague-Dawley با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم با دسترسی آسان به آب و غذا برای این مطالعه انتخاب گردیدند و در سه گروه شش تایی کنترل، دیابتی، دیابت درمان شده با هارمین تقسیم شدند که به موش‌های گروه دیابت و دیابت درمان شده با هارمین برای ایجاد دیابت استرپتوزوسین (STZ) به میزان ۵۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی (ip) تزریق گردید [۲۲] و به موش‌های گروه کنترل نیز همان مقدار نرمال سالین تزریق شد. پس از ۴۸ ساعت هیپرگلیسمی شروع شد که پس از یک هفته با اندازه‌گیری قند، ادرار و تایید تعداد آن به میزان بالاتر از ۲۵۰ mg/dl در ادرار حیوانات، دیابتی تلقی شدند[۱۴]. سپس به گروه دیابت درمان شده با هارمین به مدت دو هفته روزانه میزان ۱۰ mg/kg هارمین [۲۳] و به سایر موش‌ها نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از پایان تزریقات، موش‌ها به صورت استنشاقی به وسیله اتر بیهوش شده و سپس با یک برش در خط میانی، شکم باز گردیدند و خون‌گیری به میزان دو میلی لیتر از قلب حیوان جهت نمونه سرم صورت گرفت. نمونه‌های سرم جهت اندازه‌گیری نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم ACE تا زمان اندازه گیری میزان ACE در دمای ۸۰- ^{o}C قرار داده شدند.

اندازه گیری فعالیت آنزیم ACE

اندازه گیری این آنزیم بر اساس متد Hiruchi و همکاران [۲۵] صورت گرفت. میزان ۴۰ میکرولیتر از بافر بورات

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017

که حاوی ۵/۳ میلی مولار بنزوییل گلایسیل لوسین P-benzoyl-l-glycyl-l-lucine (Hip-His-leu-sigma) به عنوان سوبسترا به ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌ها اضافه گردید و سپس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه و تکان داده شد. واکنش به وسیله اضافه کردن متافسفریک اسید متوقف گردید و سپس با دور۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و ۲۰ میکرولیتر از نمونه بالایی به داخل ستون HPLC تزریق گردید و میزان هیپوریک اسید آزاد شده از سوبسترا به وسیله دستگاهHPLC(Waters 600) آنالیز شد. یک واحد از فعالیت به عنوان مقداری ازآنزیم می‌باشد که هر دقیقه ۱ میکرومول هیپوریک اسید را از Hip-His-Leu-sigma در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تحت شرایط استاندارد آزاد می‌کند.

اندازه گیری میزان NO سرم

اندازه‌گیری آنزیم نیتریک اکسید بر اساس متد Walker و همکاران [۲۶] انجام شد. در این متد میزان تولید NO با اندازه‌گیری محصولات آن یعنی نیترات (NO3) و نیتریت (NO2) سرم با استفاده از کیت کالریمتریک (Roche Kit) صورت گرفت. ابتدا توسط آنزیم نیترات ردوکتاز نیترات به نیتریت تبدیل و سپس با اندازه گیری NO-2 با معرف گریس (Griess) در طول موج ۵۷۰ نانومتر میزان NO تعیین گردید. نتایج حاصل را با منحنی استاندارد Na NO2 مقایسه نموده تا غلظت NO2- در هر نمونه بدست آید. داده‌ها به صورت میکرومولار بیان شد.

تحلیل آماری

نتایج به صورت mean ± SEM ارائه گردید. جهت تحلیل داده ها و مقایسه بین دو گروه از آزمون T-student استفاده شد. P <۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

میزان فعالیت ACE سرم در گروه دیابتی افزایش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. مقایسه در گروه درمان شده توسط هارمین با گروه دیابتی ، میزان فعالیت ACE به میزان معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). (شکل و جدول ۱).

میزان NO در سرم موش‌های دیابتی گروه دیابتی نسبت به کنترل بطور معنی‌داری کاهش یافت. که این کاهش به میزان ۵۰ درصد بود. درمان با هارمین در گروه درمان شده با هارمین موجب افزایش میزان نیتریک اکسید بطور معنی‌داری گردید بطوریکه میزان آن تقریبا به حد کنترل برگشت. (شکل و جدول۲).

جدول۱- اندازه‌گیری میزان فعالیت ACE (µmol/min. L) در سرم گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با هارمین

	درمان شده با هارمین	دیابتی	کنترل
ACE	۴۳/۱۶±۳/۸۶	*۵۱±۴/۵	۴۱±۲/۸۳

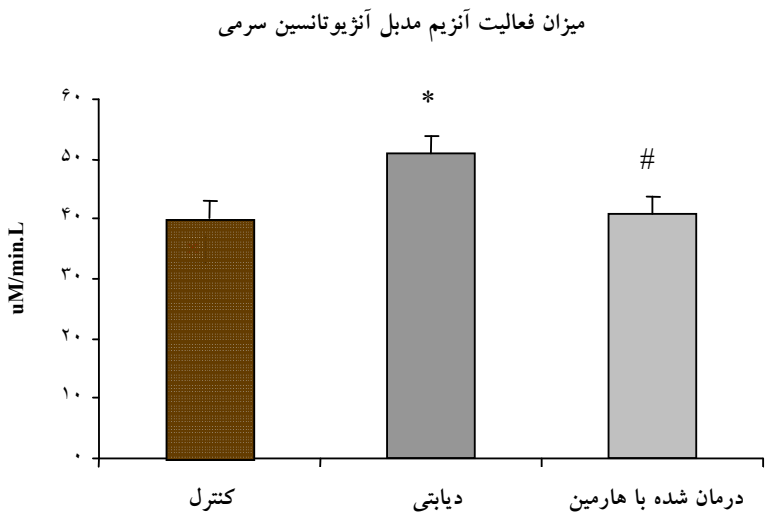
نتایج به صورت mean ± SEM بیان شده اند. مطالعه تجربی با استفاده از آزمون آماری unpaired student t-test .
* =P<۰/۰۵, تعداد= ۶ سر موش در هر گروه.

جدول۲- اندازه گیری میزانNO (µmol/ L) در سرم گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با هارمین

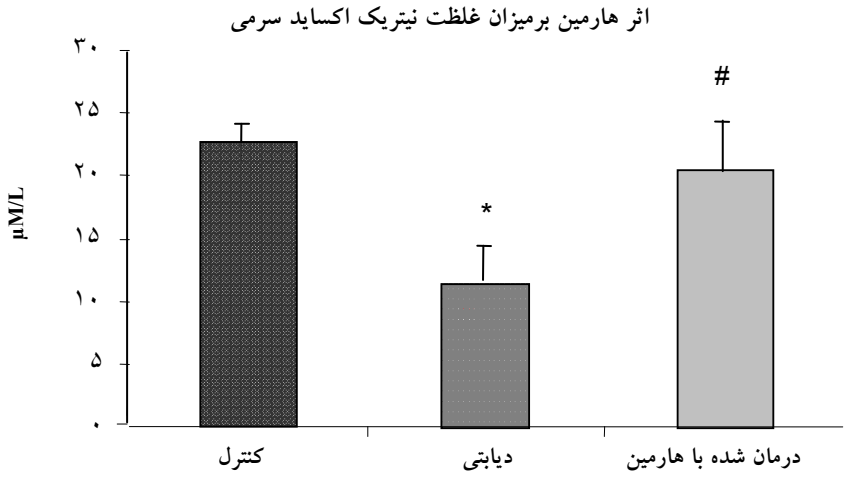
	درمان شده با هارمین	دیابتی	کنترل
NO	۲۰/۲±۳/۶	*۱۱/۳±۲/۷	۳۲/۲ ±۲/۵

نتایج به صورت mean± SE بیان شده اند.مطالعه تجربی با استفاده از آزمون آماری unpaired student t-test .
* =P<۰/۰۵, تعداد= ۶ سر موش در هر گروه.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017



شکل ۱- اندازه‌گیری میزان فعالیت ACE (µmol/min. L) در سرم گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با هارمین.
مطالعه تجربی با استفاده از آزمون آماری unpaired student t-test . * =۰/۰۵ >P ، تعداد= ۶ سر موش.



شکل ۲- اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید (میکرومول بر لیتر) در سرم گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با هارمین.
مطالعه تجربی با استفاده از آزمون آماری unpaired student t-test . * =۰/۰۵ >P. تعداد= ۶ سر موش.

بحث

هارمین آلکالویید گیاهی از خانواده بتا کاربولین‌ها از عصاره گیاه اسپند است که اثرات متعددی بر سیستم‌های مختلف بدن دارد[۱۹و۲۱و۲۴]. باوجود گزارش‌های موجود در خصوص اثر آن بر کاهش فشار خون، سازوکار دقیق آن مشخص نیست. در این مطالعه اثر هارمین بر فعالیت آنزیم ACE در سرم از طرفی و همچنین میزان تولید نیتریک اکسید سرمی به

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017

عنوان دو ماده تعیین کننده در تنظیم فشار خون در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم ACE سرمی در نتیجه سه هفته درمان با هارمین بطور معنی داری کاهش یافت. بنظر می‌رسد با اطلاعاتی که موجود است، این اولین گزارش در نوع خود می‌باشد.

در این مطالعه همچنین میزان NO در سرم حیوانات دیابتی نیز بطور معنی داری کاهش یافت که در اثر درمان با هارمین به میزان کنترل باز گشت. تداخل بین ACE و NO نیز در موارد متعدد در بافت‌های متفاوتی گزارش شده است که از آن جمله در بافت عروقی می‌باشد؛ به طوری که هر چه میزان فعالیت آنزیم ACE بالاتر باشد میزان NO کمتر خواهد بود و بالعکس. با وجود این که در مطالعات پیشین اثرات گشاد کنندگی عروقی هارمین [۲۴و۲۹] ثابت گردیده، ولی سازوکار آن کاملاً مشخص نیست. در این مطالعه اثرات هارمین بر کاهش میزان ACE بافتی در موش های دیابتی شده باSTZ بررسی گردید که نتایج بدست آمده نشان دهنده کاهش میزان ACE درسرم است.در تحقیقات انجام شده قبلی مشاهده گردید که هارمین موجب تنظیم بیان گیرنده PPARgamma شد. این گیرنده‌ها تنظیم کننده آدیپوژنز بوده و بافت هدف داروهای ضد دیابت تیازولیدین دیون‌ها هستند. علاوه بر این‌هارمین مصرف انرژی را در بافت چربی سفید افزایش داده و می‌تواند از بروز چاقی مرتبط با دیابت بیشگیری کند. همچنین مشاهده گردیده است که داروهای ممانعت کننده از فعالیت ACE نیز همانند و مشابه با داروهای ضد دیابت گلیتازون می‌توانند موجب فعال شدن PPARgamma شوند که در نتیجه به نظر می‌رسد هارمین بتواند با نتایج بدست آمده در این مطالعه از طریق کاهش ACE نیز در فعال شدن PPARgamma و در نتیجه بهبود دیابت بویژه با کاهش اثرات قلبی عروقی آن نقش موثری ایفانماید[۲۸]. سازوکارهای مختلفی برای اثر گشاد کنندگی عروق شناسایی گردیده که شامل بلوک کردن کانال های کلسیمی، فعال شدن پروتئین Gs و افزایش فعالیت آدنیلات سی کلاز و همچنین افزایش NO می‌باشند. در مطالعه انجام شده توسط Berrougui در زمینه سازوکار اثر گشادکنندگی عروق توسط هارمین، نشان داده شده که هارمین ممکن است از طریق اثر بر کانال‌های کلسیمی موجب گشادی عروق گردد و اثری بر میزان NO ندارد[۲]. همان طور که در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید، در موش‌های دیابتی میزان NO در سرم کاهش یافت و برخلاف گزارش فوق درمان با هارمین موجب افزایش قابل توجه NO در این موش‌ها گردید. بنابراین به‌نظر می‌رسد اثر گشادکنندگی عروق توسط هارمین علاوه بر کاهش ACE، از طریق افزایش تولید NO نیز صورت پذیرد. با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، به نظر می‌رسد هارمین می‌تواند از عوارض عروقی و احتمالا قلبی دیابت با جلوگیری از تغییرات فعالیت ACE و افزایش میزان NO پیشگیری نموده و حتی ممکن است در پیشگیری و یا به تعویق انداختن بروز دیابت نیز موثر واقع شود. مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. همچنین در صورت امکان استفاده از آن در انسان، شاید بتوان پیش‌بینی نمود که احتمالا درمان با هارمین بعنوان یک درمان مکمل، سالم‌تر و مقرون به صرفه‌تر از داروهای شیمیایی باشد که قطعا قبل از استفاده درمانی آن بایستی در مورد عوارض سمی احتمالی درمان با هارمین بررسی‌های لازم صورت گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران جهت پشتیبانی مالی پروژه قدردانی به عمل می آید.

مأخذ

1. Rother KI. Diabetes Treatment - Bridging the Divide. *N Engl J Med* 2007; 15: 1499–1501.
2. King H, Aubert R, Herman W. Global burden of diabetes, 1995-2025. Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998; 21:1414-1431.
3. American Diabetes Association: Economic consequences of diabetes mellitus in the U.S. in 1997. *Diabetes Care* 1998; 21:296-309.
4. Crespo MJ, Moreta S, Gonzalez J. Cardiovascular deterioration in STZ-diabetic rats: possible role of vascular RAS. *Pharmacology* 2003; 68(1):1-8.
5. Ustundag B, Cay M, Naziroglu M, Dilsiz N, Crabbe MJ, Ilhan N. The study of renin-angiotensin-aldosterone in experimental diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 1999; 17(3):193-8.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 0:42 IRST on Tuesday September 26th 2017

6. Sharifi, AM., Akbarloo N., Heshmatian B, and Ziai SA. Alteration of local ACE activity and vascular responsiveness during development of 2K1C renovascular hypertension. *Pharmacol Res*. 2003; 47(3): 201-209.
7. Erman A, Chen-Gal B, David I, Giler S, Boner G, van Dijk DJ. Insulin treatment reduces the increased serum and lung angiotensin converting enzyme activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *ScandJ Clin Lab Invest* 1998; 58(1):81-7.
8. Given MB, Lowe RF, Gelvin CR, Sander GE, Giles TD. Preservation of left ventricular function and coronary flow by angiotensin 1converting enzyme inhibition in the hypertensive-diabetic Dahl rat. *Am J Hypertens* 1994; 7(10 Pt 1):919-25.
9. Erman A, van Dyk DJ, Chen-Gal B, Giler ID, Rosenfeld JB, Boner G. Angiotensin converting enzyme activity in the serum lung and kidney of diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 1993; 23(10):615-20.
10. Goyal RK, Satia MC, Bangaru RA, Gandhi TP. Effect of longterm treatment with enalapril in streptozotocindiabetic and DOCA hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(2):317-22.
11. Vranes D, Cooper ME, Dilley RJ, Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces diabetes- induced vascular hypertrophy: morphometric studies. *J Vasc Res* 1995; 32(3):183-9.
12. Hou Y.C., Janczuk A. and Wang P.G. Current trends in the development of nitric oxide donors. *Curr Pharm Des*. 1999;5 (6): 417-471.
13. Wang XL, Wang J. Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular disease. *Mol Genet Metab* 2000; 70(4):241-51.
14. Sharifi AM, Mousavi SH, Larijani B. Study of interaction between nitric oxide and ACE activity in STZ-induced diabetic rats: role of insulin. *Pharmacol res* 2004; 50(3):261-6.
15. Airaksinen MM, Kari I: B-Carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. Part I: occurrence, origin and metabolism. *Med Biol* 1981; 59:21 – 34.
16. Beck O, Faull KF. Concentrations of the enantiomers of 5-hydroxymethtryptoline in mammalian urine: implications for in vivo biosynthesis. *Biochem Pharmacol* 1986; 35:2636-9.
17. Zetler G, Back G, Iven H. Pharmacokinetics in the rat of the hallucinogenic alkaloids harmine and harmaline. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1974; 285:273-92.
18. Loew GH, Nienow J, Lawson JA, Toll L, Uyeno ET. Theoretical structure-activity studies of B-carboline analogs. Requirments for benzodiazepine receptor affinity and antagonist activity. *Mol Pharmacol* 1985; 28:17-31.
19. Tse SYH, Mak IT and Dickens BF: Antioxidative properties of harmane and B-carboline alkaloids. *Biochem Pharmacol* 1991; 42:459–64.
20. Im JH, Jin YR, Lee JJ, Yu JY, Han XH, Im SH, Hong JT, Yoo HS, Pyo MY, Yun YP. Antiplatelet activity of beta-carboline alkaloids from perganum harmala : A possible mechanism through inhibiting PLCgamma2 phosphorylation .*Vascul pharmacol* 2009 ;50(5-6):147-52.
21. Aarons DH, Rossi GV, Orzechowski RF. Cardiovascular actions of three harmala alkaloids: harmine, harmaline, and harmalol. *J Pharm Sci*. 1977; 66(9):1244-8.
22. Arrick DM, Sharpe GM, Sun H, Mayhan WG. nNOs-dependent reactivity of cerebral arterioles in type 1 diabetes. *Brain Res* 2007 12; 1184:365-71.
23. Aricioqlu-Kartal F, Kayir H, Tayfun Uzbay I. Effects of harman and harmine on naloxane-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent rats. *Life Sci* 2003; 73(18):2363-71.
24. Shi CC, Liao JF, Chen CF. Comparative Study on the Vasorelaxant Effects of Three Harmala Alkaloids In Vitro. *Jpn J Pharmacol* 2001; 85(3):299–305.
25. Horiuchi M, Fujimura K, Terashima T, Iso T. Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1982; 233:123-30.
26. Walker LM, Shah SV, Mayeux PR. Lack of a role for inducible nitric oxide synthase in an experimental model of nephrotic syndrome. *Biochem Pharmacol* 2000;60(1):137-43.
27. Waki H, Park KW, Mitro N, Pei L, Damoiseaux R, Wilpitz DC, Reue K, Saez E, Tontonoz P. The small molecule harmine is an antidiabetic cell-type-specific regulator of PPARgamma expression. *Cell Metab* 2007; 5(5):357-70.
28. Adeghate, E, Hasan, M, Ponery, A, Nurulain, S, Petroianu, G. Subchronic exposure to high-dose ACE-inhibitor moexipril induces catalase activity in rat liver. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2005; 280:159-163.
29. Berrougui H, Martin-Cordero C, Khalil A, Hmamouchim M, Ettaib A, Marhuenda E, Herrera MD. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from Peganum harmala L. seed's in isolated rat aorta. *Pharmacol Res* 2006;54(2):150-7