

بررسی اثرات L – کارنیتین بر فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین بافتی در موش‌های صحرائی سالم و دیابتی شده با استرپتوزوسین

علی محمد شریفی^{۱*}، مریم قادرپناهی^۲

چکیده

مقدمه: افزایش فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) بافتی، یکی از مهمترین علل پرفشاری خون در دیابت طولانی مدت می‌باشد. کاهش فعالیت ACE، علاوه بر اثرات مفید بر فشارخون، تأثیرات مثبت متعدد دیگری را نیز شامل کاهش ضخامت دیواره عروق و هیپرتروفی قلب خواهد داشت. تحقیقات، تأثیرات مثبتی از L- کارنیتین (LC) را بر کاهش پرفشاری نشان داده‌اند که ممکن است از طریق کاهش فعالیت ACE بافتی باشد. در مطالعه حاضر، اثرات احتمالی LC بر فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب، ریه و کلیه در موش‌های صحرائی سالم و دیابتی، بررسی گردید.

روش‌ها: ۴۰ رأس موش صحرائی به چهار گروه کنترل (C)، کنترل درمان شده (CT)، دیابتی (D) و دیابتی درمان شده (DT) تقسیم شدند. دو گروه C و D آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و گروه‌های CT و DT، دوز مشخصی از LC را در آب مصرفی به‌طور روزانه دریافت نمودند. پس از ۱۲ هفته، میزان فعالیت ACE بافتی با روش HPLC ارزیابی گردید.

یافته‌ها: فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب و ریه در گروه D افزایش یافت. درمان با LC در گروه DT، فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب، ریه و کلیه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد.

نتیجه‌گیری: دریافت L- کارنیتین در موش‌های صحرائی دیابتی ممکن است بتواند با کاهش فعالیت ACE بافتی از ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی قلب و عروقی متعاقب ابتلا به دیابت پیشگیری نماید.

واژگان کلیدی: L – کارنیتین، آنزیم مبدل آنژیوتانسین، دیابت

- ۱- دپارتمان فارماکولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۲- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

* **نشانی:** تهران، اتوبان همت، جنب بیمارستان میلاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، دپارتمان فارماکولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، تلفن: ۰۹۱۲۱۴۸۴۶۴۹۰۸۸۰۵۲۹۸۴، پست الکترونیک: sharifal@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۵

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین - آلدسترون (RAAS) در دیابت افزایش می‌یابد [۱]. این سیستم با تنظیم فشار خون و حجم مایعات، نقش مهمی را در کنترل هموستاز قلبی - عروقی بازی می‌کند و به عنوان یکی از علل احتمالی اصلی در اتیولوژی پر فشاری خون مورد توجه قرار گرفته است [۲].

سیستم RAAS، عملکرد خود را با اثر رنین مترشح‌ه از کلیه‌ها بر آنژیوتانسینون تولید شده در کبد و تبدیل آن به آنژیوتانسین (AngI) و عمل آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) تولید شده در آندوتلیوم عروق و تولید آنژیوتانسین II (AngII) انجام می‌دهد. شواهد نشان می‌دهند که تمام اجزای این سیستم می‌توانند در اندام‌ها یا بافت‌هایی مانند کلیه، ریه، قلب و سلول‌های عضله صاف عروقی تولید گردند [۳]. حضور ACE و دیگر اجزای این سیستم در دیواره شریان و دیگر اندام‌ها نشان می‌دهد که AngII می‌تواند به طور موضعی در این اندام‌ها تولید شده و در پاتوفیزیولوژی و درمان پرفشاری نقش مؤثری داشته باشد [۴].

علاوه بر این، پرفشاری خون در انسان‌ها و حیوانات تجربی، با افزایش در ضخامت دیواره عروق خونی همراه می‌گردد که از هیپرتروفی یا هیپر پلازی سلول‌های عضله صاف و ذخیره ماتریکس خارج سلولی ناشی می‌شود [۵،۶]. این تغییرات ساختاری به عملکرد AngII نسبت داده می‌شوند و توسط مهارکننده‌های ACE در بافت‌های قلبی و عروقی موش‌های صحرایی دچار پرفشاری خون مهار گردیده‌اند [۷،۸].

مطالعات بیانگر آنند که سطح آزاد و تام L - کارنیتین در بیماران دیابتی دارای عوارض نسبت به بیماران بدون عوارض کاهش معنی‌داری دارد [۹]. همچنین در مطالعاتی، مصرف مکمل L - کارنیتین، سبب کاهش فشار خون در انسان‌های مبتلا به پرفشاری اولیه و موش‌های صحرایی با پرفشاری خود بخودی گردید [۱۰،۱۱]. از این گذشته، دریافت مکمل L - کارنیتین، منجر به گشادی عروق در موش‌های صحرایی با پرفشاری خون خود بخودی و دیابتی گردیده است [۱۲،۱۳]. از آنجا که ممکن است ساز و

کار کاهش فشارخون در مطالعات یاد شده کاهش فعالیت ACE باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیرات احتمالی L - کارنیتین بر فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب، کلیه و ریه در موش‌های صحرایی نرمال و دیابتی انجام گرفته است.

روش‌ها

طرح تحقیق: ۴۰ سر موش صحرایی نر گونه ویستار در محدوده وزنی ۱۵۰-۱۳۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند و در دمای ۲۵-۲۲°C و یک چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی و غذای استاندارد نگهداری شدند. حیوانات به ۴ گروه شامل گروه کنترل (C)، گروه کنترل درمان شده (CT)، گروه دیابتی (D) و گروه دیابتی درمان شده (DT) تقسیم شدند (تعداد در هر گروه = ۱۰ سر). گروه‌های D و DT با تزریق داخل صفاقی (IP) ۶۰ mg/kg وزن بدن استرپتوزوسین (STZ)، دیابتی شدند [۱۴] و سطح گلوکز ادراری بالاتر از ۲۵۰ mg/kg در این حیوانات، دیابتی بودن آنها را تأیید نمود. گروه C و D آزادانه به آب دسترسی داشتند. گروه CT و DT یک دوز منفرد روزانه ۲۵۰ mg/kg وزن بدن پودر L- کارنیتین را به مدت ۱۲ هفته در آب مصرفی خود دریافت نمودند. مقدار L - کارنیتین تجویز شده روزانه، بطور هفتگی با وزن بدن و آب مصرفی تنظیم گردید. حیوانات قبل از مداخله و هفته‌ای یک بار در طی ۱۲ هفته مداخله، توزین شدند. فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب، کلیه و ریه در انتهای هفته دوازدهم اندازه‌گیری گردید.

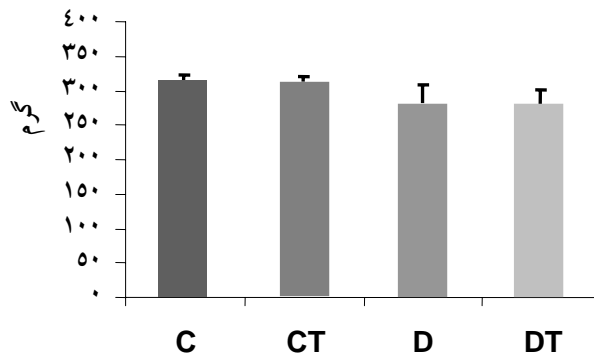
آماده سازی بافت‌ها و اندازه‌گیری میزان فعالیت ACE بافتی: با رعایت اصول اخلاقی پس از بیهوشی، موش‌های صحرایی کشته شده و سپس کلیه، قلب، ریه و یک سانتی متر از آئورت سینه‌ای حیوان خارج گردید. بافت‌های همبند و چربی از اطراف بافت‌های مذکور جدا شد، بافت‌ها خشک گردید و سپس توزین گردید. فعالیت ACE نمونه‌های بافتی مطابق روش Horiuchi و همکاران [۱۵]، با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری گردید.

تحلیل آماری: نتایج به صورت $Mean \pm SE$ ارائه گردید. برای مقایسه هر گروه با گروه کنترل متناظر، از $Unpaired Student's test$ استفاده شد. در این مطالعه، $P < 0/05$ از نظر آماری، معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وزن بدن: در پایان هفته ۱۲، وزن بدن کلیه گروه‌ها اندازه‌گیری شد. اگرچه میانگین وزن گروه کنترل (C) نسبت به گروه دیابت (D) پس از پایان ۱۲ هفته بیشتر بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست [C] $13/55 \pm 310/33$ در برابر [D] $27/05 \pm 281/89$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱]. هیچ تفاوت معنی داری میان میزان وزن بدن در گروه CT نسبت به گروه [C] $13/55 \pm 310/33$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱] و در گروه DT نسبت به گروه D مشاهده نشد [DT] $24/06 \pm 277/22$ در برابر [D] $27/05 \pm 281/89$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱].

فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتنسن (ACE) بافتی: در پایان ۱۲ هفته، فعالیت ACE آنورت، قلب، ریه و کلیه در چهار گروه اندازه‌گیری گردید (جدول ۱). در گروه D میزان فعالیت ACE آنورت، قلب، ریه نسبت به گروه C افزایش معنی داری را نشان داد (نمودار ۲، $P < 0/05$). کاهش معنی داری در میزان فعالیت ACE کلیوی در گروه D ($53/4 \pm 34/03$) نسبت به گروه C ($77/3 \pm 51/04$) مشاهده گردید (نمودار ۲، $P < 0/01$). هیچ تفاوت معنی داری در میزان فعالیت ACE آنورت، قلب، ریه و کلیه در گروه CT نسبت به گروه C مشاهده نشد (نمودار ۲). کاهش معنی داری در میزان فعالیت ACE قلب، ریه و کلیه در گروه DT نسبت به گروه D مشخص گردید (نمودار ۲). $P < 0/05$ ، در حالی که میزان فعالیت ACE آنورت نیز در گروه DT ($4/3 \pm 35/04$) نسبت به گروه D ($59/6 \pm 57/89$) به طور معنی دار و چشمگیری کاهش یافت (نمودار ۲، $P < 0/01$).

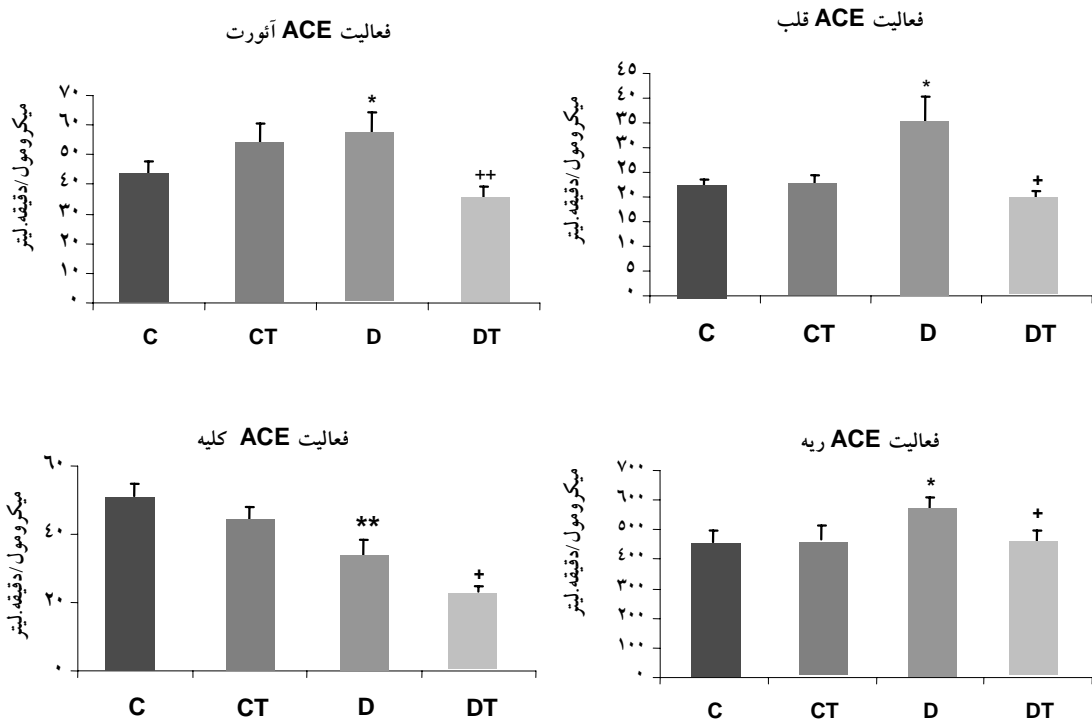


نمودار ۱- اندازه‌گیری وزن بدن در گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L-کارنیتین. مطالعه تجربی. با استفاده از آزمون آماری $Unpaired Student's test$. C = کنترل درمان نشده. CT = کنترل درمان شده با L-کارنیتین. D = دیابتی درمان نشده. DT = دیابتی درمان شده با L-کارنیتین. تعداد = ۱۰ سر موش. وزن بدن به گرم می باشد.

جدول ۱- اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین در بافت‌های آئورت، قلب، ریه و کلیه در گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L- کارنیتین

گروه	کنترل (C)	کنترل درمان شده با L- کارنیتین (CT)	دیابتی (D)	دیابتی درمان شده با L- کارنیتین (DT)
آئورت	۴۳/۵۳±۴/۴۶	۵۲/۸۸±۷/۵۳	۵۷/۸۹±۶/۵۹*	۳۵/۰۴±۴/۳††
قلب	۲۱/۹۹±۱/۶۸	۲۲/۱±۲/۳۱	۳۴/۵۷±۵/۶۹*	۱۹/۶۴±۱/۶۲†
ریه	۴۵/۶۷±۳۹/۱۳	۴۶/۷±۴۵/۸۳	۵۶/۸۷±۴۱/۱۴*	۴۶۳/۲±۳۴/۹۲†
کلیه	۵۱/۰۴±۳/۷۷	۴۴/۰۲±۳/۹۳	۳۴/۰۳±۴/۵۳**	۲۳/۲۶±۱/۶۴†

نتایج به صورت Mean ± SE بیان شده‌اند. مطالعه تجربی. با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's test از نظر آماری، P < ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شده است. P < ۰/۰۵ = *، P < ۰/۰۱ = **، P < ۰/۰۱ = †، P < ۰/۰۱ = †† در برابر گروه D. تعداد = ۱۰ رأس موش. واحد فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین، میکرو مول در دقیقه در لیتر می‌باشد.



نمودار ۲- اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین بافت‌های آئورت، قلب، ریه و کلیه در گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L- کارنیتین.

مطالعه تجربی. با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's test. C = کنترل درمان نشده. CT = کنترل درمان شده با L- کارنیتین. D = دیابتی درمان نشده. DT = دیابتی درمان شده با L- کارنیتین. P < ۰/۰۵ = *، P < ۰/۰۱ = **، P < ۰/۰۱ = †† در برابر گروه C. P < ۰/۰۵ = +، P < ۰/۰۱ = † در برابر گروه D. تعداد = ۱۰ رأس موش. واحد فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین، میکرو مول در دقیقه در لیتر می‌باشد.

بحث

آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE)، دارای نقش برجسته ای در تنظیم فشار خون بیماران دیابتی است. ACE یک دکاپتیدیل پپتیداز است که علاوه بر سرم، در بافت‌های مختلف دیگر نیز وجود دارد. عروق خونی و قلب از جمله ارگان‌های مهمی هستند که ACE در آنها حضور دارد و فعالیت این آنزیم در آنها سبب تحریک تکثیر سلولی می‌گردد [۱۶]. علاوه بر این، ACE موضعی در کلیه سبب تولید Ang II می‌گردد که تغییراتی را در عملکرد کلیوی شامل کاهش دفع ادراری سدیم و آب القا می‌نماید و نقشی مهم را در تثبیت طولانی مدت فشار خون شریانی بازی می‌کند. از این گذشته، جمع زیادی از محققان معتقدند که Ang II، یک عامل رشد کلیوی است که رشد سلولی و تولید ماتریکس خارج سلولی را تنظیم می‌نماید [۱۷]. کاهش در غلظت L-کارنیتین (LC) (که نقش اصلی آن انتقال اسیدهای با زنجیر بلند به داخل میتوکندری است) در افراد دیابتی دارای عوارض نشان داده شده است. برخی از مطالعات، اثرات مثبتی از LC را بر کاهش فشار خون نشان داده‌اند و پیشنهاد می‌شود که ساز و کار اثر LC در کاهش پرفشاری خون احتمالاً از طریق کاهش فعالیت ACE باشد.

در این مطالعه مشخص گردید که فعالیت ACE در بافت‌های آئورت، قلب و ریه در گروه D نسبت به گروه C بطور معنی‌داری افزایش داشته است. این مشاهده با مطالعات قبلی که حاکی از افزایش فعالیت ACE در بافت‌هایی مانند ریه، بطن و شریان مزاتر در موش‌های صحرایی دیابتی شده می‌باشد مطابقت دارد [۲۱-۱۸]. این افزایش فعالیت ACE را می‌توان به دیابتی شدن موش‌های صحرایی نسبت داد. در شروع دیابت که هیپرگلیسمی سبب هیپرفیلتراسیون و ناتریورز می‌گردد، Ang II به عنوان یک محرک جبرانی پرفشاری در جهت حفظ فشار خون طبیعی فعال می‌شود [۲۲]. در این مطالعه همچنین مشاهده گردید که فعالیت ACE در بافت کلیوی در گروه D نسبت به گروه C به طور معنی‌داری کاهش داشته است که این یافته، هماهنگ با یافته‌های مطالعات صورت گرفته قبلی می‌باشد [۲۵-۲۳]، به طوری که ACE به قسمت‌های دیگر کلیه در نمونه‌های دیابتی توزیع می‌گردد، بنابراین میزان

فعالیت ACE در توبول پروگزیمال کاهش و در گلوMEROL و عروق کلیوی افزایش می‌یابد [۲۳]. در این بررسی، نشان داده شده است که مصرف LC در گروه DT منجر به کاهش فعالیت ACE در تمامی بافت‌های آئورت، قلب، کلیه و ریه نسبت به گروه D گردیده است. بررسی‌های ما نشان داد که تأثیرات مثبت LC بر فعالیت ACE بافتی در موش‌های صحرایی دیابتی و غیردیابتی تا به حال گزارش نشده است. در سال‌های اخیر، توجه چشمگیری به اثر غیرهمودینامیک تحریک‌کنندگی رشد Ang II بر روی عروق و عضله قلبی معطوف گردیده است [۲۶، ۲۷]. فعالیت‌های فاکتور رشد Ang II نه فقط در *In vivo* بلکه در *In vitro* و در سلول‌های عضله صاف عروقی و سلول‌های عضله قلبی نشان داده شده است [۲۶، ۲۸]. مطالعات جدید بر روی موش‌های صحرایی، این نظریه را که Ang II به طور زود هنگام در فرآیندهای تطبیقی دیواره عروقی و قلبی دخالت دارد را تقویت می‌نمایند [۲۹، ۳۰]. بنابراین بدون شک، مهار مزمن ACE می‌تواند علاوه بر پیشگیری از ایجاد پرفشاری، سبب تصحیح و کاهش در هیپرتروفی آئورت و قلب در حیوانات و انسان‌های مبتلا به پرفشاری خون گردد [۳۱، ۳۲]. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم انجام آن در زمان‌های کوتاه‌تر و یا طولانی‌تر اشاره داشت؛ به عبارت دیگر شاید میزان تغییرات در مقدار آنزیم‌های اندازه‌گیری شده متناسب با زمان درمان بتواند تغییر نماید. در نهایت با توجه به نتایج این مطالعه و پس از بررسی دقیق‌تر سازوکار اثر ال-کارنیتین، شاید بتوان از آن در درمان بیماران مبتلا به پرفشاری خون و دیگر عوارض قلبی و عروقی مرتبط با دیابت استفاده نمود. بنابراین پیشنهاد می‌گردد علاوه بر مطالعه بر موارد بررسی اخیر، اثرات LC بر میزان فعالیت رنین، میزان آنژیوتانسین و آلدوسترون خون نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری دانشگاه علوم پزشکی ایران و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران در خصوص کمک‌های مالی و پشتیبانی تقدیر و تشکر می‌گردد.

مآخذ

1. Ustundag B, Cay M, Naziroglu M, Dilsiz N, Crabbe MJ, Ilhan N. The study of rennin-angiotensin-aldestrone system in experimental diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 1999; 17: 193-8.
2. Sealy JE, Laragh JH. The rennin- angiotensin-aldestrone system for normal regulation of blood pressure and sodium and potassium homeostasis. In: Laragh JH, Brenner BM (editors). *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2nd edition. New York. Raven Press; 1995. p 1763-96.
3. Dzau VJ. Circulating versus local rennin – angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation* 1988; 77: 14-113.
4. Miyazaki M, Okamura T, Toda N. Role of vascular angiotensin converting enzyme in hypertension. *J Hypertens* 1998; 6: S13-15.
5. Brod J. Homodynamic basis of acute pressor reactions and hypertension. *Br Heart J* 1963; 25: 227-45.
6. Folkow B, Hallback M, Lundgren Y. Importance of adaptive changes in vascular design for establishment of primary hypertension, studies in man and in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1973; 32: 2-16.
7. Black MJ, Adams MA, Bobik A, Campbell JH. Effects of enalapril on aortic muscle cell polyploidy in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens* 1989; 7: 997-1003.
8. Osullivan JB, Black MJ, Bertram JF, Bobik A. Cardiovascular hypertrophy in one-kidney, one-clip renal hypertensive rats: a role for angiotensin II? *J Hypertens* 1994; 12: 1163-70.
9. Tammogullari N, Siling Y, Icagasioglu S, Atalay A. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications. *J Diabetes Complications* 1999; 13: 251-3.
10. Digiesi V, Cantini F, Bisi G, Guarino G, Brodbeck B. L-carnitine adjuvant therapy in essential hypertension. *Clin Ter* 1994; 144: 391-5.
11. Rauchova H, Dobesova Z, Drahotka Z, Zicha J, Kunes J. The effect of chronic L-carnitine treatment on blood pressure and plasma lipids in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1998; 342: 235-9.
12. Herrera MD, Bueno R, De Sotomayor MA, Perez-Guerrero C, Vazquez CM, Marhuenda E. Endothelium-dependent vasorelaxation induced by L-carnitine in isolated aorta from normotensive and hypertensive rats. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 1423-7.
13. Bueno R, Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C, Gomez-Amores L, Vazquez CM, Herrera MD. L-carnitine and propionyl-L-carnitine improve endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: different participation of NO and COX-products. *Life Scie* 2005; 77: 2082-97.
14. Sharifi AL, 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: 261-6.
15. 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.
16. Dzau VJ, Pratt RE. Renin-angiotensin system: biology, physiology and pharmacology. In: Haber E, Morgan H, Katz A, Fozard H (editors). *The heart and cardiovascular system*. New York. Raven Press; 1986. p 1631-61.
17. Ruzi-ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Egido J. ACE inhibitors and At1 receptor antagonists-beyond the haemodynamic effect. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 55-4.
18. 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. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58: 81-7.
19. Erman A, Van Dijk DJ, Chen-Gal B, Giler ID, Rosenfeld JB, Boner G. angiotensin converting enzyme activity in serum and lung and kidney of diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 615-20.
20. Goyal RK, Satia MC, Bangaru RA, Gandhi TP. Effects of longterm treatment with enalapril in streptozotocin diabetic and DOCA hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32: 317-22.
21. Vranes D, Cooper ME, Dilley RJ. angiotensin converting enzyme inhibition reduces diabetic-induced vascular hypertrophy: morphometric studies. *J Vasc Res* 1995; 32: 183-9.
22. Brands MW, Fitzgerald SM. Blood pressure control early in diabetes: a balance between angiotensinII and nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29: 127-31
23. Anderson S, Jung FF, Ingelfinger JR. Renal rennin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical, and molecular biological correlations. *AM J Physiol* 1993; 265: F477-86.
24. Tschope C, Reinecke A, Seidl U, Gavrilluk V, Riester U. Functional, biochemical, and molecular investigations of renal kallikrein-kinin system in diabetic rats. *AM J Physiol* 1999; 277: H2333-40
25. Sharifi AL, 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: 261-6
26. Lever AF, Lyall F, Morton JJ, Folkow B. AngiotensinII, vascular structure and blood pressure. *Kidney Int* 1992; 41: 51-5.
27. Waeber B, Brunner HR. Cardiovascular hypertrophy, role of angiotensinII and bradykinin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: S36-40.
28. Amiri F, Garcia R. Renal angiotensinII receptor regulation in two-kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 41: 51-5.

29. Vcher E, Fornes P, Richer C, Nisato D. Early and late hemodynamic and morphological effects of angiotensinII subtype 1 receptor blockade during genetic hypertension development. *J Hypertens* 1995; 13: 675-82.
30. Li JS, Sharifi AM, Schiffrin E. Effects of AT1 antagonist-receptor blockade on structure and function of small arteries in SHR. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 30: 75-83.
31. Mulvany MJ. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors on vascular remodeling of resistance vessels in hypertensive patients. *Metabolism* 1998; 47: 20-3.
32. Sharifi AM, Li JS, Endemann D, Schiffrin E. Effects of enalapril and amlodipin on small-artery structure and composition and on endothelial dysfunction in SHR rats. *J Hypertens* 1998; 16: 457-66.

