

# Renin-Anjiyotensin Sisteminin Yeni Yönleri: Anjiyotensin-Dönüştürücü Enzim 2: Hipertansiyon ve Diyabetik Nefropatinin Tedavisi için Potansiyel Bir Hedef

## New Aspects of the Renin-Angiotensin System: Angiotensin Converting Enzyme 2: A Potential Target for Treatment of Hypertension and Diabetic Nephropathy

Daniel BATLLE,<sup>a</sup>  
Maria Jose SOLER,<sup>b</sup>  
Jan WYSOCKI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Division of Nephrology and Hypertension, Department of Medicine, The Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, Illinois, USA and  
<sup>b</sup>Department of Nephrology, Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Daniel BATLLE, MD  
Division of Nephrology and Hypertension, Department of Medicine, The Feinberg School of Medicine, Northwestern University, 320 E. Superior, Chicago, IL 60611, USA  
d-battle@northwestern.edu

Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2008, 17:250-257

© 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins  
1062-4821

**ÖZET Derlemenin amacı:** Anjiyotensin-dönüştürücü enzim, anjiyotensin II'nin oluşumuna neden olurken anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2, anjiyotensin II'nin anjiyotensin-(1-7)'ye yıkılmasını sağlar. Biz, böbrek hastalığı ve hipertansiyonda anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2'yi ele alan son çalışmalarını gözden geçirip ve artan anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2 aktivitesinin bu hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik yararını tartıştık. **Son bulgular:** Diyabetik farelerin glomerüllerinde, anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2 ekspresyonu baskılanmakta ve anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2'nin farmakolojik inhibisyonu, albüminürinin kötüleşmesine, artmış mezengial matriks birikimine ve fibronektin ekspresyonuna yol açmaktadır. Farelerde anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2 geninin delesyonu, anjiyotensin II'nin indüklediği hipertansiyonun kötüleşmesine ve ayrıca yaşlanan erkek farelerde glomerüloskleroza yol açtığı da gösterilmiştir. **Özet:** Anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2, anjiyotensin I ve anjiyotensin II'nin yıkımına neden olan renin-anjiyotensin sisteminde anahtar bir enzimdir. Farmakolojik yöntemler ve genetik delesyonla anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2 inhibisyonu, diyabetik farelerde böbrek hastalığını kötüleştirir. Anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2'yi artırmaya yönelik stratejiler, anjiyotensin II yıkımının artırılmasıyla renin-anjiyotensin sisteminde yeni bir terapötik hedef sunabilir, ki bu, anjiyotensin II oluşum ve etkisinin inhibe edildiği güncel yaklaşımı tamamlayıcı olabilir. Anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2 aktivitesinin artırılmasının, böbrek hastalığı ve hipertansiyonda potansiyel bir terapötik rolü olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Anjiyotensin-dönüştürücü enzim, anjiyotensin-dönüştürücü enzim 2, diyabetik nefropati, hipertansiyon

**ABSTRACT Purpose of review:** Whereas angiotensin-converting enzyme promotes the formation of angiotensin II, angiotensin-converting enzyme 2 promotes the degradation of angiotensin II to angiotensin-(1-7). We review recent studies dealing with angiotensin-converting enzyme 2 in kidney disease and hypertension, and discuss the potential therapeutic benefit of increasing angiotensin-converting enzyme 2 activity in the treatment of these diseases. **Recent findings:** In glomeruli from diabetic mice, angiotensin-converting enzyme 2 expression is downregulated, and pharmacological inhibition of angiotensin-converting enzyme 2 leads to worsening of albuminuria, increased mesangial matrix deposition and fibronectin expression. The deletion of the angiotensin-converting enzyme 2 gene in mice leads to worsening of angiotensin II-induced hypertension and has also been shown to cause glomerulosclerosis in aging male mice. **Summary:** Angiotensin-converting enzyme 2 is a key enzyme in the renin-angiotensin system that favors the degradation of angiotensin I and angiotensin II. Angiotensin-converting enzyme 2 inhibition by pharmacological means and by genetic deletion worsens kidney disease in diabetic mice. Strategies geared to increasing angiotensin-converting enzyme 2 activity may provide a novel therapeutic target within the renin-angiotensin system by enhancing angiotensin II degradation that may complement the current approach of inhibiting angiotensin II formation and action. Amplifying angiotensin-converting enzyme 2 activity may have a potential therapeutic role for kidney disease and hypertension.

**Key Words:** Angiotensin-converting enzyme, angiotensin-converting enzyme 2, diabetic nephropathy, hypertension

**K**lasik anlamında, renin–anjyotensin (Ang) sistemi (RAS), esas olarak sistem içinde en iyi çalışılan ve en aktif peptid olan Ang II'nin oluşumunu amaçlayan bir enzimatik reaksiyonlar basamağından oluşmaktadır. Ang-dönüştürücü enzim (ACE) 2, substratlarının C-ucundan tek aminoasitleri kaldıran bir karboksipeptidaz olarak etki gösterir, buna karşın ACE, C-ucu dipeptidlerini kaldıran peptidil dipeptidaz olarak işlev görür. ACE2, Ang II'nin Ang-(1-7)'ye ve Ang I'in Ang-(1-9)'a dönüşümünü kolaylaştırır.<sup>1-3</sup> Bir heptapeptid olan Ang-(1-7), vazodilatör, antifibrotik ve natriüretik etkileri nedeniyle potansiyel olarak önemli bir peptid şeklinde artan düzeyde tanınmaktadır.<sup>4-6</sup>

İlk olarak, ACE2'nin böbrek, kalp ve testise sınırlı olduğu düşünülmüştü; bununla birlikte, sonraki çalışmalar bu enzimin, organizmada yaygın olduğunu göstermektedir, ki bu ACE2'nin çeşitli hastalık durumlarında olası rolü hakkında araştırmaların başlatılmasını sağlamıştır.<sup>7-12</sup> Dikkat çekecek bir şekilde ACE2, fareleri asit aspirasyonu, sepsis ve şiddetli akut respiratuar sendrom (SARS) virüs enfeksiyonu tarafından indüklenen şiddetli akut akciğer hasarından korumaktadır.<sup>8,13</sup> İlk olarak grubumuz, ACE2'nin özellikle ACE'nin düşük düzeyleri ile ilişkili olduğunda renoprotektif olabileceğini ileri sürmüştür.<sup>14</sup> Bu derlemede, böbrekte ACE2 ekspresyonunu ele alan son zamanlardaki yayınları ve böbrek hastalığı ile hipertansiyonda bu enzimdeki değişikliklerin olası rolünü tartışacağız.

## ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2 VE HOMOLOGLARI

ACE2, ACE'nin metalloproteaz katalitik bölgeleri ile %42 homoloji gösteren bir tip 1 integral membran proteinidir.<sup>2</sup> ACE2 sadece bir tek aktif bölge ve 805 aminoasit içermektedir.<sup>2,3</sup> ACE2'nin hücre dışı bölgesinin üç-boyutlu yapısının açıklığa kavuşması, ACE2'nin katalitik mekanizmasının ACE'ye sıkı bir şekilde benzediğini ortaya çıkarmıştır.<sup>15</sup> Bununla birlikte, substrat-bağlayıcı cepler önemli ölçüde farklılık göstermektedir, ki bu da iki enzim arasındaki substrat özgüllüğündeki farklılıkları ve ACE inhibitörlerinin ACE2'ye bağlanma ve inhibe etmedeki başarısızlığını açıklamaktadır.<sup>15,16</sup> Kolek-

trin ve daha sonrasında ACE3 gibi ACE'nin diğer memeli homologları da tanımlanmıştır.<sup>17,18</sup> Bununla birlikte ACE2, enzimatik aktivitesi ile ACE'nin tek bilinen homologudur.<sup>3,19</sup> Son zamanlardaki in-vitro ve in-vivo çalışmalar, kolektrininsülin salınımı, primer siliya oluşumu, böbrek kisti oluşumu ve amino asit transportu ile ilişkili ilginç fizyolojik rollerini göstermiştir.<sup>20,21</sup> "Kolektrin'in" proksimal tübül ile amino asit transportundaki rolü üzerine olan son zamanlardaki iki yazı, bu yeni proteindeki fonksiyon kaybının, Fankoni sendromundaki aminoasidürinin patogeneğinde anahtar bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.<sup>22,23,24</sup> Çeşitli türlerde ACE3'ün, çinko metalloproteaz olarak katalitik aktivitesi yok gibi görünmektedir.<sup>18</sup> Ayrıca insanlarda, ACE3 geninin eksprese edildiğine dair hiçbir kanıt bulunamamıştır ve sekansta delesyon ile insersiyonların varlığı, insanlarda ACE3'ün psödogen olduğunu düşündürmektedir.<sup>18</sup>

## BÖBREK ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2 EKSPRESYONU HÜCRE-SPESİFİKTİR

ACE2'nin böbrek içerisindeki dağılımının immünohistokimyasal analizi, renal tübüllerin immüno-boyanmanın en yüksek yoğunluğuna sahip olduğunu göstermiştir.<sup>14,25,26</sup> Mikro-diseke edilmiş sıçan nefron segmentlerinde, semikantitatif rivors transkripsiyon-PCR, ACE2 mRNA'nın, proksimal düz tübüllerde göreceli olarak daha yüksek düzeylerde yaygın şekilde eksprese edildiğini ortaya çıkarmıştır.<sup>27</sup> Hem böbrek kesitleri, hem de kültüre edilmiş polarize renal epitel hücrelerinde ACE2 çoğunlukla, düzenli proteolitik dökülmeye uğrayabildikleri apikal yüzeye yerleşmiştir.<sup>14,28,29</sup>

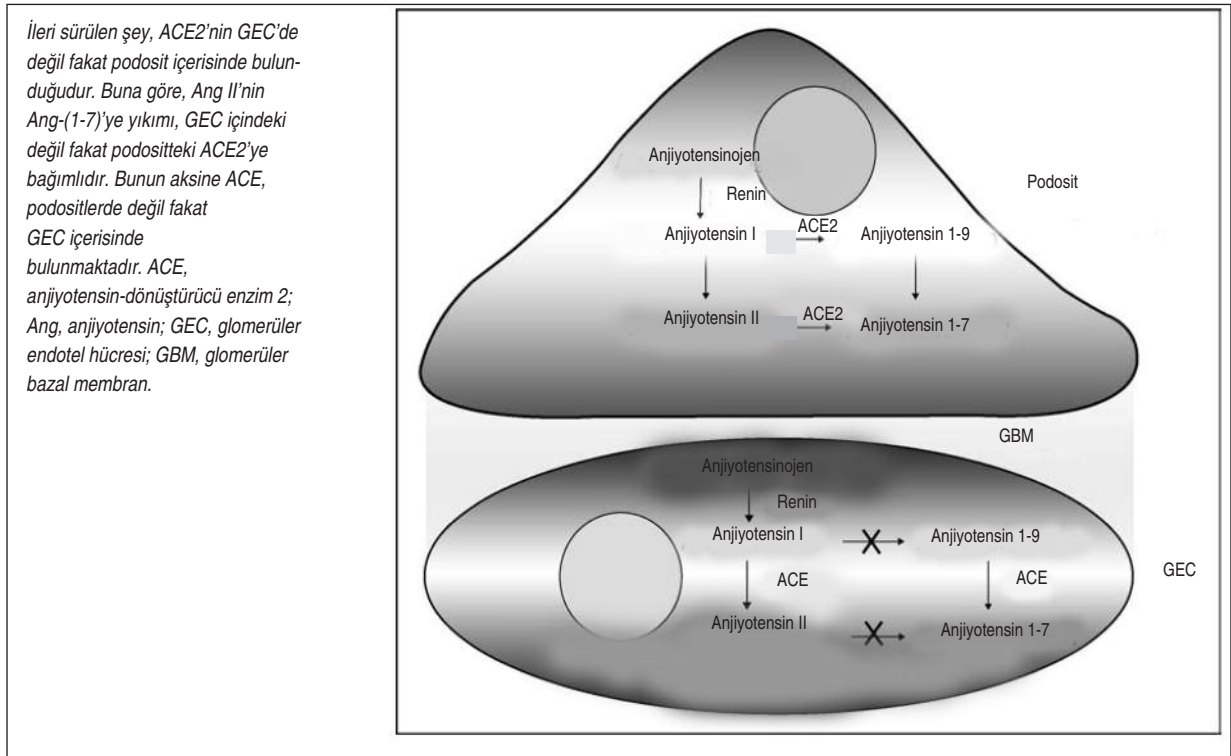
Sabit şekilde transfekte edilmiş Madine Darby köpek böbrek (MDCKII) hücrelerinde, ACE2 genel olarak apikal membranlarda yerleşmektedir (%92). Bu, hem apikal (%55), hem de bazolateral membranlarda bulunan ACE'nin tam zıttıdır.<sup>28</sup> Her iki enzimin, ACE ve ACE2, proksimal tübül hücrelerindeki yüksek düzeyi, sırasıyla ACE ve ACE2 tarafından lokal Ang II oluşum ve yıkımının dengelenmesiyle doğrudan Ang II düzeylerinin karşı denge kurmasına yardımcı olabilir. Sıçan böbreğinde, ACE2 ve Ang-(1-7)'nin proksimal tubulde birlikte yerleştiği, immünohistokimyasal olarak

saptanmıştır.<sup>30</sup> Ayrıca, sıçan proksimal tübül hücrelerinde Ang-(1-7) için bir reseptör olarak tespit edilen Mas reseptörü varlığı belgelenmiştir.<sup>31</sup>

Her ne kadar fare böbreğinde, renal tübüllerle kıyaslandığında ekspresyon düzeyi düşük olsa da ACE2, glomerüllerde de bulunmaktadır.<sup>14</sup> Laboratuvarımız ACE2'nin, glomerüler epitelyal hücre (podosit) belirteçleriyle birlikte bulunduğunu saptamıştır ve podosit/slit diyafram kompleksindeki varlığı, immüno-gold işaretleme ile doğrulanmıştır.<sup>14</sup> Normal fare glomerüllerinde, endotel hücre belirteçleri kullanarak veya immüno-gold boyama ile ACE2 boyanması saptayamadık.<sup>14</sup> Bu bulgular, glomerüler endotel hücrelerinde değil fakat podositler ve mezengial hücrelerde ACE2 varlığını göstermiştir.

ACE2 varlığı, ölümsüzleştirilmiş kültüre fare podositlerinde de gösterilmiştir.<sup>32,33</sup> Bu çalışmalar ayrıca anjiyotensin substratlarının işlenmesini de incelemiştir.<sup>32,33</sup> Wysocki ve ark., bir ACE2 inhibitörü olan MLN-470 eklenmesinin, Ang I ve II peptidlerin miktarını artırdığını göstermiş, böylece ACE2'nin bu peptidlerin metabolizması için öne-

mine işaret etmişlerdir.<sup>33</sup> Velez ve ark., podositlerin neprilisin, aminopeptidaz A, ACE2 ve renin aktiviteleri ile karakterize olan fonksiyonel bir intrin-sik RAS eksprese ettiğini göstermiştir, ki bu genel olarak Ang-(1-7) ve Ang-(1-9) oluşumuna neden olmaktadır.<sup>32</sup> Podositlerde ACE2'nin çokluğu ve glomerüler endotel hücrelerine çok yakın şekilde glomerüler filtrasyon bariyerindeki anatomik lokalizasyonu, lokal Ang II'yi yıkarak veya filtre edilmiş Ang II'nin Ang-(1-7)'ye dönüşümünü artırarak Ang II düzeylerinin düzenlenmesinde önemli olabilir (Şekil 1).<sup>14</sup> Velez ve ark., her ne kadar sadece Ang I'in daha yüksek konsantrasyonlarında inkübe edildikten sonra olsa da podositlerde hafif ACE aktivitesi saptamışlardır.<sup>32</sup> Laboratuvarımız, ne Western blot, ne de immüno-floresens ile kültüre edilmiş fare podositlerinde ACE protein ekspresyonu saptamadı.<sup>33</sup> Bu yüzden biz, podositin Ang II'yi ACE-bağımsız bir yolak ile oluşturması gerektiğini düşünmekteyiz. Podositteki ACE2'nin Ang II'nin Ang-(1-7)'ye yıkımı için anahtar bir enzim olduğunu sanıyoruz (Şekil 1). Ayrıca, ACE2 Ang I'i de yıkmaktadır.<sup>33</sup> Böylece anjiyotensin pep-



**ŞEKİL 1:** Glomerüler filtrasyon bariyerinin anahtar bileşenleri: podosit, glomerüler bazal membran ve glomerüler endotel hücresi.

tidleri, podosit içerisinde oldukça etkin bir şekilde yıkılabilmektedir. Eğer ACE2 diyabetik nefropati gibi belirli patolojik durumlarda azalır, takiben glomerül içerisinde birikimi ile bozulmuş Ang II degradasyonuna yol açacaktır.

## DOKU ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2: ORGAN VE TÜR FARKLILIKLARI

Fare böbrek korteksindeki ACE2 aktivitesinin düzeyi, kalptekinden yaklaşık 10-20 kat daha yüksektir, buna karşın serumdaki ACE2 aktivitesi ancak tespit edilebilir düzeydedir.<sup>34</sup> ACE2 aktivitesini değerlendirmek için, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), kitle spektrometri veya florometri dahil farklı yaklaşımlar kullanılmıştır.<sup>27,34-40</sup> Kardiyak membranlarda ve diğer dokular ve vücut sıvılarında ACE2 aktivitesini ölçmek için HPLC-temel alan bir yöntem seçilmiştir.<sup>35,41</sup> ACE2 substratı olarak Ang II'yi kullanmış olan diğer bir yöntem, ProteinChip Array teknoloji ile yüzey-zenginleştirilmiş lazer geri bırakma/ionizasyon zaman-uçuş kitle spektrometrisinden yararlanılmaktadır.<sup>36</sup> ACE2 aktivite ölçümleri için en yaygın olan yöntemler, Mca-YVA-DAPK (Dnp) ve Mca-APK (Dnp) gibi florojenik peptid substratları kullanılmaktadır.<sup>34,37-40</sup> Mca-YVADAPK (Dnp)'nin floresan sinyali, hem ACE, hem de ACE2'nin spesifik inhibitörleri tarafından kısmen bastırılmıştır.<sup>40</sup> Wysocki ve ark., ACE ve ACE2 aktivitelerini eş zamanlı olarak ölçmek için bir test geliştirmek amacıyla Mca-YVA-DAPK'ın ACE ve ACE2 halinde ikiye ayrılmasının avantajını kullanmışlardır.<sup>34</sup> Diğer bir substrat olan Mca-APK (Dnp), ACE2 aktivitesini ölçmekte yararlıdır fakat biz bunu sağlayıcıya (tedarik kaynağına) çok bağımlı bulduk. Örnek olarak, önceki bir çalışmada, bir sentezlenmiş florojenik peptid (Genemed Sentezi, Güney San Francisco, Kaliforniya, ABD) kullanarak fare böbreğinde ACE2 aktivitesini başarılı bir şekilde ölçemedik, çünkü bu substratın kırılması, ne rnACE2 inhibitörü (MLN-4760), ne de EDTA ile baskılanabilir değildi. Bununla birlikte, diğer bir kaynaktan (AnaSpec, San Jose, Kaliforniya, ABD) alınan Mca-APK (Dnp) kullanarak hem fare, hem de sıçan böbreklerinde ACE2 aktivitesini tespit edebildik. Ayrıca, fare böbreğinden

çok daha düşük ACE2 aktivitesi gösteren sıçan böbreğinde bu substrat, 7-Mca-YVADAPK (Dnp) substratından daha duyarlı idi (Wysocki ve ark., yayınlanmamış veri).

ACE2 aktivitesi, farelerden alınan plazmada çok düşük veya tespit edilemeyecek düzeyde bulunmuştur.<sup>36,39</sup> Benzer şekilde insanlarda, en azından sağlıklı bireylerde, dolaşımdaki ACE2'nin düzeyleri tespit edilemeyecek düzeyde veya çok düşüktür.<sup>42</sup> ACE2 aktivitesi ve proteini, sağlıklı bireylerden alınan insan idrarında tespit edilmiş ve ACE2 aktivitesi koyunlardan alınan idrar ve serumda ölçülmüştür.<sup>28,41</sup> Diyabetik nefropati gibi hastalık durumlarında, üriner ACE2'yi, ideal olarak da ACE aktivitesi ile birlikte ölçmek ilginç olacaktır. Diyabetik farelerin glomerüllerindeki ACE ve ACE2 ekspresyon paterninin, kortikal tübüllerde bulunanın tam zıttı olduğuna dikkat edilmelidir.<sup>25</sup> Bunun sonucu olarak, son idrarın, bu enzimlerin ekspresyonlarındaki değişimin esas olarak nerede olduğunu göstermeyeceğini hesaba katmak gerekmektedir.<sup>43</sup>

Gembardt ve ark.,<sup>44</sup> fare ve sıçanların farklı dokularında ACE2 ekspresyonunu analiz etmişlerdir. Her iki türde de ACE2 mRNA ekspresyonu, en fazla ileumda gösterilmiştir. Farelerde ACE2, hem böbrek, hem de kalın bağırsakta sıçandan çok daha fazla eksprese edilmekteydi.<sup>44</sup> Ayrıca, mRNA verileri ile uyumlu olarak ACE2 aktivitesi de fareden alınan ileum ve böbrekte yüksek, fakat sıçanda düşük idi. Her iki türün akciğerlerindeki ACE2 aktivitesi de göreceli olarak düşüktü. Lely ve ark.,<sup>45</sup> insan vakalardan alınan böbrek biyopsilerinde, ACE2'nin tübül ve glomerül epitelde, aynı zamanda vasküler düz kas hücreleri ve interlobüler arterlerin endotelinde eksprese edildiğini bildirmişlerdir.

## DİYABETİK BÖBREK HASTALIĞININ KEMİRGEN MODELLERİNDE ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2 EKSPRESYONU

Laboratuvarımız, ACE2 için glomerül immün boyamanın 8-haftalık db/db farelerinde azaldığını göstermiştir.<sup>14</sup> Tam aksine, diyabetik db/db farelerinden alınan glomerüllerdeki ACE ekspresyonu,



diyabetik olmayan yaş yönünden eşleşmiş kontrol-lerden alınan glomerüllere kıyasla artmıştır.<sup>14</sup> Streptozotosin (STZ) ile diyabetik hale getirilen sıçanlarda, zıt bir patern bildirilmiştir.<sup>26</sup> Bu fark için neden açık değildir fakat tür farklılıklarını gösteriyor olabilir. Glomerüler ACE2 boyanması, insan ve fare böbreğinde tübüler boyanmadan daha zayıftır, buna karşın sıçan glomerüler boyanması daha güçlü görünmektedir.<sup>14,44,45</sup> Glomerüllerdeki bulguların tam tersine db/db farelerinden ve farelerdeki STZ diyabet modellerinden alınan böbrek korteksinde ACE2'nin artmış ekspresyonunu saptadık.<sup>14,34,46\*\*</sup> Diyabetin Akita fare modelinde Wong ve ark., yakın geçmişte böbrek korteks düzeyinde artmış ACE2 ve azalmış ACE ekspresyonu bulmuşlardır, ki bu db/db ve STZ-uygulanmış farelerdeki bulgularımızla uyumludur.<sup>14,34,46\*\*</sup>

Spesifik ACE2 inhibitörü olan MLN-4760'ın uygulanmasının albümin ekskresyonu üzerine etkisi, yakın geçmişte iki diyabet modelinde çalışılmıştır.<sup>14,46\*\*</sup> MLN-4760'ın 16 hafta boyunca uygulanması, db/db farelerindeki albüminürinin kötüleşmesine yol açmış olup, bu fibronektinin artmış glomerüler ekspresyonu ile ilişkiliydi.<sup>14</sup> Spesifik Ang II tip 1 (AT1) reseptör blokleri Telmisartanın eş zamanlı uygulanması, ACE2 inhibitörü ile ilişkili albüminüri kötüleşmesini tamamen engellemiştir. Bu, ACE2 inhibitörünün etkilerinin AT1 reseptörü üzerinde etki gösteren Ang II aracılığıyla olduğunu düşündürmektedir.<sup>14</sup> STZ-uygulanan farelerde Soler ve ark., MLN-4760 uygulanmasından sonraki artmış albüminürinin glomerüler mezangial artış ve vasküler kalınlıkta ki artış ile ilişkili olduğunu saptamışlardır.<sup>46\*\*</sup> İlginç bir şekilde, STZ-uygulanan hastalardan alınan glomerüllerde ve renal damarlarda (fakat tübüllerde değil) ACE'nin ekspresyonu yükselmiş ve MLN-4760 uygulanmasından sonra daha da artmıştır.<sup>46\*\*</sup> Bu bulgular temelinde, kronik ACE2 inhibisyonu esnasında glomerüllerde ve renal damar yatağında RAS aktivasyonunun ikili bir mekanizması olduğunu ileri sürdük: ACE2 baskılanmasının bir sonucu olarak Ang II'nin azalmış yıkımı ve artmış ACE aktivitesinin bir sonucu olarak Ang II'nin artmış oluşumu.<sup>46\*\*</sup> Bu kombinasyonun kendisi, belirli patolojik durumlar altında Ang II birikimine neden

olarak ACE2 baskılanmasının kötüleştirici etkisinin çoğundan sorumlu olabilir. Podosit düzeyindeki ACE2 eksikliği, Ang II birikiminin bir sonucu olarak artmış glomerüler permeabiliteye neden olabilir. Ek olarak, ACE2 baskılanması, Ang II'nin Ang-(1-7)'ye azalmış yıkımına neden olarak azalmış Ang-(1-7) oluşumu ile ilişkili daha zararlı etkilere neden olabilir (Şekil 1).

Bizim tarafımızdan daha önce geliştirilen hipotezle uyumlu şekilde, Ace2 geninin delesyonunun yakın geçmişte diyabet ile ilişkili glomerüler hasarı şiddetlendirdiği saptanmıştır.<sup>14, 46\*\*</sup> Bu çalışmada, Ace2 yoksun fareler, Akita fareler ile karşılaştırılmış ve bir tip 1 diabetes mellitus modeli oluşturulmuştur. Diyabetik Ace2 yoksun fareler (Ace2-/yIns2WT/C96Y), Ace2 geninde delesyon yapılmayan Akita fareler ile karşılaştırıldığında üriner albümin atılımında iki-kat artış göstermişlerdir. Ace2-/yIns2WT/C96Y farelerdeki artmış mezangial matriks skorları ve glomerüler bazal membran kalınlığı, glomerüllerdeki artmış fibronektin ve  $\alpha$ -düz kas aktin boyanması eşlik etmiştir. Her ne kadar Ang II'nin böbrek düzeyleri diyabetik farelerde yükselmemiş olsa da, bir Ang II reseptör blokleri ile tedavi, Ace2-/yIns2WT/C96Y farelerindeki üriner albümin atılımını azaltmıştır ki bu bulgu, bu farelerde glomerüler hasarın hızlanmasının Ang II ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.<sup>47\*\*</sup>

## ■ DİYABETİK OLMAYAN BÖBREK HASTALIĞI

ACE2 genetik ablasyon uygulanmış hayvanlardaki çalışmalar, glomerüler lezyonların gelişimini sadece yaşlanan erkek farelerde göstermiştir.<sup>48</sup> Bu genetik ACE2 ablasyon modelinde, fibriler kollajenin glomerüler mezangiumda erken birikimini, 12 ayda glomerüloskleroz gelişimi takip etmiştir. Erkek ACE2 mutant farelerin glomerüllerindeki bu yapısal değişiklikler, AT1 reseptör antagonisti irbesartan ile yapılan tedaviyle önlenmiştir.<sup>48</sup> Bu nedenle bu çalışma, en azından yaşlanan erkek farelerde, ACE2'nin mutlak eksikliğinin glomerüler hastalığa neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. Farklı primer ve sekonder renal hastalıkları (hipertansif nefropati, fokal glomerüloskleroz, vaskülit ve membranöz glomerülopati) olan hastalardan elde edilen böbrek biyopsilerinde ve renal transplant bi-

yopsilerinde, ACE2 ekspresyonunda herhangi bir farklılık saptanmamıştır.<sup>45</sup> İlginç bir şekilde, glomerüller ve peritübüler kapiller endotelde ACE2'nin yeniden sentezlendiği bulunmuştur.<sup>45</sup>

Bir proteinürik böbrek hasarı modeli olarak sıçır serum albümini ile yüklenmiş tek taraflı nefrektomize sıçanlarda uygulanan bir çalışmada, ACE2 protein ekspresyonu azalmıştır ve tübülointersitisiyel hasar ile ilişkili bulunmuştur. Azalmış tübüler ACE2 ekspresyonu, renal nükleer faktör-KB aktivasyonunun inhibisyonuyla ortadan kalkmıştır, ki bu renal tübüler hücrelerde in vivo olarak ACE2'nin nükleer faktör-κB tarafından baskılandığını göstermektedir.<sup>49</sup> Lipopolisakkarid uygulamasından sonra oluşturulan bir akut böbrek yetmezliği (ABY) ve endotoksemi modelinde Gupta ve ark., kontrol sıçanlarından alınan böbreklere kıyasla, böbrek dokusunda azalmış ACE2 gen ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir.<sup>50</sup> İlginç bir şekilde, bu ABY modelinde aktive protein C (APC) enjeksiyonu, böbrekte azalan ACE ve anjiyotensinojen ve artan ACE2 mRNA düzeyleri ile RAS'ı modüle etmiştir. Bu, böbrekte APC'nin potansiyel koruyucu rolünün kısmen artmış renal ACE2 ekspresyonu tarafından düzenleniyor olabileceğini düşündürmektedir.

## DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELLERİNDE ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2

Ace2 insanlarda X kromozomunda bulunmakta olup, kantitatif taşıyıcı loküs (QTL), çeşitli sıçan hipertansiyon modellerinde X kromozomunda yerleşmiştir.<sup>19</sup> Ace2 geninin, X kromozomu üzerindeki tanımlanmış QTL'ye yerleşmiş olduğu bulgusu, Ace2'yi, hipertansiyon ile bağlantılı loküslerin altında yatan aday bir gen olarak düşündürmüştür.<sup>19</sup> Crackower ve ark., üç farklı spontan ve diyet ile indüklenmiş hipertansiyon modelinden alınan böbreklerde gen ve protein düzeyinde ACE2'nin azaldığını göstermişlerdir.<sup>19</sup> Erişkin spontan hipertansif sıçan (SHR) modelinde yapılan sonraki bir çalışmada böbrek ACE2 ekspresyonu, Wistar-Kyoto (WKY) sıçanları ile kıyaslandığında azalmıştı.<sup>51</sup> Dikkat çekici olarak, retinoik asit ile tedavi edilen SH sıçanlarının kalp ve böbreklerinde ACE2 eks-

presyonunun önemli bir şekilde arttığı gözlenmiştir.<sup>51</sup>

Tikellis ve ark., çok yakın geçmişte SHR böbreğindeki ACE2 ekspresyonunun gelişimsel paterininin, hipertansiyonun başlangıcından önce değiştiğini göstermişlerdir.<sup>52</sup> Böbrek gelişiminin seyri boyunca, ACE2 ekspresyonu SHR böbreğinde önemli ölçüde değişmemiş, buna karşın aynı zamanda, kontrol WKY sıçanlarındaki ACE2 ekspresyonu artmıştır.<sup>52</sup>

Ferrario ve ark., diğer bir deneysel hipertansiyon modelinde ACE inhibitörleri ve ARB uygulanmasının ACE2 ekspresyonu üzerine etkisini çalışmışlardır.<sup>53</sup> Bu çalışmada, renin transgenik hipertansif sıçanlar (mRen2)27, Lew.Tg (mRen2) kongenik bir tür oluşturularak Lewis normotensif sıçanlar ile çaprazlanmıştır.<sup>53</sup> Beklenildiği gibi, Lew.Tg (mRen2) sıçanlarda, ya sentezi azalarak ya da ligandın AT1 reseptörüne bağlanmasını engelleyerek azalan Ang II aktivitesi, kan basıncını normalleştirmiştir.<sup>53</sup> Bununla birlikte ek olarak, hem ACE inhibitörü, hem de ARB uygulanması, Lew.Tg (mRen2) sıçanlarından alınan renal kortikal dokudaki ACE2 gen ekspresyonu ve protein aktivitesini artırmıştır.<sup>53</sup>

ACE2, gebelikle ilişkili hipertansiyonda değişmiş olabilir. Joyner ve ark., normal gebelik esnasında ACE2 ve Ang-(1-7)'de birlikte değişiklikler olduğunu saptamışlardır ki bu ACE2'nin, gebeliğin ortasından sonlarına doğru Ang-(1-7)'nin renal düzeylerinin düzenlenmesinde bir rol oynadığını düşündürmektedir.<sup>54</sup> Aksine, hipertansif gebe sıçanlarda, korteks ve medulladaki ACE2 aktivitesi değişmemiştir, buna karşın Ang-(1-7) düzeyleri azalmıştır. Bu nedenle, birlikte ACE2'de bir düşme olmaksızın renal Ang-(1-7)'deki azalmanın, hipertansif gebelik esnasında diğer Ang-(1-7)-oluşturucu veya yıkıcı enzimlerin katılımına katkısı olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>54</sup>

Gurley ve ark. ve Crackower ve ark. tarafından çalışılan ACE2 yoksunların fenotipi, aşikar hipertansiyonu kapsamamaktadır.<sup>19,55</sup> C57BL/6 genetik zeminde bulunan farelerde, ACE2 eksikliği kan basıncında ılımlı bir artış ile ilişkilidir, buna karşın ACE2 bulunmamasının, 129/SvEv farelerin-

deki bazal kan basınçları üzerine herhangi bir etkisi yoktur.<sup>55</sup> Bununla birlikte Ang II verilmesinden sonra Ang II'nin plazma konsantrasyonları, ACE2-eksik farelerde kontrollerden neredeyse 3 kat daha yüksekti ve ayrıca kan basınçları da ACE2-eksik farelerde yabani-tipten belirgin ölçüde daha yüksekti.<sup>55</sup> Fazla miktarda Ang II yükü ile infüze edilen ACE2-eksik farelerde, böbrekte Ang II'nin artmış birikimi belgelenmiştir.<sup>55</sup> Bu çalışma, tam ACE2 eksikliğinin, Ang II fazlalığı durumlarında hipertansiyonu kötüleştirebileceğine güçlü bir kanıt sağlamıştır. Farklı bir Ace2 yoksun kullanan Oudit ve ark., artmış oksidatif stres ile ilişkili bir yaşa-bağlı dilate kardiyomiopati bildirmişlerdir.<sup>56</sup> Bundan başka Yamamoto ve ark., Ace2 knockout farelerde, basınç yüklenmesine cevap olarak kardiyak hipertrofi ve dilatasyon gelişeceğini göstermişlerdir.<sup>57</sup>

İnsanlardan alınan böbrek biyopsilerinde, ACE'nin ACE2 gen ekspresyonuna oranı, hipertansiyonlu vakalarda, hipertansiyonu olmayan vakalardan önemli ölçüde daha yüksekti.<sup>58</sup> Keidar ve ark., hipertansif vakalara kıyasla prehipertansif hastaların monosit-kökenli makrofajlarında daha yüksek ACE2 aktivitesi olduğunu saptamışlardır.<sup>59</sup> Bu sonuçlar, prehipertansif vakalardaki yükselmiş ACE2 aktivitesinin, muhtemelen bu enzimin, Ang II'nin vazopressör etkisine zıt etkisi yoluyla koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürülebilir.<sup>59</sup> İnsanlarda Ace2 gen polimorfizmlerinin hipertansiyon ile olası ilişkisini inceleyen çalışmalar yapılmıştır.<sup>60-65</sup> Daha önce gözden geçirildiği gibi, bu çalışmalardan, belki de bugüne kadar çalışılan gruplardaki hem metodolojik farklılıklar, hem de ırk farklılıkları nedeniyle herhangi bir tutarlı sonuç ortaya çıkmamıştır.<sup>43</sup>

## ANJİYOTENSİN-DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM 2 ARTIRILMASININ TERAPÖTİK POTANSİYELİ

Son zamanlardaki in vitro çalışmalar, ACE2 aşırı ekspresyonunun, kardiyak fibroblastlar tarafından hipoksi ile indüklenmiş kollajen üretimini inhibe ettiğini göstermişlerdir.<sup>66</sup> Fibroblastların lentiviral ACE2 ile transdüksiyonu, ACE2 aktivitesinde viral bir doz-bağımlı artışa neden olmuştur ve bu, fibroblastlar tarafından hem bazal, hem de hipok-

si/reoksijenasyon ile indüklenmiş kollajen üretiminin belirgin azalması ile ilişkili bulunmuştur.<sup>66</sup> ACE2'nin ayrıca, bir insan endotel hücre dizisinde (EAhy926) insülin/Akt-endotelial nitrik oksit sentaz (NOS) sinyalini de düzenlediği gösterilmiştir.<sup>67</sup> Ang II, Akt ve NOS'un insülin ile uyarılmış fosforilasyonunu ve nitrik oksit üretimini azaltmıştır ve bu etkiler endotel hücrelerine ACE2 gen transferi ile tersine döndürülmüştür.<sup>67</sup>

ACE2 aktivitesini in vivo artırmak için şimdiye dek yapılan yaklaşımlar, ACE2'nin lentiviral verilmesini ve son zamanlarda da rekombinant ACE2 uygulanmasını kapsamaktadır.<sup>68,69,70</sup> Hipertansif sıçanlarda, lentiviral olarak verilmesiyle oluşturulan ACE2 aşırı ekspresyonu, kardiyak hipertrofi üzerinde koruyucu bir etki ile ilişkilidir.<sup>68,69</sup> Ayrıca, SHR sıçanlarında, lenti-ACE2 uygulaması, sol ventriküler duvar kalınlığında %18'lik bir azalma ve perivasküler fibrozisin önemli ölçüde azalması ile ilişkilidir.<sup>69</sup> Lentivirüs ACE2 verilmesiyle rostral vetrolateral medullada ACE2'nin kalıcı şekilde aşırı ekspresyonu, SHR sıçanlarında yüksek kan basıncının önemli ölçüde azalmasını sağlamıştır.<sup>71</sup>

DeneySEL diyabetik nefropati fare modellerinde, glomerüler düzeyde ACE2'nin baskılandığının ve hipertansif sıçanlardan alınan böbrek korteksinde azalmış olduğunun görülmesi şeklindeki bulgular, ACE2 aktivitesinin uyarılmasını hedef alan manevraların bu durumlarda terapötik bir potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir. ACE2'nin kan basıncı ve Ang II metabolizması üzerindeki rolünü değerlendirmek için yakın geçmişte biz osmotik mini pompalarla, Ang II infüzyonu ile birlikte veya tek başına 3 gün boyunca rekombinant ACE2 uyguladık.<sup>70</sup> Tek başına Ang II tarafından oluşturulan kan basıncındaki artış, rekombinant ACE2'nin birlikte uygulanmasıyla önlenmiştir.<sup>70</sup> Ayrıca, Ang II infüzyonunu takiben plazma Ang II düzeyleri, rekombinant ACE2 uygulanmasıyla belirgin şekilde azaldı, bu bulgu böylece, bu enzimin Ang II'nin yıkımındaki önemli rolünü göstermektedir.<sup>70</sup> Bu, rekombinant ACE2 uygulamasının Ang II-bağımlı hipertansiyonun tedavisinde bir rolü olabileceğini ve ACE2 aktivitesinin artırılmasının yüksek kan basıncını düşürmek için yeni bir yaklaşım sağlayabileceğini düşündürmektedir.

ACE2'nin, SARS'a yol açan koronavirüs (SARS-CoV) için bilinen tek reseptör olduğunu hesaba katmak gerekmektedir. Ayrıca ACE2'nin, SARS-CoV enfeksiyonu için *in vivo* olarak zaruri olduğu da gösterilmiştir.<sup>13,72</sup> Bu yüzden, özellikle solunum yolunda olmak üzere hücre düzeyinde yüksek ACE2 ekspresyonunun, viral girişi kolaylaştırabileceği düşünülebilir. Bu düşünceyle uyumlu olarak ACE2 yoksun fareler göreceli olarak SARS enfeksiyonundan korunmuştur,<sup>13</sup> buna karşın insan rekombinant ACE2'sini aşırı eksprese eden fareler, SARS-CoV enfeksiyonuna daha yatkındılar.<sup>73,74</sup> Diğer yandan, akciğerdeki ACE2, viral Spike proteine bağlandıktan sonra baskılanır ve bunun baskılanması, farelerde akut akciğer yetmezliğinin kötüleşmesi ile ilişkilidir.<sup>13</sup> Bu bulgularla tutarlı bir şekilde, RAS blokajı ve akciğer içerisine rekombinant ACE2 verilmesinin, farelerde şiddetli akut akciğer hasarına karşı koruyucu olabileceği kanıtlanmıştır.<sup>8,13</sup> Bu nedenle, rekombinant ACE2'nin SARS-CoV enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılabilirliği ileri sürülmüştür.<sup>72</sup> Bizim son zamanlardaki çalışmalarımız, insan rekombinant ACE2'nin farelere uygulanmasının, dolaşımdaki ACE2 düzeyini doza bağımlı olarak artırdığını göstermektedir.<sup>70</sup> Bu yüzden, ekzojen rekombinant ACE2 uygulamasının, SARS-CoV'yi durdurma ve hücre reseptörüne bağlanmasını

önlemede etkili bir yöntem olabilmesi oldukça muhtemeldir. Rekombinant ACE2'nin potansiyel terapötik olarak kullanımının araştırılmasının, ACE2 aşırı ekspresyonu esnasında SARS enfeksiyonuna maruz kalma potansiyeli ile ilgili kaygılarla tehlikeye atılmaması gerektiğini düşünmekteyiz.

## SONUÇ

ACE'nin enzimatik olarak tek aktif homologu olan ACE2'deki değişimlerin, deneysel diyabetik böbrek hastalığı ve hipertansiyon gibi hastalık durumlarında rolü olduğuna yönelik artan sayıda kanıt vardır. Bu yaygın hastalıklarda ACE2'nin rolünün araştırılması ve etkisinin, Ang II veya Ang-(1-7) ve ayrıca ACE2'nin de substratları olan diğer biyolojik aktif peptidler aracılığıyla olup olmadığının incelenmesi, yeni terapötik hedefler geliştirilmesi için bir yol açmaktadır. ACE2 aktivitesinin artırılması, örneğin; ACE inhibitörleri, renin inhibitörleri ve Ang II blokerlerinin uygulanmasıyla Ang II oluşum ve aktivitesinin engellenmesini amaçlayan güncel stratejileri tamamlayabilen Ang II yıkımının artırılması gibi RAS'i hedefleyen terapötik yaklaşımlara yeni bir model sağlamalıdır. ACE2 artırılmasının potansiyel terapötik etkisinin, kısmen de olsa Ang-(1-7)'nin artmış oluşumu ile ilişkili olup olmadığının da ileri araştırılmasına gerek duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR VE OKUNMASI ÖNERİLENLER

- Özellikle ilgi çekici olduğu düşünülen araştırmalar
- özel ilgi uyandıran
  - \*\* önemli ve ilgi uyandıran
- olarak işaretlenmiştir.
1. Vickers C, Hales P, Kaushik V, et al. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J Biol Chem* 2002; 277: 14838-14843.
  2. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, et al. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem* 2000; 275:33238-33243.
  3. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 2000; 87:E1-E9.
  4. Brosnihan KB, Li P, Ferrario CM. Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension* 1996; 27:523-528.
  5. Strawn WB, Ferrario CM, Tallant EA. Angiotensin-(1-7) reduces smooth muscle growth after vascular injury. *Hypertension* 1999; 33:207-211.
  6. Averill DB, Ishiyama Y, Chappell MC, Ferrario CM. Cardiac angiotensin-(1-7) in ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2003; 108:2141-2146.
  7. Doobay MF, Talman LS, Obr TD, et al. Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 292:R373-R381.
  8. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 2005; 436:112-116.
  9. Valdes G, Neves LA, Anton L, et al. Distribution of angiotensin-(1-7) and ACE2 in human placentas of normal and pathological pregnancies. *Placenta* 2006; 27:200-207.
  10. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol* 2004; 203:631-637.
  11. Xie X, Chen J, Wang X, et al. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. *Life Sci* 2006; 78:2166-2171.
  12. Paizis G, Tikellis C, Cooper ME, et al. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2. *Gut* 2005; 54:1790-1796.
  13. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med* 2005; 11:875-879.



- 14 Ye M, Wysocki J, William J, et al. Glomerular localization and expression of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:3067–3075.
- 15 Towler P, Staker B, Prasad SG, et al. ACE2 X-ray structures reveal a large hinge-bending motion important for inhibitor binding and catalysis. *J Biol Chem* 2004; 279:17996–18007.
- 16 Guy JL, Lambert DW, Warner FJ, et al. Membrane-associated zinc peptidase families: comparing ACE and ACE2. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1751:2–8.
- 17 Zhang H, Wada J, Hida K, et al. Collectrin, a collecting duct-specific transmembrane glycoprotein, is a novel homolog of ACE2 and is developmentally regulated in embryonic kidneys. *J Biol Chem* 2001; 276:17132–17139.
- 18 Rella M, Elliot JL, Revett TJ, et al. Identification and characterisation of the angiotensin converting enzyme-3 (ACE3) gene: a novel mammalian homologue of ACE. *BMC Genomics* 2007; 8:194.
- 19 Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 2002; 417:822–828.
- 20 Zhang Y, Wada J. Collectrin a homologue of ACE2, its transcriptional control and functional perspectives. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363:1–5.
- 21 Zhang Y, Wada J, Yasuhara A, et al. The role for HNF-1beta-targeted collectrin in maintenance of primary cilia and cell polarity in collecting duct cells. *PLoS ONE* 2007; 2:e414.
- ACE2 homoloğu olan kolekrin, vezikül transportu ve füztonu ile ilişkili proteinler ile kompleksler oluşturmakta ve hücre polaritesini düzenlemektedir. Bu çalışma, kolekrinin polikistik böbreklerde azaldığına yönelik kanıt sağlamakta ve böbrek epitelinde primer siliya oluşumunda rolünü göstermektedir.
- 22 Malakauskas SM, Quan H, Fields TA, et al. Aminoaciduria and altered renal expression of luminal amino acid transporters in mice lacking novel gene collectrin. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292:F533–F544.
- 23 Danilczyk U, Sarao R, Remy C, et al. Essential role for collectrin in renal amino acid transport. *Nature* 2006; 444:1088–1091.
- 24 Mount DB. Collectrin and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007; 16:427–429.
- 25 Ye M, Wysocki J, Naaz P, et al. Increased ACE 2 and decreased ACE protein in renal tubules from diabetic mice: a renoprotective combination? *Hypertension* 2004; 43:1120–1125.
- 26 Tikellis C, Johnston CI, Forbes JM, et al. Characterization of renal angiotensin-converting enzyme 2 in diabetic nephropathy. *Hypertension* 2003; 41:392–397.
- 27 Li N, Zimpelmann J, Cheng K, et al. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1–7 by rat proximal tubules. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288:F353–F362.
- 28 Warner FJ, Lew RA, Smith AI, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), but not ACE, is preferentially localized to the apical surface of polarized kidney cells. *J Biol Chem* 2005; 280:39353–39362.
- 29 Lambert MH, Blackburn RK, Seaton TD, et al. Substrate specificity and novel selective inhibitors of TNF-alpha converting enzyme (TACE) from two-dimensional substrate mapping. *Comb Chem High Throughput Screen* 2005; 8:327–339.
- 30 Brosnihan KB, Neves LA, Joyner J, et al. Enhanced renal immunocytochemical expression of ANG-(1–7) and ACE2 during pregnancy. *Hypertension* 2003; 42:749–753.
- 31 Su Z, Zimpelmann J, Burns KD. Angiotensin-(1–7) inhibits angiotensin II-stimulated phosphorylation of MAP kinases in proximal tubular cells. *Kidney Int* 2006; 69:2212–2218.
- 32 Velez JC, Bland AM, Arthur JM, et al. Characterization of renin-angiotensin system enzyme activities in cultured mouse podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293:F398–F407.
- Bu çalışma, kültüre edilmiş podositlerde anjiyotensin peptidlerin oluşumunu tanımlamaktadır.
- 33 Wysocki J, Soler MJ, Ye M, Battle D. ACE2 is critically important for angiotensin II metabolism in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:293A.
- 34 Wysocki J, Ye M, Soler MJ, et al. ACE and ACE2 activity in diabetic mice. *Diabetes* 2006; 55:2132–2139.
- 35 Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation* 2005; 111:2605–2610.
- 36 Elased KM, Cunha TS, Gurley SB, et al. New mass spectrometric assay for angiotensin-converting enzyme 2 activity. *Hypertension* 2006; 47:1010–1017.
- 37 Ocaranza MP, Godoy I, Jalil JE, et al. Enalapril attenuates downregulation of Angiotensin-converting enzyme 2 in the late phase of ventricular dysfunction in myocardial infarcted rat. *Hypertension* 2006; 48:572–578.
- 38 Douglas GC, O'Bryan MK, Hedger MP, et al. The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homolog, ACE2, is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis. *Endocrinology* 2004; 145:4703–4711.
- 39 Donoghue M, Wakimoto H, Maguire CT, et al. Heart block, ventricular tachycardia, and sudden death in ACE2 transgenic mice with downregulated connexins. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35:1043–1053.
- 40 Burrell LM, Risvanis J, Kubota E, et al. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart J* 2005; 26:369–375; discussion 22–24.
- 41 Shaltout HA, Westwood BM, Averill DB, et al. Angiotensin metabolism in renal proximal tubules, urine, and serum of sheep: evidence for ACE2-dependent processing of angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292:F82–F91.
- Koyunlarda, proksimal tübüldeki ACE2'nin Ang II'yi Ang-(1-7)'ye metabolize ettiğine kanıt sağlamaktadır. Aksine, ACE2 Ang II'yi Ang-(1-9)'a ayırmamaktadır. Ayrıca bu çalışma, serum ve üriner ACE2 ektivitesinin bu türlerde tespit edilebilir olduğunu göstermektedir.
- 42 Rice GI, Jones AL, Grant PJ, et al. Circulating activities of angiotensin-converting enzyme, its homolog, angiotensin-converting enzyme 2, and neprilysin in a family study. *Hypertension* 2006; 48:914–920.
- 43 Wysocki J, Gonzalez-Pacheco FR, Battle D. Angiotensin-converting enzyme 2: possible role in hypertension and kidney disease. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10:70–77.
- 44 Gembardt F, Sterner-Kock A, Imboden H, et al. Organ-specific distribution of ACE2 mRNA and correlating peptidase activity in rodents. *Peptides* 2005; 26:1270–1277.
- 45 Lely AT, Hamming I, Van Goor H, Navis GJ. Renal ACE2 expression in human kidney disease. *J Pathol* 2004; 204:587–593.
- 46 Soler MJ, Wysocki J, Ye M, et al. ACE2 inhibition worsens glomerular injury in association with increased ACE expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Kidney Int* 2007; 72:614–623.
- Bu çalışma, STZ diyabet modelinde farmakolojik ACE2 inhibisyonundan sonra artmış glomerüler hasarı göstermektedir. Ayrıca, diyabetik farelere bir ACE2 inhibitörünün uygulanması artmış glomerüler ACE ekspresyonu ile ilişkilidi, ki bu, hem azalmış ACE2 aktivitesi, hem de artmış ACE ekspresyonunun, ACE2 inhibisyonundan sonraki glomerüler hasarda rolü olabileceğini düşündürmektedir.
- 47 Wong DW, Oudit GY, Reich H, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 (Ace2) accelerates diabetic kidney injury. *Am J Pathol* 2007; 171:438–451.
- ACE2 knockout farelerle değiştirilen Akita diyabet modelinde, ACE2 eksikliği olmayan farelerle kıyaslandığında, üriner albümin ekskresyonu artmıştı ve glomerüler patoloji fazlaşmıştı. Bu değişimler, ARB uygulaması ile tersine döndürülebilir.
- 48 Oudit GY, Herzenberg AM, Kassiri Z, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2006; 168:1808–1820.

- 49 Takase O, Marumo T, Imai N, et al. NF-kappaB-dependent increase in intrarenal angiotensin II induced by proteinuria. *Kidney Int* 2005; 68:464–473.
- 50 Gupta A, Rhodes GJ, Berg DT, et al. Activated protein C ameliorates LPS-induced acute kidney injury and downregulates renal iNOS and angiotensin 2. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293:F245–F254.
- 51 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.
- 52 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.
- 53 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:H2166–H2172.
- 54 Joyner J, Neves LA, Granger JP, et al. Temporal-spatial expression of ANG-(1–7) and angiotensin-converting enzyme 2 in the kidney of normal and hypertensive pregnant rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;293:R169–R177.
- 55 Gurley SB, Allred A, Le TH, et al. Altered blood pressure responses and normal cardiac phenotype in ACE2-null mice. *J Clin Invest* 2006; 116:2218–2225.
- 56 Oudit GY, Kassiri Z, Patel MP, et al. Angiotensin II-mediated oxidative stress and inflammation mediate the age-dependent cardiomyopathy in ACE2 null mice. *Cardiovasc Res* 2007; 75:29–39.
- 57 Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II. *Hypertension* 2006; 47:718–726.
- 58 Wakahara S, Konoshita T, Mizuno S, et al. Synergistic expression of angiotensin-converting enzyme (ACE) and ACE2 in human renal tissue and confounding effects of hypertension on the ACE to ACE2 ratio. *Endocrinology* 2007; 148:2453–2457.
- 59 Keidar S, Strizevsky A, Raz A, Gamliel-Lazarovich A. ACE2 activity is increased in monocyte-derived macrophages from prehypertensive subjects. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:597–601.
- 60 Zhong J, Yan Z, Liu D, et al. Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene A/G polymorphism and elevated blood pressure in Chinese patients with metabolic syndrome. *J Lab Clin Med* 2006; 147:91–95.
- 61 Niu W, Qi Y, Hou S, et al. Correlation of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphisms with stage 2 hypertension in Han Chinese. *Transl Res* 2007; 150:374–380.
- 62 Huang W, Yang W, Wang Y, et al. Association study of angiotensin-converting enzyme 2 gene (ACE2) polymorphisms and essential hypertension in northern Han Chinese. *J Hum Hypertens* 2006; 20:968–971.
- 63 Fan X, Wang Y, Sun K, et al. Polymorphisms of ACE2 gene are associated with essential hypertension and antihypertensive effects of Captopril in women. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82:187–196.
- 64 Benjafield AV, Wang WY, Morris BJ. No association of angiotensin-converting enzyme 2 gene (ACE2) polymorphisms with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2004; 17:624–628.
- 65 Lieb W, Graf J, Goetz A, et al. Association of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) gene polymorphisms with parameters of left ventricular hypertrophy in men. Results of the MONICA Augsburg echocardiographic sub-study. *J Mol Med* 2006; 84:88–96.
- 66 Grobe JL, Der Sarkissian S, Stewart JM, et al. ACE2 overexpression inhibits hypoxia-induced collagen production by cardiac fibroblasts. *Clin Sci (Lond)* 2007; 113:357–364.
- 67 Zhong JC, Yu XY, Lin QX, et al. Enhanced angiotensin converting enzyme 2 regulates the insulin/Akt signalling pathway by blockade of macrophage migration inhibitory factor expression. *Br J Pharmacol* 2008; 153:63–74.
- 68 Huentelman MJ, Grobe JL, Vazquez J, et al. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats. *Exp Physiol* 2005; 90:783–790.
- 69 Diez-Freire C, Vazquez J, Correa de Adjoulian MF, et al. ACE2 gene transfer attenuates hypertension-linked pathophysiological changes in the SHR. *Physiol Genomics* 2006; 27:12–19.
- 70 Ye M, Wysocki J, Rodriguez E, et al. Recombinant ACE2 attenuates angiotensin II induced hypertension. *Hypertension* 2007; 50:LB10.
- 71 Yamazato M, Yamazato Y, Sun C, et al. Overexpression of angiotensin-converting enzyme 2 in the rostral ventrolateral medulla causes long-term decrease in blood pressure in the spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2007; 49:926–931.
- 72 Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. Lessons from SARS: control of acute lung failure by the SARS receptor ACE2. *J Mol Med* 2006; 84:814–820.
- 73 McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol* 2007; 81:813–821.
- 74 Yang XH, Deng W, Tong Z, et al. Mice transgenic for human angiotensin-converting enzyme 2 provide a model for SARS coronavirus infection. *Comp Med* 2007; 57:450–459.