

เป้าหมายใหม่ในการลดระดับความดันโลหิตผ่านการควบคุม Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS)

Novel Targets for Lowering Blood Pressure via a Regulation of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)

ปวีตรา พูลบุตร¹

Pawitra Pulbutr¹

Received: 26 February 2016; Accepted: 23 May 2016

บทคัดย่อ

Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) เป็นระบบสำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมระดับความดันโลหิตของร่างกาย โดย angiotensin II เป็น peptide หลักที่ออกฤทธิ์ผ่าน angiotensin II type 1 (AT1) receptor ทำให้หลอดเลือดหดตัว และเพิ่มการหลั่งฮอร์โมน aldosterone จากต่อมหมวกไตชั้นนอก ซึ่งจะทำให้เกิดการดูดซึมน้ำและโซเดียมบริเวณท่อไตส่วน collecting tubule นอกจากนี้ angiotensin II ยังมีฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง antidiuretic hormone (ADH) และกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก ฤทธิ์เหล่านี้ของ angiotensin II ล้วนส่งผลทำให้ระดับความดันโลหิตภายในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นการขัดขวางการทำงานของ RAAS จึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญของการลดระดับความดันโลหิต ยาลดระดับความดันโลหิตในปัจจุบันที่ออกฤทธิ์ขัดขวาง RAAS ได้แก่ β 1-adrenoceptor blockers, renin inhibitors, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) และ AT1 receptor blockers (ARBs) นอกจากการทำงานของ ACE/Angiotensin II/AT1 receptor แล้ว ปัจจุบันมีการค้นพบบทบาทของสารประเภท peptides ใหม่หลายชนิดในระบบ RAAS โดยเฉพาะการทำงานของ ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดฤทธิ์ทางสรีรวิทยาที่ตรงข้ามกับการกระตุ้น AT1 receptor รวมทั้งสาร angiotensin III, angiotensin IV, Ang-(1-9) และ alamandine ซึ่งเป็น peptides ที่มีฤทธิ์ทางสรีรวิทยาต่อความดันโลหิตเช่นเดียวกัน การควบคุมการทำงานของ ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor และ peptides ชนิดใหม่เหล่านี้จึงเป็นเป้าหมายใหม่สำหรับการควบคุมความดันโลหิตที่มีความน่าสนใจ ผ่านกลไกการออกฤทธิ์ที่หลากหลาย เช่น กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ACE2 (ACE2 activators), กระตุ้น Mas receptor (Mas receptor agonists) และกระตุ้น angiotensin II type 2 (AT2) receptor (AT2 receptor agonists) เป็นต้น สารเหล่านี้บางชนิดมีประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุมความดันโลหิตจากการศึกษาในสัตว์ทดลอง และกำลังอยู่ระหว่างการศึกษาดังกล่าวเพื่อพัฒนาเป็นยาลดความดันโลหิตต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: โรคความดันโลหิตสูง ระบบ renin-angiotensin-aldosterone ยาลดความดันโลหิต

Abstract

The Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) plays a pivotal role in the regulation of blood pressure in the body primarily via the activation of angiotensin II type 1 (AT1) receptor by angiotensin II. The major blood pressure-regulatory actions of angiotensin II include vasoconstricting action and secretion of aldosterone from the adrenal cortex, resulting in Na⁺ and water reabsorptions at the renal collecting tubules. Additionally, angiotensin II also causes antidiuretic hormone (ADH) secretion and stimulation of the sympathetic nervous system activity. Modulations of RAAS are thus the extensive targets for various groups of antihypertensive agents including β 1-adrenoceptor blockers, renin inhibitors, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) and AT1 receptor blockers (ARBs). In addition to the

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

¹ Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantharawichai district, Maha Sarakham 44150, Thailand. E-mail: pawitra.p@msu.ac.th

classic RAAS acting via the ACE/Angiotensin II/AT1 receptor pathway, a recent discovery of the counter-regulatory pathway of RAAS, the ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway, as well as several RAAS-derived active peptides such as angiotensin III, angiotensin IV, Ang-(1-9) and alamandine offers intriguingly novel targets for the control of high blood pressure. The newly developed blood pressure-lowering agents act via distinct modes of action such as ACE2 activation (ACE2 activators), Mas receptor stimulation (Mas receptor agonists) and AT2 receptor stimulation (AT2 receptor agonists). Some of these agents exerted an effective antihypertensive action in the animal studies and are currently under the clinical investigations as a putative breakthrough in the treatment of hypertension.

Keywords: Hypertension, Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), Antihypertensive agents

บทนำ

โรคความดันโลหิตสูง (hypertension) เป็นความผิดปกติทางระบบหัวใจและหลอดเลือดที่พบได้มากที่สุดและจัดเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) โดยที่ความเสี่ยงจะเพิ่มสูงขึ้นตามระดับความดันโลหิตที่เพิ่มขึ้น¹ โรคความดันโลหิตสูง (hypertension) หมายถึง ระดับความดันช่วงหัวใจบีบ (systolic blood pressure, SBP) ≥ 140 mmHg และ/หรือ ความดันช่วงหัวใจคลาย (diastolic blood pressure, DBP) ≥ 90 mmHg เกณฑ์การวินิจฉัยโรคความดันโลหิตสูงของ European Society of Hypertension (ESH) และ European Society of Cardiology (ESC) ปีค.ศ.2013² (2013 ESH/ESC guidelines) และแนวทางการรักษาโรคความดันโลหิตสูงในเวชปฏิบัติทั่วไป ปีพ.ศ.2555 (ปรับปรุง พ.ศ.2558)³ จัดแบ่งความรุนแรงของโรคความดันโลหิตสูงโดยเมื่อความรุนแรงของ SBP และ DBP อยู่ต่างระดับกัน ให้ถือระดับที่รุนแรงกว่าเป็นเกณฑ์ (Table 1) สาเหตุของโรคความดันโลหิตสูงส่วนใหญ่ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โรคความดันโลหิตสูงที่เกิดขึ้นโดยไม่ทราบสาเหตุนี้เรียกว่า "essential hypertension" หรือ "primary hypertension" ส่วนโรคความดันโลหิตสูงชนิดที่ทราบสาเหตุแน่ชัดเรียกว่า "secondary hypertension" ซึ่งมีผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงเพียง 10-15% เท่านั้นที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงชนิดที่ทราบสาเหตุแน่ชัด สาเหตุของโรคความดันโลหิตสูงชนิด secondary hypertension เช่น การตีบแคบของหลอดเลือดแดงบริเวณไต (renal artery stenosis) การตีบตันของหลอดเลือดแดง aorta (coarctation of the aorta) และเนื้องอกของต่อมหมวกไต (pheochromocytoma) เป็นต้น⁴ ความดันโลหิต (arterial blood pressure, BP) ขึ้นกับปริมาตรของเลือดที่ถูกบีบออกจากหัวใจ (cardiac output, CO) และความต้านทานของหลอดเลือดแดง (peripheral vascular resistance, PVR) นั่นคือ $BP = CO \times PVR$ บริเวณหลักของร่างกายที่ทำหน้าที่ควบคุมความดันโลหิตได้แก่ หลอดเลือดแดง (arteriole) หลอดเลือดดำ (post-capillary venule) หัวใจ และไต บริเวณเหล่านี้ถูกควบคุมโดย

การทำงานของ baroreceptor reflex ซึ่งเกิดผ่านระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system) และการทำงานของฮอร์โมนซึ่งได้แก่ renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) นอกจากนี้การหลั่งและการสังเคราะห์สารที่ออกฤทธิ์เฉพาะที่ต่อหลอดเลือดจากเซลล์เยื่อหลอดเลือด (vascular endothelium) เช่น ไนตริกออกไซด์ (NO) ซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดขยายตัว หรือ เอนโดธิลินหนึ่ง (endothelin-1) ซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดหดตัวก็ส่งผลต่อการทำงานของหลอดเลือดได้เช่นกัน

ความดันโลหิตที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจะส่งผลให้มีการทำลายหลอดเลือดในอวัยวะต่างๆ เช่น ตา ไต หัวใจและสมอง เป็นต้น ซึ่งจะนำไปสู่การทำลายอวัยวะ (target organ damage) และเกิดโรคของอวัยวะต่างๆ เหล่านี้ เช่น จอตาเสื่อม (retinopathy) ไตวาย (renal failure) โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary disease) ภาวะหัวใจล้มเหลว (heart failure) และโรคหลอดเลือดสมอง (stroke) เป็นต้น ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ที่ส่งผลเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด target organ damage ได้แก่ การสูบบุหรี่ ระดับไขมันในเลือดผิดปกติ (dyslipidemia) โรคอ้วน โรคเบาหวาน รวมทั้งประวัติการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในครอบครัว⁴ ยาลดความดันโลหิต (antihypertensive agents) สามารถช่วยป้องกัน target organ damage และลดอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงลงได้ แม้ว่าปัจจุบันได้มีการพัฒนา ยาลดความดันโลหิตซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันขึ้นหลายกลุ่ม ได้แก่ ยาขับปัสสาวะ (diuretics) ยาที่ขัดขวางการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathoplegic agents) ยาขยายหลอดเลือด (vasodilators) และยาที่ออกฤทธิ์ต่อ RAAS⁴ อย่างไรก็ตามพบว่าผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงจำนวนประมาณ 10-15% ยังคงไม่ตอบสนองต่อการรักษาหรือเกิดภาวะ resistant hypertension นั่นคือยังคงไม่สามารถควบคุมความดันโลหิตได้แม้ว่าจะได้รับยาลดความดันโลหิตในกลุ่มที่แตกต่างกันจำนวน 3 ชนิดขึ้นไปแล้วก็ตาม หรือจำเป็นต้องได้รับยาลดความดันโลหิตตั้งแต่ 4 ชนิดขึ้นไปจึงจะสามารถควบคุมความ

ดันโลหิตได้⁵ สาเหตุส่วนหนึ่งของการเกิดภาวะ resistant hypertension มาจากการขาดความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย ซึ่งอาจมีที่มาจากอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาโดยเฉพาะเมื่อมีการใช้ยาในขนาดสูง ดังนั้นการคิดค้นและพัฒนาขนาดความดันโลหิตกลุ่มใหม่ที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างออกไปจากยากลุ่มเดิมจึงมีความจำเป็น เพื่อช่วยเสริมฤทธิ์ในการควบคุมความดันโลหิต และลดโอกาสการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา

Table 1 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคความดันโลหิตสูงตาม 2013 ESH/ESC guidelines²

Category	Systolic	Diastolic
Optimal	<120	<80
Normal	120-129	80-84
High normal	130-139	85-89
Grade 1 hypertension	140-159	90-99
Grade 2 hypertension	160-179	100-109
Grade 3 hypertension	≥180	≥110
Isolated systolic hypertension	≥140	<90

Classical Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS)

RAAS เป็นระบบสำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมความดันโลหิตภายในร่างกาย การทำงานของ RAAS (Figure 1) เริ่มต้นจากการหลั่งเอนไซม์ renin จาก granular cells ของ juxtaglomerular apparatus ที่บริเวณไต การหลั่งของ renin ถูกกระตุ้นได้จากหลายปัจจัยได้แก่ 1) ความดันโลหิตในหลอดเลือดแดง (arterial blood pressure) ที่ลดลง 2) ระดับโซเดียม (Na⁺) ที่ลดลงบริเวณ macula densa cells ของ juxtaglomerular apparatus และ 3) การกระตุ้นโดยระบบประสาทซิมพาเทติกผ่าน β1-adrenoceptor⁴ สารที่เป็น substrate ของ renin คือ angiotensinogen ซึ่งส่วนมากสร้างจากตับ renin จะเปลี่ยน angiotensinogen ได้เป็น angiotensin I ซึ่งเป็น decapeptide ขั้นตอนในการเปลี่ยนแปลง angiotensinogen ไปเป็น angiotensin I จัดเป็น rate-limiting step ของระบบ RAAS สาร angiotensin I จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อยด้วยเอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งพบได้บริเวณ endothelial cell ของหลอดเลือดและออกฤทธิ์เป็น exopeptidase enzyme โดยทำหน้าที่ตัด dipeptides ออกจาก C-terminus ของ angiotensin I ได้เป็น angiotensin II ซึ่งเป็น octapeptide ที่มีฤทธิ์ทางสรีรวิทยา สาร angiotensin II ออกฤทธิ์โดยการเข้าจับกับ

angiotensin II receptors 2 ชนิดได้แก่ angiotensin II type 1 (AT1) receptor และ angiotensin II type 2 (AT2) receptor ฤทธิ์หลักของ angiotensin II ที่เกิดผ่านการกระตุ้น AT1 receptor ได้แก่ 1) กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน aldosterone จากต่อมหมวกไตชั้นนอก (adrenal cortex) ซึ่ง aldosterone มีฤทธิ์เพิ่มการดูดกลับของน้ำและ Na⁺ ที่ท่อไตบริเวณ collecting tubule และเพิ่มการขับออกของ K⁺ และ H⁺ 2) เหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด (vasoconstriction) 3) กระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมน antidiuretic hormone (ADH) จากต่อมใต้สมองส่วนหลัง ซึ่งฮอร์โมน ADH มีฤทธิ์เพิ่มการดูดกลับของน้ำที่บริเวณ collecting tubule และ 4) เพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก โดยเพิ่มการหลั่ง norepinephrine จาก sympathetic nerve terminal นอกจากนี้ angiotensin II ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของ renin จาก juxtaglomerular apparatus (negative feedback action) และมีฤทธิ์กระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของเซลล์ที่หัวใจและหลอดเลือดแดงอีกด้วย ส่วนการกระตุ้น AT2 receptor นั้นพบว่าทำให้เกิดผลที่ตรงข้ามกับการกระตุ้น AT1 receptor⁶

นอกจาก angiotensin II จะมีฤทธิ์ต่อระบบต่างๆของร่างกายดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว angiotensin II ยังมีฤทธิ์เฉพาะที่ต่อหลอดเลือด โดยที่ angiotensin II สามารถถูกสร้างขึ้นได้ในบริเวณของหลอดเลือด⁶ เมื่อ angiotensin II กระตุ้น AT1 receptor มีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว เหนี่ยวนำให้การทำงานของเยื่อผนังหลอดเลือดบกพร่อง (endothelial dysfunction) เกิดการอักเสบ (inflammation) มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์บริเวณหลอดเลือด (remodeling) ส่วนการกระตุ้น AT2 receptor บริเวณหลอดเลือดคาดว่าทำให้เกิดผลที่ตรงข้าม อย่างไรก็ตาม บางสถานการณ์ เช่น ในหนูขาวชนิด spontaneously hypertensive rats (SHR) พบว่า การกระตุ้น AT2 receptor ที่หลอดเลือดอาจให้ผลเช่นเดียวกับการกระตุ้น AT1 receptor⁷ ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากการที่ AT2 receptor กับ AT1 receptor มีการเข้าคู่กัน (heterodimerization) การเพิ่มขึ้นของระดับ angiotensin II บริเวณหลอดเลือดมีข้อเสียคือทำให้มีการทำงานของเอนไซม์ NAD(P)H oxidase เพิ่มขึ้นในทั้ง endothelial cells, adventitial cells และ vascular smooth muscle cells ซึ่ง NAD(P)H oxidase จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) เช่น superoxide และ hydrogen peroxide ที่บริเวณผนังหลอดเลือด reactive oxygen species เหล่านี้จะกระตุ้น signaling pathway หลายชนิดและทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์⁸ ซึ่งจัดเป็นพยาธิ

สรีรวิทยาที่สำคัญของการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่อระบบหัวใจ และหลอดเลือดในโรคความดันโลหิตสูง

ยาลดความดันโลหิตในปัจจุบันที่ออกฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของ RAAS ได้แก่ 1) ยากลุ่ม β -adrenoceptor blockers ออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง renin 2) ยากลุ่ม renin inhibitors ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ renin ได้แก่ ยา aliskiren 3) ยากลุ่ม ACE inhibitors (ACEIs) ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE เช่น ยา captopril, enalapril, lisinopril, perindopril เป็นต้น และ 4) ยากลุ่ม angiotensin II type 1 receptor blockers (ARBs) ออกฤทธิ์เป็น antagonists ของ AT1 receptors เช่น losartan, valsartan, candesartan, azilsartan เป็นต้น⁴ นอกเหนือจากการทำงานของ RAAS ในรูปแบบดั้งเดิมข้างต้น ปัจจุบันได้มีการค้นพบฤทธิ์ทางสรีรวิทยาของ peptides ใหม่หลายชนิดใน RAAS ซึ่งฤทธิ์ทางสรีรวิทยาของ peptides เหล่านี้เกิดจากทั้งการกระตุ้นผ่าน AT1, AT2 receptors รวมทั้ง receptors ใหม่ชนิดอื่นๆ เช่น Mas receptor, Mas-related G-protein-coupled receptor member D (MrgD) เป็นต้น การควบคุมการทำงานของ peptides และ receptors เหล่านี้ในระบบ RAAS จัดเป็นเป้าหมายใหม่ของยาลดความดันโลหิตที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างออกไปจากยากลุ่มเดิมที่มีใช้ทางคลินิก

Peptides ใหม่ใน RAAS

1. Ang-(1-7)

Ang-(1-7) เป็น heptapeptide ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง angiotensin II ด้วยเอนไซม์ angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) (Figure 1) เอนไซม์ ACE2 เป็น transmembrane glycoprotein ที่มีความคล้ายคลึงกับ ACE 42%⁹ เอนไซม์ ACE2 นอกจากทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลง angiotensin II ไปเป็น Ang-(1-7) แล้ว ยังสามารถทำหน้าที่เปลี่ยนแปลง angiotensin I ไปเป็น Ang-(1-9) ได้ด้วย โดยที่ ACE2 ตัดกรดอะมิโน Phenylalanine ออกจาก angiotensin II ได้เป็น Ang-(1-7) และตัดกรดอะมิโน Leucine ออกจาก angiotensin I ได้เป็น Ang-(1-9)¹⁰ Ang-(1-7) ออกฤทธิ์หลักผ่านการกระตุ้น Mas receptor ซึ่งเป็น G-protein coupled receptor¹¹ สาร Ang-(1-7) มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ (diuresis) และขับโซเดียม (natriuresis) ที่บริเวณไต ซึ่งฤทธิ์เหล่านี้ของ Ang-(1-7) เกิดผ่านการยับยั้ง Na^+ reabsorption ที่บริเวณ proximal renal tubule จากการออกฤทธิ์ผ่านทั้ง Mas receptor, AT1 receptor และ AT2 receptor นอกจากนี้ Ang-(1-7) ยังมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vasodilation) ลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้ง

การเพิ่มขนาดของเซลล์ (antihypertrophic effect) และยับยั้งการเกิดพังผืด (antifibrotic effect) ด้วย¹ นอกจากการกระตุ้น ACE2 จะทำให้เกิดการสร้าง Ang-(1-7) แล้วยังมีผลทำลาย angiotensin II อีกด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทำงานของ ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor มีฤทธิ์ทางสรีรวิทยาที่ตรงข้ามกับการกระตุ้น RAAS ผ่านการทำงานของ ACE/Angiotensin II/AT1 receptor ส่วนสาร Ang-(1-9) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลง angiotensin I ด้วยเอนไซม์ ACE2 มีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิต และลดการบาดเจ็บของระบบหัวใจและหลอดเลือดได้ จากการศึกษาในแบบจำลองสัตว์ทดลองที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง¹² ซึ่งฤทธิ์ของ Ang-(1-9) เกิดผ่านการกระตุ้น AT2 receptor

2. Angiotensin III และ angiotensin IV

Angiotensin III หรือ Ang-(2-8) เป็น heptapeptide ที่เกิดจากการทำลาย angiotensin II ด้วยเอนไซม์ aminopeptidase A¹³ สาร Ang III สามารถเข้าจับกับ AT1 และ AT2 receptors และทำให้เกิดฤทธิ์ natriuresis โดยพบว่าสาร Ang III มีความชอบจับ (affinity) ต่อ AT1 receptors มากกว่า AT2 receptors¹⁴ ส่วน angiotensin IV (Ang IV) หรือ Ang-(3-8) เป็น hexapeptide ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง Ang III ด้วยเอนไซม์ aminopeptidase N นอกจากนี้ Ang IV ยังถูกสร้างได้จากการเปลี่ยนแปลง angiotensin II ด้วยเอนไซม์ D-aminopeptidase ได้อีกด้วย¹⁵ สาร Ang IV ออกฤทธิ์โดยการเข้าจับกับ AT4 receptor ซึ่งเป็นโปรตีนมีคุณสมบัติเป็น insulin-regulated aminopeptidase¹⁶ และมีฤทธิ์เพิ่มการไหลเวียนของเลือดที่ไตและลดการดูดกลับของ Na^+ ที่ proximal renal tubule¹⁷ นอกจากการเข้าจับกับ AT4 receptor แล้ว Ang IV ยังสามารถออกฤทธิ์ผ่านการเข้าจับกับ AT1 receptor ได้ด้วย

3. Ang A

Ang A หรือเป็น octapeptide ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 8 ชนิดได้แก่ Ala-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe การสังเคราะห์ Ang A เกิดจากปฏิกิริยา decarboxylation ของกรดอะมิโน Aspartic acid ในโมเลกุลของ angiotensin II สาร Ang A มี affinity ต่อ AT2 receptor มากกว่า angiotensin II และมี affinity ต่อ AT1 receptor เช่นเดียวกับ angiotensin II สาร Ang A มีฤทธิ์ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดที่ไต¹⁸ Ang A สามารถถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปได้เป็น heptapeptide ชนิดใหม่คือ alamandine¹⁹

4. Alamandine

Alamandine หรือ Ala¹-Ang-(1-7) เกิดจากปฏิกิริยา decarboxylation ของกรดอะมิโน Aspartic acid บริเวณ N-terminal ของ angiotensin II ได้เป็น Ala¹-Angio-

tensin II (Ang A) ตามด้วยปฏิกิริยา hydrolysis โดยเอนไซม์ ACE2 เกิดเป็น Ala¹-Ang-(1-7) (alamandine) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับ Ang-(1-7) แต่มีการแทนที่กรดอะมิโน Aspartic acid บริเวณ N-terminal ด้วยกรดอะมิโน Alanine¹⁹ สาร alamandine มีฤทธิ์คล้ายกับ Ang-(1-7) แต่การออกฤทธิ์เกิดผ่าน receptor ที่แตกต่างออกไป โดยที่ alamandine ออกฤทธิ์ผ่าน Mas-related G-protein-coupled receptor member D (MrgD) สาร alamandine ในรูป alamandine/ β -hydroxypropylcyclodextrin มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตใน SHR และยับยั้งการสร้างพังผืด (antifibrotic effects) ในหนูที่ได้รับ isoprenaline

เป้าหมายใหม่ในการควบคุม RAAS

1. การกระตุ้น ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway

การกระตุ้น ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway ทำให้เกิดฤทธิ์ทางสรีรวิทยาที่ตรงกันข้ามกับการทำงานของ angiotensin II ผ่านการกระตุ้น AT1 receptor (ACE/Angiotensin II/AT1 receptor pathway) โดยพบว่าทำให้ความดันโลหิตลดลง และยังสามารถป้องกันหรือแก้ไขการทำลายอวัยวะ (target organ damage) ในสัตว์ทดลองที่มีความดันโลหิตสูงได้ด้วย²⁰ ทั้ง ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway และ ACE/Angiotensin II/AT1 receptor pathway มีความสัมพันธ์กัน โดยที่การยับยั้ง ACE/Angiotensin II/AT1 receptor pathway ด้วยการให้ ACEIs หรือ ARBs มีผลเพิ่มระดับของ Ang-(1-7) และการให้ Mas receptor antagonist (A-779) มีผลทำให้ฤทธิ์ของ ACEIs และ ARBs ลดลง⁹ การกระตุ้น ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway ทำได้โดยวิธีการได้แก่ การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ACE2, การเพิ่มระดับ Ang-(1-7) และการกระตุ้น Mas receptor

จากการที่ Ang-(1-7) เป็น peptide ที่มีค่าครึ่งชีวิตสั้นและถูกทำลายได้ในทางเดินอาหาร จึงมีการพัฒนาสารที่ออกฤทธิ์คล้าย Ang-(1-7) ที่ไม่ใช่ peptide และสามารถเข้าจับกับ Mas receptor ได้ สารนั้นคือ AVE0991 ซึ่งเป็น Mas receptor agonist ที่มีสูตรโครงสร้างเป็น imidazole compound จากการศึกษาพบว่า AVE 0991 มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้าง NO ได้ที่บริเวณ endothelial cells²¹ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดแดง aorta ผ่านการกระตุ้น Mas receptor²² การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า AVE0991 มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตในหนู SHR²³ และในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นความดันโลหิตสูงจากการได้รับ deoxycorticosterone acetate (DOCA) และ เกลือ (DOCA-salt-induced hypertension) โดยที่ AVE0991 สามารถลดความดันโลหิตลงได้อีก หลังจาก

ที่ความดันโลหิตลดลงเมื่อได้รับยา aliskiren (renin inhibitor)²⁴ นอกจากนี้ฤทธิ์ลดความดันโลหิตแล้ว AVE0991 ยังมีผลปกป้องไตได้ในแบบจำลองภาวะไตเสื่อมจากการเหนี่ยวนำด้วยสาร adriamycin (adriamycin-induced nephropathy) อีกด้วย²⁵

สารอีกชนิดที่ออกฤทธิ์เป็น Mas receptor agonist ได้แก่ Ang-(1-7)-CyD ซึ่งเป็นการนำเอา Ang-(1-7) ไปเชื่อมต่อกับโมเลกุลของ hydroxypropyl- β -cyclodextrin ซึ่งจะทำให้สารที่ได้ทนต่อการถูกทำลายด้วยเอนไซม์ในทางเดินอาหารและสามารถให้ด้วยการรับประทานได้ การศึกษาในหนูที่ได้รับ isoprenaline พบว่าการได้รับ Ang-(1-7)-CyD สามารถเพิ่มระดับ Ang-(1-7) ในกระแสเลือดและลดการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายได้²⁶ Ang-(1-7)-CyD ยังมีผลลดความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจ และลดการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจโต (myocardial hypertrophy) ได้ในหนู SHR²⁷ อีกทั้งยังมีผลลดการอักเสบในบริเวณ atherosclerotic plaque ของหลอดเลือด carotid ได้⁹ นอกจากนี้ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดแล้ว ยังมีการศึกษาพบว่า Ang-(1-7)-CyD มีผลดีในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้จากการเพิ่มการส่งสัญญาณของอินซูลินและกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์อีกด้วย²⁸

นอกเหนือจากการพัฒนาสารที่ออกฤทธิ์เป็น Mas receptor agonist แล้ว การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ACE2 (ACE2 activator) ก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มการทำงานของ ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway โดยที่การกระตุ้น ACE2 จะมีผลทั้งเพิ่ม Ang-(1-7) และลด angiotensin II ซึ่งจะส่งผลให้มีการกระตุ้น AT1 receptor ที่ลดลงด้วยนั่นเอง การดัดแปลงพันธุกรรมให้หนู SHR มีการแสดงออกของ ACE2 เพิ่มขึ้นมีผลลดการหดตัวของหลอดเลือด และลดความดันโลหิต²⁹ สารที่ออกฤทธิ์เป็น ACE2 activator ที่มีการพัฒนาขึ้นได้แก่ xanthenone (XNT) ซึ่งออกฤทธิ์โดยเข้าจับกับบริเวณจำเพาะของ ACE2 และเหนี่ยวนำให้เกิด conformational change ที่มีผลเพิ่มการทำงานของ ACE2 การศึกษาในหนู SHR พบว่า XNT สามารถลดความดันโลหิต เพิ่มการทำงานของหัวใจและลดการเกิด renal fibrosis ได้³⁰ สาร XNT มีฤทธิ์ลดภาวะความดันโลหิตสูงที่ปอด (pulmonary hypertension) ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสาร monocrotaline ซึ่งฤทธิ์ลดภาวะความดันโลหิตสูงที่ปอดนี้ เกิดผ่านกลไกในการกระตุ้น Mas receptor อีกทั้ง XNT ยังสามารถป้องกันการเกิด remodeling ของหลอดเลือดที่บริเวณปอดป้องกันการเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างขวาโตและการเกิด fibrosis ที่กล้ามเนื้อหัวใจด้วย ซึ่งฤทธิ์ของ XNT ในการปกป้องปอดและหัวใจนี้คาดว่าเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ลดการสร้าง

proinflammatory cytokines ได้แก่ tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), nuclear

factor-kappa B (NF- κ B) p50 และ NF- κ B p65 และเพิ่มระดับ anti-inflammatory cytokines คือ interleukin-10 (IL-10)³¹

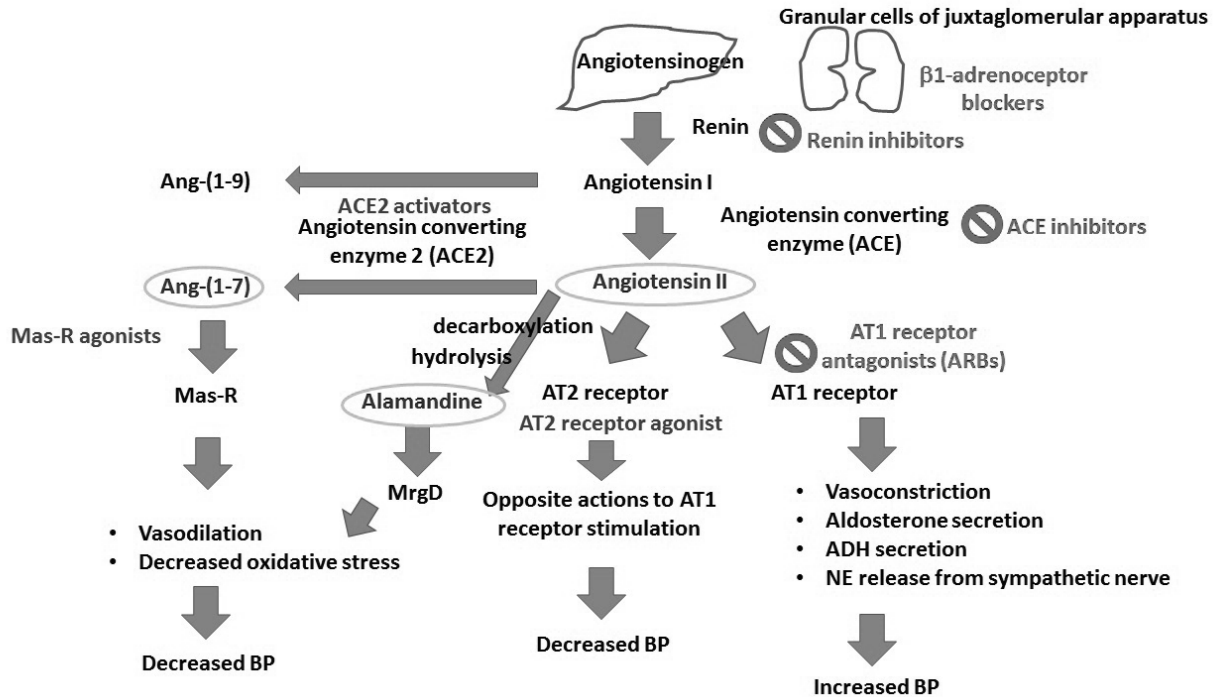


Figure 1 Classical and counter regulatory renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). Activation of the classical RAAS pathway increases BP and target organ damage whilst activation of counter regulatory RAAS, ACE2/Ang-(1-7)/Mas-R, decreases BP. Other novel peptides in RAAS such as alamandine and Ang-(1-9) also regulate BP. Mas-R, Mas receptor; Mrg-D, Mas-related G-protein coupled receptor member D

การศึกษาในหนู SHR พบว่าการให้ XNT มีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ ACE2 ที่หัวใจเพิ่มขึ้น เพิ่มระดับของ Ang-(1-7) และลดการเกิด fibrosis ที่หัวใจ โดยฤทธิ์ยับยั้งการเกิด fibrosis ที่หัวใจนี้เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการส่งสัญญาณผ่าน extracellular signal-regulated kinases (ERK) signaling³² อย่างไรก็ตามมีการศึกษาพบว่า XNT มีฤทธิ์ลดระดับความดันโลหิตได้ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีความดันโลหิตสูงด้วย angiotensin II (angiotensin II-induced acute hypertension) โดยที่ฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตไม่ได้เกี่ยวข้องกับฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของ ACE2 หรือ ระดับของ angiotensin II จึงอาจเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ลดความดันโลหิตของ XNT อาจเกิดผ่านกลไกการออกฤทธิ์อื่นนอกเหนือจากการกระตุ้นเอนไซม์ ACE2³³

การพัฒนา recombinant human ACE2 (rhACE2) ก็เป็นอีกวิธีทางหนึ่งที่สามารถเพิ่มการทำงานของ

ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway โดยพบว่า rhACE2 สามารถลดความดันโลหิตในหนู SHR อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบบริเวณปอด และชะลอการเกิดภาวะไตบกพร่องจากโรคเบาหวาน (diabetic nephropathy) ในสัตว์ทดลองได้^{34,35} จากการศึกษา phase 1 clinical trial ในอาสาสมัครสุขภาพดีพบว่า การให้ rhACE2 โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำขนาด 100 – 1,200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีผลเพิ่มระดับ ACE2 ลดระดับ angiotensin II แต่ไม่มีผลต่อความดันโลหิต และไม่ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตรายร้ายแรง³⁶

2. การเพิ่มระดับของ alamandine

การพัฒนาสารที่เป็นอนุพันธ์ของ alamandine ซึ่งมีฤทธิ์คล้ายกับ Ang-(1-7) โดยการนำ hydroxypropyl- β -cyclodextrin มาเชื่อมต่อกับโมเลกุลของ alamandine ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน alamandine/HP β CD สารชนิดนี้สามารถให้โดยการรับประทานได้ และมีฤทธิ์ลดระดับความดัน

โลหิตในหนู SHR และยับยั้งการเกิด cardiac fibrosis ได้ในหนูที่ได้รับ isoprenaline¹⁹

3. การกระตุ้น AT2 receptor (AT2 receptor agonists)

โดยปกติแล้วบริเวณหลอดเลือดของผู้ใหญ่มี AT2 receptor จำนวนน้อย แต่ในภาวะที่ความดันโลหิตสูงหรือมีการบาดเจ็บของหลอดเลือดจะมีการแสดงออกของ AT2 receptor เพิ่มขึ้นบริเวณหลอดเลือด³⁷ การกระตุ้น AT2 receptor ให้ผลที่ตรงข้ามกับ AT1 receptor นั่นคือทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (antiproliferation) และยับยั้งการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ในระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular remodeling) นอกจากนี้การกระตุ้น AT2 receptor ที่บริเวณไตยังมีฤทธิ์เพิ่มการขับ Na⁺ (natriuresis) อีกด้วย เมื่อ AT2 receptor ถูกกระตุ้นจะมีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ผ่าน signaling pathway หลายชนิด เช่น การกระตุ้นเอนไซม์ protein phosphatases ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ mitogen-activated protein kinases (MAPKs)³⁸ เพิ่มการสร้าง NO จากการเพิ่มระดับของ cGMP³⁹ และการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ phospholipase A2⁴⁰ ปัจจุบันมีสารที่ออกฤทธิ์เป็น selective AT2 receptor agonist คือ compound 21 (C21) ซึ่งเป็นสารที่ไม่ใช่ peptide และสามารถให้ด้วยการรับประทาน การศึกษาในหนู SHR ที่มีความเสี่ยงเป็นโรคหลอดเลือดสมอง (stroke-prone spontaneously hypertensive rat, sp SHR) พบว่าการได้รับ C21 เพียงอย่างเดียว หรือการได้รับ C21 ร่วมกับ losartan (ARBs) มีผลช่วยเพิ่มการทำงานของ endothelial cells โดยมีผลลด oxidative stress ลดปริมาณของ collagen, fibronectin และลดปริมาณของเซลล์อักเสบบริเวณหลอดเลือด การให้ C21 ร่วมกับ losartan ยังมีผลลดความดันโลหิตได้ด้วย แต่การได้รับ C21 เพียงอย่างเดียวไม่มีผลในการลดความดันโลหิต⁴¹ ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตของสารที่ออกฤทธิ์เป็น AT2 receptor agonist จะเกิดขึ้นเมื่อ AT1 receptor ถูกยับยั้งร่วมด้วย อย่างไรก็ตาม AT2 receptor agonist ยังอาจมีผลดีในการป้องกันการทำลายอวัยวะ (target organ damage) ได้ ซึ่งนอกจากมีผลดีต่อหลอดเลือดแล้ว AT2 receptor agonist ยังมีผลในการปกป้องไตและชะลอการเกิดพยาธิสภาพของสมองจากการศึกษาในสัตว์ทดลอง^{42,43,44} และช่วยลดการเกิด fibrosis ในกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างหลังการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายในสัตว์ทดลองได้ด้วย⁴⁵ ดังนั้นแม้ว่าการให้ AT2 receptor agonist เพียงอย่างเดียวอาจไม่มีผลลดความดันโลหิต แต่อาจมีผลดีในการป้องกัน target organ damage ที่เกิดจากความดันโลหิตสูงได้⁴⁶ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาทางคลินิกต่อไป

4. การยับยั้ง AT1 receptor ร่วมกับการยับยั้งเอนไซม์ neprilysin (NEP) (Dual AT1 receptor/ NEP inhibition)

เอนไซม์ NEP เป็น membrane metallo-endo-peptidase enzyme ที่มีฤทธิ์เร่งปฏิกิริยาการสลาย peptide hormones ที่มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือด ทั้ง peptides ที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด (vasoconstrictive mediators) เช่น angiotensin II, endothelin เป็นต้น และ peptides ที่ออกฤทธิ์ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด (vasodilative mediators) เช่น natriuretic peptides, kinins เป็นต้น³⁷ ปัจจุบันมีการพัฒนาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทั้ง AT1 receptor และเอนไซม์ NEP โดยการเชื่อมต่อโมเลกุลของ valsartan ซึ่งเป็น AT1 receptor antagonist กับ sacubitril (AHU377) ซึ่งเป็น prodrug ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NEP สารที่ได้คือ LCZ696 (sacubitril/valsartan) จากการศึกษาทางคลินิกใน phase II clinical trial พบว่า การให้ sacubitril/valsartan ขนาด 200 และ 400 mg ต่อวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีผลลด systolic BP และ diastolic BP ในทำนองได้ดีกว่าการได้รับ valsartan ในขนาด 160 และ 320 mg ต่อวัน และไม่พบรายงานการเกิด angioedema ในการศึกษา⁴⁷ การศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มตัวอย่างชาวเอเชียเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ก็พบเช่นกันว่า sacubitril/valsartan สามารถลดความดันโลหิตได้ และไม่พบการเกิด angioedema⁴⁸ การศึกษาในหนู SHR พบว่า sacubitril/valsartan มีผลลดความดันโลหิตได้ดีกว่า valsartan โดยสามารถลดความดันโลหิตได้โดยไม่ขึ้นกับปริมาณเกลือที่ได้รับ (salt intake) ซึ่งฤทธิ์ลดความดันโลหิตของ sacubitril/valsartan เกี่ยวข้องกับฤทธิ์เหนี่ยวนำการขับออกของ Na⁺ ทางปัสสาวะ และฤทธิ์กดการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก sacubitril/valsartan ยังมีผลในการลดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจโต (cardiac hypertrophy) และการอักเสบรวมทั้งยังลดการเกิด remodeling ของหลอดเลือด coronary artery และ endothelial dysfunction ได้ดีกว่า valsartan ด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า sacubitril/valsartan มีผลในการปกป้องระบบหัวใจและหลอดเลือดได้⁴⁹ ขณะนี้กำลังมีการศึกษาทางคลินิกถึงผลการได้รับ sacubitril/valsartan เปรียบเทียบกับยา olmesartan ในผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงชาวเอเชีย นอกจากนี้การใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการลดความดันโลหิตแล้วยังมีการศึกษาฤทธิ์ของ sacubitril/valsartan ในการรักษาโรคหัวใจล้มเหลวด้วย โดยจากการศึกษาในผู้ป่วยโรคหัวใจล้มเหลว functional class II, III หรือ IV ที่มี ejection fraction ลดต่ำลง ($\leq 40\%$) เปรียบเทียบระหว่าง sacubitril/valsartan (200 mg วันละ 2 ครั้ง) กับ enalapril (10 mg วันละ 2 ครั้ง) พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับ sacubitril/valsartan มีอัตราการเสียชีวิตจากทุกสาเหตุ

(all-cause mortality) ลดลง 16% มีอัตราการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดลดลง 20% และมีอัตราการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจากโรคหัวใจล้มเหลวลดลง 21% ซึ่งผลดีที่เกิดขึ้นนี้เหนือกว่าการได้รับ enalapril อย่างมาก จึงต้องยุติการศึกษาลงก่อนกำหนด⁵⁰ ปัจจุบัน sacubitril/valsartan ได้รับอนุมัติให้ใช้ร่วมกับยากลุ่ม ACEIs ในการรักษาโรคหัวใจล้มเหลวเมื่อเดือนกรกฎาคม ปีค.ศ.2015

สรุป

การควบคุมการทำงานของ RAAS เป็นเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาลดความดันโลหิตที่สำคัญหลายชนิด นอกจากการควบคุมการทำงานของ ACE/Angiotensin II/AT1 receptor pathway แล้ว การควบคุมการทำงานของ RAAS ผ่าน ACE2/Ang-(1-7)/Mas receptor pathway โดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ACE2 (ACE2 activators) และการกระตุ้น Mas receptor (Mas receptor agonists) รวมทั้งการกระตุ้นการทำงานของ angiotensin II type 2 (AT2) receptor (AT2 receptor agonists) หรือการส่งเสริมการทำงานของ peptides ชนิดใหม่ใน RAAS เช่น alamandine จัดเป็นเป้าหมายใหม่ในการควบคุมความดันโลหิตที่มีความน่าสนใจ โดยสารที่ได้รับ การพัฒนาขึ้นหลายชนิดสามารถลดความดันโลหิตอย่างมีประสิทธิภาพและยังสามารถป้องกันการทำลายอวัยวะที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองที่เป็นแบบจำลองโรคความดันโลหิตสูงได้อีกด้วย แม้ว่าผลการศึกษาในสัตว์ทดลองจะแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ดีของยากลุ่มดังกล่าวหลายชนิดในการควบคุมความดันโลหิต อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้ยาทางคลินิกเพิ่มเติมต่อไป การควบคุม RAAS ผ่านกลไกการออกฤทธิ์ใหม่เหล่านี้อาจเป็นทางเลือกที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมความดันโลหิต ลดความเสี่ยงของการเกิด target organ damage และยังคงอาจมีผลดีต่อการรักษาโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด รวมถึงความผิดปกติทางระบบเมแทบอลิซึมอื่นๆอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Oparil S and Schmieder RE. New approaches in the treatment of hypertension. *Circ Res* 2015;116: 1074-1095.
2. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2013;31:1281-1357.

3. สมาคมความดันโลหิตสูงแห่งประเทศไทย. แนวทางการรักษาโรคความดันโลหิตสูงในเวชปฏิบัติทั่วไป พ.ศ.2555 (ปรับปรุง พ.ศ.2558). กรุงเทพมหานคร;2558.
4. Benowitz NL. Antihypertensive Agents. In: Katzung BG, Trevor AJ. eds. *Basic & Clinical Pharmacology*, 13e. New York, NY: McGraw-Hill; 2015.
5. Sim JJ, Bhandari SK, Shi J, et al. Characteristics of resistant hypertension in a large, ethnically diverse hypertension population of an integrated health system. *Mayo Clin Proc* 2013;88:1099-1107.
6. te Riet L, van Esch JHM, Rocks AJM. Hypertension: Renin-Angiotensin-Aldosterone system alterations. *Circ Res* 2015;116:960-975.
7. Moltzer E, Verkuil AV, van Veghel R, et al. Effects of angiotensin metabolites in the coronary vascular bed of the spontaneously hypertensive rat: loss of angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation. *Hypertension* 2010;55:516-522.
8. Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular Noxs, and hypertension: focus on translational and clinical research. *Antioxid Redox Signal* 2014;20(1):1641-82.
9. Fraga-Silva RA, Ferreira AJ, Dos Santos RA. Opportunities for targeting the angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/mas receptor pathway in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2013;15:31-38.
10. 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.
11. Santos RA, Simoes Silva AC, Maric C, et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8258-8263.
12. Ocaranza MP, Moya J, Barrientos V, et al. Angiotensin-(1-9) reverses experimental hypertension and cardiovascular damage by inhibition of the angiotensin converting enzyme/Ang II axis. *J Hypertens* 2014;32: 771-783.
13. Kemp BA, Bell JF, Rottkamp DM, et al. Intrarenal angiotensin III is the predominant agonist for proximal

- tubule angiotensin type 2 receptors. *Hypertension* 2012;60:387-395.
14. Padia SH, Kemp BA, Howell NL, et al. Intrarenal aminopeptidase N inhibition augments natriuretic responses to angiotensin III in angiotensin type 1 receptor-blocked rats. *Hypertension* 2007;49:625-630.
 15. Axelband F, Dias J, Miranda F, et al. A scrutiny of the biochemical pathways from Ang II to Ang-(3-4) in renal basolateral membranes. *Regul Pept* 2009;158:47-56.
 16. Albiston AL, McDowall SG, Matsacos D, et al. Evidence that the angiotensin IV (AT₄) receptor is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase. *J Biol Chem* 2001;276:48623-48626.
 17. Chai SY, Fernando R, Peck G, et al. The angiotensin IV/AT₄ receptor. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:2728-2737.
 18. Coutinho DC, Foureaux G, Rodrigues KD, et al. Cardiovascular effects of angiotensin A: a novel peptide of the renin-angiotensin system. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2014;15(4):480-486.
 19. Lautner RQ, Villela DC, Fraga-Silva RA, et al. Discovery and characterization of alamandine: a novel component of the renin-angiotensin system. *Circ Res* 2013;112:1104-1111.
 20. Jiang F, Yang J, Zhang Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin 1-7: novel therapeutic targets. *Nat Rev Cardiol* 2014;11:413-426.
 21. Wiemer G, Dobrucki LW, Louka FR, et al. AVE 0991, a nonpeptide mimic of the effects of angiotensin-(1-7) on the endothelium. *Hypertension* 2002;40(6):847-852.
 22. Lemos VS, Silva DM, Walther T, et al. The endothelium-dependent vasodilator effect of the nonpeptide Ang(1-7) mimic AVE 0991 is abolished in the aorta of mas-knockout mice. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005;46(3):274-279.
 23. Benter IF, Yousif MH, Anim JT, et al. Angiotensin-(1-7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290(2):H684-H691.
 24. Singh Y, Singh K, Sharma PL. Effect of combination of renin inhibitor and Mas-receptor agonist in DOCA-salt-induced hypertension in rats. *Mol Cell Biochem* 2013;373(1-2):189-194.
 25. Silveira KD1, Barroso LC, Vieira AT, et al. Beneficial effects of the activation of the angiotensin-(1-7) MAS receptor in a murine model of adriamycin-induced nephropathy. *PLoS One* 2013;8(6):e66082.
 26. Marques FD, Ferreira AJ, Sinisterra RD, et al. An oral formulation of angiotensin-(1-7) produces cardioprotective effects in infarcted and isoproterenol-treated rats. *Hypertension* 2011;57(3):477-483.
 27. Bertagnolli M, Casali KR, De Sousa FB, et al. An orally active angiotensin-(1-7) inclusion compound and exercise training produce similar cardiovascular effects in spontaneously hypertensive rats. *Peptides* 2014;51:65-73.
 28. Santos SH, Giani JF, Burghi V, et al. Oral administration of angiotensin-(1-7) ameliorates type 2 diabetes in rats. *J Mol Med (Berl)* 2014;92(3):255-265.
 29. Rentzsch B, Todiras M, Iliescu R, et al. Transgenic angiotensin-converting enzyme 2 overexpression in vessels of SHRSP rats reduces blood pressure and improves endothelial function. *Hypertension* 2008;52(5):967-973.
 30. Hernández Prada JA, Ferreira AJ, Katovich MJ, et al. Structure-based identification of small-molecule angiotensin-converting enzyme 2 activators as novel antihypertensive agents. *Hypertension* 2008;51(5):1312-1317.
 31. Ferreira AJ, Shenoy V, Yamazato Y, et al. Evidence for angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for the prevention of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:1048-1054.
 32. Ferreira AJ, Shenoy V, Qi Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 activation protects against hypertension-induced cardiac fibrosis involving extracellular signal-regulated kinases. *Exp Physiol* 2011;96(3):287-294.
 33. Haber PK, Ye M, Wysocki J, et al. Angiotensin-converting enzyme 2-independent action of presumed

- angiotensin-converting enzyme 2 activators: studies in vivo, ex vivo, and in vitro. *Hypertension* 2014;63:774–782.
34. Tremblé B, Neu N, Kleinsasser A, et al. Recombinant angiotensin-converting enzyme 2 improves pulmonary blood flow and oxygenation in lipopolysaccharide-induced lung injury in piglets. *Crit Care Med* 2010;38(2):596-601.
 35. Oudit GY, Liu GC, Zhong J, et al. Human recombinant ACE2 reduces the progression of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2010;59(2):529-538.
 36. Haschke M, Schuster M, Poglitsch M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in healthy human subjects. *Clin Pharmacokinet* 2013;52(9):783-792.
 37. Paulis L, Rajkovicova R, Simko F. New developments in the pharmacological treatment of hypertension: dead-end or a glimmer at the horizon? *Curr Hypertens Rep* 2015;17(6):557.
 38. Fischer TA, Singh K, O'Hara DS, et al. Role of AT1 and AT2 receptors in regulation of MAPKs and MKP-1 by ANG II in adult cardiac myocytes. *Am J Physiol* 1998;275:906–916.
 39. Gohlke P, Pees C, Unger T. AT2 receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism. *Hypertension* 1998;31:349–355.
 40. Nouet S, Nahmias C. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:1–6.
 41. Rehman A, Leibowitz A, Yamamoto N, et al. Angiotensin type 2 receptor agonist compound 21 reduces vascular injury and myocardial fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2012;59:291–299.
 42. Hrenak J, Arendasova K, Rajkovicova R, et al. Protective effect of captopril, olmesartan, melatonin and compound 21 on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Physiol Res* 2013;62:181–189.
 43. Matavelli LC, Huang J, Siragy HM. Angiotensin AT(2) receptor stimulation inhibits early renal inflammation in renovascular hypertension. *Hypertension* 2011;57:308–313.
 44. Gelosa P, Pignieri A, Fandriks L, et al. Stimulation of AT2 receptor exerts beneficial effects in stroke-prone rats: focus on renal damage. *J Hypertens* 2009;27:2444–2451.
 45. Lauer D, Slavic S, Sommerfeld M, et al. Angiotensin type 2 receptor stimulation ameliorates left ventricular fibrosis and dysfunction via regulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1/matrix metalloproteinase 9 axis and transforming growth factor β 1 in the rat heart. *Hypertension* 2014;63:60–67.
 46. Sumners C, de Kloet AD, Krause EG, et al. Angiotensin type 2 receptors: blood pressure regulation and end organ damage. *Curr Opin Pharmacol* 2015;21:115-121.
 47. Ruilope LM, Dukat A, Böhm M, et al. Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study. *Lancet* 2010;375:1255–1266.
 48. Kario K, Sun N, Chiang FT, et al. Efficacy and safety of LCZ696, a first-in-class angiotensin receptor neprilysin inhibitor, in Asian patients with hypertension: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *Hypertension* 2014;63:698–705.
 49. Kusaka H, Sueta D, Koibuchi N, et al. LCZ696, angiotensin ii receptor-neprilysin inhibitor, ameliorates high-salt-induced hypertension and cardiovascular injury more than valsartan alone. *Am J Hypertens* 2015;28(12):1409-1417.
 50. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med* 2014;371:993–1004.