

Role of Bradykinin and Mas Receptor Blockade in Renal Vascular Responses to Angiotensin 1-7 in Adult Female Rats

Shadan Saberi¹,
Mehdi Nematbakhsh^{2,3},
Aghdas Dehghani⁴

¹ Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

² Professor, Water and Electrolytes Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physiology, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

(Received July 13, 2020 Accepted May 17, 2020)

Abstract

Background and purpose: Chronic kidney disease is among the common diseases in the world. Studies show that women are more protected against renal diseases compared to men. On the other hand, vasodilatory axes of renin angiotensin system (angiotensin 1-7 (Ang 1-7)- Mas receptor (MasR)), kallikrein-kinin, and nitric oxide (NO) play key roles in kidney function and circulation in females. Therefore, the purpose of this study was to examine the effect of bradykinin in renal blood flow (RBF) response to Ang 1-7 when MasR was blocked in female rats.

Materials and methods: Female Wistar rats were divided into three groups (control, Bradykinine, and Bradykinin + MasR antagonist (A779)). The animals were anesthetized and catheterized in the carotid and femoral arteries and jugular vein to measure mean arterial pressure (MAP), renal perfusion pressure (RPP), and drug administration, respectively. The left kidney was exposed (in situ) and placed in a kidney cup to measure RBF. After the equilibration period, A779 and bradykinin (50 µg/kg/h, 150 µg/kg/h, respectively) were injected and vascular responses to Ang1-7 (100, 300, and 1000 ng kg⁻¹min⁻¹) infusion were determined. At the end of the experiment, blood samples were collected for measuring the level of nitrite.

Results: The MAP and RPP were not significantly different between the three groups. Bradykinin exhibited vasodilatory effect on RBF in response to Ang 1-7 in female rats, however, A779 administration increased RBF at low dose of Ang 1-7 ($P_{\text{dose}}=0.001$). The serum level of nitrite significantly decreased when the MasR was blocked ($P=0.04$).

Conclusion: Bradykinin enhanced RBF response to Ang 1-7 infusion. The effect of bradykinin on RBF response to Ang 1-7 may be modulated via the NO pathway. Interaction of these factors might help to broaden our vision for treatment strategy in future.

Keywords: Mas receptor, Angiotensin 1-7, Bradykinin, renal blood flow, nitrite

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30(186): 34-46 (Persian).

* Corresponding Author: Aghdas Dehghani - Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran (E-mail: aghdas.dehghani@yahoo.com)

نقش برادی کینین و بلوک گیرنده Mas بر پاسخ های عروق کلیوی به آنژیوتانسین (1-7) در رت های ماده بالغ

شادان صابری¹
مهدی نعمت بخش^{2,3}
اقدس دهقانی⁴

چکیده

سابقه و هدف: بیماری مزمن کلیوی ازجمله بیماری های شایع در جهان است. بر اساس مطالعات، زنان نسبت به مردان در برابر این بیماری مقاوم ترند. محور وازودیلاتوری سیستم های رنین آنژیوتانسین (آنژیوتانسین 1-7 و گیرنده Mas)، کینین کالیکرئین و نیتریک اکساید در تنظیم خورسانی و عملکرد کلیوی در جنس ماده نقش اساسی دارند. لذا مطالعه حاضر با تاکید بر سیستم رنین آنژیوتانسین و با اثر مهارکننده گیرنده Mas (A779) و اثر برادی کینین (BK) در پاسخ به تزریق آنژیوتانسین 1-7 در رت های ماده طراحی شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مداخله ای تجربی 21 سر رت ماده نژاد ویستار در سه گروه کنترل، دریافت کننده BK و A779+ BK تقسیم شدند و کاتترگذاری در شریان کاروتید، فمور و ورید اجوف به ترتیب جهت اندازه گیری فشار متوسط شریانی (MAP)، فشار پرفیوژن کلیوی (RPP) و تزریق دارو انجام شد. جهت اندازه گیری جریان خون کلیه (RBF)، کلیه چپ در دسترس قرار گرفت و A779 و BK (50 و 150 $\mu\text{g/kg/h}$) تزریق شد و پارامترهای همودینامیک در پاسخ به انفوزیون آنژیوتانسین 1-7 با دوزهای (100، 300، 1000 ng/kg/1min) ثبت شد. در پایان سطح سرمی نیتریت اندازه گیری شد.

یافته ها: MAP و RPP در مرحله پایه در سه گروه تفاوت معنی داری نداشت. BK، RBF را در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 افزایش داد. اما در حالت بلوک بودن Mas و در دوز پایین آنژیوتانسین 1-7 پاسخ RBF افزایش یافت ($P_{\text{dose}}=0/001$). در مهار گیرنده Mas سطح سرمی نیتریت کاهش معنی داری نشان داد ($P=0/04$).

استنتاج: BK پاسخ وازودیلاتوری آنژیوتانسین 1-7 را تقویت می کند و نیز همراه با گیرنده Mas عملکرد همودینامیکی خود را بر کلیه از طریق مسیر نیتریک اکساید انجام می دهند. تعامل این فاکتورها ممکن است بتواند راهگشای درمان اختلالات کلیوی باشد.

واژه های کلیدی: گیرنده Mas، آنژیوتانسین 1-7، برادی کینین، جریان خون کلیه، نیتریت

مقدمه

بیماری های کلیوی دارند که منابع مالی زیادی را نیز طلب می کند (1،2). مشخص شده در شرایط نرمال و پاتوفیزیولوژیک، جریان خون کلیوی در حد مورد

بیماری های مزمن کلیوی یا Chronic kidney disease (CKD)، از جمله دغدغه های جاری در کلینیک است، به طوری که افراد بی شماری در جهان نیاز به درمان

E-mail: aghdas.dehghani@yahoo.com

مؤلف مسئول: اقدس دهقانی - بندر عباس: دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، دانشکده پزشکی

1. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

2. استادیار، مرکز آب و الکترولیت، دانشکده علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

3. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

4. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

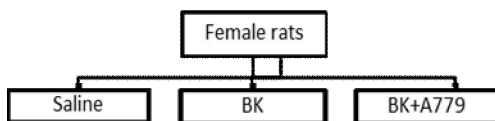
تاریخ دریافت: 1398/4/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/4/24 تاریخ تصویب: 1399/2/28

ثابت نگه داشته می شود تا از بروز آسیب های کلیوی جلوگیری شود. در این راستا عوامل اتوکرین و پاراکرین شامل وازودیلاتور و وازوکانستریکتورها نقش مهمی ایفا می کنند. از جمله این عوامل مهم تنظیم کننده سیستم رنین آنژیوتانسین (RAS)، سیستم کینین کالیکرئین و نیتریک اکسید (NO) است (3-6). RAS به عنوان یک سیستم آبشاری با مجموعه ای از آنزیم ها و ترکیبات با دو بازوی وازوکانستریکتور، شامل آنژیوتانسین II و گیرنده نوع 1 آن (AT₁) و بازوی وازودیلاتور، شامل گیرنده نوع 2 آنژیوتانسین (AT₂)، آنژیوتانسین 1-7 با گیرنده Mas مطرح است. مطالعات اخیر نشان می دهد که فعالیت محور وازودیلاتوری RAS که متشکل از آنژیوتانسین 1-7 و گیرنده Mas است در بهبود بیماری های کلیوی نقش به سزایی دارد (8،7). آنژیوتانسین 1-7 از این جهت که عملکردی مخالف آنژیوتانسین II دارد شبیه مهارکننده های آنزیم آنژیوتانسین (ACE) و بلوک کننده های گیرنده AT₁ به عنوان عاملی در کاهش فشار خون عمل می کند (9). در مطالعات متعددی مشخص شده که این مهارکننده ها باعث افزایش آنژیوتانسین 1-7 و در نتیجه مهار تجزیه برادی کینین (BK) می شوند. بنابراین اثر درمانی و پاسخ وازودیلاتوری وابسته به ACE بخاطر تجمع برادی کینین و تقویت اثرات این دو ماده (آنژیوتانسین 1-7 و برادی کینین) به صورت چشم گیری افزایش یافته که این موضوع مبین اهمیت دو مسیر محور ACE2-Ang-(1-7)-Mas و مسرتولید برادی کینین در بهبود بیماری ها است (10،5). سیستم کینین-کالیکرئین (KKS) که مهم ترین مولفه آن برادی کینین است با تنظیم ترشح آب و سدیم کلیوی، در کنترل فشارخون و جریان خون کلیه شرکت می کند. کینین ها محرک آزادسازی NO و ایکوزانوییدها هستند (10). از طرفی تعامل بین آنژیوتانسین 1-7 و برادی کینین و NO وجود دارد. به نظر می رسد مکانیسمی که با آن آنژیوتانسین 1-7 باعث تقویت پاسخ وازودیلاتوری برادی کینین در آرتریول ایزوله شده سگ است، به واسطه افزایش NO

می باشد و نتیجه گیری شده است که آنژیوتانسین 1-7 به صورت مستقیم و همچنین به صورت غیر مستقیم از طریق افزایش NO موجب اتساع عروق می شود (11،12). از آنجایی که NO هم یکی از مولفه های اساسی در تنظیم مقاومت عروق کلیه و جریان خون کلیوی (RBF) است، نقش برجسته این مولکول در نگهداری مقاومت کم در عروق کلیه موجب شده تا بیش از یک سوم RBF را به خود اختصاص دهد. به طوری که با مهار سنتز NO بوسیله مهارکننده های آنزیم NO سنتاز، مقاومت عروقی به مقدار 30 تا 50 درصد افزایش و جریان خون کلیه کاهشی بین 25 تا 40 درصد را نشان می دهد (13). به طور کلی همکاری این سه سیستم با هم نقش بسزایی در حفظ شرایط طبیعی کلیه و جلوگیری از بروز بیماری های کلیوی دارد و سهم هر کدام در تعیین RBF از موضوعات مهمی است که باید مورد مطالعه قرار گیرد تا با توجه به نقش آن ها راه های درمانی مناسبی برای بیمارهایی کلیوی شناسایی شود.

از طرفی نکته قابل توجه اثر تفاوت جنسیت در پیشرفت مشکلات کلیوی است. بر اساس شواهد موجود به نظر می رسد که پیشرفت بیماری های کلیوی در زنان و مردان متفاوت است و در این راستا بر نقش برجسته هورمون های جنسی در فیزیولوژی و پاتوفیزیولوژی کلیوی توجه شده است (14). از آنجایی که جنسیت و هورمون های جنسی عملکرد سیستم های RAS، NO و KKS را به وسیله مکانیسم هایی مثل تنظیم کاهشی و افزایشی گیرنده ها تحت تاثیر قرار می دهد، این سیستم ها نقش مهمی در ایجاد بیماری های کلیه دارند (15). مطالعات قبلی ما نشان دادند که پاسخ RBF به انفوزیون آنژیوتانسین 7- بین زن و مرد متفاوت است (16). به نظر می رسد این اثر مربوط به بیان بالای گیرنده Mas در جنس ماده باشد (17). از طرفی اکثر مطالعات در جنس نر انجام شده و در نتیجه بررسی ارتباط بین این سیستم ها در جنس ماده از موضوع های حایز اهمیتی است که در این مطالعه به آن پرداخته خواهد شد.

حیوانات ماده طبق دیاگرام زیر به سه گروه تقسیم شدند (BK+A779, BK, Saline).



پروتکل این مطالعه طی مراحل زیر انجام شد:

مرحله اول: آماده سازی و جراحی حیوانات

مرحله دوم: فرایند آزمایش شامل دو مرحله بود:

1- تزریق BK و A779، 2- انفوزیون آنژیوتانسین (1-7)

مرحله اول: آماده سازی و جراحی حیوانات

حیوان وزن شده با اورتان با دوز 1/7 گرم در کیلو گرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی بیهوش شدند (18) و فرایند آزمایش به شرح زیر ادامه یافت:

1- لوله گذاری تراشه جهت تنفس مطلوب و در صورت لزوم استفاده از اکسیژن.

2- کاتتر گذاری در شریان کاروتید به منظور اندازه گیری فشار متوسط خون شریانی (MAP) با استفاده از کاتتری از جنس پلی اتیلن (0/58) و اندازه گیری (MAP) به وسیله فیزیوگراف و نرم افزار Lab View.

3- کاتتر گذاری در ورید اجوف به منظور تزریق داروها و سالین (حلال داروها).

4- کاتتر گذاری در شریان رانی جهت اندازه گیری فشار پرفیوژن کلیوی (RPP).

5- ایجاد برش عرضی در پهلوی حیوان و ایزوله نمودن کلیه و قرار دادن آن در ظرف فیکس شده مخصوص کلیه.

6- قرار دادن کلمپ بر روی آئورت شکمی حیوان به منظور کنترل فشار پرفیوژن کلیوی.

7- جا گذاری پروب بر روی شریان کلیه و وصل آن به دستگاه فلومتر جهت اندازه گیری مداوم و مستقیم جریان خون کلیوی (RBF).

بر اساس مطالب گفته شده نتیجه می شود که محور ACE2-آنژیوتانسین 1-7 با گیرنده Mas در مقابل آنژیوتانسین II با گیرنده AT₁ قرار دارد، تا بتواند RBF را تنظیم کنند. این فرآیند می تواند وابسته به جنس باشد و ممکن است شیوع کم بیماری های کلیوی در جنس ماده هم به همین علت باشد. انتظار می رود بخشی از این اثرات مربوط به سطح بیش تر آنژیوتانسین 1-7 و گیرنده Mas باشد، این گیرنده ها با سیستم برادی کینین و NO در ارتباط هستند و از طرفی جنس ماده سطح NO بیش تری دارد و احتمال دارد این امر بر مسیر سیگنالینگ برادی کینین تاثیر داشته باشد و همچنین تداخل بین گیرنده های مختلف RAS و برادی کینین حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه پاسخ دهی به سوالات زیر می باشد:

الف: پاسخ RBF به آنژیوتانسین 1-7 در حضور یا عدم حضور گیرنده Mas در رت ماده چیست؟
ب: برادی کینین و گیرنده Mas چه سهمی در RBF ایفا می کنند؟

ج: با حضور برادی کینین آیا بود و نبود گیرنده Mas تاثیری در پاسخ دهی RBF به آنژیوتانسین 1-7 دارد؟ با شناسایی سهم هر کدام از فاکتورها در تعیین RBF در جنس ماده می توان راه های درمانی مناسبی برای بیماری های کلیوی با توجه به جنسیت افراد در آینده طراحی کرد.

مواد و روش ها

این مطالعه که از نوع مداخله ای تجربی بود (کد اخلاق: IR.MUI.REC.1392.3.596)، از 21 سررت ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی 200 ± 20 گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه و در لانه حیوانات مرکز تحقیقات آب و الکترولیت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در شرایط استاندارد 12 ساعت تاریکی 12 ساعت روشنایی، در دمای 23-25 درجه نگهداری شدند و غذا و آب به راحتی در اختیار حیوانات قرار گرفت.

8- قرار دادن پروپ دماسنج در مقعد حیوان به منظور کنترل درجه حرارت حیوان در طی آزمایش.

زمان مورد نیاز جهت پایداری حیوانات

پس از اتمام جراحی، MAP، RPP، RBF و درجه حرارت حیوان به مدت حداقل نیم ساعت مانیتور گردید. حیواناتی که در این مرحله به پایداری مناسب نرسیدند از مطالعه حذف شدند. معیار پایداری مناسب فشار خون شریانی بیش تر از 90 و کم تر از 110 میلی متر جیوه بود. در صورتی که حیوانات به پایداری مناسب می رسیدند وارد فرایند آزمایش بشرح زیر می شدند.

مرحله دوم: فرایند آزمایش

مرحله دوم خود شامل دو مرحله می باشد: 1- تزریق BK و A779، 2- انفوزیون آنژیوتانسین (1-7)،

1- مرحله تزریق BK و A779:

پس از پایداری، شروع تزریق BK و A779 و سالین براساس قرار گرفتن در هر یک از سه گروه مورد آزمایش 1- گروه کنترل، 2- گروه BK (تزریق برادی کینین)، 3- گروه BK+A779 (تزریق همزمان آنتاگونیست Mas و برادی کینین) انجام گردید و تا پایان آزمایش (یعنی آخرین دوز تزریقی آنژیوتانسین 1-7) ادامه داشت.

نیم ساعت پس از تزریق داروهای فوق بر حسب مورد در هر گروه آزمایشی ثبت داده ها شروع شد و پایان نیم ساعت اولیه به عنوان اثر داروها و یا سالین در نظر گرفته شد (تصویر شماره 1).

تزریق مواد به صورت تک دوز و یک دوز تداومی تا پایان آزمایش (برادی کینین 150 میکرو گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن و A779 50 میکرو گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن) انجام شد.

2- مرحله انفوزیون آنژیوتانسین (1-7):

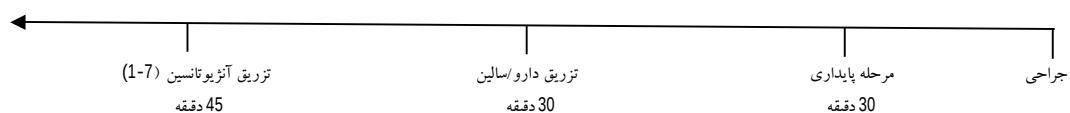
در مرحله بعد تزریق آنژیوتانسین 1-7 با دوز 100، 300 و 1000 نانو گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن در دقیقه انجام شد (16). هر یک از دوزها به مدت 15 دقیقه تزریق (جمعا 45 دقیقه) شدند و دوره سه تا پنج دقیقه آخر هر دوز زمان ثبت داده ها در نظر گرفته شد.

در پایان آزمایش خونگیری از طریق شریان کاروتید جهت اندازه گیری سطح سرمی نیتريت (متابولیت NO) با استفاده از روش گریس انجام و همچنین وزن کلیه چپ اندازه گیری شد (تصویر شماره 1).

آنالیز آماری

مقایسه میانگین پارامترها MAP، RPP، RBF و مقاومت عروق RVR و وزن کلیه (KW) در مرحله پایه بین گروه های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست متعاقب توکی انجام شد.

پاسخ به داروها و آنژیوتانسین 1-7 از آزمون ANOVA برای داده های مکرر (ANOVA for Repeated Measures) و سپس تست متعاقب توکی استفاده شد. داده های مربوط به سطح نیتريت پلازما به صورت مقایسه با استفاده از آنالیز آماری ANOVA یک طرفه بررسی گردید. داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار میانگین (Mean $\pm$ SEM) گزارش و مقدار کم تر از ($P < 0/05$) به عنوان اختلاف آماری معنی دار در نظر گرفته شد. بررسی های آماری توسط نرم افزار SPSS-16 انجام شد. مقاومت عروق کلیوی از تقسیم RPP بر روی RBF محاسبه گردید ($RVR = RPP/RBF$).



تصویر شماره 1: زمان بندی مراحل آزمایش

یافته ها

این مطالعه که با هدف تعیین اثر آنتاگونیست گیرنده Mas (A779) و برادی کینین (BK) در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 بر همودینامیک کلیه در رت های ماده انجام شد، در سه مرحله نتایج زیر مشاهده شد.

مرحله پایداری

داده های پایه مربوط به (MAP^1)، (RPP^2)، (RBF^3)، جریان خون به ازای هر گرم وزن کلیه (RBF/kw) و KW^4 در سه گروه مورد آزمایش در جدول شماره 1 ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که اختلاف معنی داری در مرحله کنترل بین گروه های مورد آزمایش (سالین، BK و BK+A779) وجود ندارد.

جدول شماره 1: داده های پایه مربوط جریان، فشار خون و وزن کلیه

در سه گروه مورد آزمایش

Group	MAP (mmHg)	RPP (mmHg)	RBF (ml/min)	RBF/KW (ml/min/gKW)	KW (g)
Saline	91/1±28	77/4±38	1/50±0/30	2/16±0/43	0/73±0/02
BK	92/8±19	81/9±16	1/30±0/12	1/89±0/24	0/70±0/03
BK+A779	90/7±21	79/7±16	1/37±0/12	1/86±0/14	0/75±0/05
سطح معنی داری	0/77	0/41	0/64	0/71	0/74

MAP: Mean Arterial Pressure

RPP: Renal Perfusion Pressure

Renal Blood Flow

KW: Kidney Weight

اثر BK و A779 بر پاسخ های همودینامیک کلیه:

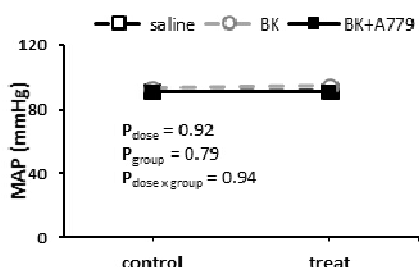
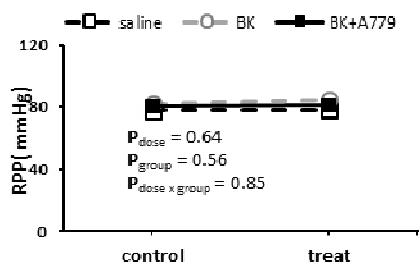
مقایسه گروه ها تغییر معنی داری را در پارامترهای MAP و RPP نشان نداد. در حالی که تزریق BK و BK+A779 موجب افزایش معنی دار RBF ($P < 0/001$) و RVR ($P = 0/01$) شد. در مورد جریان خون بین گروه ها نیز تفاوت معنی دار بود و گروه BK جریان خون کلیه را بیش تر افزایش داده بود ($P_{group} = 0/03$) (تصاویر شماره 2 و 3).

MAP: Mean Arterial Pressure

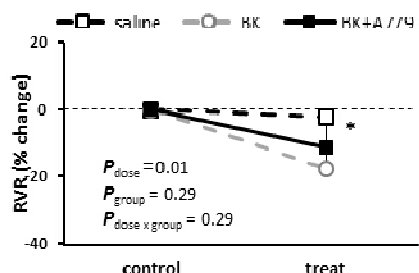
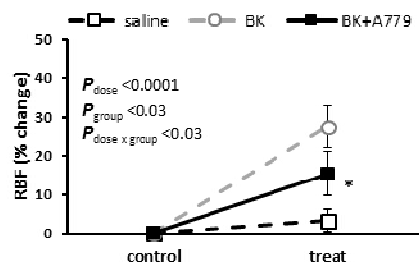
RPP: Renal Perfusion Pressure

RBF: Renal Blood Flow

KW: Kidney Weight

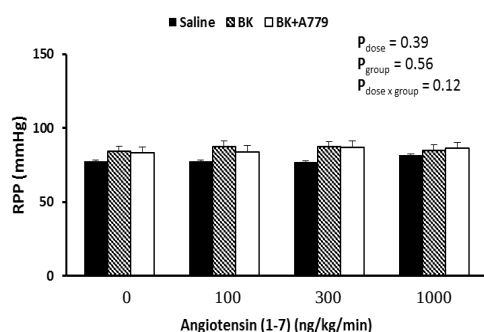


تصویر شماره 2: میانگین فشار متوسط شریانی (MAP) و فشار پرفیوژن کلیوی (RPP) قبل و بعد داروها (treat) در سه گروه ماده دریافت کننده سالین، BK و BK+A779. با استفاده از آنالیز ANOVA repeated measures تفاوت معنی داری را بین گروه ها مشاهده نشد.

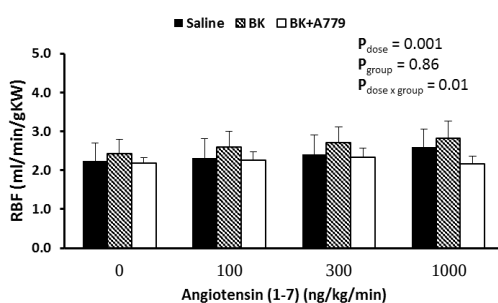


تصویر شماره 3: درصد تغییرات جریان خون کلیوی (RBF) و مقاومت عروق کلیوی (RVR) قبل و بعد از تزریق سالین، BK و BK+A779. آنالیز ANOVA repeated نشان می دهد RBF مقایسه بین قبل از تزریق آنتاگونیست (کنترل) و بعد از تزریق داروها (treat) و بین گروه ها تفاوت معنی داری وجود دارد.

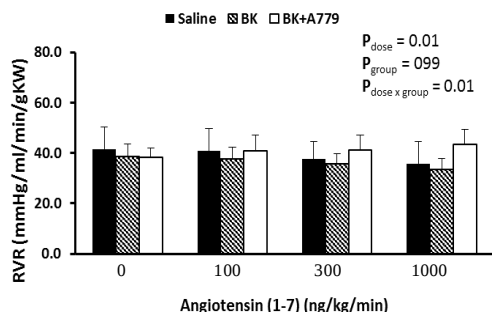
ANOVA repeated measures تفاوت وابسته به دوز در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه ها نشان داد.



تصویر شماره 5: تغییرات میانگین فشار پرفیوژن کلیوی (RPP) در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه های مورد مطالعه saline، BK و BK+A779. آنالیز ANOVA repeated measures تفاوت وابسته به دوز در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 و بین گروهی نشان نداد.



تصویر شماره 6: تغییرات جریان خون کلیه (RBF) در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه های مورد مطالعه saline، BK و BK+A779. آنالیز ANOVA repeated measures تفاوت وابسته به دوز در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه ها نشان داد ولی بین گروهی تفاوتی نداشت.

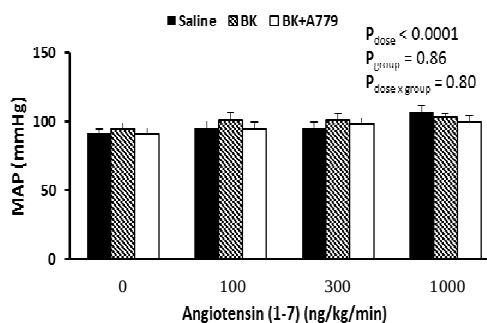


تصویر شماره 7: تغییرات مقاومت عروق کلیه (RVR) در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه های saline، BK و BK+A779. آنالیز ANOVA repeated measures نشان داد، RVR در پاسخ به دوزهای مختلف آنژیوتانسین 1-7 تفاوت معنی داری داشت.

اثر پاسخ به آنژیوتانسین (1-7) بر پارامترهای همودینامیک در مرحله تزریق آنژیوتانسین (1-7) با دوزهای 0، 100، 300 و 1000 نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن MAP در پاسخ به دوزهای مختلف آنژیوتانسین 1-7 تغییرات معنی داری داشت ($P_{\text{dose}} < 0.0001$) ولی بین گروهها تفاوتی مشاهده نشد. نتایج حاصل از میانگین RPP در پاسخ به دوزهای مختلف آنژیوتانسین (1-7) اختلافی نداشت. RBF و RVR تفاوت وابسته به دوز در پاسخ به آنژیوتانسین (1-7) در گروههای (سالین، BK و BK+A779) نشان داد، به طوری که برادی کینین، RBF را در پاسخ به آنژیوتانسین (1-7) تشدید کرد ($P < 0.05$). اما در حالت بلوک بودن Mas (گروه BK+A779) و در دوزهای پایین آنژیوتانسین 1-7 (100، 300، 1000 نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دقیقه) پاسخ RBF افزایش یافت. در صورتیکه در دوز 1000 نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دقیقه این فرایند مشاهده نشد (تصاویر شماره های 4، 5، 6، 7).

سطح نیتريت سرم

میانگین غلظت نیتريت سرم در گروه کنترل ($12/89 \pm 2/38$ میکرومول بر لیتر)، در گروه دریافت کننده BK ($11/89 \pm 1/28$ میکرومول بر لیتر) و در گروه دریافت کننده BK+A779 ($6/66 \pm 1/57$ میکرومول بر لیتر) بود که کاهش معنی داری در غلظت سرم نیتريت در گروه دریافت کننده BK+A779 با دو گروه دیگر مورد مطالعه مشاهده شد ($P = 0.04$) (تصویر شماره 8).

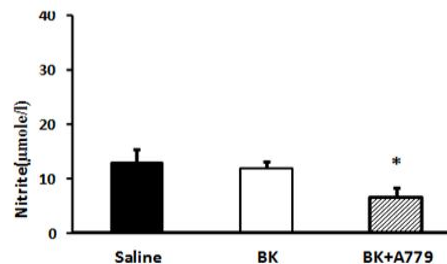


تصویر شماره 8: تغییرات فشار شریانی (MAP) در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در گروه های مورد مطالعه saline، BK و BK+A779. آنالیز

متفاوت است (16). به نظر می‌رسد این اثر مربوط به بیان بالای گیرنده Mas در جنس ماده باشد (17)، همچنین برادی کینین هم اثرات متنوعی در بستر رگی کلیه اعمال می‌کند.

مطالعه‌ای نشان داد برادی کینین موجب اتساع آرتریول آوران می‌شود (23) و این اثر بر روی انقباض پایه عروقی توسط آزاد سازی مدياتورهای وازودیلاتور مانند NO و پروستاگلاندین‌ها انجام می‌شود (24، 25). مطالعات متعددی اثر متسع کننده عروقی برادی کینین را در کلیه ایزوله تایید کردند (5، 10). استفاده از دوزهای مختلف برادی کینین فاکتور دیگری است که در پاسخ متنوع آن در عروق کلیه نقش دارد. برادی کینین در دوز بالا اثر انقباض عروقی ایجاد می‌کند اما در دوز پایین عروق کلیه را متسع می‌کند (26). شواهد دیگری نشان داد که تزریق درون وریدی برادی کینین افزایش RBF و کاهش مقاومت عروقی را القا می‌کند (R)، نتایج ما هم در تایید با این مطالعات نشان داد که برادی کینین، RBF را در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 به صورت وابسته به دوز افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر برادی کینین پاسخ متسع کننده عروقی آنژیوتانسین 1-7 را در کلیه رت‌های ماده دست نخورده تقویت کرد و تحقیقات قبلی هم این موضوع را تایید کردند. غلظت برادی کینین کلویی بیش تر از مقدار آن در گردش خون سیستمیک است که بیانگر سنتر موضعی این پپتید در کلیه است. برادی کینین به واسطه دو گیرنده B₁ و B₂ عمل می‌کند. گیرنده‌های آن در نواحی مختلف کلیه دیده شده است (27).

نکته دیگر در این مطالعه اثرات رسپتور Mas است. آزمایشی در محیط in-vivo نشان داد عملکرد متسع کننده عروقی آنژیوتانسین (1-7) در عروق مزاتریک توسط برادی کینین تسهیل شد. اما لوزارتان به عنوان آنتاگونیست گیرنده AT1 تاثیری نداشت. از طرفی A779، بلوکر گیرنده Mas موجب مهار این اثر شد، این بررسی پیشنهاد کرد اثر سینرژیک برادی کینین بر عمل وازودیلاتوری آنژیوتانسین (1-7) به گیرنده



تصویر شماره 8: سطح سرمی نیتريت در گروه‌های دریافت کننده saline و BK و BK+A779. بعد از تزریق آنژیوتانسین 1-7 لبا استفاده از آنالیز آماری ANOVA یکطرفه. کاهش معناداری بین گروه دریافت کننده BK+A779 و دو گروه دیگر دیده شد ($P < 0/05$). * بیانگر اختلاف معنی داری بین دو گروه سالین و BK+A779 است.

بحث

در این مطالعه نقش برادی کینین و همچنین تعامل بین برادی کینین و گیرنده Mas بر جریان خون کلیه در پاسخ به آنژیوتانسین 1-7 در رت‌های ماده دست نخورده بررسی شد. برادی کینین، RBF را افزایش داد و همچنین پاسخ وازودیلاتوری آنژیوتانسین 1-7 در حضور گیرنده Mas را تقویت کرد. یافته جدید ما نشان داد با بلوک گیرنده Mas پاسخ برادی کینین به RBF وابسته به دوز آنژیوتانسین 1-7 بود در دوز پایین آن یعنی 100 و 300 این پاسخ افزایشی، اما در دوز 1000 این پپتید نه تنها موجب افزایش RBF نشد بلکه روند کاهشی داشت. اثرات آنژیوتانسین 1-7 و برادی کینین بر روی کلیه پیچیده می‌باشد. آنژیوتانسین 1-7 در تنظیم انتقال توبولی، GFR و همودینامیک کلیه شرکت می‌کند (10، 19) و RBF را بواسطه رهایش NO و پروستاگلاندین‌ها تنظیم می‌کند (5، 20). این پپتید توسط گیرنده Mas بسیاری از عملکردهای خود را به صورت وابسته به جنس میانجی‌گری می‌کند (۱۶، ۲۱). گزارش شده است آنژیوتانسین 1-7 موجب اتساع عروقی در جریان خون کلیه، مغز و عروق خونی مزاتریک می‌شود. مطالعه حاضر و تحقیقات پیشین ما هم این موضوع را تایید می‌کند (22). از طرفی مطالعات قبلی ما پیشنهاد کردند پاسخ RBF به انفوزیون آنژیوتانسین 1-7 بین زن و مرد

AT1 مربوط نمی‌باشد و با تعامل با گیرنده Mas انجام می‌شود (28). مشخص شده است که عروق فاقد رسپتور Mas دارای عملکرد غیر طبیعی اندوتلیوم هستند. Peiró و همکاران اثر دپرسوری آنژیوتانسین 1-7 را در موش‌های فاقد رسپتور Mas عروقی با موش‌های سالم تیمار شده با A779 بررسی کردند. طبق نتایج این تحقیق، نقش وازودیلاتوری این پپتید حدود 40 درصد در موش‌های فاقد رسپتور کاهش یافت و تیمار با A779 این پاسخ را کم کرد اما از بین نبرد (29). بنابراین آنژیوتانسین 1-7 ممکن است عملکرد خود را از مسیرهای دیگری انجام دهد (30). در تضاد با مطالعه قبلی تیمار با A779 و مهارکننده سنتز NO (L-NAME) اتساع عروقی ایجاد شده توسط آنژیوتانسین 1-7 را از بین برد. نتیجه‌گیری این بررسی از نقش گیرنده Mas در اتساع وابسته به NO توسط آنژیوتانسین 1-7 و برادی کینین حمایت می‌کند (31).

در مطالعه حاضر بلوک گیرنده Mas پاسخ وازودیلاتوری RBF به آنژیوتانسین 1-7 را کاهش داد ولی از بین نبرد. بنابراین این طور به نظر می‌رسد که با مهار گیرنده Mas، این پپتید از مسیر دیگری RBF را افزایش می‌دهد. مکانیسم دقیق آن واضح نیست اما ممکن است رسپتورهای دیگر RAS مثل AT2 در گیر باشند (32). در مجموع پاسخ RBF به آنژیوتانسین (1-7) وابسته به رسپتورهای RAS و تداخل آن‌ها، برادی کینین، NO و پروستاگلاندین‌ها می‌باشد، همه این فاکتورها در کنترل همودینامیک کلیه همکاری می‌کنند و با حذف یک فاکتور بقیه مسیرها در جهت جبران فعال‌تر می‌شوند و ممکن است پاسخ بزرگ‌تری ایجاد کنند. انفوزیون برادی کینین در آرتریول کلیه سبب ناتریورز و دیورز و کاهش فشار خون می‌شود که مکانیسم‌های درگیر در این اثر آزاد سازی NO و پروستاگلاندین‌ها گزارش شده است (33، 34). آگونیست گیرنده B₂ برادی کینین در غلظت نانو مولار باعث ریلکس شدن شریان کلیه شد اما آنتاگونیست این گیرنده

یعنی اکاتیبانت این پاسخ را مهار کرد (35). گزارشات متعددی مبنی بر تعامل بین برادی کینین و آنژیوتانسین 1-7 در راستای مطالعه حاضر وجود دارد (36). از طرفی با مهار گیرنده Mas، اثر وازودیلاتوری در پاسخ به دوزهای 100 و 300 آنژیوتانسین 1-7 باقی ماند اما در دوز 1000 کاهش یافت، بنابراین در غیاب گیرنده Mas اثر آنژیوتانسین 1-7 روی RBF وابسته به دوز است. یکی از علت‌های آن ممکن است گرایش این پپتید به گیرنده AT₁ باشد (33). گزارش شده است که تداخل بین Mas و AT₁ موجب مهار اثرات آنژیوتانسین II می‌شود (37). بنابراین با بلوک Mas الیگومریزاسیون این گیرنده با AT₁ کاهش می‌یابد (به عبارتی اثر مهاری Mas روی گیرنده AT₁ برداشته می‌شود) از طرفی آنژیوتانسین 1-7 در دوز بالا گرایش به گیرنده AT₁ و ایجاد فعالیت وازوکانستریکتوری دارد (38). بنابراین کاهش جریان خون مشاهده شده در هنگام انفوزیون دوز 1000 آنژیوتانسین 1-7 ممکن است به علت تمایل بیش‌تر این پپتید به گیرنده AT₁ در شرایط مهار گیرنده Mas باشد. به‌طور کلی برادی کینین پاسخ وازودیلاتوری آنژیوتانسین 1-7 را به جریان خون کلیه تقویت کرد و آنتاگونیست گیرنده Mas تاثیری در این اثر نداشت که پیشنهاد می‌کند برادی کینین از مسیرهایی مانند گیرنده خود، پروستاگلاندین‌ها و NO اثر خود را اعمال می‌کند. نتایج حاضر نشان داد سطح نیتريت سرم در پاسخ به آنژیوتانسین (1-7) کاهش معنی‌داری هنگام تزریق همزمان برادی کینین و A779 در مقایسه دو گروه برادی کینین به تنهایی و سالین در رت‌های ماده را نشان داد. اتساع عروقی برادی کینین از طریق مکانیسم وابسته به اندوتلیوم است و فاکتورهای وازودیلاتوری مختلفی آزاد می‌شود که به نژاد و بستر عروقی بافت هدف بستگی دارد (39). در سلول‌های ماهیچه رت، اثر وازودیلاتوری آن بیش‌تر به واسطه آزاد سازی پروستاگلاندین‌ها ایجاد می‌شود (40). در عروق رگ‌های مغز گربه این اثر وابسته به تحریک تولید رادیکال‌های

آن گیرنده Mas نیاز است، به طوری که موش های فاقد گیرنده Mas به علت کاهش تولید NO دچار اختلال در عملکرد اندوتلیال می شوند و مطالعه ما از این موضوع حمایت می کند. برادی کینین در شرایط فیزیولوژیک به نگهداری سطح نیتريت سرم کمک می کند و برای تولید NO در پاسخ به آنژیوتانسین (1-7) به گیرنده Mas نیاز دارد، به طوری که با مهار این گیرنده سطح سرم نیتريت به طور معنی داری کاهش می یابد.

با انفوزیون آنژیوتانسین (1-7)، RBF افزایش می یابد. با بلوک گیرنده Mas پاسخ وازودیلاتوری آنژیوتانسین (1-7) باقی می ماند که پیشنهاد می کند این پپتید از طریق مسیرهای دیگری مانند برادی کینین و پروستاگلندین ها عملکرد خود را در کلیه انجام می دهد و فقط وابسته به گیرنده Mas نیست و می تواند ناشی از اتصال آنژیوتانسین 1-7 به گیرنده های AT2 باشد و همچنین همکاری این پپتید با برادی کینین و تولید NO باعث ایجاد این پاسخ وازودیلاتوری می شود.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

References

- Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global prevalence of chronic kidney disease-a systematic review and meta-analysis. *PloS One* 2016; 11(7): e0158765.
- Neuen BL, Chadban SJ, Demaio AR, Johnson DW, Perkovic V. Chronic kidney disease and the global NCDs agenda. *BMJ Glob Health* 2017; 2(2): e000380.
- Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocrine Reviews* 2003; 24(3): 261-271.
- Siragy HM, Jaffa AA, Margolius HS. Bradykinin B2 receptor modulates renal prostaglandin E2 and nitric oxide. *Hypertension* 1997; 29(3): 757-762.
- Dehghani A, Saberi S, Nematbakhsh M. Role of Mas receptor antagonist A799 in renal blood flow response to Ang 1-7 after bradykinin administration in ovariectomized estradiol-treated rats. *Advances in Pharmacological Sciences* 2015; 2015: 801053.
- Dehghani A, Saberi S, Nematbakhsh M. Nitric Oxide Synthases Blockade; L-NAME and Estradiol Alter Renal Blood Flow Response

- to Angiotensin 1-7 in Ovariectomized Rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2015; 59(3): 266-274.
7. Chappell MC, Marshall AC, Alzayadneh EM, Shaltout HA, Diz DI. Update on the angiotensin converting enzyme 2-angiotensin (1-7)-Mas receptor axis: fetal programing, sex differences, and intracellular pathways. *Frontiers in Endocrinology* 2013; 4: 201.
 8. Iwai M, Horiuchi M. Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT 1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. *Hypertens Res* 2009; 32(7): 533-536.
 9. Ferrario CM. Biological roles of angiotensin-(1-7). *Hypertens Res* 1992; 15(2): 61-66.
 10. Saberi S, Dehghani A, Nematbakhsh M. Angiotensin 1-7 administration increases renal blood flow in the absence of bradykinin B2 receptor in ovariectomized estradiol treated rats: The role of mas receptor. *Acta Medica Iranica* 2019; 57(2): 103-109.
 11. Li P, Chappell MC, Ferrario CM, Brosnihan KB. Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide. *Hypertension* 1997; 29(1): 394-400.
 12. Brosnihan KB, Li P, Ferrario CM. Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension* 1996; 27(3): 523-528.
 13. Majid DS, Navar LG. Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. *American Journal of Hypertension* 2001; 14(S3): 74S-82S.
 14. Silbiger S, Neugarten J. Gender and human chronic renal disease. *Gend Med* 2008; 5(suppl A): S3-S10.
 15. Schneider MP, Wach PF, Durley MK, Pollock JS, Pollock DM. Sex differences in acute ANG II-mediated hemodynamic responses in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 299(3): R899-R906.
 16. Nematbakhsh M, Safari T. Role of Mas receptor in renal blood flow response to angiotensin (1-7) in male and female rats. *General Physiology and Biophysics* 2013; 33(3): 365-372.
 17. Sampson AK, Moritz KM, Denton KM. Postnatal ontogeny of angiotensin receptors and ACE2 in male and female rats. *Gender medicine* 2012; 9(1): 21-32.
 18. Pezeshki Z, Eshraghi-Jazi F, Nematbakhsh M. Vascular Response to Graded Angiotensin II Infusion in Offspring Subjected to High-Salt Drinking Water during Pregnancy: The Effect of Blood Pressure, Heart Rate, Urine Output, Endothelial Permeability, and Gender. *Int J Vasc Med* 2014; 2014: 876527.
 19. van der Wouden EA, Ochodnický P, van Dokkum RP, Roks AJ, Deelman LE, de Zeeuw D, et al. The role of angiotensin (1-7) in renal vasculature of the rat. *J Hypertens* 2006; 24: 1971-1978.
 20. Botelho-Santos GA, Sampaio WO, Reudelhuber TL, Bader M, Campagnole-Santos MJ, dos Santos RAS. Expression of an angiotensin-(1-7)-producing fusion protein in rats induced marked changes in regional vascular resistance. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2007; 292(5): H2485-H2490.
 21. Pinheiro SV, Ferreira AJ, Kitten GT, da Silveira KD, da Silva DA, Santos SH, et al. Genetic deletion of the angiotensin-(1-7) receptor Mas leads to glomerular hyperfiltration and microalbuminuria. *Kidney Int* 2009; 75(11): 1184-1193.
 22. Sampaio WO, Nascimento AA, Santos RA. Systemic and regional hemodynamic effects

- of angiotensin-(1-7) in rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2003; 284(6): H1985-H1994.
23. Ren Y, Garvin J, Carretero OA. Mechanism involved in bradykinin-induced efferent arteriole dilation. *Kidney International* 2002; 62(2): 544-549.
 24. Badzyska B, Sadowski J. Differential action of bradykinin on intrarenal regional perfusion in the rat: waning effect in the cortex and major impact in the medulla. *The Journal Of Physiology* 2009; 587(15): 3943-3953.
 25. Rhaleb N-E, Yang X-P, Carretero OA. The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. *Comprehensive Physiology* 2011; 1(2): 971-993.
 26. Hofbauer KG, Dienemann H, Forgiarini P, Stalder R, Wood JM. Renal vascular effects of angiotensin II, arginine-vasopressin and bradykinin in rats: interactions with prostaglandins. *Gen Pharmacol* 1983; 14(1): 145-147.
 27. Beierwaltes WH, Carretero OA, Scicli AG. Renal hemodynamics in response to a kinin analogue antagonist. *Am J Physiol* 1988; 255(3): F408-F414.
 28. Aparecida Oliveira M, Bruno Fortes Z, Santos RA, Kosla MC, De Carvalho MHC. Synergistic effect of angiotensin-(1-7) on bradykinin arteriolar dilation in vivo. *Peptides* 1999; 20(10): 1195-201.
 29. Peiró C, Vallejo S, Gembardt F, Azcutia V, Heringer-Walther S, Rodríguez-Mañas L, et al. Endothelial dysfunction through genetic deletion or inhibition of the G protein-coupled receptor Mas: a new target to improve endothelial function. *J Hypertens* 2007; 25(12): 2421-2425.
 30. Silva DM, Vianna HR, Cortes SF, Campagnole-Santos MJ, Santos RA, Lemos VS. Evidence for a new angiotensin-(1-7) receptor subtype in the aorta of Sprague-Dawley rats. *Peptides* 2006; 28(3): 702-707.
 31. Peiró C, Vallejo S, Gembardt F, Palacios E, Novella S, Azcutia V, et al. Complete blockade of the vasorelaxant effects of angiotensin-(1-7) and bradykinin in murine microvessels by antagonists of the receptor Mas. *J Physiol* 2013; 591(Pt 9): 2275-2285.
 32. Walters PE, Gaspari TA, Widdop RE. Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats. *Hypertension* 2005; 45(5): 960-966.
 33. McGiff JC, Itskovitz HD, Terragno NA. The actions of bradykinin and eledoisin in the canine isolated kidney: relationships to prostaglandins. *Clin Sci Mol Med* 1975; 49(2): 125-131.
 34. D'Orléans-Juste P, De Nucci G, Vane JR. Kinins act on B1 or B2 receptors to release conjointly endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells. *British Journal of Pharmacology* 1989; 96(4): 920-926.
 35. Hock F, Wirth K, Albus U, Linz W, Gerhards HJ, Wiemer G, et al. Hoe 140 a new potent and long acting bradykinin-antagonist: in vitro studies. *British Journal of Pharmacology* 1991; 102(3): 769-773.
 36. Su JB. Different cross-talk sites between the renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* 2014; 15(4): 319-328.
 37. Katovich MJ, Grobe JL, Raizada MK. Angiotensin-(1-7) as an antihypertensive, antifibrotic target. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10(3): 227-232.

38. Handa RK, Ferrario CM, Strandhoy JW. Renal actions of angiotensin-(1-7): in vivo and in vitro studies. *Am J Physiol* 1996; 270(1): F141-F147.
39. Fulton D, McGiff JC, Quilley J. Contribution of NO and cytochrome P450 to the vasodilator effect of bradykinin in the rat kidney. *British Journal of Pharmacology* 1992; 107(3): 722-725.
40. Messina EJ, Weiner R, Kaley G. Inhibition of bradykinin vasodilation and potentiation of norepinephrine and angiotensin vasoconstriction by inhibitors of prostaglandin synthesis in skeletal muscle of the rat. *Circulation Research* 1975; 37(4): 430-437.
41. Kontos HA, Wei EP, Povlishock JT, Christman CW. Oxygen radicals mediate the cerebral arteriolar dilation from arachidonate and bradykinin in cats. *Circulation Research* 1984; 55(3): 295-303.
42. Kobuchi S, Miura K, Iwao H, Ayajiki K. Nitric oxide modulation of endothelium-derived hyperpolarizing factor in agonist-induced depressor responses in anesthetized rats. *European journal of pharmacology* 2015; 762: 26-34.
43. Carretero OA, Scicli AG. The renal kallikrein-kinin system. *American Physiological Society* 1980; 238(4): F247-F255.
44. Katori M, Majima M. Renal (tissue) kallikrein-kinin system in the kidney and novel potential drugs for salt-sensitive hypertension. *Prog Drug Res* 2014; 69: 59-109.