

بررسی اثرات تزریق سوبسترای رنین در هسته آمیگدال مرکزی بر فشار خون شریانی و ضربان قلب در موش صحرایی مبتلا به پرفشاری خون کلیوی - عروقی

بهنام حشمتیان*، دکتر محسن پرویز**، دکتر سیدمرتضی کریمیان***، دکتر منصور کشاورز**، حمید سوهانکی****

دریافت: ۸۴/۱۱/۱۲ ، پذیرش: ۸۵/۸/۱۶

چکیده:

مقدمه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده اند که القاء پرفشاری خون کلیوی-عروقی، مدل دوکلیه -یک گیره ای گلدبلاتی 2Kidney 1Clip Goldblatt Hypertension (2K1C) موجب حذف اثرات افزایشده فشارخون به دنبال غیر فعال سازی هسته آمیگدال مرکزی (CA) Central Amygdala میگردد. این مطالعه بمنظور تعیین تغییرات فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS) Renin _ Angiotensin System بافتی در هسته CA متعاقب القاء پرفشاری خون کلیوی-عروقی انجام شد. به این منظور اثرات قلبی عروقی تزریق سوبسترای رنین (RS) Renin Substrate در CA موشهای صحرایی سالم و مبتلا به پرفشاری خون 2K1C بررسی و با هم مقایسه شدند .

روش کار: در یک مطالعه تجربی در گروه مورد با نصب گیره نقره ای بر روی شریان کلیوی چپ پرفشاری خون 2K1C القاء و در گروه شاهد عمل جراحی مشابهی بدون نصب گیره نقره ای انجام شد. هفت هفته بعد کانول گذاری دوطرفه در بالای CA جهت تزریقات انجام گرفت. پس از یک هفته بهبودی از جراحی، با تزریق داخل صفاقی اورتان (1g/kg) بیهوشی القاء و کانول گذاری در شریان رانی چپ بمنظور اندازه گیری فشار خون متوسط شریانی (MAP) Mean Arterial Blood pressure و ضربان قلب (HR) Heart Rate انجام شد. اثرات تزریق RS در CA با دوزهای پی در پی (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار - نیم میکرولیتر)، سالیین و پیش درمانی با کاپتوپریل (۱۰^μM)، لوزارتان (۱۰^μM) و سارالازین (۱^{nM}) قبل از RS بر میزان MAP و HR در سه گروه کنترل، شاهد و گلدبلاتی اندازه گیری شد.

نتایج: تزریق دو طرفه دوزهای پی در پی RS در حیوانات مبتلا به پرفشاری خون 2K1C موجب افزایش معنی دار MAP و HR نسبت به گروه های کنترل و شاهد گردید (P<0.001). تزریق سارالازین و لوزارتان در حیوانات 2K1C موجب کاهش معنی دار MAP و HR از مقادیر پایه گردید اما کاپتوپریل چنین اثری نداشت. پس از پیش درمانی با لوزارتان، سارالازین و کاپتوپریل اثرات تزریق RS (۱^μM) در تمام گروه ها مهار شد. این مطالعه بروز اثرات قلبی عروقی تزریق RS در CA و افزایش آن در حیوانات 2K1C و از طرفی اثرات سارالازین و لوزارتان بر MAP و HR را نشان داد. مهار اثرات RS توسط لوزارتان و سارالازین مطرح کننده میانجیگری گیرنده های آنژیوتانسین II و از طرف دیگر مهار این اثرات توسط کاپتوپریل مطرح کننده تبدیل سوبسترای رنین به آنژیوتانسین I توسط آنزیم رنین می باشد.

نتیجه نهایی: نتایج این تحقیق علاوه بر تایید حضور و فعالیت رنین، آنزیم مبدل آنژیوتانسین و گیرنده های آنژیوتانسین II در آمیگدال مرکزی افزایش فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین بافتی در این هسته و احتمال دخیل بودن این تغییرات در بیماریهای پرفشاری خون دو کلیه یک گیره ای گلدبلاتی را مطرح می کند.

آمیگدال مرکزی / پرفشاری خون / سوبسترای رنین / سیستم رنین - آنژیوتانسین

* کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (behhesh@yahoo.com)

** استاد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

*** استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه :

هسته مرکزی آمیگدال عملکردهای متفاوتی دارد که از جمله می توان به دخالت در روند حافظه، تنظیم سیستم قلبی - عروقی و هیجانات اشاره کرد (۱). تحریک شیمیایی و الکتریکی CA در موشهای صحرایی بیهوش موجب کاهش فشار خون و ضربان قلب می شود (۳-۱). بعلاوه نشان داده شده است که تخریب شیمیایی ویا الکتریکی این هسته روند افزایش فشار خون در موشهای ذاتاً مبتلا به پرفشاری خون را تغییر می دهد (۵، ۴).

یکی از مدل های تجربی مورد استفاده القاء پرفشاری خون در مطالعات علوم پزشکی، مدل دو کلیه - یک گیره ای گلدبلاتی (2K 1C) می باشد (۶). در این شیوه پرفشاری خون با تنگ کردن یک طرفه شریان کلیوی و فعال کردن RAS ایجاد می شود (۱۰-۷) به نحوی که افزایش تولید رنین از دستگاه کنار گلو مرونول کلیه موجب افزایش تبدیل آنژیوتانسینوژن (Angiotensinogen (Atg) به آنژیوتانسین یک (Angiotensin I (AngI) شده و AngI نیز توسط آنزیم مبدل آنژیوتانسین (Angiotensin Converting Enzyme (ACE) به آنژیوتانسین دو (Angiotensin II (AngII) تبدیل می شود که مهمترین محصول RAS می باشد (۱۲، ۱۱). دلایل قوی وجود دارد که اهمیت سیستم رنین - آنژیوتانسین موضعی مغز در ایجاد این نوع از پرفشاری خون را نشان می دهد (۱۴، ۱۳).

تمام اجزاء RAS شامل ACE, Renin, Atg, Ang I, Ang II و گیرنده های Ang II که تحت عنوان AT₁ و AT₂ خوانده می شوند در آمیگدال مرکزی شناسایی شده اند (۲۰-۱۵). مطالعات قبلی نشان داده که القاء پرفشاری خون 2K 1C در موش صحرایی موجب حذف اثرات افزایشنده BP و HR ناشی از غیر فعال سازی CA می شود (۲۱). مطالعه حاضر به منظور بررسی تغییرات فعالیت RAS موضعی آمیگدال مرکزی پس از القاء پرفشاری خون 2K1C و ارزیابی پاسخهای قلبی-عروقی ناشی از تزریق سوبسترای رنین (Renin Substrate (RS) به داخل CA طراحی شده است.

روش کار:

حیوانات: در این مطالعه تجربی تمام آزمایشات بر روی موشهای نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 200 ± 20^{gr} پرورش یافته در حیوانخانه گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم

پزشکی تهران انجام شد. موشها در درجه حرارت تحت کنترل 24 ± 2^{oc} و دوره تاریکی روشنایی دوازده ساعته در قفس نگهداری می شدند.

طراحی آزمایشات: ۱۳۰ راس موش به طور تصادفی به سه گروه اصلی شامل ۱- گروه کنترل ۲- گروه شاهد جراحی ۳- گروه مبتلا به پرفشاری خون گلدبلاتی تقسیم شدند. هر گروه اصلی به پنج زیر گروه تقسیم شده و اثرات قلبی-عروقی تزریق RS، سالین و پیش درمانی لوزارتان، سارالازین و یا کاپتوپریل قبل از تزریق در آمیگدال مرکزی در هر زیر گروه انجام شد. هر زیر گروه مبتلا به پرفشاری خون شامل ده راس (دو راس اضافه جهت حذف موارد دارای فشارخون کمتر از ملاک مطالعه) و سایر گروه ها شامل هشت راس موش بودند لذا نهایتاً در هر زیر گروه هشت راس موش مورد مطالعه قرار گرفت .

کاپتوپریل مهار کننده ACE و یکی از داروهای پرمصرف در کنترل فشار خون می باشد، سارالازین پپتیدی صناعی و مهار کننده غیر رقابتی و غیراختصاصی گیرنده های AngII و لوزارتان مهار کننده رقابتی و اختصاصی گیرنده های AT₁ می باشد (۲۲، ۱۹). RS پپتیدی شامل چهارده اسید آمینه انتهای کربوکسیلیک از Atg می باشد که تمام اثرات فیزیولوژیک Atg را دارا بوده و به سبب سهولت و در دسترس بودن به جای Atg مورد استفاده قرار می گیرد (۲۳).

القاء پرفشاری خون: تحت بیهوشی با پنتوباریتال سدیم (IP, 50mg/kg) شکافی در پهلو چپ ایجاد شد. پس از جدا کردن شریان کلیوی، گیره ای U شکل با فاصله ۰/۲ میلی متر (بین تیغه های گیره) بر روی آن نصب و به این ترتیب انسداد نسبی شریان کلیوی چپ ایجاد شد. موشها، هشت هفته بعد از انجام این جراحی مورد مطالعه قرار گرفتند. تنها موشهایی که فشار خون سیستولیک آنها در هفته هشتم بیشتر از 140^{mmHg} بود به عنوان موش های هایپرتنسیو مورد مطالعه قرار گرفتند (۲۲). جراحی مشابهی بدون نصب گیره نقره ای در گروه شاهد انجام شد. جراحی استروتاکسی: هفت هفته پس از القاء پرفشاری خون و یا انجام عمل جراحی در گروه شاهد جراحی، موشها تحت بیهوشی با پنتوباریتال سدیم (IP, 50mg/kg) در دستگاه استروتاکسی (Stoelting - USA) قرار داده شدند. میله دندان $3/3^{mm}$ زیر صفر افق قرار داشت تا طبق اطلس وضعیت صاف جمجمه حاصل گردد. کانول

در محل تزریق انجام شد. تحت بیهوشی عمیق با اورتان ابتدا ۶۰ میلی لیتر نرمال سالین هپارینه و سپس ۲۰۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ به داخل بطن چپ تزریق شد. سپس مغز حیوان خارج و بعد از آگیری به برشهای ۵۰ میکرومتری کرونال برش داده شد، برشهای مذکور بوسیله محلول ۱٪ فرمز خنثی رنگ آمیزی گردید. سپس محل انجام تزریق با اطلس پاکسینوس و واتسون مقایسه گردیده و نتایج بدست آمده از نمونه های که تزریق خارج از CA صورت گرفته بود حذف می شدند.

مواد و داروها: سوبسترای رنین-1 (Angiotensinogen 14, Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-leu-Leu-Val-Tyr-Ser)، اورتان، سارالازین و پنتو باربیتال سدیم از شرکت Sigma خریداری گردید. کاپتوپریل و لوزارتان از شرکت Merck تهیه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: میانگین تغییرات BP و HR طی زمان ده دقیقه ای بین تزریقات محاسبه و در تجزیه و تحلیل داده ها مورد استفاده قرار گرفت. تمام مقادیر به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه گردید. اثرات دوزهای متوالی RS و اثرات RS پس از پیش درمانی ها و همچنین تزریقات متوالی سالین بر HR و BP بوسیله آزمون ANOVA دوطرفه بررسی شدند. تغییرات HR و BP از مقادیر پایه پس از تزریق لوزارتان، سارالازین و کاپتوپریل توسط آزمون ANOVA یک طرفه بررسی گردیدند. تست تکمیلی Tukey متعاقب آزمونهای فوق انجام شد و مقادیر $P < 0.05$ بعنوان معیار اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

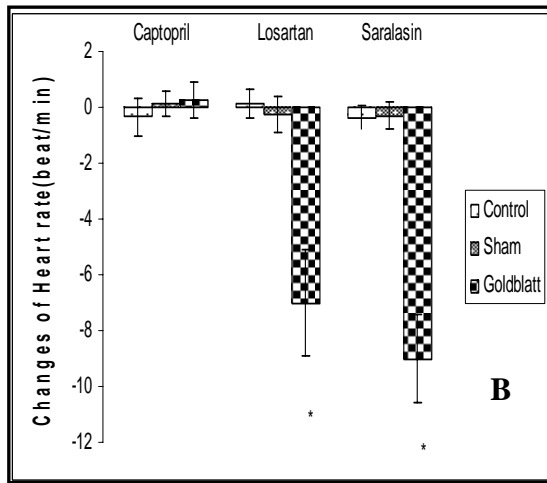
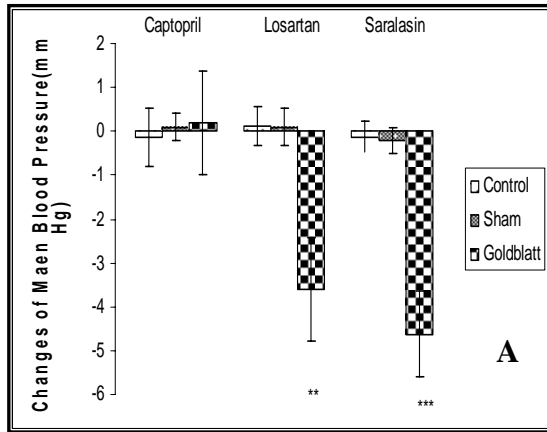
اثرات تزریق نرمال سالین در CA بر فشار خون و ضربان قلب: تزریق دوطرفه نرمال سالین در فواصل زمانی و دفعات تزریق همانند تزریق RS بعنوان تزریق کنترل انجام شد. تزریقات سالین در هیچ یک از گروه ها اثری بر مقادیر فشار خون و ضربان قلب نداشت.

اثرات تزریق RS در CA بر فشار خون و ضربان قلب: در حیوانات مبتلا به پرفشاری خون گلدبلاتی تزریق دو طرفه دوزهای ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار SR در CA موجب افزایش معنی دار فشار خون و ضربان قلب نسبت به مقادیر پایه گردید. اما در گروه های کنترل و شاهد فقط دوزهای ۱ و ۱۰ میکرومولار RS

راهنما از سر سوزن شماره ۲۳ با طول ۶/۲^{mm} ساخته شد و به طور دو طرفه در جمجمه حیوان قرار داده شد به نحوی که این کانولها ۲^{mm} بالاتر از CA قرار گرفتند. به این منظور مختصات زیر از اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۸۶) مورد استفاده قرار گرفت (۲۴) (AP - 2.5^{mm}, Lat \pm 4.4^{mm}, DV - 6.2^{mm}). کانول راهنما بوسیله دوعدد پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی بر روی جمجمه ثابت شد.

تزریق در هسته آمیگدال مرکزی: یک هفته پس از انجام استروتاکسی و بهبودی از تنش جراحی (۲۳، ۲۵)، حیوانات با تزریق داخل صفاقی اورتان 1g/kg بیهوش شدند. سپس کانول پلی اتیلنی هپارینه ای به منظور اندازه گیری فشار خون شریانی و ضربان قلب در شریان رانی نصب شد. پس از اتصال کانول شریانی به ترانسدیوسر فشاری (استرالیا - ML 750/4SP, AD Instrument) و گذشت ۴۵ دقیقه از پایان جراحی و ثبات فشار خون و ضربان قلب، تزریق به داخل CA انجام شد. به این منظور کانول تزریق ساخته شده از سر سوزن شماره ۳۰ با طول ۸/۲ میلی متر بوسیله لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ با طول ۱۵^{cm} به سرنگ همیلتون ۲ میکرولیتری متصل شد. تمام داروها در نرمال سالین حل شده و تزریقات با حجم ۰/۵ میکرولیتر طی یک دقیقه انجام می شد (۲۳). پس از اتمام هر تزریق کانول تزریق به مدت یک دقیقه دیگر برای انتشار دارو به داخل هسته در محل تزریق حفظ می شد. دریکی از زیر گروه های هر گروه اصلی، تزریق نرمال سالین بعنوان تزریق کنترل انجام شد. تزریق RS در سه دوز پی در پی ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار با فاصله ۱۵ دقیقه بین تزریق هر دوز با دوز بعدی انجام می شد. ابتدا دوز رقیق ۰/۱ و سپس دوزهای ۱ و ۱۰ میکرومولار تزریق شدند. تزریق لوزارتان، کاپتوپریل و سارالازین نیز با دوزهای به ترتیب 10^{μM}، 10^{μM} و 1^{nM} انجام می گرفت. تا ده دقیقه پس از انجام هر تزریق تغییرات BP، HR ثبت شده و میانگین تغییرات در این مدت بعنوان نتیجه آزمایشات محاسبه و در تجزیه و تحلیل داده ها مورد استفاده قرار گرفت. ده دقیقه پس از تزریق لوزارتان، کاپتوپریل و سارالازین، RS با دوز ۱ میکرومولار تزریق شد.

مطالعات بافت شناسی: پس از انجام آزمایشات بر روی هر نمونه محل انجام تزریق در مغز تعیین شد. به این منظور در پایان هر مطالعه تزریق ۰/۱ میکرولیتر رنگ Sky blue



شکل ۲: تغییرات فشار خون متوسط شریانی (A) و ضربان قلب (B) پس از تزریق کاپتوپریل، لوزارتان و سارالازین در CA.

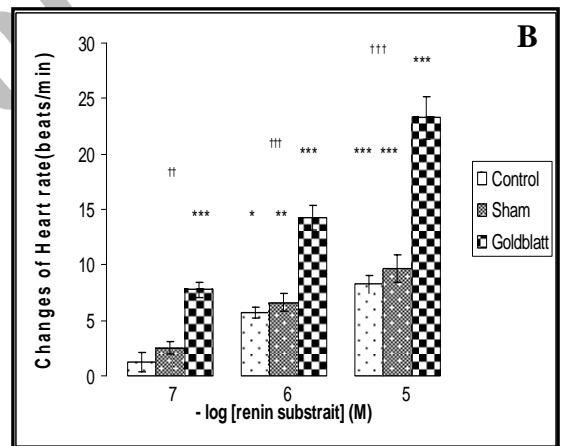
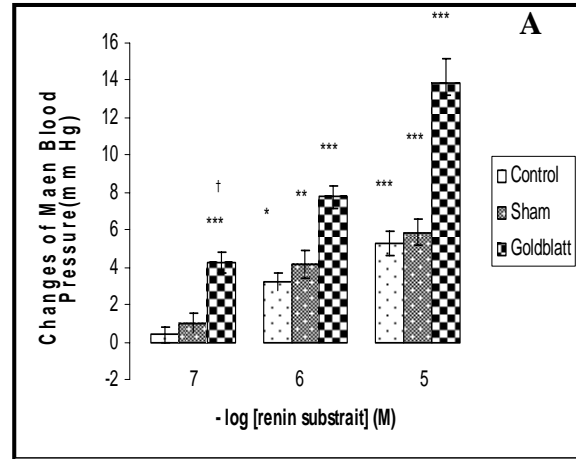
گروه های کنترل، شاهد و گلدبلاتی نسبت به مقادیر پایه
* P < 0.05 , ** P < 0.01, *** P < 0.001 (N=8)

اثرات تزریق لوزارتان و کاپتوپریل در CA بر فشار خون و ضربان قلب: تزریق دو طرفه لوزارتان به داخل CA در حیوانات گلدبلاتی موجب کاهش معنی دار HR و BP از مقادیر پایه گردید.

(به ترتیب -3.62 ± 1.91 beats / min $P < 0.05$, -9 ± 1.18 mmHg $P < 0.01$). تزریق لوزارتان در CA گروه های کنترل و شاهد اثری به فشار خون و ضربان قلب نداشت. از طرفی تزریق دو طرفه کاپتوپریل در CA اثر معنی داری بر مقادیر فشار خون و ضربان قلب هیچ یک از گروه ها نداشت (شکل ۱).

اثرات پیش درمانی با سارالازین و کاپتوپریل بر اثرات تزریق RS در CA: پس از پیش درمانی با لوزارتان سارالازین و کاپتوپریل اثرات تزریق RS در CA در تمام گروه های گلدبلاتی کنترل و شاهد مهار شد.

موجب افزایش معنی دار فشار خون و ضربان قلب گردید. از طرفی افزایش HR و BP ناشی از تزریق RS در CA حیوانات گلدبلاتی نسبت به گروه های کنترل و شاهد بیشتر و دارای اختلاف معنی دار می باشد (شکل ۱).



شکل ۱: تغییرات فشار خون (A) و ضربان قلب (B) پس از تزریق دوزهای مختلف RS در CA گروه های کنترل، شاهد و گلدبلاتی. (N=8).

اختلاف نسبت به مقادیر پایه: * P < 0.05 , ** P < 0.01, *** P < 0.001
اختلاف بین گروه های نورموتنسیو و هایپر تنسیو: ††† P < 0.001 †† P < 0.01

اثرات تزریق سارالازین در CA بر فشار خون و ضربان قلب: تزریق دو طرفه سارالازین به داخل CA حیوانات گلدبلاتی موجب کاهش معنی دار HR و BP از مقادیر پایه گردید (شکل ۲) (p < 0.001) اما این آزمایش اثری بر فشار خون و ضربان قلب حیوانات گروه کنترل و شاهد نداشت.

بحث:

آمیگدال مرکزی بعنوان یکی از هسته های مهم در کنترل فعالیت قلبی - عروقی و سیستم عصبی خودمختار مد نظر قرار گرفته است. افزایش فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین موضعی در آمیگدال ممکن است مکانیسم مهمی در بیماریزایی پرفشاری خون دو کلیه ای گلدبلاتی باشد.

نتایج این مطالعه نشان می دهد که تزریق RS در CA موجب افزایش فشار خون و ضربان قلب میگردد و این اثر در موشهای گلدبلاتی در مقایسه با موشهای با فشار خون طبیعی بیشتر می باشد. از طرف دیگر تزریق لوزارتان و سارالازین در CA موشهای هایپرتنسیو کاهش فشار خون و ضربان قلب می گردد در حالی که در حیوانات نورموتنسیو چنین اثری ندارد و اثرات مذکور با پیش درمانی با لوزارتان، سارالازین و یا کاپتوپریل مهار میگردد.

نتایج این مطالعه افزایش فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین بافتی CA پس از القاء پرفشاری خون رنوو اسکولار را مطرح می کند. نتایج مطالعه قلبی نشان داده که غیر فعال کردن برگشت پذیر این هسته (با تزریق لیدوکائین ۲٪) سبب افزایش HR و MAP در حیوانات نورموتنسیو شده در حالی که در حیوانات هایپرتنسیو گلدبلاتی چنین اثری ندارد (۲۱). نتایج این مطالعه موید نتایج مطالعات گالانو و شارما نیز می باشد. ایشان اظهار داشته اند که CA اثرات تونیک مهاری بر فعالیت قلبی-عروقی دارد و از بین رفتن این اثرات مهاری می تواند با افزایش فعالیت قلبی - عروقی زمینه ساز پرفشاری خون گردد (۴،۵).

از آنجا که هیچ اثر بیولوژیک شناخته شده ای برای Atg و سوبسترای رنین دست نخورده (تبدیل نشده به AngI) گذارش نشده است واز طرفی اثرات تزریق سوبسترای رنین در CA بوسیله لوزارتان، سارالازین و کاپتوپریل مهار میگردد، به نظر می رسد RS توسط اجزای RAS موضعی موجود در CA به AngII تبدیل و با اثر بر گیرنده های آن موجب بروز اثرات قلبی عروقی میگردد. در مسیر کلاسیک RAS آنژیوتانسینوزن توسط رنین به AngI تبدیل شده که AngI نیز توسط ACE به AngII تبدیل می شود (۱۸). هرچند حضور تمام اجزای این سیستم در آمیگدال توسط مطالعات زیادی تایید شده

است (۲۰-۱۸) اما شواهد کمی در تایید وجود رنین در CA وجود دارد. بنابراین تولید وفعالیت رنین در مغز کماکان موضوع بحث وجدل می باشد (۱۵). از طرف دیگر، مطالعات فراوانی دخالت RAS موضعی مغز در ایجاد پرفشاری خون دو کلیه ای گلدبلاتی را تایید می کنند (۲۶،۲۷).

اثرات پایین آورنده فشار خون و ضربان قلب ناشی از تزریق لوزارتان و سارالازین در CA موشهای هایپرتنسیو افزایش تولید Ang II و یا تنظیم افزایشی گیرنده Ang II در این هسته را پیشنهاد می کند. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات موری شیتا و همکاران که افزایش میزان Ang II در مغز و کاهش فشار خون ناشی از مهار گیرنده های Ang II پس از القاء پرفشاری خون دو کلیه ای گلدبلاتی را نشان داد (۲۷) و همچنین تنظیم افزایشی گیرنده های Ang II نشان داده شده توسط یاکی و یچ و همکاران (۲۶) و از طرفی با مطالعات کاگی یاما و همکاران که کاهش فشار خون پس از مهار RAS بافتی مغز در موشهای گلدبلاتی را نشان داده اند همخوانی دارد (۱۳) و مهار اثرات RS با سارالازین و لوزارتان نشان می دهد که این اثرات به احتمال زیاد توسط گیرنده های AT1 ایجاد می شود.

پاسخدهی به RS تزریق شده در CA موش صحرائی عملاً حضور رنین یا یک آنزیم مبدل Atg به Ang I، آنزیم مبدل آنژیوتانسین و همچنین گیرنده های آنژیوتانسین II در این هسته می باشد، زیرا برای بروز پاسخدهی به RS تبدیل آن به AngI و سپس تبدیل AngI به AngII و یا تبدیل بی واسطه RS به Ang II بعنوان پپتید موثر و دارای گیرنده RAS ضروری می باشد (۱۱،۱۲).

مشخص شده است علاوه بر رنین آنزیم های دیگری از جمله تونین (Tonin) قادرند با تبدیل مستقیم RS به Ang II در روند پاسخدهی به RS تزریق شده در CA نقش داشته باشد (۲۸،۲۹). اما مهار پاسخدهی به RS پس از پیش درمانی با کاپتوپریل پیشنهاد می کند که رنین RS را به Ang I تبدیل کرده و مهار ACE توسط کاپتوپریل تبدیل Ang I به Ang II را مهار کرده است. این در حالیست که تونین RS و Atg را بدون واسطه به Ang II تبدیل می کند و لذا متاثر از کاپتوپریل نیست (۳۰). از طرف دیگر تا کنون حضور یا فعالیت تونین در CA گزارش نشده است (۲۸،۳۱).

- of the amygdala. *J Auton Nerv Syst.* 1993 Oct;45(1):61-75.
4. Galeno TM, Van Hoesen GW, Maixner W, Johnson AK, Brody MJ. Contribution of the amygdala to the development of spontaneous hypertension. *Brain Res* 1982 Aug ; 246 (1):1-6.
 5. Sharma NB, Gelsema AJ. Central nucleus of the amygdala and the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1995 May;268(5 Pt 2): R1171-7.
 6. Goldblatt, P. J. The Goldblatt experiment: a conceptual paradigm In *Hypertension Pathophysiology, diagnosis and management*, edited by Laragh JH and Brenner BM. New York: Raven, 1995: 23-35.
 7. Braam B, Navar LG, Mitchell KD. Modulation of tubuloglomerular feedback by angiotensin II type 1 receptors during the development of Goldblatt hypertension. *Hypertension.* 1995 Jun;25(6):1232-7.
 8. He HM, Long CL, Zhang LZ, Fu AL, Wang H. Alteration of binding sites for [3H]P1075 and [3H] glibenclamide in renovascular hypertensive rat aorta. *Acta Pharmacol Sin.* 2005 Jan;26(1):69-76.
 9. Imamura A, Mackenzie HS, Lacy ER, Hutchison FN, Fitzgibbon WR, Ploth DW. Effects of chronic treatment with angiotensin converting enzyme inhibitor or an angiotensin receptor antagonist in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Kidney Int* 1995 May;47(5):1394-402.
 10. Navar LG, Zou L, Von Thun A, Tarng WC, Imig JD, Mitchell KD. Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News Physiol Sci* 1998 Aug;13:170-176.
 11. Sharifi AM, Akbarloo N, Heshmatian B, Ziai A. Alteration of local ACE activity and vascular responsiveness during development of 2K1C renovascular hypertension. *Pharmacol Res* 2003; 47 (3):201-9.
 12. Romero JC, Feldstein AE, Rodriguez-Porcel MG, Cases-Amenos A. New insights into the pathophysiology of renovascular hypertension. *Mayo Clin Proc* 1997 Mar; 72 (3): 251-60.
 13. Kagiya S, Varela A, Phillips MI, Galli SM. Antisense inhibition of brain renin-angiotensin system decreased blood pressure in chronic 2-kidney, 1 clip hypertensive rats. *Hypertension.* 2001;37(2Part 2):371-5.
 14. Jackiewicz E, Szczepanska-Sadowska E, Dobruch J. Altered expression of angiotensin AT1a and vasopressin V1a receptors and nitric oxide synthase mRNA in the brain of rats with renovascular hypertension. *J Physiol Pharmacol.* 2004 Dec;55(4):725-37.

افزایش معنی دار پاسخدهی به RS تزریق شده در CA در حیوانات هایپرنتنسیو در مقایسه با گروه نورموتنسیو کنترل و شاهد ممکن است با افزایش فعالیت رنین و یا ACE در CA ایجاد شده باشد اما فعالیت رنین در روند تبدیل Atg به Ang I و نه عملکرد ACE در تبدیل Ang I به Ang II، مرحله محدود کننده در RAS بافتی می باشد (۳۲).

باتوجه به محدودیتهای موجود، تهیه مهار کننده های رنین برای ما غیرممکن بود. ارزیابی اثرات مهار کننده های رنین بر پاسخدهی قلبی - عروقی به تزریق RS در CA و همچنین اندازه گیری فعالیت رنین در این هسته پس از القاء پرفشای خون 2K1C موجب گشوده شدن چشم اندازی واضح تر از تغییرات ایجاد شده در سیستم رنین - آنژیوتانسین موضعی CA و همچنین بیماریزایی پرفشاری خون دو کلیه ای خواهد شد .

نتایج این مطالعه افزایش فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین بافتی CA پس از القاء پرفشاری خون قلبی عروقی را مطرح می کند و عملاً اثرات قلبی عروقی تزریق RS در هسته های مغز و افزایش این اثرات در آمیگدال مرکزی موشهای مبتلا به پرفشاری خون دو کلیه ای گلد بلاتی را نشان داده است.

نتیجه نهایی :

نتایج این مطالعه حضور و فعالیت موضعی اجزاء سیستم رنین-آنژیوتانسین از جمله رنین، ACE و گیرنده های Ang II در هسته آمیگدال مرکزی را تایید نموده و همچنین افزایش فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین بافتی در این هسته و احتمال دخیل بودن این تغییرات در بیماریزایی پرفشاری خون دو کلیه ای گلد بلاتی را مطرح می کند.

منابع :

1. Faiers AA, Calaresu FR, Mogenson GJ. Pathway mediating hypotension elicited by stimulation of the amygdala in the rat. *Am J Physiol.* 1975 May;228(5):1358-66.
2. Gelsema AJ, McKittrick DJ, Calaresu FR. Cardiovascular responses to chemical and electrical stimulation of amygdala in rats. *Am J Physiol* 1987 Nov;253(5 Pt 2):R712-8.
3. Roder S, Ciriello J. Contribution of bed nucleus of the stria terminalis to the cardiovascular responses elicited by stimulation

15. Lavoie JL, Cassell MD, Gross KW, Sigmund CD. Localization of renin expressing cells in the brain, by use of a REN-eGFP transgenic model. *Physiol Genomics*. 2004; 16(2):240-6.
16. Reagan LP, Flanagan LM, Yee DK, Ma LY, Sakai RR, Fluharty SJ. Immunohistochemical mapping of angiotensin type-2 (AT2) receptors in rat brain. *Brain Res* 1994; 662,45-59.
17. Lavoie JL, Cassell MD, Gross KW, Sigmund CD. Adjacent expression of renin and angiotensinogen in the rostral ventrolateral medulla using a dual-reporter transgenic model. *Hypertension*. 2004 May;43(5): 1116-9.
18. Banegas I, Prieto I, Alba F, Vives F, Araque A, Segarra AB, et al. Angiotensinase activity is asymmetrically distributed in the amygdala, hippocampus and prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res* 2005 Jan; 156(2):321-6.
19. Ferguson AV, Washburn DL. Angiotensin II: a peptidergic neurotransmitter in central autonomic pathways. *Prog Neurobiol* 1998 Feb; 54(2):169-92.
20. Ferguson AV, Washburn DL, Latchford KJ. Hormonal and neurotransmitter roles for angiotensin in the regulation of central autonomic function. *Exp Biol Med* (Maywood). 2001 Feb;226(2):85-96.
21. Zarei M, Heshmatian B, Sarihi A. The effect of reversible inactivation of the central amygdaloid nucleus on cardiovascular responses in rats with renal hypertension-Iranian. *J Pharmaceut Res* 2004 May; 3 suppl [Abstract]
22. Carvalho TH, Bergamaschi CT, Lopes OU, Campos RR. Role of endogenous angiotensin II on glutamatergic actions in the rostral ventrolateral medulla in Goldblatt hypertensive rats. *Hypertension* 2003 Oct;42(4): 707-12. Epub 2003 Aug 11.
23. Prado WA, Pelegrini-da-Silva A, Martins AR. Microinjection of renin-angiotensin system peptides in discrete sites within the rat periaqueductal gray matter elicits antinociception. *Brain Res* 2003 May ;972 (1-2): 207-15.
24. Paxinos G, Watson C, in: *The rat Brain in stereotaxic coordinates*, Sydney:Academic Press, 1986
25. Sajdyk TJ, Shekhar A. Excitatory amino acid receptor antagonists block the cardiovascular and anxiety responses elicited by gamma-aminobutyric acid A receptor blockade in the basolateral amygdala of rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1997 Nov; 283 (2):969-77.
26. Jackiewicz E, Szczepanska-Sadowska E, Dobruch J. Altered expression of angiotensin AT1a and vasopressin V1a receptors and nitric oxide synthase mRNA in the brain of rats with renovascular hypertension. *J Physiol Pharmacol* 2004 Dec;55(4):725-37.
27. Morishita R, Higaki J, Ookunishi H, Nakamura F, Nagano M, Nicami H, et al. Role of the tissue renin angiotensin system in low-kidney one-clip hypertensive rats. *Am J Physiol* 1993;26:F510-F514.
28. Lomez ES, Araujo RC, Bader M, Pesquero JB, Pesquero JL. Tonin and kallikrein in the brain of transgenic rat line expressing human tissue kallikrein. *Hypertension* 2002 Feb; 39(2):229-32
29. Kondo K, Garcia R, Boucher R, Genest J. Effects of intracerebroventricular administration of tonin on water intake and blood pressure in the rat. *Brain Res* 1980 Nov; 200(2):437-41.
30. Araujo RC, Lima MP, Lomez ES, Bader M, Pesquero JB, Sumitani M, et al. Tonin expression in the rat brain and tonin-mediated central production of angiotensin II. *Physiol Behav* 2002 Jun;76(2):327-33.
31. Sleight P, Yusuf S, Pogue J, et al. Blood-pressure reduction and cardiovascular risk in HOPE study. *Lancet* 2001; 358:2130-2131.
32. Crowley SD, Tharoux PL, Audoly LP, Coffman TM. Exploring type I angiotensin (AT1) receptor functions through gene targeting. *Acta Physiol Scand* 2004 Aug; 181 (4):561-70.