

## The effect of Angiotensin II Injection in the Suprachiasmatic Nucleus on Cardiovascular Regulation in Male Rat

Fateme Barfarazi<sup>1</sup>, Marzie Kafami<sup>2\*</sup>, Akbar Pejhan<sup>3</sup>

1. Master's student in medical physiology, Student research committee, Faculty of Medicine, Sabzevar University of medical sciences, Sabzevar, Iran.
2. Assistant professor, Non communicable diseases research center, Sabzevar University of medical sciences, Sabzevar, Iran.
3. Professor, Department of physiology and pharmacology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of medical sciences, Sabzevar, Iran.

Received: 2022/08/16

Accepted: 2023/02/05

### Abstract

**Introduction:** High blood pressure is known as the third cause of death in the world. millions of people are affected by this disease. The renin-angiotensin system plays a role in causing this disease. AngiotensinII receptor blockers (AT1) are effective in reducing blood pressure. AngiotensinII expression has been observed in the suprachiasmatic nuclei. The aim of this study is to investigate the effect of angiotensinII injection in the suprachiasmatic nucleus on the cardiovascular function of rats.

**Materials and Methods:** 24 male Wistar rats were divided into 3 groups. 1- control, 2- angiotensin II, 3- angiotensinII + losartan. Group1: normal saline with a dose of 100ml, group2: angiotensinII with a dose of 100µm, and group3: angiotensin with a dose of 100µm, and after 30minutes, losartan with a dose of 100µm, and after 2minutes, angiotensin with a dose of 100µm, microinjection into the suprachiasmatic nucleus and blood pressure and heart rate was recorded.

**Results:** There was no significant difference between mean arterial pressure and heart rate before and after saline injection. ( $P>0.05$ ), in the angiotensin group,  $\Delta$ MAP and HR $\Delta$  compared to before the injection of this dose of angiotensin ( $P<0.001$  and  $P<0.05$ ), and compared to the control group ( $P<0.001$  and  $P<0.01$ ), It increased significantly. In the losartan group, microinjection of losartan before the second injection of angiotensinII caused a significant decrease in  $\Delta$ MAP compared to the first injection of angiotensinII ( $P<0.001$ ), but it was not significant in HR $\Delta$ .

**Conclusion:** Microinjection of angiotensinII in the suprachiasmatic nucleus increased blood pressure and heart rate through binding to AT1.

**\*Corresponding Author:** Marzie Kafami

**Address:** Sabzevar - Sabzevar University of medical sciences- Medical school

**Tel:** 05144018323

**E-mail:** kafami.m@gmail.com

**Keywords:** super echiasmatic nucleus, blood pressure, Angiotensin 2, Microinjection, losartan

**How to cite this article:** Barfarazi F., Kafami M., Pejhan A. The effect of Angiotensin II injection in the suprachiasmatic nucleus on cardiovascular regulation in male rat., Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2023; 30(2):256-269.

## Introduction

High blood pressure is known as the third cause of death in the world due to kidney, vascular and stroke complications. It is one of the systems that play a role in it. It is the renin-angiotensin system (RAS). Angiotensin II, which has several effects on the cardiovascular system, including vascular contraction, inducing the growth of vascular smooth muscle cells, stimulating the expression of proto-oncogenes, regulating myocardial hypertrophy, and vascular remodeling. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, which reduce angiotensin II production, and angiotensin II receptor blockers (AT1) are effective in lowering blood pressure. Angiotensin receptors in a number of organs and systems, including the heart, kidney, gonads, placenta, pituitary and adrenal glands; There are peripheral vessels and central nervous system. AT1 receptor blockers are the cornerstone of current treatment for hypertension, heart failure, kidney failure, and many types of vascular disease, including atherosclerosis, aortic aneurysm, and Marfan syndrome. Brain immunohistochemical studies have shown that the expression of angiotensin II has been seen in suprachiasmatic (SCN) and other hypothalamic nuclei, periventricular organs and NTS. Sympathetic neurons located in the ventral lateral medulla (RVLM) are responsible for generating action potentials and creating sympathetic stimuli to the cardiovascular system and ultimately regulating cardiac output and vascular resistance. SCN is a small area of the brain in the hypothalamus which directly above the optic chiasm. This core is responsible for controlling the circadian rhythm. The nervous and hormonal activities it creates regulate many different functions of the body in a 24-hour cycle. Some previous studies have expressed the possibility of the role of this nucleus through the connection with the RVLM in blood pressure changes in the circadian rhythm. So far, no study has been conducted on the role of the renin-angiotensin system of this nucleus in the control and regulation of blood pressure. Therefore, considering the presence of AT1 in this nucleus and its role in the circadian rhythm, in this study, an attempt was made to investigate the effect of angiotensin II injection in this nucleus on the cardiovascular function of male rats.

## Methodology

1.2. Animals and experimental groups: In this experimental study, 24 adult male Wistar rats with a weight range of 280-320 grams were purchased from Mashhad University of Medical Sciences. And according to the transport standards of the laboratory animals and in compliance with the principles of research ethics, they were transferred to the animal kennel of Sabzevar University of Medical Sciences. In order to acquaint the animals with the new environment and relieve the stress of transportation, the experiment on the animals was postponed for a week. All animals were kept in the animal cage of Sabzevar University of Medical Sciences under standard conditions and the instructions of the ethical committee were followed. -) were placed 55 The light and dark cycle of 12 hours of light and 12 hours of darkness was observed. During the experiment, the animals had access to standard food (laboratory plate) and enough water. Animals were randomly divided into 3 groups of 8 including control group, angiotensin II group, angiotensin II + losartan group. In order to anesthetize all groups at the time of registration, urethane was used intraperitoneally with a dose of 1.5 grams per kilogram. Control group: Normal saline with a dose of 100 ml was microinjected into the suprachiasmatic nucleus. Angiotensin group: Angiotensin II with a dose of 100  $\mu$ mol was microinjected into the suprachiasmatic nucleus. Angiotensin II + losartan group: First, angiotensin with a dose of 100 micromoles, and after 30 minutes, losartan with a dose of 100 micromoles, and after 2 minutes, angiotensin with a dose of 100 micromoles was injected into the suprachiasmatic nucleus.

2.2. Surgery and blood pressure and heart rate recording First, we anesthetized the animals and fixed the animal's head in the stereotax machine with Air bars. After determining the exact location of Bregma, we placed the tip of the probe on it and determined the coordinates of all three directions. This point was considered as zero reference to identify the coordinates of the studied areas. To find the suprachiasmatic nucleus in the brain, its coordinates are specified in the Paxinus atlas (AP = -0.84, V = 9, L = 0.2) and after drilling, a special cannula is used for microinjection of drugs in the nucleus, in the affected area. We agreed. Then, in order to record the blood pressure, a slit was made in the inner part of the animal's left leg and a

polyethylene catheter with number 50 (PE=50) which was already heparinized was inserted into the artery and finally we connected the arterial catheter to a pressure transducer and the pressure. Blood and heart rate were recorded by a physiograph device continuously throughout the experiment.

3.2. The method of data analysis and statistical analysis: Statistical analysis was done using SPSS version 22 statistical software. The results were shown as mean  $\pm$  standard deviation error (mean  $\pm$  SEM). Paired t-test was used to compare before and after, and Tukey test was used to compare groups. Statistically,  $p \leq 0.05$  values were considered significant.

## Results

1.3. Investigating the effects of microinjection of normal saline in the suprachiasmatic nucleus (SCN) on cardiovascular function The results of the study showed that mean arterial pressure MAP and heart rate HR before and after saline injection did not have a significant difference ( $P > 0.05$ ) (Chart 1a,b), is showing. 2-3 Investigating the effect of microinjection of angiotensin into the suprachiasmatic nucleus (SCN) on cardiovascular function Microinjection of 100  $\mu$ mol of angiotensin II in the suprachiasmatic nucleus caused a change in the mean arterial pressure ( $\Delta$ MAP). This increase in MAP was significant compared to before the injection of this dose of angiotensin ( $P < 0.001$ ). Also, heart rate changes  $HR\Delta$  was also significant compared to before the injection of this dose of angiotensin ( $P < 0.05$ ). Changes in mean arterial pressure  $\Delta$ MAP and heart rate  $HR\Delta$  after microinjection of angiotensin II in the suprachiasmatic nucleus of the SCN compared to the control group (normal saline), also increased significantly ( $P < 0.001$  and  $P < 0.01$  respectively)

3-4 Investigating the effect of losartan microinjection in the SCN nucleus on cardiovascular function The results of the study showed that microinjection of losartan before the second injection of angiotensin II caused a significant decrease in blood pressure  $\Delta$ MAP compared to the first injection of angiotensin II ( $P < 0.001$ ). However, these changes in heart rate  $HR\Delta$  were not significant.

## Discussion

The aim of this study is to investigate the effect of angiotensin II injection in the suprachiasmatic

nucleus on the regulation of heart and blood vessels in male field rats. According to the obtained results, the injection of angiotensin II in this core caused an increase in mean arterial pressure and heart rate in male field rats. In a study by Avril, angiotensin II was injected into the nucleus tractus solitarii (nTS) and postrema regions. Double-injected angiotensin caused a blood pressure response with a significant increase in heart rate. Studies have shown that angiotensin II increases blood pressure by a number of actions. The most important of which are vasoconstriction, sympathetic nerve stimulation, increased aldosterone production and renal actions. Angiotensin has two important roles in hypertension and the pathophysiology of vascular damage during the hypertensive period. In the second group, in order to investigate through which receptor angiotensin II exerts its pressure-increasing effect, we first injected losartan, which was a selective antagonist of angiotensin type I receptors (AT1), in the suprachiasmatic nuclei. And then angiotensin injection was done in this nucleus. No significant changes were observed in mean arterial pressure. In previous studies, the effect of angiotensin II after AT1 inhibitor has been investigated in rat brain, kidney and adrenal. The results showed that blood pressure after central and peripheral losartan injection causes unresponsiveness. They stated that intravenous losartan or its active metabolites partially penetrate the blood-brain barrier to selectively inhibit central AT1 receptors. Losartan potassium is an AT1 receptor antagonist. This drug competitively and selectively binds to the AT1 receptor. Thus blocks the induced physiological effects. The pharmacodynamic properties of angiotensin II action on the AT1 receptor are critical for cardiovascular homeostasis. Losartan potassium binds selectively, competitively and with high affinity to the AT1 receptor, thereby blocking the activity of angiotensin II. This drug has no clinical affinity with other drug receptors. Experiments show that the endogenous AT1 receptor tonically regulates the activities of some SCN neurons.

## Conclusion

The present study showed that microinjection of angiotensin II in the suprachiasmatic nucleus causes an increase in blood pressure and heart rate, which does this effect through binding to the type one receptor present in this nucleus.

### **Acknowledgment**

The article is taken from the master's thesis. The authors express their gratitude to the Research and

Technology Vice-Chancellor of Sabzevar University of Medical Sciences.

**Conflict of Interest:** There is no conflict of interest.

# بررسی تأثیر تزریق آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک در تنظیم قلب و عروق در رت‌های صحرائی نر

فاطمه برفرازی<sup>۱</sup>، مرضیه کفعمی<sup>۲\*</sup>، اکبر پژهان<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران  
 ۲. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران  
 ۳. استاد، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۵

## چکیده

\* نویسنده مسئول: مرضیه کفعمی  
 نشانی: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دانشکده پزشکی  
 تلفن: ۰۵۱۴۴۰۱۸۳۲۳  
 رایانامه: kafami.m@gmail.com  
 شناسه ORCID: 0000-0002-3984-9162  
 شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0001-9518-9368

**زمینه و هدف:** پرفشاری خون به علت عوارض متعدد، سومین فاکتور مرگ‌ومیر در جهان شناخته شده و امروزه میلیون‌ها انسان درگیر این بیماری هستند. سیستم رنین- آنژیوتانسین در ایجاد این بیماری نقش دارد. مهارکننده‌های گیرنده یک آنژیوتانسین دو (AT1) در کاهش فشار خون مؤثر هستند. بیان آنژیوتانسین دو در هسته‌های سوپراکیاسماتیک دیده شده است. هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تزریق آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک بر عملکرد قلبی- عروقی موش‌های صحرائی نر است.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به سه گروه تقسیم شدند: ۱- کنترل ۲- آنژیوتانسین دو ۳- آنژیوتانسین دو + لوزارتان

گروه ۱ نرمال سالیین با دوز ۱۰۰ nl، گروه ۲ آنژیوتانسین دو با دوز 100 Mm و گروه ۳ ابتدا آنژیوتانسین با دوز 100 Mm و بعد از ۳۰ دقیقه، لوزارتان با دوز 100Mm و پس از ۲ دقیقه، آنژیوتانسین با دوز 100Mm، به هسته سوپراکیاسماتیک میکرواینجکشن و فشار خون و ضربان قلب ثبت شد.

**یافته‌ها:** میانگین فشار متوسط شریانی و ضربان قلب، قبل و پس از تزریق سالیین، اختلاف معناداری نداشتند ( $P < 0.05$ )، در گروه آنژیوتانسین،  $\Delta MAP$  و  $\Delta HR$  نسبت به قبل تزریق این دوز آنژیوتانسین (به ترتیب  $P < 0.001$  و  $P < 0.05$ ) و نسبت به گروه کنترل (به ترتیب  $P < 0.001$  و  $P < 0.01$ )، به طور معنی‌داری افزایش داشت. در گروه لوزارتان، میکرواینجکشن لوزارتان پیش از تزریق دوم آنژیوتانسین دو، باعث کاهش معنی‌داری در  $\Delta MAP$  نسبت به تزریق اول آنژیوتانسین دو گردید ( $P < 0.001$ ) اما در  $\Delta HR$  معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک از طریق اتصال به AT1 باعث افزایش فشارخون و ضربان قلب شد.

## کلیدواژه‌ها:

هسته سوپراکیاسماتیک، فشار خون، آنژیوتانسین ۲، میکرواینجکشن، لوزارتان

## مقدمه

عوارض کلیوی، عروقی و سکتة مغزی، سومین فاکتور مرگ‌ومیر در جهان شناخته شده است. (۳) اگرچه مکانیسم دقیق ایجاد پرفشاری خون به طور کامل مشخص نشده است اما یکی از سیستم‌هایی که در ایجاد آن نقش دارد سیستم رنین- آنژیوتانسین (RAS) می‌باشد. رنین با تأثیر آنژیومی

امروزه میلیون‌ها انسان از بیماری پرفشاری خون رنج می‌برند (۱). پرفشاری خون بیماری است که تحت تأثیر چندین مسیر بیولوژیکی قرار می‌گیرد. (۲) این بیماری به علت ایجاد

قرار دارد. این هسته، بیشتر وظیفه کنترل ریتم شبانه‌روزی را بر عهده دارد. فعالیت‌های عصبی و هورمونی که ایجاد می‌کند، بسیاری از عملکردهای مختلف بدن را در یک چرخه ۲۴ ساعته تنظیم می‌کند (۱۴). SCN با تنظیم نوسانات روزانه محیط داخلی و همگام‌سازی آنها با چرخه‌های متغیر روز و شب و وضعیت بدن، نقش اصلی را در برنامه‌ریزی روزانه عملکردهای سیستم‌های مختلف بدن ایفا می‌کند. این ساعت بیولوژیکی در تنظیم روزانه عملکردهای حیاتی همئوستاتیک مانند تغذیه، نوشیدن، دمای بدن و ترشح هورمون‌های عصبی نیز نقش دارد (۱۵). برخی مطالعات پیشین، احتمال نقش این هسته از طریق ارتباط با RVLN را در تغییرات فشار خون در ریتم شبانه‌روزی بیان کرده‌اند (۱۶). تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد نقش سیستم رنین آنژیوتانسین این هسته در کنترل و تنظیم فشار خون انجام نشده است از این رو با توجه به وجود AT1 در این هسته و همچنین نقش آن در ریتم شبانه‌روزی، سعی بر آن شد تا در این مطالعه، تأثیر تزریق آنژیوتانسین دو در این هسته، بر عملکرد قلبی-عروقی موش‌های صحرایی نر بررسی شود.

## ۲. مواد و روش

### ۱.۲. حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش

این مطالعه دارای کد اخلاق با شناسه IR.MEDSAB.REC.1400.095 می‌باشد. در این مطالعه تجربی تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مشهد خریداری شدند و طبق استانداردهای حمل‌ونقل حیوانات آزمایشگاهی و با رعایت اصول اخلاق پژوهشی به لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی سبزوار منتقل شدند. به‌منظور آشنایی حیوانات با محیط جدید و رفع استرس‌های حمل‌ونقل، آزمایش بر روی حیوانات به مدت یک هفته به تعویق افتاد. همه حیوانات در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی سبزوار در شرایط استاندارد نگهداری شدند و در خصوص آنها دستورات کمیته اخلاقی رعایت شد. حیوانات، درون قفس‌های جداگانه به تعداد ۴ رت در هر قفس، در دمای کنترل شده ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی (۱۰+، ۱۰-) ۵۵ قرار گرفتند. سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت شد. در طول آزمایش، حیوانات به غذای استاندارد (پلیت آزمایشگاهی) و کافی و

بر پروتئین پلاسمایی دیگر به نام آنژیوتانسینوزن، باعث ایجاد آنژیوتانسین یک می‌شود. آنژیوتانسین یک خصوصیات خفیف منقبض‌کننده عروق دارد ولی برای ایجاد تغییرات شدید در عملکرد گردش خون، کافی نیست. (۴) ظرف چند ثانیه تا چند دقیقه پس از تولید، آنژیوتانسین یک، تحت تأثیر آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) به آنژیوتانسین دو مبدل می‌شود. آنژیوتانسین دو که تأثیرات متعددی بر دستگاه قلب و عروق از جمله انقباض عروقی، القای رشد سلول‌های عضله صاف عروق، تحریک بیان پروتئین‌ها، تنظیم هیپرتروفی میوکارد قلب و رمودیلینگ عروقی دارد. (۵،۶) مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین که تولید آنژیوتانسین دو را کاهش می‌دهند (۷) و مهارکننده‌های گیرنده یک آنژیوتانسین (AT1)، در کاهش فشار خون مؤثر هستند. (۸)

گیرنده‌های آنژیوتانسین در تعدادی از اندام‌ها و سیستم‌ها از جمله قلب، کلیه، غدد جنسی، جفت، غدد هیپوفیز و آدرنال، عروق محیطی و سیستم عصبی مرکزی وجود دارند. (۹) گیرنده‌های آنژیوتانسین، اهداف درمانی مهمی برای چندین بیماری هستند. مسدودکننده‌های گیرنده AT1 سنگ بنای درمان فعلی فشار خون، نارسایی قلبی، نارسایی کلیه و بسیاری از انواع بیماری‌های عروقی از جمله آترواسکلروز، آنوریسم آئورت و سندرم مارفان هستند. (۱۰) مطالعات ایمونوهیستوشیمی مغز نشان داده است که آنژیوتانسینوزن در نورون‌های مدولای و نترولترال، فوربرین، ساقه مغز، سلول‌های مگنوسولولار هسته پاراونتریکولار، سلول‌های هسته مسیر منزوی (NTS) و اندام ساب‌فورنیکال (SFO) وجود دارد و نیز بیان آنژیوتانسین دو در هسته‌های پارا و نتریکولار (PVN)، سوپرا اپتیک (SON) سوپراکیاسماتیک (SCN) و دیگر هسته‌های هیپوتالاموسی، اندام‌های دور بطنی و NTS دیده شده است (۱۱). نورون‌های سمپاتیک واقع در بصل‌النخاع شکمی جانبی (RVLN)، مسئول تولید پتانسیل عمل و ایجاد محرک سمپاتیک به سیستم قلبی-عروقی و در نهایت تنظیم برون‌ده قلبی و مقاومت عروقی هستند (۱۲). این ناحیه نه‌تنها در حفظ فعالیت وازوموتور سمپاتیک، اولیه اهمیت حیاتی دارد بلکه در میانجی‌گری بسیاری از رفلکس‌های قلبی-عروقی مانند رفلکس بارورسپتور، رفلکس گیرنده شیمیایی، رفلکس قلبی-ریوی و رفلکس سوماتو سمپاتیک نقش دارد (۱۳). هسته سوپراکیاسماتیک (SCN) ناحیه کوچکی از مغز در هیپوتالاموس است که مستقیماً بالاتر از کیاسمای بینایی

از مته کاری، کانول مخصوص برای میکرواینجکشن داروها در هسته، در ناحیه موردنظر قرار داده شد. سپس به منظور ثبت فشار خون، شکافی در قسمت داخلی پای چپ حیوان ایجاد گردید و یک کاتتر پلی اتیلن با شماره ۵۰ (PE=50) که قبلاً هیپارینه شده بود به داخل شریان وارد و در نهایت کاتتر شریانی به یک ترانسدیوسر فشاری وصل شد و فشار خون و ضربان قلب توسط دستگاه فیزیوگراف و به صورت پیوسته در تمام طول آزمایش ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و پرایش ۲۲ انجام شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای انحراف معیار (mean  $\pm$  SEM) نشان داده شد. برای مقایسه آماری قبل و بعد، از آزمون آماری Paired t-test و برای مقایسه گروه‌ها، از آزمون آماری Tukey test استفاده شد. از نظر آماری مقادیر  $p \leq 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### ۳. یافته‌ها

#### ۱.۳. بررسی تأثیرات میکرواینجکشن نرمال سالین در هسته سوپراکیاسماتیک (SCN) بر عملکرد قلب و عروق

نتایج مطالعه نشان داد که میانگین فشار متوسط شریانی MAP و ضربان قلب HR قبل و پس از تزریق سالین، اختلاف معناداری با هم نداشتند ( $P > 0.05$ ) (نمودار 1a,b). تغییرات فشار متوسط شریانی  $\Delta$ MAP و ضربان قلب  $\Delta$ HR ناشی از این تزریقات را نشان می‌دهد.

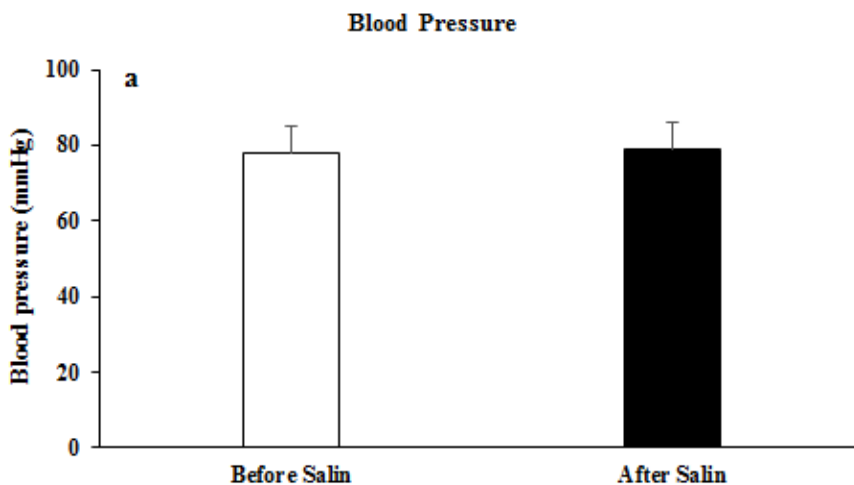
آب کافی دسترسی داشتند.

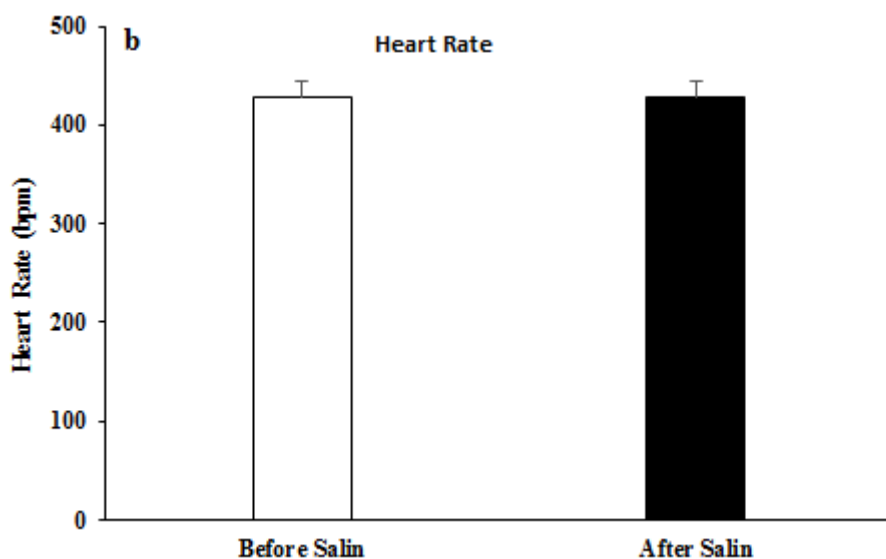
حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل، گروه آنژیوتانسین دو، گروه آنژیوتانسین دو + لوزارتان تقسیم شدند. برای بیهوشی همه گروه‌ها در زمان ثبت، از یورتان با دوز ۱/۵ گرم به ازای کیلوگرم به صورت داخل صفاقی استفاده شد (۱۷،۱۸). گروه کنترل: نرمال سالین با دوز ۱۰۰ nl به صورت میکرواینجکشن به داخل هسته سوپراکیاسماتیک تزریق شد.

گروه آنژیوتانسین: آنژیوتانسین دو با دوز ۱۰۰ میکرومول به صورت میکرواینجکشن به داخل هسته سوپراکیاسماتیک تزریق شد (۱۷،۱۸). گروه آنژیوتانسین دو + لوزارتان: ابتدا آنژیوتانسین دو با دوز ۱۰۰ میکرومول و بعد از ۳۰ دقیقه (۱۸)، لوزارتان با دوز ۱۰۰ میکرومول و پس از ۲ دقیقه (۱۸)، آنژیوتانسین دو با دوز ۱۰۰ میکرومول، به صورت میکرواینجکشن به داخل هسته سوپراکیاسماتیک تزریق شد (۱۷،۱۸).

#### ۲.۲. جراحی و ثبت فشار خون و ضربان قلب

ابتدا حیوانات بیهوش و سر حیوان را توسط میله‌های ear bar در دستگاه استریوتاکس فیکس شدند. پس از تعیین محل دقیق Bregma، نوک پروب توسط دستگاه روی آن قرار داده شد و مختصات هر سه جهت مشخص گردید. این نقطه به عنوان صفر مرجع برای شناسایی مختصات نواحی مورد مطالعه در نظر گرفته شد. برای یافتن هسته سوپراکیاسماتیک در مغز، مختصات آن در اطلس پاکسینوس مشخص شد ( $AP = -0/84, V = 9, L = 0/2$ ) و پس

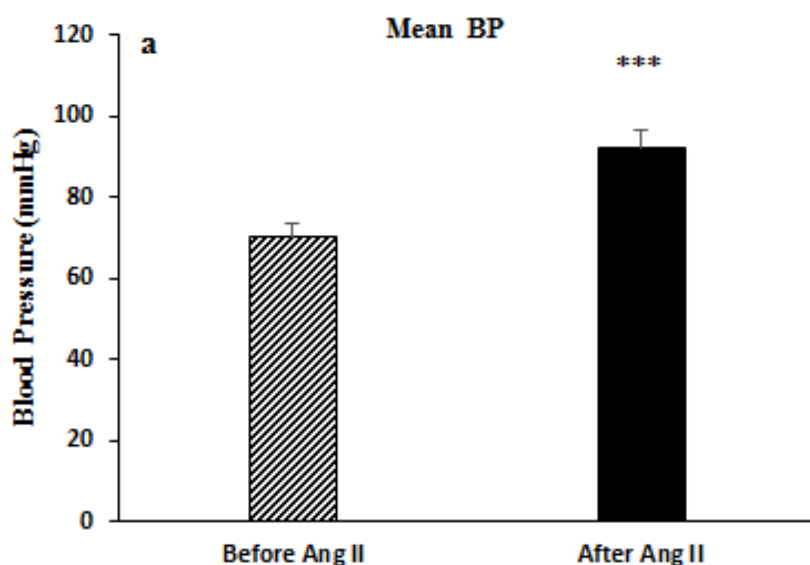




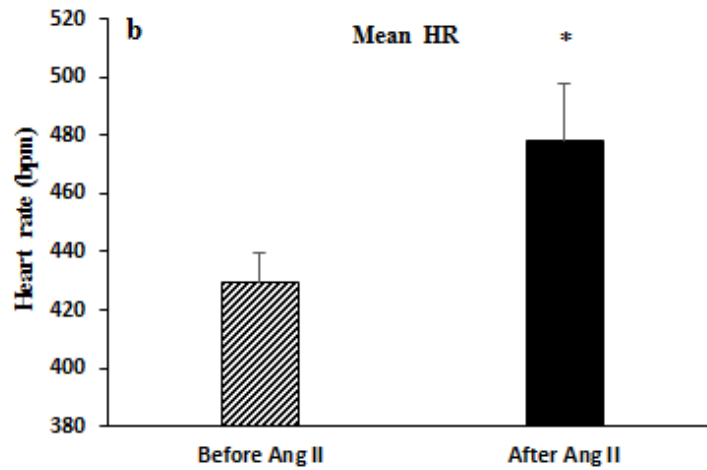
نمودار ۱. مقایسه حداکثر فشار متوسط شریانی MAP و ضربان قلب HR در گروه کنترل، قبل و بعد از میکرواینجکشن نرمال سالین در هسته سوپراکیاسماتیک SCN. میکرواینجکشن نرمال سالین در این هسته، تأثیر معنی داری بر میانگین فشار متوسط شریانی MAP و ضربان قلب HR نداشت (Paired t-test, n=7). نتایج به صورت (mean ± SEM) گزارش شده است.

معنی دار بوده است. (P<0.001) (نمودار ۲a). همچنین تغییرات ضربان قلب ΔHR هم نسبت به قبل از تزریق این دوز آنژیوتانسین، معنی دار بوده است. (P<0.05) (نمودار ۲b). تغییر فشار متوسط شریانی ΔMAP و ضربان قلب ΔHR پس از میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک SCN نسبت به گروه کنترل (نرمال سالین) نیز به طور معنی داری افزایش داشت (به ترتیب P<0.001 و P<0.01) (نمودار ۳).

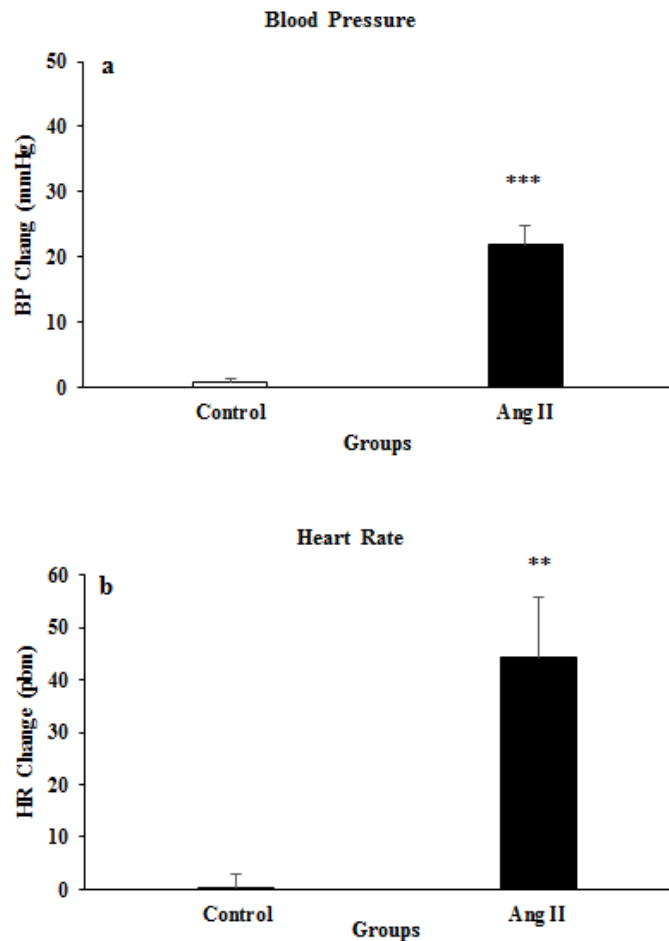
۳.۲. بررسی تأثیر میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو بر هسته سوپراکیاسماتیک (SCN) بر عملکرد قلب و عروق همان طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است میکرواینجکشن ۱۰۰ میکرومول آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک، باعث تغییر در فشار متوسط شریانی (ΔMAP) شده است که این افزایش در MAP نسبت به قبل از تزریق این دوز آنژیوتانسین







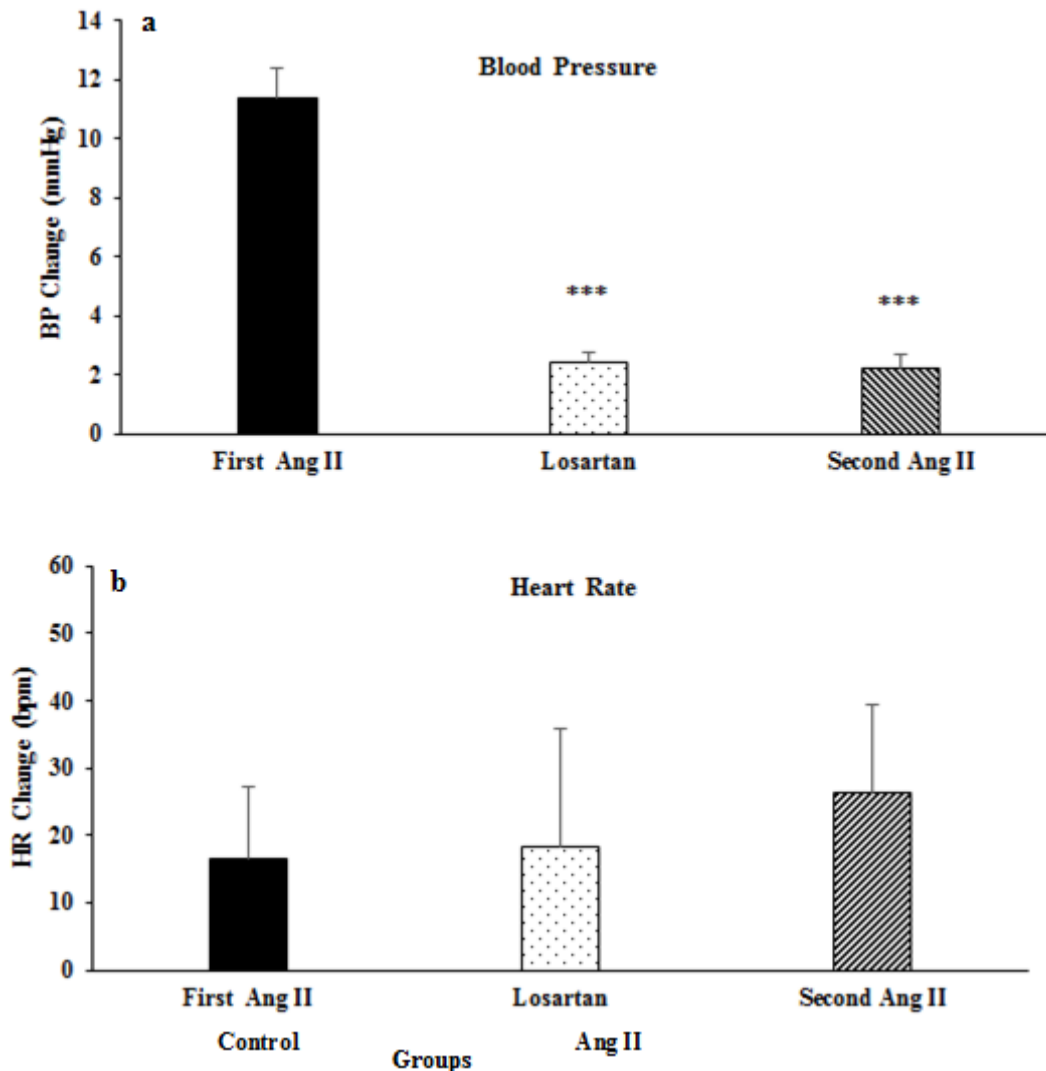
نمودار ۲. مقایسه حداکثر فشار متوسط شریانی MAP و ضربان قلب HR در پاسخ به میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته SCN نسبت به قبل از میکرواینجکشن. میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو به طور معنی داری باعث افزایش فشار متوسط شریانی MAP نسبت به قبل از تزریق شد ( $n=7$ ,  $P<0.001$ ,  $***$ ). میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو همچنین به طور معنی داری باعث افزایش ضربان قلب HR شد ( $n=7$ ,  $P<0.05$ ,  $*$ , Paired t-test).



نمودار ۳. مقایسه تغییرات فشار متوسط شریانی  $\Delta$ MAP و ضربان قلب  $\Delta$ HR در پاسخ به میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته SCN نسبت به گروه کنترل. میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو به طور معنی داری باعث افزایش فشار متوسط شریانی MAP نسبت به گروه کنترل شد ( $n=7$ ,  $P<0.001$ ,  $***$ ). میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو همچنین به طور معنی داری باعث افزایش ضربان قلب HR شد ( $n=7$ ,  $P<0.01$ ,  $**$ , Paired t-test).

دوم آنژیوتانسین دو، باعث کاهش معنی‌داری در تغییرات فشار خون  $\Delta$ MAP نسبت به تزریق اول آنژیوتانسین دو گردید ( $P < 0.001$ ) اما این تغییرات در تعداد ضربان قلب  $\Delta$ HR معنی‌دار نبود (نمودار ۴).

**۳.۳. بررسی تأثیر میکرواینجکشن لوزارتان در هسته SCN بر عملکرد قلب و عروق**  
نتایج مطالعه نشان داد که میکرواینجکشن لوزارتان پیش از تزریق



نمودار ۴. مقایسه تغییرات فشار متوسط شریانی  $\Delta$ MAP و ضربان قلب  $\Delta$ HR پس از میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته SCN، پس از میکرواینجکشن لوزارتان در هسته SCN. میکرواینجکشن لوزارتان پیش از دومین میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو به‌طور معنی‌داری تغییر فشار متوسط شریانی  $\Delta$ MAP را کاهش داد ( $P < 0.001$ , Paired t-test,  $n=7$ ).

قلب در رت‌های صحرائی نر شد.

هریچووا و همکارانش در مطالعه‌ای که تأثیر آنژیوتانسین دو را بر بیان ژن *per2* در هسته‌های سوپراکیاسماتیک و فعالیت حرکتی خودبه‌خودی قلب در موش‌های صحرائی و بیستار تحت شرایط هماهنگ بررسی می‌کرد. آنژیوتانسین دو را از طریق

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تزریق آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک در تنظیم قلب و عروق در رت‌های صحرائی نر است. طبق نتایج به‌دست‌آمده، تزریق آنژیوتانسین دو در این هسته، باعث افزایش فشار متوسط شریانی و ضربان

آنژیوتانسین (AT1) بود، تزریق کردیم و سپس تزریق آنژیوتانسین در این هسته انجام شد. تغییرات محسوسی در فشار متوسط شریانی مشاهده نشد. در مطالعات پیشین نیز تأثیر آنژیوتانسین دو پس از مهارگیرنده AT1 در مغز موش، کلیه و آدرنال بررسی شده است. در نتایج نشان داده شد که فشار خون پس از تزریق لوزارتان مرکزی و محیطی، عدم پاسخ‌دهی را ایجاد می‌کند. آنها چنین بیان کردند که لوزارتان وریدی یا متابولیت‌های فعال آن، تا حدی به سد خونی مغزی نفوذ می‌کند تا به‌طور انتخابی گیرنده‌های AT1 مرکزی را مهار کند (۲۵). در مطالعه‌ای دیگر، تزریق داخل بطنی لوزارتان، تولید پتانسیل عمل نورون‌های حساس به آنژیوتانسین دو را کاهش داد. همچنین افزایش سرعت تولید پتانسیل عمل در نورون‌های حساس به آنژیوتانسین دو را کم کرد. در این یافته‌ها بیان شد که تزریق داخل بطنی لوزارتان از طریق ورودی‌های GABA به نورون‌ها، نورون‌های حساس به آنژیوتانسین دو AHA را مهار می‌کند (۲۶).

لوزارتان پتاسیم آنتاگونیست گیرنده AT1 است. این دارو به‌طور رقابتی و انتخابی به گیرنده AT1 متصل می‌شود و در نتیجه تأثیرات فیزیولوژیکی القاشده را مسدود می‌کند. خواص فارماکودینامیک عمل آنژیوتانسین دو بر گیرنده AT1، برای هموستاز قلبی-عروقی، حیاتی است. لوزارتان پتاسیم به‌طور انتخابی، رقابتی و با میل ترکیبی بالا به گیرنده AT1 متصل می‌شود و در نتیجه، فعالیت آنژیوتانسین دو را مسدود می‌کند. این دارو، هیچ تمایل بالینی مرتبطی با گیرنده‌های دارویی دیگر ندارد. لوزارتان پتاسیم، باعث پس‌رفت هیپرتروفی بطن چپ (LVH) می‌شود. فراهمی زیستی لوزارتان پتاسیم حدود ۳۳ درصد است که نشان‌دهنده اثر عبور اول قابل توجه است و با وجود غذا، تغییر قابل توجهی نمی‌دهد (۲۷-۳۱).

در مطالعه‌ای دیگر، آنتاگونیست AT1، لوزارتان، به بافت‌های اطراف بطن سوم مغز در موش‌های هوشیار تزریق شد. لوزارتان تزریق‌شده به ناحیه هیپوتالاموس قدامی، (AHA) یک پاسخ کاهش‌دهنده در موش‌هایی با فشار خون خودبه‌خودی (SHR) ایجاد کرد اما در موش‌های ویستار کیوتو (WKY) این پاسخ را ایجاد نکرد. آنژیوتانسین دو تزریق‌شده به AHA یک پاسخ فشاری در هر دو WKY و SHR ایجاد کرد و پاسخ فشاری به آنژیوتانسین دو در SHR بیشتر از WKY بود. انتشار پپتیدهای آنژیوتانسین در AHA در SHR بیشتر از WKY بود. این یافته‌ها نشان داد که یک سیستم آنژیوتانسین در AHA افزایش یافته است و این افزایش سیستم آنژیوتانسین در حفظ فشار خون بالا در SHR نقش داشته است. به نظر می‌رسد هر

مینی‌پمپ‌های اسمزی کاشته‌شده زیرجلدی به مدت ۷ یا ۲۸ روز تزریق کردند. هفت روز انفوزیون آنژیوتانسین دو باعث افزایش فشار خون شد (۱۹).

Tang و همکاران طی مطالعات خود، تأثیر تزریق آنژیوتانسین را بر ریتم‌های سیرکادین قلبی-عروقی در موش‌های تحت استرس بررسی کردند. آنها طی مطالعات خود مشاهده کردند که فشار خون موش‌ها در زمان پیش از استرس طی شب بیشتر از روز بود اما با تزریق مزمن آنژیوتانسین، افزایش فشار خون طی روز بیشتر از شب بود. پس از تزریق آنژیوتانسین به‌صورت مزمن همچنین برادیکاردی قلبی مشاهده گردید. در زمان استرس مشاهده شد که طی تزریق آنژیوتانسین افزایش فشار خون رخ داد. اما پاسخ‌دهی به آنژیوتانسین دو در چنین شرایطی بسیار کمتر از زمان قبل از استرس بود. آنها چنین نتیجه گرفتند که تأثیر آنژیوتانسین در موش‌ها در زمان استرس بر قلب و عروق به‌گونه‌ای است که فعالیت نورون‌های قسمت‌هایی از مغز که بر ریتم‌های سیرکادین فشار خون تأثیر می‌گذارند را تحت تأثیر قرار می‌دهد اما تأثیری بر تعداد ضربان قلب ندارد (۲۰).

در مطالعه‌ای که آوریل انجام داد آنژیوتانسین دو در نواحی *nucleus tractus solitarii* (nTS) و *postrema* تزریق شد. آنژیوتانسین دو تزریق شده باعث پاسخ افزایش فشار خون همراه با افزایش قابل توجهی در ضربان قلب گردید (۲۱). مطالعات نشان داده‌اند که آنژیوتانسین دو با تعدادی از اعمال فشار خون را افزایش می‌دهد که مهم‌ترین آنها انقباض عروق، تحریک عصبی سمپاتیک، افزایش ساخت آلدوسترون و اعمال کلیوی است (۲۲). سایر اعمال آنژیوتانسین دو عبارتند از: القای رشد، تحریک بیان پروتئوکون‌ها، تنظیم هیپرتروفی میوکارد قلب و تغییر شکل عروقی (۲۴ و ۲۳). مهاجرت سلولی و میتوز سلول‌های عضله صاف عروق، افزایش سنتز کلاژن نوع III و فیبروبلاست‌ها که منجر به ضخیم شدن دیواره عروقی و میوکارد و فیبروز می‌شود. آنژیوتانسین دو نقش مهم در فشار خون بالا و پاتوفیزیولوژی آسیب عروقی در طول دوره پرفشاری خون دارد. آنژیوتانسین دو همچنین در فرایند تصلب شرایین و در فرایندهای بازسازی و ترمیم میوکارد پس از انفارکتوس میوکارد نقش دارد. در نهایت، افزایش آنژیوتانسین دو، بخش مهمی از فعال‌سازی عصبی-هومورال در نارسایی قلبی است (۲۲). در گروه دوم به‌منظور بررسی این موضوع که آنژیوتانسین دو از طریق کدام گیرنده خود اثر افزایش فشار را اعمال می‌کند ابتدا در هسته‌های سوپراکیاسماتیک لوزارتان را که آنتاگونیست انتخابی گیرنده‌های نوع یک

SCN را تنظیم می‌کند (۳۴).

در مطالعه‌ای، آنژیوتانسین دو به PVN موش‌های با فشار خون نرمال تزریق شد و به‌طور هم‌زمان فشار خون، ضربان قلب (HR) و پاسخ‌های تک واحدی ثبت شد. نقش گیرنده‌های AT1 و AT2 در این پاسخ‌ها نیز ارزیابی گردید. میکرواینجکشن لوزارتان، یک آنتاگونیست AT1، به PVN دو نوع پاسخ ایجاد کرد: تضعیف و تقویت پرسور، با این حال، گیرنده AT1 ممکن است مهار نیز ایجاد کند (۳۵).

مطالعه حاضر نشان داد که میکرواینجکشن آنژیوتانسین دو در هسته سوپراکیاسماتیک، باعث افزایش فشار خون و ضربان قلب می‌شود که این اثر را از طریق اتصال به گیرنده نوع یک موجود در این هسته انجام می‌دهد.

### تشکر و قدردانی

مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است. نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سبزوار تشکر می‌کنند.

دو افزایش فشار خون ناشی از تزریق آنژیوتانسین دو و افزایش انتشار پپتیدهای آنژیوتانسین در AHA با این افزایش سیستم آنژیوتانسین در SHR مرتبط می‌باشد (۳۲).

در مطالعه‌ای دیگر، برای ارزیابی زیرگروه گیرنده‌ای که واسطه تحریک نورون‌های NTS داخلی توسط آنژیوتانسین دو در بصل‌النخاع موش در شرایط آزمایشگاهی است، لوزارتان استفاده شد. نه لوزارتان و نه آنتاگونیست‌های AT2، فعالیت نورونی پایه نورون‌های حساس به آنژیوتانسین دو را تغییر ندادند. با این حال، در شش سلول با فعالیت خودبه‌خودی با فرکانس پایین که پس از تحریک توسط آنژیوتانسین دو بالاتر از سطح پایه باقی‌ماندند، بی‌اثر بودند. این مطالعات نشان می‌دهد که تحریک نورون‌های NTS داخلی دمی ناشی از آنژیوتانسین دو، توسط گیرنده‌های AT1 انجام می‌شود (۳۳).

فعالیت‌های نورونی، نقش کلیدی در هماهنگی فعالیت سلولی در هسته‌های سوپراکیاسماتیک (SCN)، محل اصلی نوسانگر شبانه‌روزی در پستانداران ایفا می‌کند. نوروپپتید آنژیوتانسین دو و گیرنده آن AT1، هر دو توسط سلول‌های SCN بیان می‌شوند. آزمایش‌ها نشان می‌دهد گیرنده آندوزن AT1، به‌طور تونیک فعالیت‌های برخی از نورون‌های

### References

- Guyenet, P.G., The sympathetic control of blood pressure. *Nature Reviews Neuroscience*, 2006. 7(5): 335-346. <https://doi.org/10.1038/nrn1902>
- Chan SH, Chan JY. Angiotensin-generated reactive oxygen species in brain and pathogenesis of cardiovascular diseases. *Antioxid Redox Signal* 2013;19(10):1074-84. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4585>
- Kenney MJ, Weiss ML, Haywood JR. The paraventricular nucleus: an important component of the central neurocircuitry regulating sympathetic nerve outflow. *Acta Physiol Scand* 2003;177(1):7-15. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01042.x>
- Chappell MC, Brosnihan KB, Diz DI, Ferrario CM. Identification of angiotensin-(1-7) in rat brain. Evidence for differential processing of angiotensin peptides. *J Biol Chem* 1989;264(28):16518-23. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(1984\)737-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(1984)737-3)
- Kang YM, Wang Y, Yang LM, Elks C, Cardinale J, Yu XJ, et al. TNF- $\alpha$  in hypothalamic paraventricular nucleus contributes to sympathoexcitation in heart failure by modulating AT1 receptor and neurotransmitters. *Tohoku J Exp Med* 2010;222(4):251-63.
- McKinley MJ, Albiston AL, Allen AM, Mathai ML, May CN, McAllen RM, et al. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35(6):901-18. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(20\)00306-0](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(20)00306-0)
- Matsusaka, T. and I. Ichikawa, Biological functions of angiotensin and its receptors. *Annual Review of Physiology*, 1997. 59(1):395-412. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.59.1.395>
- Singh, K.D. and S.S. Karnik, Angiotensin Receptors: Structure, Function, Signaling and Clinical Applications. *Journal of cell signaling*, 2016. 1(2):111.
- Lenki, Z, Palkovits, M, Corvol, P and Llorans-Cortes C, Distribution of angiotensin type1 receptor messenger RNA expression in the adult rat brain. *Neuroscience*. 1998; 82.: 827-841 [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00328-X](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00328-X)
- Accorsi-Mendonça, D., et al., Pacemaking Property of RVLM Presympathetic Neurons. *Frontiers in Physiology*, 2016. 7. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00424>
- Li, D.-P. and H.-L. Pan, Role of GABAB Receptors in Autonomic Control of Systemic Blood Pressure, in *Advances in Pharmacology*, T.P. Blackburn, Editor. 2010, Academic Press. p. 257-286. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(10\)58011-6](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(10)58011-6)
- Wu, C.C., Wang, I.F., Chiang, P.M., et al., 2017. G-CSF-mobilized bone marrow mesenchymal stem cells replenish neural lineages in Alzheimer's disease mice via CXCR4/SDF-1 chemotaxis. *Mol. Neurobiol.* 54, 6198-6212. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0122-x>.
- Gillette, M.U. and S.A. Tischkau, Suprachiasmatic nucleus: the brain's circadian clock. *Recent progress in hormone research*, 1999. 54: p. 33-58; discussion 58. doi: 10.1007/s00441-002-0576-1
- Wu, V.C., Wu, P.C., Wu, C.H., et al., 2014. The impact of acute kidney injury on the long-term risk of stroke. *J. Am. Heart Assoc.* 3, e000933. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.000933>.
- Nasimi, A. and M. Kafami, Vasopressin and sympathetic system mediate the cardiovascular effects of the angiotensin II in the bed nucleus of the stria terminalis in rat. *Neuroscience Research*, 2016. 108: p. 34-39. doi: 10.1016/j.neures.2016.01.003

- [16]. Kafami, M. and A. Nasimi, Cardiovascular and single-unit responses to microinjection of angiotensin II into the bed nucleus of the stria terminalis in rat. *Neuroscience*, 2015. 300: p. 418-424 .  
doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.050.
- [17]. Herichová, I., et al., Effect of angiotensin II on rhythmic per2 expression in the suprachiasmatic nucleus and heart and daily rhythm of activity in Wistar rats. *Regulatory Peptides*, 2013. 186: 49-56 .  
https://doi.org/10.1016/j.regpep.2013.06.016.
- [18]. Tang, K.-C. and J.-T. Pan (1995). "Differential effects of angiotensin II on the activities of suprachiasmatic neurons in rat brain slices." *Brain research bulletin* 37(5): 529-532.  
https://doi.org/10.1016/0361-9230(95)00055-J
- [19]. Averill, D.B., et al., Pressor responses of angiotensin II microinjected into the dorsomedial medulla of the dog. *Brain research*, 1987. 414(2): 294-300.  
https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)90009-6
- [20]. Fyhrquist, F., K. Metsärinne, and I. Tikkanen, Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *Journal of human hypertension*, 1995. 9: S19-24. PMID: 8583476
- [21]. Kenney MJ, Weiss ML, Haywood JR. The paraventricular nucleus: an important component of the central neurocircuitry regulating sympathetic nerve outflow. *Acta Physiol Scand* 2003;177(1):7-15.  
https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2003.01042.x
- [22]. Chappell MC, Brosnihan KB, Diz DI, Ferrario CM. Identification of angiotensin-(1-7) in rat brain. Evidence for differential processing of angiotensin peptides. *J Biol Chem* 1989;264(28):16518-23 .  
https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)84737-3
- [23]. Zhuo, J., et al., Blockade by intravenous losartan of AT1 angiotensin II receptors in rat brain, kidney and adrenals demonstrated by in vitro autoradiography. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 1994. 21(7): p. 557-567. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1994.tb02555.x
- [24]. Hagiwara, Y. and T. Kubo, Intracerebroventricular injection of losartan inhibits angiotensin II-sensitive neurons via GABA inputs in the anterior hypothalamic area of rats. *Neuroscience letters*. .2007. 416(2): p. 150-154  
https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.01.059
- [25]. Ghaziani T, Shahraz S. *Comprehensive handbook of drug information*. 4th ed. Tehran: teymorzade&tabib ;2007(persian) 28. Sami P. *Iran generic drugs*. 8th ed. Tehran :Tohfe&Boshra ;2018 (persian)
- [26]. Khodam R, *Iran generic drugs*. 6th ed. Tehran: Artin teb ;2016(persian) .
- [27]. Katzung B, Trevors A. *Katzung & Trevors Pharmacology examination and board review*. Motaghi nezhad M. 1th ed. Tehran:Andishe rafie ;2021(persian).
- [28]. Goa, K.L. and A.J. Wagstaff, Losartan potassium. *Drugs*, 1996. 51(5): p. 820-845 .
- [29]. Kubo, T., et al., An angiotensin system in the anterior hypothalamic area anterior is involved in the maintenance of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Brain research bulletin*, 2000. 52(4): p. 291-296.  
https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.01.059
- [30]. Barnes, K.L., A.J. McQUEENEY, and C.M. Ferrario, Receptor subtype that mediates the neuronal effects of angiotensin II in the rat dorsal medulla. *Brain research bulletin*, 1993. 31(1-2): p. 195-200 .  
doi: 10.1016/0361-9230(93)90025-7.
- [31]. Brown, T., E. McLachlan, and H. Piggins, Angiotensin II regulates the activity of mouse suprachiasmatic nuclei neurons. *Neuroscience*, 2008. 154(2): p. 839-847 .
- [32]. Khanmoradi, M. and A. Nasimi, Functions of AT1 and AT2 angiotensin receptors in the paraventricular nucleus of the rat, correlating single-unit and cardiovascular responses. *Brain Research Bulletin*, 2017. 132: p. 170-179.