

## Autoreferat

1. Imię i Nazwisko Bożena Bądryńska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ ~~artystyczne~~ – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

1985 – magister biologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego

1989 – doktor nauk przyrodniczych, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej

PAN, Zakład Fizjologii Stosowanej i Klinicznej PAN, Warszawa

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Mechanizm działania przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ANP) na wydalanie sodu i wody przez nerkę szczura”

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ ~~artystycznych~~.

Od 1985 - Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego

PAN, Zakład Fizjologii Stosowanej i Klinicznej, Pracownia Fizjologii

Nerek i Płynów Ustrojowych potem Zakład Fizjologii Nerek i Płynów

Ustrojowych

4. Wskazanie osiągnięcia\* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/ ~~artystycznego~~,

**Czynniki naczyniorozszerzające w regulacji wewnątrznerkowego krążenia krwi u szczura: różnice między korą i rdzeniem nerki. Antyhipertensyjna rola wzrostu ukrwienia rdzenia?**

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

1. **Bądryńska B**, Grzelec-Mojzesowicz M, Sadowski J. Effect of exogenous angiotensin II on renal tissue nitric oxide and intrarenal circulation in anaesthetized rats.

*Acta Physiol Scand.* 2004, 182:313-8. IF = 2.086

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń, opracowaniu i interpretacji wyników oraz wstępnym przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 65%.*

2. **Badzyńska B**, Sadowski J. Renal hemodynamic responses to intrarenal infusion of acetylcholine: comparison with effects of PGE2 and NO donor. *Kidney Internat* 2006, 69:1774-1779. IF = 4.921.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu projektu badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu i interpretacji wyników oraz wstępnym przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 70%.*

3. **Badzyńska B**, Sadowski J. Opposed effects of prostaglandin E2 on perfusion of rat renal cortex and medulla: interactions with the renin-angiotensin system. *Exper Physiol.* 2008, 93:1292-302. IF = 2.697.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu i przygotowaniu projektu badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu i interpretacji wyników i współudziale w przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 70 %.*

4. **Badzyńska 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.

*J Physiol.* 2009, 587:3943-53. IF = 4.658.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotezy badawczej, zaprojektowaniu i wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu wyników i udziale w przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 70 %.*

5. **Badzyńska B**, Sadowski J. Experimental selective elevation of renal medullary blood flow in hypertensive rats: evidence against short-term hypotensive effect. *Acta Physiologica* 2012, 205: 484-93. IF = 3.09.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu i interpretacji wyników oraz udziale w przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 70 %.*

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Nerki są jednym z najważniejszych narządów zapewniających utrzymanie ogólnej homeostazy w organizmie i narządem kluczowym dla utrzymania stałej objętości i składu płynów ustrojowych („homeostaza płynów”). Taka rola regulacyjna nerek opiera się na ich podstawowej funkcji - wydalaniu. Jego tempo dostosowuje się do tempa pojawiania się w krwi zbędnych produktów przemiany materii (takich jak mocznik, kwas moczowy, kreatynina

itd.) i do podaży jonów i wody w diecie. Nerki są także narządem wewnątrzwydzielniczym syntetyzującym hormony lub prekursorzy hormonów (renina, 1,25-dihydroksycholekalcyferol) oraz, jak większość narządów i tkanek, syntetyzującym autakoidy (np. eikozanoidy, szczególnie prostaglandyny). Oba rodzaje substancji, obok licznych czynników pozanerkowych (np. ciśnienie tętnicze, szereg hormonów, np. aldosteron czy wazopresyna, układ nerwowy) uczestniczą w regulacji wydalania nerkowego a więc także w działaniu homeostatycznym nerek.

### **Architektura układu naczyniowego nerki. Powiązanie z układem kanalikowym i konsekwencje czynnościowe**

Podstawą funkcjonowania nerki jest ściśle strukturalne powiązanie układu kanalikowego z elementami naczyniowymi. Główne gałęzie tętnicy nerkowej dzielą się w nerce na mniejsze gałązki, tzw. tętnice międzypłatowe, które z kolei dają początek tętnicom łukowatym wyznaczającym granice między warstwą kory i rdzenia nerkowego. Od tętnic łukowatych odchodzą tętnice międzypłacikowe oddające tętniczki doprowadzające, dzielące się na pęk naczyń włosowatych tworzących kłębuszki nerkowe. Następnie kłębuszkowe naczynia włosowate łączą się tworząc tętniczki odprowadzające, które w przypadku większości kłębuszków tworzą sploty okołokanalikowe oplatające kanaliki bliższe (proksymalne). Natomiast tętniczki odprowadzające kłębuszków położonych na granicy kory i rdzenia dzielą się tworząc tzw. naczynia (tętniczki) proste (*vasa recta*) biegnące do rdzenia. Tam, na różnej głębokości zaginają się one pod kątem  $180^\circ$  i powracają w kierunku kory jako żyłne odcinki naczyń prostych, odprowadzając krew z rdzenia do żył międzypłacikowych, łukowatych, międzypłatowych i ostatecznie do żyły nerkowej. Wspomniane pętle naczyń prostych biegną ściśle wzdłuż pętli nefronów (pętli Henlego) i wspólnie tworzą podłoże strukturalne do zagęszczania moczu.

Podział układu naczyniowego nerki na odcinek korowy i rdzeniowy ma istotne konsekwencje dla funkcji tych odcinków. Kłębuszki w korze nerki to strukturalna podstawa intensywnych procesów filtracyjnych. Siłą napędową tych procesów jest w głównej mierze wielkość ciśnienia hydrostatycznego w tętniczkach doprowadzających a ściśle rzecz biorąc w kapilarach kłębuszkowych. Ponieważ tętniczki doprowadzające mają zdolność do rozszerzania się podczas obniżenia się ciśnienia tętniczego krwi i kurczenia podczas jego wzrostu, ukrwienie nerki charakteryzuje się bardzo znacznym stopniem autoregulacji przepływu krwi zapewniającej dużą niezależność ukrwienia nerek od zmian ciśnienia tętniczego krwi i stabilność procesu filtracji.

Ukrwienie rdzenia jest dużo uboższe w porównaniu z korą. Stosunkowo niski przepływ krwi przez *vasa recta* umożliwia ich funkcjonowanie jako wymiennika przeciwpłądowego w procesie zagęszczania moczu i zapewnia utrzymanie gradientu osmotycznego na osi kora-rdzeń (znacznie wyższe stężenia osmotyczne w rdzeniu). Sądzi się, że autoregulacja przepływu krwi przy zmianach ciśnienia tętniczego w tej warstwie nerki jest dosyć ograniczona. Również reaktywność naczyń rdzeniowych na substancje wazoaktywne, zwłaszcza na czynniki naczyniorozszerzające, może być inna niż w naczyniach korowych.

### **Czynniki regulujące przepływ krwi przez nerkę.**

Zarówno czynniki wewnątrznerkowe jak i zewnątrznerkowe istotnie wpływają na procesy wydalnicze poprzez modyfikowanie nerkowego krążenia krwi oraz transportu kanalikowego - w zależności od stanu środowiska wewnętrznego organizmu.

Najlepiej poznanym wewnątrznerkowym humoralnym regulatorem hemodynamiki nerek jest układ renina-angiotensyna (renin-angiotensin system, RAS), do pobudzenia którego najczęściej dochodzi podczas obniżenia ciśnienia tętniczego krwi, zmniejszonej objętości płynów ustrojowych a także niedoboru NaCl w ustroju. W wyniku stymulacji RAS następuje skurcz naczyń krwionośnych, przywrócenie prawidłowego ciśnienia i homeostazy płynów ustrojowych. Z drugiej jednak strony efekt ten może doprowadzić do upośledzenia wewnątrznerkowego krążenia krwi co z kolei zmniejsza tempo filtracji kłębuszkowej. Aby nie dopuścić do takiej sytuacji, organizm uwalnia szereg substancji naczyniorozszerzających, które poprzez przeciwdziałanie efektom naczyniokurczącym RAS (i innym) odgrywają istotną rolę protekcyjną w stosunku do nerki. W ostatnim dziesięcioleciu okazało się, że poza „klasycznym” układem renina-angiotensyna istnieje także - dobrze już dzisiaj zdefiniowany – wewnątrznerkowy” RAS [1].

### ***Czynniki naczyniorozszerzające w nerce***

Wśród czynników rozszerzających naczynia krwionośne istotną rolę w nerce odgrywają takie substancje jak: tlenek azotu (*NO*), prostaglandyny (*PGE<sub>2</sub>*, *PGI<sub>2</sub>*), bradykinina tkankowa i osoczowa, adenozyne, acetylocholina, kwasy epoksyekoizatrienowe (*EETs*), pozakomórkowy *ATP*, przedsionkowy peptyd natriuretyczny (*ANP*), wciąż kontrowersyjna medullipina, a także angiotensyna II – w jej działaniu za pośrednictwem receptora *AT<sub>2</sub>* [2]. Jak wiadomo, angiotensyna II (*Ang II*) działa silnie naczyniokurcząco poprzez swój receptor *AT<sub>1</sub>*. Coraz więcej badań wskazuje jednak, że stymulacja drugiego receptora *Ang II* – *AT<sub>2</sub>* - przynajmniej w pewnych warunkach prowadzi do rozszerzenia

naczyń, także nerkowych. Rola tego receptora jest wciąż mało poznana co być może wynika z jego niskiej ekspresji w porównaniu z AT<sub>1</sub>. Wydaje się, że jego działanie polega na stymulacji uwalniania naczyniorozszerzających substancji parakrynych, takich jak bradykinina czy prostaglandyny oraz na stymulacji syntazy tlenku azotu. Szczególnym przypadkiem jest acetylocholina, której receptory zostały wprowadzić zlokalizowane w śródbłonku naczyń nerkowych, mięśniach gładkich i perycytach naczyń prostych (*vasa recta*) jednak jej działanie naczyniorozszerzające prawdopodobnie sprowadza się do stymulacji tlenku azotu [2].

Spośród wymienionych wyżej substancji naczyniorozszerzających przedmiotem mojego szczególnego zainteresowania i przedstawionych w cyklu habilitacyjnym badań była rola w regulacji krążenia wewnątrznerkowego: tlenku azotu, prostaglandyny E<sub>2</sub>, bradykininy a także pewne aspekty działania acetylocholino. Obok celu ogólnopoznawczego zależało mi także na wykorzystaniu wymienionych substancji wazoaktywnych do selektywnej manipulacji – osobno ukrwieniem kory i rdzenia nerki. Szczególne znaczenie miało zbadanie zachodzących w różnych sytuacjach zmian ukrwienia rdzenia. Stosunkowo skąpe ukrwienie tego regionu obserwowane w warunkach prawidłowych powoduje, że nawet umiarkowane jego upośledzenie stwarza zagrożenie zależne od obniżenia lokalnego ciśnienia parcjalnego tlenu – co w krańcowym przypadku może spowodować martwicę brodawek nerkowych [3]. Ponadto, biorąc pod uwagę postulowaną przez badaczy rolę rdzenia nerkowego a w szczególności stanu jego ukrwienia w długoterminowej regulacji ciśnienia tętniczego [4, 5, 6], umiejętność selektywnego zwiększania przepływu krwi przez rdzeń może być pomocnym narzędziem do wyjaśnienia tej regulatorowej roli. Kluczowe znaczenie miało by sprawdzenie, czy podwyższenie przepływu krwi przez rdzeń (przy niezmiennym ukrwieniu kory) spowoduje obniżenie ciśnienia tętniczego krwi u zwierząt z doświadczalnym nadciśnieniem. Takie zadanie postawiono w ostatniej publikacji cyklu.

### **Uwagi o metodyce badań**

Realizacja zarysowanych wyżej celów badawczych wymagała zastosowania odpowiednich metod badawczych, szczególnie tam, gdzie protokół doświadczalny obejmował wprowadzenie infuzji substancji czynnych. Wszystkie doświadczenia przeprowadzono na narkotyzowanych szczurach.

Aby uniknąć efektów systemowych (np. spadku ciśnienia tętniczego krwi) substancje wazoaktywne podawano bezpośrednio do nerki. Infundowano je do tętnicy nerkowej albo do tkanki śródmiąższowej kory lub rdzenia. Infuzja do tętnicy nerkowej jest najbardziej



wskazana w przypadku substancji działających przede wszystkim od strony światła naczyń, np. w związku z obecnością odpowiednich receptorów w śródbłonku naczyń.

Szereg substancji czynnych wykazuje bardziej skuteczne działanie na naczynia krwionośne od strony śródmiąższu nerki. W związku z tym podawano je bezpośrednio do kory i/lub do rdzenia nerki; z dobrym przybliżeniem można wtedy mówić o infuzjach do przestrzeni śródmiąższowej. Dodatkową zaletą infundowania związków czynnych wprost do śródmiąższu rdzenia jest nie tylko uniknięcie efektów systemowych ale i ich ewentualnego wpływu na krążenie w obszarze kory nerki. W niektórych projektach badawczych zastosowano różne drogi infuzji tej samej substancji (np. w przypadku bradykininy czy prostaglandyny w celu porównania efektywności ich działania na układ krążenia w różnych warstwach nerki).

Do pomiarów całkowitego przepływu krwi przez nerkę (RBF) zastosowano przepływomierz ultradźwiękowy firmy Transonic z sondą mankietową zakładaną na tętnicę nerkową. Natomiast do badania ukrwienia różnych obszarów nerki użyto igłowych sond laserowo-Dopplerowskich umieszczanych na powierzchni nerki (pomiar ukrwienia kory, CBF) oraz w rdzeniu zewnętrznym (OMBF) i wewnętrznym (IMBF), współpracujących z aparaturą firmy Perimed. Obie metody pomiarowe umożliwiają ciągły monitoring i rejestrację ukrwienia całkowitego i regionalnego nerki i dostarczają dosyć wszechstronnych informacji o zmianach hemodynamiki w tym narządzie. Poza metodami badania krążenia w jednym projekcie badawczym (Publikacja I) posłużono się pomiarami aktywności tlenu azotu w tkance kory i rdzenia nerki *in situ* wg. metody opisaną w naszej pracowni [7].

Powyższe uwagi dotyczące zastosowanych technik badawczych wskazują, że należały one niemal w całości do arsenału metod fizjologii integracyjnej, nie nastawiano się na identyfikację receptorów lub badanie dokładnych mechanizmów biochemicznych czy molekularnych.

\* \* \*

Nieco paradoksalnie, inspiracją do badania działania czynników naczyniorozszerzających w nerce były wcześniejsze badania, także własne [8, 9] nad wpływem na krążenie nerkowe Ang II, typowej substancji naczyniokurczącej. Badania te wykazały jednoznacznie, że wywołuje ona obniżenie przepływu krwi przez korę nerki, natomiast wiele kontrowersji dotyczy wpływu angiotensyny II na krążenie w rdzeniu nerki. Znaczna większość wyników wskazywała, że Ang II nie obniża przepływu rdzeniowego [9].

Z naszych wcześniejszych prac wynikało, że dożylnie podanie egzogennej angiotensyny II nie zmieniało a w niektórych przypadkach nawet lekko podwyższało przepływ krwi przez rdzeń nerki przy jednoczesnym obniżeniu przepływu korowego [8, 9]. Obserwacja ta może sugerować, że istnieje mechanizm ochraniający rdzeń nerki przed naczyniokurczącym działaniem Ang II: jego istotą mogło być uwalnianie czynników naczyniorozszerzających. Niejasne jest jednak, który z czynników był by tu zaangażowany. Istnieją pośrednie dane wskazujące, że Ang II stymuluje powstawanie tlenku azotu w nerce, więc można przypuścić, że to *NO* mógłby odgrywać rolę czynnika buforującego skurcz naczyń [5]. Co prawda, z naszych wcześniejszych badań wynika, że zablokowanie syntezy *NO* za pomocą *L-NAME* nie zmieniało odpowiedzi krążenia rdzeniowego na Ang II: perfuzja rdzenia wewnętrznego pozostawała niezmienną [9]. Należy jednak zauważyć, że zdania co do roli *NO* są tutaj podzielone [10].

W pierwszej pracy cyklu przedstawianego jako habilitacyjny postanowiliśmy spróbować zweryfikować naszą sugestię dotyczącą braku udziału *NO* w stabilizacji krążenia rdzeniowego po podaniu Ang II - za pomocą metodyki niezwiązanej z farmakologiczną blokadą jego syntezy (**Publikacja I<sup>1</sup>**). W tym celu posłużono się metodą bezpośredniego i ciągłego pomiaru aktywności tlenku azotu w tkance nerkowej. Gdyby udało się wykazać, że po Ang II dochodzi do wzrostu aktywności tlenku azotu w tkance nerkowej, szczególnie w rdzeniu, poparło by to tezę o zaangażowaniu *NO* w buforowaniu skurczu naczyń w tej warstwie nerki. Zastosowanie selektywnych elektrod *NO* umożliwiło jednoczesne pomiary w korze jak i w rdzeniu nerki [7]. Równolegle prowadzono też ciągłe pomiary całkowitego przepływu krwi przez nerkę (sonda ultradźwiękowa akustyczna) oraz w poszczególnych jej warstwach (sondy typu laser- Doppler). Dawka umiarkowanie presyjna Ang II wywołała istotne obniżenie się stężenia *NO* zarówno w warstwie korowej jak i rdzeniowej; jednocześnie doszło do obniżenia całkowitego przepływu krwi przez nerkę (wartość ta jest także dobrym wskaźnikiem ukrwienia kory) - przy niezmiennym przepływie przez rdzeń wewnętrzny [8, 9].

Jednak otrzymane wyniki potwierdziły wcześniejsze przypuszczenia iż to raczej nie tlenek azotu działa protekcyjnie na krążenie rdzeniowe w odpowiedzi na presyjne działanie Ang II. Nie oznacza to jednak, że syntetyzowany w rdzeniu *NO* nie jest zaangażowany w regulację lokalnego przepływu - jego potężne działanie naczyniorozszerzające

<sup>1</sup> B. Bądryńska, M. Grzelec-Mojzesowicz, J. Sadowski. Effects of exogenous angiotensin II on renal tissue nitric oxide and intrarenal circulation in anaesthetised rats. *Acta Physiol Scand.* 2004.

prawdopodobnie poprawia to ukrwienie w wielu stanach fizjologicznych i patofizjologicznych.

Dlaczego egzogenna Ang II spowodowała obniżenie aktywności *NO* w tkance nerkowej? Wiadomo, że hormon może stymulować powstawanie wolnych rodników tlenowych (*ROS*) [11], które obniżają biodostępność *NO* w tkance. Można więc przypuszczać, że zaobserwowane obniżenie się stężenia *NO* po podaniu Ang II mogło być spowodowane jego neutralizacją przez aktywne nadtlenki. W związku z tym powtórzyliśmy doświadczenia poprzedzając infuzję angiotensyny II podaniem tempolu, szeroko stosowanego wymiatacza nadtlenków. W tej sytuacji Ang II istotnie obniżyła stężenie *NO* w korze i spowodowała znaczne obniżenie jej ukrwienia, podobnie jak u zwierząt bez tempolu, nie zmieniła natomiast ani aktywności *NO* ani przepływu krwi w rdzeniu. Wyniki te przemawiają za tym, że *ROS* raczej nie są odpowiedzialne za obserwowane po Ang II obniżenie *NO* w tkance korowej, czego jednak nie można wykluczyć w przypadku rdzenia.

Reasumując powyższe wnioski, ani blokowanie syntezy *NO* ani oznaczanie jego aktywności w nerce nie dostarczyło danych przemawiających za udziałem tlenu azotu w protekcji rdzenia nerki przed naczyniokurczącym działaniem Ang II. Wydawało się, że istotnym uzupełnieniem prób zdefiniowania roli *NO* w utrzymywaniu odpowiedniego ukrwienia nerki a szczególnie jej rdzenia było by zastosowanie stymulacji endogennego *NO* w nerce i określenie w jaki sposób wpływa to na hemodynamikę tego narządu.

Uznaliśmy, że odpowiednim sposobem do realizacji tego celu może być zastosowanie acetylocholino (*Ach*) (**Publikacja II<sup>2</sup>**), klasycznego farmakologicznego stymulatora *NO* w śródbłonku, stosowanego we wczesnych badaniach wazorelaksacyjnych właściwości *EDRF* – jak wstępnie określano czynnik potem zdefiniowany jako tlenek azotu. Receptory *Ach* zlokalizowano zarówno w śródbłonku naczyń nerkowych jak i prawdopodobnie w mięśniówce naczyń oraz perycytach naczyń prostych (*vasa recta*). Wydawało się więc prawdopodobne, że *Ach* mogłaby działać naczyniorozszerzająco w nerce poprzez stymulację endotelialnej syntazy *NO*. Drugą pracę cyklu habilitacyjnego poświęciliśmy próbie ostatecznego wyjaśnienia czy acetylocholina rzeczywiście wpływa na przepływ nerkowy poprzez stymulację *NO* i czy możliwe jest też jej działanie selektywne na rdzeń nerkowy, przy podaniu od strony śródmiąższu.

---

<sup>2</sup> B. Badzyńska, J. Sadowski. Renal hemodynamic responses to intrarenal infusion of acetylcholine: comparison with effects of PGE<sub>2</sub> nad *NO* donor. *Kidney Int.* 2006. IF=4.921



Infuzja acetylocholinę do tętnicy nerkowej nie zmieniła ciśnienia tętniczego krwi, natomiast spowodowała istotny wzrost przepływu całkowitego krwi przez nerkę a także istotny wzrost przepływu krwi przez korę, rdzeń zewnętrzny i wewnętrzny (sondy typu laser-Doppler). Aby przekonać się, czy taki efekt został osiągnięty poprzez stymulację przez Ach uwalniania *NO* doświadczenia powtórzono u zwierząt z zablokowaną syntezą tlenu azotu za pomocą *L-NAME*.

Wyniki jednoznacznie wykazały, że *L-NAME* w bardzo znacznym stopniu blokuje naczyniorozszerzające działanie acetylocholinę podawanej do tętnicy nerkowej. Potwierdziło to przypuszczenie, że Ach podawana od strony światła naczynia stymuluje syntezę i uwalnianie *NO*, który rozszerza naczynia nerkowe zwiększając przepływ krwi we wszystkich warstwach nerki.

Następnym krokiem było sprawdzenie czy acetylocholina podana bezpośrednio do śródmiąższu rdzenia nerkowego spowoduje selektywny lokalny wzrost przepływu krwi. Ponieważ istniało prawdopodobieństwo, że podwyższenie poziomu acetylocholinę w tkance mogło być mało stabilne (malejące) z powodu jej szybkiego rozkładu przez tkankową cholinesterazę, dodatkowo przeprowadziliśmy doświadczenia z karbamylcholiną, stabilnym analogiem Ach.

Stwierdzono, że acetylocholina powoduje znamieny wzrost przepływu krwi we wszystkich badanych warstwach nerki także przy infuzji bezpośrednio do śródmiąższu rdzenia. Podobną odpowiedź zaobserwowano w przypadku infuzji do rdzenia karbamylcholinę, z tym, że jej działająca dawka była ponad 10-krotnie mniejsza niż w przypadku acetylocholinę, co potwierdza – jak oczekiwano - szybkie rozkładanie acetylocholinę w tkance.

Nie jest jasne dlaczego lokalna infuzja Ach lub karbamylcholinę do rdzenia powodowała podobny wzrost przepływu krwi we wszystkich warstwach nerki. Najprawdopodobniej obie substancje dyfundowały z rdzenia do kory poprzez płyn śródmiąższowy lub unoszone były w tym kierunku z krwią płynącą wstępującymi (żylnymi) naczyniami prostymi. Jednak można by oczekiwać, że stężenie podawanych substancji (i ich działanie naczyniorozszerzające) będzie najwyższe w rdzeniu – co jednak nie miało miejsca. Można podejrzewać, że podawane do śródmiąższu związki cholinowe miały lepszy dostęp do naczyniokurczących receptorów muskarynowych (np. w pericytach naczyń prostych) niż do receptorów endotelialnych pośredniczących w uwalnianiu *NO* – w rezultacie, efekt naczyniorozszerzający został istotnie osłabiony. Powyższe obserwacje wskazują, że nie ma szans zastosowania Ach do selektywnego zwiększania ukrwienia rdzenia nerki. Bardziej

obietujące były wstępne wyniki podawania do śródmiąższu rdzenia prostaglandyny  $E_2$ , substancji, której działanie rozkurczające naczynia jest niezależne od powstawania endogenego tlenu azotu.  $PGE_2$  znacznie i znamienne podwyższyły przepływ krwi przez rdzeń wewnętrzny i zewnętrzny nerki, powodując jednocześnie umiarkowane obniżenia przepływu całkowitego i korowego. Praca o Ach została opublikowana w najwyżej notowanym periodyku nefrologicznym (Kidney International) i została wyróżniona nagrodą Dyrektora IMDiK PAN w 2008 roku.

Dlatego w kolejnej pracy (**Publikacja III**<sup>3</sup>) postanowiliśmy zweryfikować i rozszerzyć wiedzę o roli  $PGE_2$  w kontroli korowego i rdzeniowego krążenia krwi w nerce. Założeniem tego projektu było sprawdzenie czy jest różnica w działaniu  $PGE_2$  na ukrwienie kory i rdzenia nerki, a także czy istotna jest droga podawania tej substancji - do światła tętnicy nerkowej lub do śródmiąższu kory lub rdzenia. Dodatkowo chcieliśmy także ustalić jaki jest wpływ blokowania syntezy prostaglandyn (w tym  $PGE_2$ ) na parametry hemodynamiczne nerki. Blokadę stosowano też przed podaniem egzogennej prostaglandyny w celu wykluczenia dodatkowego wpływu potencjalnie zmiennej aktywności endogennej  $PGE_2$ . Podanie indometacyny w celu zablokowania cyklooksygenaz prostaglandynowych ( $COX$ ) wywołało nieduży, ale istotny wzrost przepływu krwi przez korę nerki kontrastujący ze znacznym i istotnym obniżeniem ukrwienia rdzenia – zarówno zewnętrznego jak i wewnętrznego. Obserwacja ta sugerowała, że endogenne prostaglandyny mogą działać kurcząco na naczynia korowe a rozszerzająco na naczynia rdzeniowe.

Infuzja prostaglandyny do tętnicy nerkowej istotnie, ale przejściowo podwyższyła całkowity przepływ krwi przez nerkę oraz w jej poszczególnych warstwach by następnie obniżyć go nawet poniżej wartości wyjściowej. Ta dwufazowa odpowiedź a zwłaszcza druga faza – skurczu naczyń - wymagała dalszego wyjaśnienia. Wcześniejsze badania sugerowały, że prostaglandyna  $E_2$  może wywoływać skurcz naczyń poprzez stymulację uwalniania reniny i zwiększoną produkcję angiotensyny II. Aby zbadać tę możliwość, przed infuzją  $PGE_2$  podawano losartan (inhibitor receptora  $AT_1$ ), captopril (inhibitor enzymu konwertującego angiotensyny,  $ACE$ ). Blokowanie układu renina-angiotensyna (RAS) zniósł przejściowy wzrost przepływu krwi po  $PGE_2$  natomiast nie wpłynęło lub nawet pogłębiło drugą fazę działania - obniżenie perfuzji nerki, zależne niewątpliwie od skurczu naczyń wewnątrznerkowych. Wyniki te przemawiały przeciwko udziałowi RAS w tej drugiej fazie

<sup>3</sup> B. Bądzyska, J. Sadowski. Opposed effects of prostaglandin  $E_2$  on perfusion of rat renal cortex and medulla: interactions with the renin-angiotensin system. *Exper Physiol* 2009. IF=2.697

wywołanej przez dotętniczną infuzję prostaglandyny; wyjaśnienie zniesienia przez blokadę RAS pierwotnego rozkurczu naczyń wewnątrznerkowych pozostaje dla nas do dziś w sferze spekulacji.

Naczyniokurczące działanie  $PGE_2$  nie było zaskoczeniem: nowsze badania wskazują, że prostaglandyny mogą zarówno rozszerzać jak i kurczyć naczynia nerkowe. Z badań nad receptorami prostaglandynowymi wynika, że  $EP_2$  i  $EP_4$  pośredniczą w rozkurczu naczyń krwionośnych a  $EP_1$  i  $EP_3$  mediują skurcz [12]. Wszystkie te rodzaje receptorów są obecne w nerce chociaż ekspresja  $EP_2$  w nerce szczura jest niska. Postulujemy, że fazowa odpowiedź krążenia wewnątrznerkowego na  $PGE_2$  mogłaby zależeć od przejściowej, dominującej stymulacji receptorów  $EP_4$  odpowiedzialnych za rozszerzanie naczyń a następnie uaktywnienia receptorów  $EP_3$  wywołujących skurcz.

W przypadku infundowania  $PGE_2$  do śródmiąższu nerki odpowiedź krążenia wewnątrznerkowego była inna niż przy infuzji do tętnicy nerkowej. Niezależnie od miejsca podania: do kory lub rdzenia nerki - prostaglandyna istotnie obniżała przepływ korowy i podwyższała rdzeniowy. W świetle wcześniejszych badań nad receptorami prostaglandyn naczyniokurczące  $EP_3$  jak i naczyniorozszerzające  $EP_4$  są obecne zarówno w tętniczkach kłębuszkowych jak i międzypłatowych [13]. Nasze obecne badania pośrednio wskazują, że kontrolę nad krążeniem korowym przejmują naczyniokurczące receptory  $EP$ , najprawdopodobniej  $EP_3$ , natomiast w krążeniu rdzeniowym istotną rolę odgrywają receptory naczyniorozszerzające, zwłaszcza  $EP_4$ . W celu dokładniejszego wyjaśnienia zaangażowania naczyniokurczących receptorów  $EP_3$  przeprowadziliśmy doświadczenia w których  $PGE_2$  zastąpiono jej stabilnym analogiem misoprostolem, którego powinowactwo do receptorów  $EP_1$  i  $EP_4$  jest dużo niższe niż do receptorów  $EP_3$ . Ponieważ ekspresja receptorów  $EP_2$  w nerce wydaje się być znikoma, należy przyjąć, że misoprostol powinien stymulować przede wszystkim receptory  $EP_3$ . Środek ten podano zarówno do tętnicy nerkowej jak i do śródmiąższu rdzenia nerki i w obu przypadkach uzyskano wyraźne i znamienne obniżenie ukrwienia kory i rdzenia nerki.

Podsumowując,  $PGE_2$  wywoływała w naszych badaniach trwałe skurcz naczyń i obniżenie ukrwienia w korze nerki oraz wyraźny wzrost ukrwienia rdzenia. Dwufazowość reakcji naczyń wewnątrznerkowych na  $PGE_2$  oraz ewidentne obniżenie przepływu krwi przez korę nerki to powody, dla których ta substancja parakrylna nie najlepiej nadawała się do wywoływania doświadczalnego selektywnego przekrwienia rdzenia nerki.

Znaczenie układu kininowego a szczególnie bradykininy (Bk) dla krążenia, także krążenia nerkowego, było wielokrotnie przedmiotem badań [14] ale nie wyłonił się z nich

klarowny obraz roli Bk w regulacji przepływu krwi przez różne warstwy nerki: wynikało to w części z niedostatków metodycznych wczesnych badań czynnościowych na całej nerce (whole-kidney studies). Bk rozszerza naczynia oporowe poprzez stymulację receptorów  $B_2$  pośredniczących w uwalnianiu *NO*, *PGE<sub>2</sub>* i być może śródbłonkowego czynnika hiperpolaryzującego (*EDHIF*), często utożsamianego z naczyniorozszerzającymi kwasami epoksykizatrienowymi (*EET*), produktami zależnej od cytochromu *P-450* (*CYP450*) epoksygenazy (metabolizm kwasu arachidonowego).

Substratami do endogennego wytwarzania Bk są: kininogen tkankowy (niskocząsteczkowy) oraz osoczowy (wysokocząsteczkowy), z których w następstwie działania kallikreiny tkankowej i osoczowej powstaje ostatecznie bradykinina [15, 16]. Biorąc pod uwagę różne miejsca powstawania Bk – w osoczu krwi krążącej (hormon) lub w tkankach (substancja parakrylna), postanowiliśmy porównać jej wpływ na perfuzję różnych warstw nerki w zależności od drogi podawania: do światła tętnicy nerkowej lub do śródmiaższu kory i rdzenia (**Publikacja IV<sup>4</sup>**). Zastosowane dawki, zarówno te podawane dotętniczo jak i do tkanki, nie powodowały zmian ciśnienia tętniczego.

Postanowiliśmy również podjąć próbę zweryfikowania wiedzy na temat czynników pośredniczących w działaniu bradykininy. W tym celu, w dodatkowych, osobnych seriach badawczych infuzja Bk poprzedzana była podaniem *L-NAME* (blokada syntezy *NO*), 1-aminobenzotriazolu (*ABT*), w celu zablokowania *CYP450*, bądź clotrimazolu, blokera epoksygenazy zależnej od *CYP450* i kanałów potasowych zależnych od wapnia ( $K_{Ca}^{2+}$ ). Produktem epoksygenazy są *EETs*, rozszerzające naczynia poprzez hiperpolaryzację i relaksację komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych wtórnie do stymulacji kanałów  $K_{Ca}^{2+}$ .

Nasze wyniki wskazują, że infuzja bradykininy do tętnicy nerkowej poprawiała ukrwienie całej nerki (RBF) oraz warstwy zewnętrznej rdzenia (OMBF) tylko przejściowo, natomiast wzrost przepływu przez rdzeń wewnętrzny (IMBF) był trwały. Podobnie zachowywały się przepływy w przypadku zahamowania syntezy *NO* przed podaniem Bk, z tym, że wzrost przepływu przez rdzeń wewnętrzny był też jedynie przejściowy. Infuzja bradykininy do śródmiaższu kory lub rdzenia nerki nie zmieniła przepływu całkowitego i korowego, w przeciwieństwie do przepływów rdzeniowych, zwłaszcza w rdzeniu wewnętrznym, gdzie zaobserwowaliśmy dość duży i istotny wzrost ukrwienia.

<sup>4</sup> Bądryńska B, Sadowski J. Differential action of bradykinin on intrarenal regional perfusion in the rat: waning effects in the cortex and major impact in the medulla. *J Physiol* 2009. IF=4.658

*L-NAME* nie zniósł wzrostu przepływu w rdzeniu po Bk, jedynie go ograniczył (wzrost mniejszy i przejściowy). Sugeruje to, że w odpowiedzi na Bk pośredniczył nie tylko tlenek azotu, ale też i inne czynniki wazoaktywne, np. *EDHF*. Podanie *ABT* nie zniósł wzrostu przepływu rdzeniowego wywołanego przez Bk, natomiast clotrimazol, inhibitor epoksygenazy zależnej od *CYP450* i bloker kanałów  $K_{Ca}^{2+}$  całkowicie zapobiegł wzrostowi przepływu krwi przez rdzeń zewnętrzny i znacznie zmniejszył (do nieistotnego) wzrost IMBF po podaniu bradykininy.

Podsumowując, egzogenna bradykinina podawana do nerki od strony światła naczyń wewnątrznerkowych i od strony śródmiaższu kory lub rdzenia nie podwyższała całkowitego przepływu krwi przez nerkę lub ukrwienia kory, co sugeruje, że jej rola w kontroli perfuzji obszaru korowego jest znikoma albo żadna. Natomiast bardzo interesującą obserwacją było, że - nie zmieniając ciśnienia tętniczego oraz całkowitego i korowego ukrwienia nerki - bradykinina bardzo znacznie zwiększa przepływ krwi przez rdzeń nerki, zwłaszcza przez jego strefę wewnętrzną. Działanie to zachodzi prawdopodobnie za pośrednictwem tlenku azotu lub/i poprzez pobudzenie kanałów potasowych zależnych od jonów wapnia. Niezależnie od ostatecznego udziału każdego z tych mechanizmów pośredniczących, jest wysoce prawdopodobne, że bradykinina jest ważnym regulatorem ukrwienia rdzenia. Praca o Bk została opublikowana w najwyższej notowanym periodyku fizjologicznym (*Journal of Physiology*, London) i została wyróżniona nagrodą Dyrektora IMDiK PAN w 2010 roku.

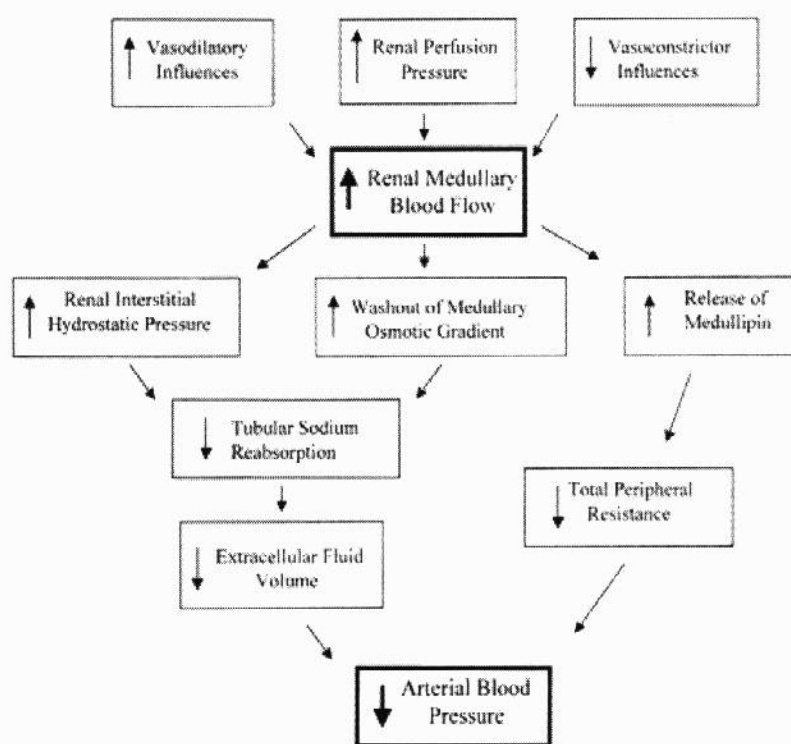
Biorąc pod uwagę sugestie wielu badaczy, że rdzeń nerki, jego funkcja a szczególnie stan jego ukrwienia, mogą odgrywać istotną rolę w długoterminowej a być może i szybkiej regulacji ciśnienia tętniczego i protekcji organizmu przed jego podwyższeniem [4, 6, por. też Ryc. 1], wyniki naszych badań wskazujące, że wysoce selektywny i znaczny wzrost ukrwienia można uzyskać za pomocą bradykininy, zachęcały do sprawdzenia czy tak uzyskany wzrost nie spowoduje obniżenia krwi u szczurów z nadciśnieniem.

Zadanie to podjęto w kolejnym projekcie doświadczalnym. Postanowiliśmy zatem sprawdzić, czy u szczurów z różnymi formami nadciśnienia uda nam się uzyskać efekt hipotensyjny w następstwie podwyższania przepływu krwi przez rdzeń nerki zależnego od infuzji bradykininy. (**Publikacja V<sup>5</sup>**). Pierwszym zastosowanym modelem było umiarkowane nadciśnienie „ostre” uzyskiwane za pomocą infuzji dożylniej noradrenaliny lub angiotensyny. U zwierząt ze średnim ciśnieniem tętniczym ok. 140 mmHg Bk podawana dordzeniowo

<sup>5</sup> Bądryńska B, Sadowski J. Experimental selective elevation of renal medullary blood flow in hypertensive rat: evidence against short-term hypotensive effect. *Acta Physiol* 2012. IF=3.09



znacznie podwyższała przepływ krwi przez rdzeń powodując tylko znikome podwyższenie RBF i CBF; jednocześnie obserwowaliśmy znamienne ale niewielkie (ok. 2,5%) obniżenie średniego ciśnienia tętniczego krwi. Kluczowe znaczenie miała jednak obserwacja, że w analizie statystycznej nie wykazano korelacji między indywidualnymi wzrostami przepływu rdzeniowego i obniżeniami ciśnienia.



Mattson, D. L. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 284: R13-R272003;

Rysunek 1. Hipotetyczny schemat zależności ciśnienia tętniczego krwi (utożsamionego tutaj z ciśnieniem perfuzyjnym nerek) od zmian ukrwienia rdzenia nerki

W drugim etapie (nadciśnienie „przewlekłe”) posłużono się szczurami z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem (SHR, dwie grupy) oraz szczurami Sprague-Dawley u których umiarkowane nadciśnienie uzyskiwano stosując dietę wysokosodową i przewlekłą infuzję angiotensyny II - w różnych kombinacjach (trzy grupy doświadczalne). We wszystkich tych grupach po podaniu Bk uzyskaliśmy selektywny i bardzo znaczny wzrost przepływu rdzeniowego bez istotnych zmian ukrwienia całej nerki czy kory. Kluczowa obserwacja miała charakter negatywny: w żadnej z grup nie zaobserwowano aby doświadczalne zwiększenie ukrwienia rdzenia wiązało się z obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi.

Reasumując, nie uzyskano danych wskazujących, że wzrost przepływu krwi przez rdzeń nerki może prowadzić do obniżenia ciśnienia krwi – ani u szczurów normotensyjnych (wyniki publikacji IV) ani – w omawianej pracy - u szczurów z różnymi formami nadciśnienia. Badania te poważnie podważają koncepcję, że podwyższenie ukrwienia rdzenia może w krótkim czasie (w ciągu minut czy godziny) doprowadzić do obniżenia ciśnienia [5, 17, 18]. Według sformułowania jednego z recenzentów publikacji V nasze dane to „... ostatni gwóźdź do trumny ... (the last nail to the coffin)” tej koncepcji. Jest to być może ocena zbyt kategoryczna: kontynuowane są badania nad rolą medullipiny, substancji naczyniorozszerzającej uwalnianej przez rdzeń nerki (być może w odpowiedzi na jego przekrwienie, patrz też schemat na Ryc. 1) [17, 18]. Bardzo cenne były by badania z podwyższaniem ukrwienia rdzenia w inny sposób – bez użycia bradykininy – ale obecnie trudno sobie taki sposób wyobrazić. Jest rzeczą oczywistą, że badania nasze nie podważają roli rdzenia nerki w długoterminowej kontroli ciśnienia krwi, koncepcji, w której kluczowe znaczenie miałoby zjawisko „natriurezy nadciśnieniowej” (pressure natriuresis) [4, 6, 21].

### Podsumowanie i Wnioski

1. Wcześniejsze badania własne wykazały, że ukrwienie rdzenia nerki chronione jest przed naczyniokurczącym działaniem egzogennej angiotensyny II. Podejrzenie, że protekcja ta zależała od lokalnego uwolnienia czynnika naczyniorozszerzającego była inspiracją do szeroko zakrojonych badań nad wpływem takich czynników na krążenie wewnątrznerkowe.
2. Wpływ na krążenie nerkowe wazorelaksantów: tlenu azotu, acetylocholin, prostaglandyny  $E_2$  oraz bradykininy był bardzo zróżnicowany i zależał w znacznym stopniu od drogi podawania - do tętnicy nerkowej lub bezpośrednio do tkanki kory lub rdzenia nerki. Najczęściej reakcja naczyniowa w korze i w rdzeniu różniła się co do jej nasilenia i czasu trwania a niekiedy także co do kierunku zmian.
3. Tlenek azotu nie był najprawdopodobniej zaangażowany w protekcję rdzenia nerki przed naczyniokurczącym działaniem angiotensyny II natomiast stymulacja wewnątrznerkowego uwalniania *NO* za pomocą acetylocholin zwiększała ukrwienie wszystkich warstw nerki. Podawana dotętniczo  $PGE_2$  (główna prostaglandyna w nerce szczura) podwyższała ukrwienie nerki w sposób przejściowy natomiast infuzja do rdzenia trwale zwiększała jego ukrwienie. Różnice te zależały najprawdopodobniej od zmieniającej się dominacji różnych receptorów  $PGE_2$ , mediujących skurcz lub rozkurcz naczyń.

4. Bradykinina bardzo wydatnie zwiększała ukrwienie rdzenia nerki niezależnie od drogi podawania; wpływ na krążenie korowe był niewielki i przejściowy. Wielu autorów postuluje rolę zmian ukrwienia rdzenia w regulacji ciśnienia tętniczego krwi. W związku z możliwością selektywnego zwiększania perfuzji rdzenia za pomocą bradykininy sprawdzono potencjalny hipotensyjny wpływ takiej manipulacji u szczurów normotensyjnych oraz w różnych formach nadciśnienia. Wyniki były jednoznacznie negatywne i prawdopodobnie spowodują zarzucenie hipotezy, że hiperperfuzja rdzenia może w krótkim czasie obniżyć ciśnienie krwi.

### **Bibliografia**

1. Navar LG, Kobori H, Prieto MC, Gonzales-Villalobos RAG. 2011. *Hypertension* 57, 355-362.
2. Sadowski J, Bądryńska B. Specific features and roles of renal circulation: angiotensin II revisited. Review. *J Physiol Physiol Pharmacol*. 2006, 57 Suppl 11: 169-178.
3. Heyman SN, Rosen S, Brezis M. 1997. The renal medulla: Life at the edge of anoxia. *Blood Purif* 15, 232-242.
4. Cowley AW Jr, 1992. Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol Rev*. 72, 231-300.
5. Cowley AW Jr. 1997. Role of the renal medulla in volume and arterial pressure regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 273, R1-R15.
6. Mattson DL, 2003. Importance of the renal medullary circulation in the control of sodium excretion and blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284, R13-R27.
7. Grzelec-Mojzesowicz M, Sadowski J. 2007. Renal tissue NO and intrarenal haemodynamics during experimental variations of NO content in anaesthetised rats. *J Physiol and Pharmacol*. 58, 149-163.
8. Badzyska B, Grzelec-Mojzesowicz M, Dobrowolski L, Sadowski J. Differential effect of angiotensin II on blood circulation in the renal medulla and cortex of anaesthetised rats. *J Physiol*. 2002, 538:159-66.
9. Badzyska B, Grzelec-Mojzesowicz M, Sadowski J. Prostaglandins but not nitric oxide protect renal medullary perfusion in anaesthetised rats receiving angiotensin II. *J Physiol*. 2003, 548: 875-80.
10. Evans RG, Head GA, Eppel GA, Burke SL, Rajapakse NW. 2010. Angiotensin II and neurohumoral control of the renal medullary circulation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 37,

- 58-69.
11. Schnackenberg CG. 2002. Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *Am J Physiol* 282, R 335-R342.
  12. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. 1999. Prostanoids receptors: structures, properties, and function. *Physiol Rev* 79, 1193-1226.
  13. van Rodijnen WF, Korstjens IJ, Legerstee N, ter Wee PM, Tangelder GJ. 2007. Direct vasoconstrictor effect of prostaglandin E2 on renal interlobular arteries: role of the EP3 receptor. *Am J Physiol Renal Physiol* 292, F1094-F1101.
  14. Roman RJ, Kajdunski ML, Scicli AG, Carretero OA. 1988. Influence of kinins and angiotensin II on the regulation of papillary blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol* 255, F690-F698.
  15. Vio CP, Loyola S, Velarde V. 1992. Localization of components of the kallikrein-kinin system in the kidney: relation to renal function. *Hypertension* 19, 1110-1116.
  16. Clements JA. 2000. Tissue kallikrein-kinin system. In *Handbook of Physiology*, section 7, chap. 9. The Endocrine System, vol. III. Endocrine Regulation of Water and Electrolyte Balance, ed. Fray JCS & Goodman HM, pp. 333-376. Oxford University Press, N. York, Oxford.
  17. Muirhead EE. 1990. Medullipin system of blood pressure control. *News Physiol Sci* 5, 241-344.
  18. Zou AP, Muirhead EE, Cowley AW Jr, Mattson D, Falck JR, Jiang J, Roman RJ. 1995. Role of changes in renal hemodynamics and P450 metabolites of arachidonic acid in the reversal of 1K, 1C hypertension. *J Hypertens* 13, 557-566.
  19. Glodny B, Pauli GF, 2006. The vasodepressor function of the kidney: prostaglandin E2 is not the principal vasodepressor lipid of the renal medulla. *Acta Physiol.* 29, 533-544.
  20. Folkow B, 2007. Incretory renal functions – Tigerstedt, renin and its neglected antagonist medullipin. *Acta Physiol* 190, 99-102.
  21. Guyton AC, 1961. Physiologic regulation of arterial pressure. *Am J Cardiol* 8, 401-707.
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (~~artystycznych~~).

Studia na Wydziale Biologii, w Zakładzie Fizjologii Zwierząt Kręgowych Instytutu Zoologii UW ukończyłam w 1985 roku obroną pracy magisterskiej pt. „Sezonowe zmiany poziomu kortyzolu i lizozymu w surowicy i neutrofilii w krwi kłaczy żrebnych i jałowych rasy angielskiej” pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza Gilla. W tym samym roku podjęłam pracę naukową na stanowisku asystenta a następnie starszego asystenta w zespole badawczym

Zakładu Fizjologii Stosowanej Instytutu-Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie (obecnie IMDiK im. M. Mossakowskiego PAN), w pracowni kierowanej przez prof. dr hab. Janusza Sadowskiego. W 1989 roku uzyskałam stopień doktora nauk przyrodniczych nadany przez Radę Naukową ICMDiK PAN. Tematem mojej rozprawy doktorskiej był „Mechanizm działania przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ANP) na wydalanie sodu i wody przez nerkę szczura”(promotor Prof. dr hab. Janusz Sadowski). W 1996 roku nasz zespół przekształcił się w samodzielną jednostkę naukową – Pracownię (później Zakład) Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych. W 2001 roku objęłam w tej Pracowni stanowisko adiunkta.

### **Główne osiągnięcia badawcze**

1. Dzięki opracowanej przez prof. Sadowskiego metodzie ciągłego pomiaru admitancji elektrycznej tkanki (odwrotność impedancji), która jest wprost proporcjonalna do stężenia nagromadzonych w jej płynie śródmiąższowym elektrolitów mogliśmy badać *in vivo* wpływ różnych czynników na kształtowanie się korowo-rdzeniowego gradientu elektrolitów oraz, pośrednio, na transport NaCl w pętli Henlego. Tego problemu dotyczyły moje pierwsze publikacje oraz rozprawa doktorska, w której potwierdziłam bardzo silne działanie natriuretyczne ANP, porównywalne do efektów natriuretycznych tzw. diuretyków pętlowych. Jednocześnie wyniki pomiarów admitancji elektrycznej tkanki przemawiały przeciwko lokalizacji działania tego peptydu w pętli Henlego. Wykazałam również na podstawie bezpośredniego, ciągłego pomiaru całkowitego przepływu krwi przez nerkę (pomiar wypływu krwi żyłnej z nerki), że ANP zwiększa istotnie jej perfuzję (tytuły z wykazu publikacji: 1, 2, 3).

2. Wprowadzenie do naszej Pracowni techniki pomiarów laserowo-Dopplerowskich umożliwiło ciągłą obserwację zmian ukrwienia nerki w różnych jej obszarach nie powodując jednocześnie istotnych uszkodzeń tkanki. Możliwość jednoczesnego i ciągłego śledzenia dynamiki zmian stężenia jonów i ukrwienia nerki pod wpływem różnych czynników wewnątrznerkowych i pozanerkowych zaowocowała kilkoma pracami. Wyniki tych publikacji wykazały pewną stabilizującą rolę zmian krążenia rdzeniowego nerki w odniesieniu do jej korowo-rdzeniowego gradientu osmotycznego. W warunkach zmniejszonej dostawy substancji osmotycznie czynnych do śródmiąższu rdzenia obniżenie przepływu krwi przez *vasa recta* i ograniczenie wypłukiwania (wash-out) jonów może być istotnym czynnikiem zapobiegającym drastycznemu obniżeniu hipertonii rdzenia. Wykazano również, że spadek hipertonii rdzenia prowadzi do obniżenia aktywności



naczyniorozszerzających prostaglandyn co zmniejsza lokalne ukrwienie. Udowodniono tym samym, że zmiany w transporcie kanalikowym powodujące wahania stężenia substancji osmotycznych w rdzeniu nerki wpływają wtórnie na krążenie krwi w tym obszarze (5, 6, 7, 8).

3. Przedmiotem moich zainteresowań naukowych stały się też badania nad wpływem różnych czynników naczynioaktywnych na czynność nerki a w szczególności na przepływ krwi przez jej poszczególne warstwy - także w warunkach niezmiennego ciśnienia tętniczego krwi. Doświadczenia dotyczące działania angiotensyny II na krążenie nerkowe wykazały, że jej dożylna infuzja wywołuje znaczne obniżenie się przepływu krwi jedynie w korze, natomiast w rdzeniu przepływ krwi nie zmieniał się a czasami obserwowaliśmy jego umiarkowany wzrost. Ponieważ naczynia doprowadzające krew do rdzenia wykazują obecność receptorów  $AT_1$  dla angiotensyny II, takie spostrzeżenia sugerowały, że w rdzeniu uwalniane są substancje chroniące ten obszar przed jej działaniem naczyniokurczącym. Nasze dalsze doświadczenia wykazały iż wcześniejsze zablokowanie syntezy *NO* za pomocą *L-NAME* nie zmieniało odpowiedzi krążenia rdzeniowego na Ang II a kolejne badania w tym kierunku doprowadziły do wniosku, iż czynnikiem chroniącym krążenie rdzeniowe może być prostaglandyna  $E_2$  a nie, jak postulują inni badacze, tlenek azotu (9, 10).

4. Kolejna seria rozległych badań, dotyczących wpływu różnych czynników naczyniorozszerzających na krążenie nerkowe i możliwej roli zmian ukrwienia rdzenia w regulacji ciśnienia tętniczego u szczura, została opisana i opublikowana w pięciu pracach zebranych w cykl habilitacyjny (11, 13, 15, 16, 18).

5. Moje obecne zainteresowania skupiły się na nowych aspektach działania bifaliny (opiodowego analogu enkefaliny), zsyntetyzowanej przez profesora Andrzeja W. Lipkowskiego z IMDiK PAN. Peptyd ten niemal nie wykazuje działania uzależniającego natomiast jest wielokrotnie bardziej aktywny (działa w niższych dawkach) w porównaniu z morfiną. Nasze wstępne doświadczenia wskazują, że u narkotyzowanych szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem (SHR) bifalina obniża ciśnienie tętnicze; nie obserwowano tego u normotensyjnych szczurów kontrolnych. Dalsze badania nad tym opiodem będę prowadziła w ramach przyznanego nam przez Narodowe Centrum Nauki grantu „Rola receptorów opiodowych w doświadczalnym nadciśnieniu tętniczym. Zbadanie hipotensyjnego działania bifaliny (opiod nie powodujący uzależnienia) u szczurów z różnymi formami nadciśnienia – porównanie z działaniem morfiny”.

Bożena Bzdryńska