

# Flow-induced arterial remodeling : role of angiotensin II and bradykinin

## Citation for published version (APA):

Hilgers, R. H. P. (2004). *Flow-induced arterial remodeling : role of angiotensin II and bradykinin*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20040625rh>

## Document status and date:

Published: 01/01/2004

## DOI:

[10.26481/dis.20040625rh](https://doi.org/10.26481/dis.20040625rh)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

Blood vessels have the adaptive mechanism to respond to, and normalize changes in hemodynamic stimuli such as pressure and flow. Situations of disturbed hemodynamic stresses occur *in vivo* for instance during pathological disorders such as hypertension and atherosclerosis, but also during physiological processes such as exercise and pregnancy. Endothelial cells are directly in contact with the dragging blood flow and are therefore particularly sensitive to changes in shear stress (flow). In the first chapter we described the acute (flow-induced dilatation) and chronic arterial responses (remodeling) to flow in particular. We focused on the renin-angiotensin system and the kallikrein-kinin system, since the main objective of the present thesis was to determine the role of angiotensin II and bradykinin, two important mediators of both systems, in acute and chronic arterial responses to altered blood flow.

Tissue kallikrein-deficient mice (TK<sup>-/-</sup>) were studied to analyze the effect of an absence of membrane-bound tissue kallikrein (and hence reduced bradykinin synthesis) on acute vasomotor responses and chronic structural responses to flow in both large conduit arteries (carotid arteries) and small peripheral arteries (uterine arteries). In chapter 2 we studied acute flow-induced dilatation in large conduit arteries such as the carotid artery. We confirmed previous observations that flow-induced dilatation was significantly blunted in carotid arteries of TK<sup>-/-</sup> mice, demonstrating the key role of TK in acute flow-induced dilatation, by releasing endogenous kinins that act on endothelial bradykinin B<sub>2</sub> receptors. Furthermore, we demonstrated that this response required functional angiotensin type 2 receptors.

The role of the vascular kallikrein-kinin system during arterial remodeling in response to chronic changes in blood flow was analyzed by using a surgical model. In chapter 3 unilateral left carotid artery ligation was performed in both wild-type and TK<sup>-/-</sup> mice, which resulted in a complete cessation in blood flow in the ligated left carotid artery and a doubling of blood flow in the contralateral right carotid artery. The vascular kallikrein-kinin system seems to protect against excessive inward remodeling, but was not involved in medial wall mass changes in response to chronic cessations in blood flow.

The participation of the kallikrein-kinin system in acute flow-induced dilatation was also analyzed in small resistance-sized arteries. Similarly to responses in the carotid artery, flow-induced dilatation was blunted in uterine arteries of TK<sup>-/-</sup> mice (chapter 4). Pregnancy, characterized by a drastic rise in uterine blood flow, resulted in an enhanced release of nitric oxide in response to shear stress by uterine arteries of both wild-type and TK<sup>-/-</sup> mice. The difference in the maximal vasodilator response to shear stress persisted between wild-type and TK<sup>-/-</sup> mice. Despite this reduced vasodilator response to shear stress in TK<sup>-/-</sup> mice, pregnancy-induced uterine artery outward hypertrophic remodeling in response to the uterine blood flow increase, was not compromised. Immediately after birth uterine blood flow returns to normal flow values, representing a physiological model of reduced blood flow. We observed that flow-induced dilatation was markedly reduced in uterine arteries of 7-days postpartum mice, and the arterial structure regressed toward pre-pregnant structure, demonstrating the dynamic nature of the uterine vascular bed during and after pregnancy.

Tissue angiotensin-converting enzyme-deficient mice (t-ACE<sup>-/-</sup>) were studied to analyze the effect of an absence of membrane-bound tissue ACE (and hence reduced angiotensin II synthesis, but enhanced endogenous bradykinin levels) on acute vasomotor responses and chronic structural responses to flow in both carotid and uterine arteries. In chapter 5 we investigated the role of endogenous bradykinin in chronic modulation of endothelium-dependent vascular reactivity that occurs during and after pregnancy. We showed that bradykinin can be released by both chemical (acetylcholine) and mechanical (shear stress) stimulation of uterine arteries of wild-type and t-ACE<sup>-/-</sup> mice. The contribution of bradykinin in these vasodilator responses was higher in uterine arteries of t-ACE<sup>-/-</sup> mice, since blockade of B<sub>2</sub> receptors inhibited the response to acetylcholine and shear stress to a greater extent in t-ACE<sup>-/-</sup> mice. During pregnancy the contribution of nitric oxide to the shear stress-induced vasodilatation was more substantial in uterine arteries of wild-type mice compared to t-ACE<sup>-/-</sup> mice, whereas the contribution of bradykinin was more pronounced in late pregnant t-ACE<sup>-/-</sup> mice, demonstrating the modulatory role of endothelium-derived vasoactive factors like bradykinin during flow-induced dilatation of uterine arteries in situations of chronically altered uterine blood flow.

Tissue ACE deficiency resulted in a reduced arterial elasticity (chapter 6). This reduced elasticity originated from B<sub>2</sub> receptor stimulation, since chronic (14 days) blockade of these receptors restored the arterial elasticity in t-ACE<sup>-/-</sup> mice. These data demonstrate the close relationship between the renin-angiotensin system and the kallikrein-kinin system and their contribution to the maturation of the cardiovascular system.

In chapter 7 we tested whether tissue ACE is involved in arterial remodeling by applying the unilateral carotid artery ligation method and studying uterine arteries before, during and after pregnancy in wild-type and t-ACE<sup>-/-</sup> mice. In the ligated carotid artery of t-ACE<sup>-/-</sup> mice, the observed medial hyperplasia, inward remodeling and arterial distensibility were reduced compared to the wild-type counterpart. Thus, tissue ACE plays a major role in suppressing the hyperplastic inward remodeling of the carotid artery imposed by blood flow cessation. Comparing the results of chapter 3 and 7, it seems that angiotensin II is responsible for the vascular smooth muscle cell hyperplasia, whereas bradykinin prevents luminal shrinkage in response to drastic decreases in large artery blood flow. Like tissue kallikrein, tissue ACE is not essential for the outward hypertrophic and subsequent inward hypotrophic remodeling of the uterine artery during and after pregnancy.

In chapter 8 the effects of postponed murine pregnancy on acute and chronic uterine artery responses were investigated. Our findings suggest that at middle age the effects of shear stress on endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and subsequent nitric oxide release are lost. Upregulation by other endothelium-derived factors like prostacyclin or endothelium-derived hyperpolarizing factor compensate during acute flow-induced dilatation, but can not sustain chronic pregnancy-induced arterial remodeling. This might explain the reduced number of viable fetuses in the third trimester of postponed murine pregnancy.

From the results obtained in this thesis it is clear that blunted acute arterial responses to shear stress do not necessarily entail a defect in the remodeling response after chronic alterations in shear stress. Strengthened by our observations and others we have written in

chapter 9 a review on the supposed dissociation between acute and chronic arterial responses to shear stress.

In summary, the results described in this thesis confirm the beneficial effects of bradykinin as is increasingly suggested by experimental and clinical drug-intervention studies. Furthermore, acute flow-induced vasodilatation and structural flow-induced arterial remodeling involve alternative mechanisms, which opens new possibilities for the development of new targets for cardiovascular-pharmaco therapy. In addition, adaptive structural arterial adaptations to shear stress differ between large elastic and pre-existing collateral arteries, and the effect of even middle age is more marked than deficiency of cardiovascular key enzymes, such as tissue kallikrein or tissue angiotensin-converting enzyme. This raises new perspectives, such as site-directed interventions, for unraveling the effects of aging and regionality on arterial remodeling.



## Samenvatting

Bloedvaten hebben de adaptieve eigenschap om te reageren op veranderingen in hemodynamische stimuli zoals druk en stroming (kortweg flow). Processen van een verstoorde hemodynamische balans kunnen zich *in vivo* voordoen bij pathologische aandoeningen zoals hypertensie en atherosclerose, maar ook tijdens fysiologische processen zoals langdurige lichamelijke inspanning en de zwangerschap. Endotheelcellen zijn in direct contact met het stromende bloed en zijn daardoor bijzonder gevoelig voor veranderingen in afschuifspanning of flow. In hoofdstuk 1 beschrijven we de acute (flow-geïnduceerde vaatverwijding) en chronische responsen (remodelering) op flow. Hierbij hebben we ons gericht op de rol van angiotensine II en bradykinine, twee belangrijke mediators van respectievelijk het renine-angiotensine systeem en het kallikreïne-kinine systeem, bij de acute en chronische arteriële responsen op een veranderde flow.

Weefsel kallikreïne-deficiënte muizen (TK<sup>-/-</sup>) werden bestudeerd om het effect van de afwezigheid van membraan-gebonden weefsel kallikreïne (en dus een verminderde bradykinine synthese) op acute vasomotor responsen en chronische structurele responsen op flow te analyseren in zowel grote arteriën (carotide arteriën) en kleine perifere arteriën (uteriene arteriën). In hoofdstuk 2 hebben we de acute door flow-geïnduceerde vaatverwijding in de carotide arterie onderzocht. We bevestigden eerdere resultaten dat de door flow-geïnduceerde vaatverwijding significant verlaagd is in carotide arteriën van TK<sup>-/-</sup> muizen, hetgeen de cruciale rol van weefsel kallikreïne in acute door flow-geïnduceerde vaatverwijding aantoont, via de secretie van endogene kinines die aangrijpen op endotheliale bradykinine B<sub>2</sub> receptoren. Bovendien toonden we aan dat deze reactie afhankelijk is van functionele angiotensine type 2 receptoren.

Een chirurgisch model werd toegepast om de rol van het vasculaire kallikreïne-kinine systeem bij arteriële remodelering tijdens chronische flow veranderingen te bestuderen. In hoofdstuk 3 pasten we unilaterale ligatie van de linker carotide arterie toe op zowel wild-type als TK<sup>-/-</sup> muizen, hetgeen resulteerde in een complete obstructie van de flow door dit afgebonden bloedvat en een verdubbeling van de flow in de rechter carotide arterie. Het vasculaire kallikreïne-kinine systeem bleek te beschermen tegen overmatige inwaardse remodelering, maar was niet betrokken bij mediale vaatwandmassa veranderingen in respons op chronische flow cessaties.

Een bijdrage van het kallikreïne-kinine systeem in acute flow-geïnduceerde vaatverwijding werd tevens onderzocht in kleine weerstandsarteriën. In analogie met de responsen in de carotide arterie, was de door flow-geïnduceerde vaatverwijding verlaagd in uteriene arteriën van TK<sup>-/-</sup> muizen (hoofdstuk 4). De zwangerschap, die gekarakteriseerd wordt door een drastische toename in de doorbloeding van het uteriene vaatbed, resulteerde in een verhoogde productie van stikstofmonoxide door de uteriene arterie van wild-type en TK<sup>-/-</sup> muizen in reactie op een verhoogde afschuifspanning op de endotheelcellen. Het verschil in de maximale vaatverwijdende respons op deze afschuifspanning was onveranderd tussen wild-type en TK<sup>-/-</sup> muizen. Ondanks deze verminderde vaatverwijdende respons in TK<sup>-/-</sup> muizen, was de door zwangerschap-geïnduceerde uitwaardse hypertrofe remodelering van de uteriene arterie ten gevolge van de verhoogde doorbloeding van het uteriene vaatbed identiek aan die van wild-type muizen. Kort na de geboorte daalt de doorbloeding van het uteriene vaatbed tot normale

waarden, hetgeen een fysiologisch model voor een verminderde flow simuleert. We toonden aan dat de acute door flow-geïnduceerde vaatverwijding in uteriene arteriën van 7 dagen postpartum muizen drastisch is gereduceerd en dat de vaatwand dimensies van de niet-zwangere toestand terugkeerde.

Weefsel angiotensine-converting enzyme-deficiënte ( $t\text{-ACE}^{-/-}$ ) muizen werden bestudeerd om de gevolgen van het gemis van membraan-gebonden weefsel ACE (en dientengevolge een verlaagde angiotensine II synthese, maar tevens verhoogde endogene bradykinine spiegels) te bepalen op acute vasomotor responsen en chronische structurele responsen op flow in zowel carotide als uteriene arteriën. De rol van endogeen bradykinine bij de chronische modulatie van endotheel-afhankelijke vaatwand activiteit, die optreedt tijdens en na de zwangerschap, werd onderzocht in hoofdstuk 5. We lieten zien dat bradykinine kan worden vrijgemaakt door zowel chemische (acetylcholine) als mechanische (afschuifspanning) stimulatie van uteriene arteriën van wild-type en  $t\text{-ACE}^{-/-}$  muizen. De bijdrage van bradykinine in deze vaatverwijdende responsen was groter in uteriene arteriën van  $t\text{-ACE}^{-/-}$  muizen, daar farmacologische blokkade van  $B_2$  receptoren de reactie op acetylcholine en de afschuifspanning een groter effect had in  $t\text{-ACE}^{-/-}$  muizen. Tijdens de zwangerschap bleek de bijdrage van stikstofmonoxide aan de door flow-geïnduceerde vaatverwijding substantiëler in uteriene arteriën van wild-type muizen, terwijl de bijdrage van bradykinine groter was in uteriene arteriën van hoogzwangere  $t\text{-ACE}^{-/-}$  muizen. Deze bevindingen tonen de modulerende rol aan van vasoactieve factoren, zoals bradykinine, geproduceerd door de endotheelcellaag gedurende de door flow-geïnduceerde vaatverwijding van uteriene arteriën in situaties waarbij de doorbloeding van het uteriene vaatbed chronisch is verhoogd.

Weefsel ACE deficiëntie resulteerde in een verlaagde arteriële elasticiteit (hoofdstuk 6). Deze verminderde elasticiteit bleek  $B_2$  receptor stimulatie afhankelijk te zijn, daar chronische (14 dagen) blokkade van deze receptoren de arteriële elasticiteit in  $t\text{-ACE}^{-/-}$  muizen herstelde. Deze bevindingen bewijzen de interactie tussen het renine-angiotensine systeem en het kallikreïne-kinine systeem en hun bijdrage aan de maturatie van het cardiovasculaire systeem.

In hoofdstuk 7 hebben we onderzocht of weefsel ACE betrokken is bij de arteriële remodelering door de unilaterale carotide arterie ligatie methode toe te passen en uteriene arteriën te bestuderen vóór, tijdens en na de zwangerschap. In de afgebonden carotide arterie van de weefsel ACE-deficiënte muis, gladde spiercel hyperplasie, inwaardse remodelering en arteriële elasticiteit waren allen verminderd in vergelijking met de carotide arterie van de wild-type muis. Hieruit blijkt dat weefsel ACE een grote rol vervult in het onderdrukken van de hyperplastische inwaardse remodelering van de carotide arterie die blootgesteld is aan lage afschuifspanningen. Uit de bevindingen van hoofdstuk 3 en 7 blijkt dat angiotensine II verantwoordelijk is voor de gladde spiercel hyperplasie, terwijl bradykinine de inkrimping tegengaat in respons op drastische verlagingen van de doorbloeding in grote arteriën. Net als weefsel kallikreïne bleek weefsel ACE niet essentieel voor de uitwaardse hypertrofe en inwaardse hypotrofe remodelering van de uteriene arterie tijdens en na de zwangerschap.

De effecten van de uitgestelde zwangerschap van de muis op de acute en chronische uteriene arteriële responsen waren het onderwerp van hoofdstuk 8. Onze bevindingen suggereren dat op middelbare leeftijd de effecten van de afschuifspanning op de

fosforylering van het endotheliale stikstofmonoxide synthase en de onderliggende stikstofmonoxide productie verloren zijn. Verhoogde uitscheiding van vasoactieve factoren geproduceerd door het endotheel, zoals prostacycline of “endothelium-derived hyperpolarizing factor” kunnen de acute door flow-geïnduceerde vaatverwijding compenseren, maar garanderen geen optimale door zwangerschap-gerelateerde remodelering van de uterine arterie. Dit kan het verlaagde aantal levensvatbare foetussen tijdens het derde trimester van de uitgestelde zwangerschap bij de muis verklaren.

Uit de resultaten beschreven in dit proefschrift blijkt dat een verlaagde acute arteriële response op flow niet noodzakelijkerwijs een defect van de structurele remodelering inhoudt. Gesterkt door onze bevindingen en die van anderen, hebben we een overzichtsartikel geschreven dat de dissociatie tussen acute en chronische vaatwand responsen op flow nader belicht.

De resultaten in dit proefschrift bevestigen de gunstige arteriële effecten van bradykinine. Verder is gebleken dat acute door flow-geïnduceerde vaatverwijding en chronische door flow-gerelateerde remodelering niet met elkaar geassocieerd zijn en dat hun onderliggende mechanismen via andere signaaltransductie processen verlopen. Dit biedt nieuwe perspectieven voor de ontwikkeling van waardevolle “targets” voor cardiovasculair-farmacologische therapie. Bovendien verschillen adaptieve structurele arteriële veranderingen in respons op flow tussen grote elastische vaten en kleine collaterale vaten, en het effect van zelfs een middelbare leeftijd op de arteriële remodelering is uitgesprokener dan een deficiëntie van een van de cardiovasculaire sleutel enzymen, zoals weefsel kallikreïne en weefsel ACE. Dit opent nieuwe perspectieven waaronder “site-directed” interventies die leiden tot een breder inzicht van de effecten van ouderdom en regionaliteit op de arteriële remodelering.