

ÚLOHA ENDOTELOVÉHO OXIDU DUSNATÉHO V NEUROGÉNNÝCH KONTRAKCIÁCH A. CAROTIS KRÁLIKA POČAS OCHLADENIA

KYSELÁ S., TÖRÖK J.

ROLE OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE IN NEUROGENIC CONTRACTIONS OF RABBIT CAROTID ARTERY DURING COOLING

The role of endothelial nitric oxide in contractions induced by endogenous noradrenaline released by transmural nerve stimulation (TNS) and by exogenous noradrenaline (NA) was studied in isolated rings of rabbit carotid artery during cooling. At 37 °C, TNS produced frequency-dependent contractions of artery. Endothelium removal or inhibition of nitric oxide synthase by N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) significantly enhanced TNS-induced contractions. The magnitude of maximal contraction to exogenous NA was increased in L-NAME-treated intact rings. Cooling the incubation bath from 37 °C to 26 °C increased the magnitude of neurogenic contractions in intact rings. L-NAME increased further the magnitude of neurogenic contractions at 26 °C in intact, but not in denuded arterial rings. Similarly, L-NAME increased contractions induced by exogenous NA during cooling. The results suggest that the response of the carotid artery to noradrenergic stimulation is modulated by nitric oxide originating from endothelial cells at normal as well as reduced temperature. (*Tab. 1, Fig. 6, Ref. 19.*)

Key words: carotid artery, endothelium, temperature, neurogenic contractions, noradrenaline.

V izolovaných prstencoch a. carotis králiku sa študovala úloha endotelového oxidu dusnatého v kontrakciách vyvolaných endogénnym noradrenalinom uvoľneným pri transmurálnej nervovej stimulácii (TNS) a exogénnym noradrenalinom (NA) počas ochladenia. Pri 37 °C TNS kontrahovala artérie v závislosti od veľkosti frekvencie stimulácie. Odstránenie endotelu alebo inhibícia syntázy oxidu dusnatého N^G-nitro-L-arginínmetylesterom (L-NAME) významne zväčšila kontrakcie vyvolané TNS. Veľkosť maximálnej kontrakcie vyvolanej exogénnym NA sa zväčšila v intaktných artériách, v ktorých bola inhibovaná syntáza oxidu dusnatého. Ochladenie inkubačného roztoku z 37 °C na 26 °C zväčšilo veľkosť neurogénnych kontrakcií v intaktných prstencoch. Počas ochladenia L-NAME ďalej zväčšil neurogénne kontrakcie v intaktných, nie však v deendotelizovaných arteriálnych prstencoch. Podobne L-NAME zväčšil počas ochladenia v artériách s intaktným endotelom kontrakcie vyvolané exogénnym NA. Výsledky ukazujú, že odpoveď a. carotis na noradrenergickú stimuláciu je modulovaná oxidom dusnatým pochádzajúcim z endotelu tak pri normálnej, ako aj pri zníženej teplote. (*Tab. 1, obr. 6, lit. 19.*)

Kľúčové slová: a. carotis, endotel, teplota, neurogénne kontrakcie, noradrenalin.

Bratisl Lek Listy 1997; 98: 80–85

Bratisl. lek. Listy, 98, 1997, č. 2, s. 80–85

Endotel syntetizuje a do cirkulácie uvoľňuje mnohé excitačné a inhibične pôsobiace látky, z ktorých v súčasnosti najväčšiu pozornosť pútajú endotelom uvoľňovaný relaxačný faktor (EDRF) a endotelíny. Existenciu EDRF odhalili Furchgott a Zawadzki (1980), ktorí ukázali, že acetylcholinom možno vyvolať relaxáciu aorty králiku iba v prítomnosti intaktného endotelu. Jeho poškodenie alebo odstránenie vedie k inhibícii až k strate relaxácie, prípadne dochádza ku kontrakcii. Okrem acetylcholínu relaxáciu pred-

kontrahovaných artérií môžu vyvolať aj ďalšie látky, ako ATP, histamín, bradykinín (Altura a Chand, 1981; Szarek a spol., 1992; Eichinger a Walker, 1994) a za určitých okolností aj sérotonín a noradrenalin (Cocks a Angus, 1983). K uvoľňovaniu EDRF z endotelových buniek dochádza aj spontánne, v neprítomnosti vazomotorických látok. Poškodenie alebo odstránenie endotelu má za následok zväčšenie kontraktálnych odpovedí vyvolaných adrenergickými stimulmi (Carrier a White, 1985; Tesfamariam a spol., 1987). EDRF uvoľňovaný endotelovými bunkami moduluje teda nielen relaxačné, ale aj kontraktálne odpovede ciev.

EDRF je chemicky totožný s oxidom dusnatým NO (Palmer a spol., 1987) a vzniká pri premene L-arginínu na L-citrulín (Palmer a spol., 1988). NO uvoľnený z endotelu aktivuje guanylát-cyklázu, ktorá zvyšuje hladinu 3,5'-cGMP v cievnych hladkosvalových bunkách a spôsobuje relaxáciu (Rappaport a Murad, 1983).

Ústav normálnej a patologickej fyziológie Slovenskej akadémie vied v Bratislave

The Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Address for correspondence: S. Kyselá, ÚNPF SAV, Sienkiewiczova 1, 813 71 Bratislava, Slovakia.

Phone/Fax: +421.7.368 516, Internet: kysel@unpf.savba.sk.

Guanidínom substituované L-arginínové deriváty, ako N^G-mometyl-L-arginín a N^G-nitro-L-arginínmetylester, inhibujú tvorbu NO z L-arginínu v endotelových bunkách a inhibujú aj od endotelu závislú relaxáciu ciev (Rees a spol., 1990).

Úloha endotelu v reaktivite ciev počas ochladenia je preštudovaná zatiaľ relatívne málo, a pritom v kožných cievach môže vzhľadom na ich termoregulačnú funkciu mať významnú úlohu, ako je to dokumentované v predchádzajúcich prácach (Harker a spol., 1991; Monge a spol., 1991; García-Villalón a spol., 1992). Ukazuje sa, že aj v cievach iných oblastí sa počas ochladenia v endotele tvoria, resp. z neho sa uvoľňujú dilatčné látky zúčastňujúce sa na modulácii kontraktívnych odpovedí (Tesfamariam a spol., 1987; Hynes a spol., 1988).

Cieľom práce bolo zistiť, či a ako ovplyvňuje endotelom uvoľňovaný NO kontraktívne odpovede a carotis vyvolané endogénnym NA uvoľneným z nervových zakončení pri elektrickej stimulácii a exogénnym NA za normálnych teplotných podmienok (37 °C) a počas ochladenia (26 °C).

Metóda a postup

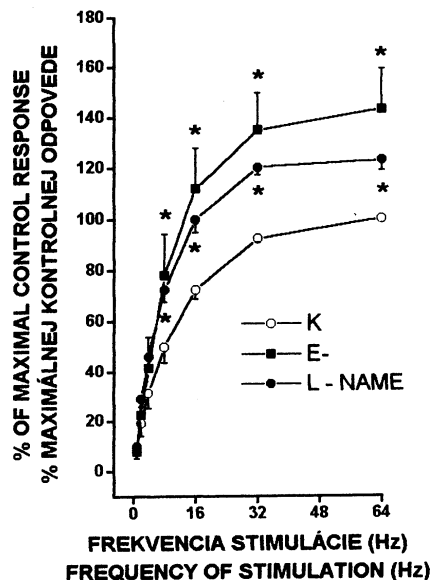
Na pokusy sme použili izolované cievne preparáty a. carotis communis kráľika (*Oryctolagus cuniculus*). Z excidovaných artérií sme pripravili 3–4 mm široké prstencové preparáty, ktoré sme inkubovali v orgánových vaničkách v Krebsovom roztoku tohto zloženia (v mmol): NaCl₂ 118; KCl 5; NaHCO₃ 25; MgSO₄·7H₂O 1,2; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 2,5; glukóza 11; CaNa₂EDTA 0,032; kyselina askorbová 1,1.

Počas celého pokusu sa roztok vo vaničkách prebublával plynou zmesou 95 % O₂ a 5 % CO₂ a podľa potreby sme ho vymieňali za čerstvý. Roztok sme v prvej časti pokusu termostatom udržiavali pri teplote 37 °C a v druhej časti pokusov sme teplotu znížili na 26 °C. Reakcie prebiehajúce za zníženej teploty sa uskutočnili po ustáľovaní čase 30–40 minút.

Z ciev sme párovo pripravili preparáty so zachovalým endotelom (E+) a endotelom odstráneným (E-). Odstraňovanie endotelu sme robili mechanicky. Na vrchol ihly sme nechali priľnúť v tenkej vrstve filtračný papier navlhčený v pracovnom Krebsovom roztoku a pretiahli sme ho cez lúmen príslušného cievneho preparátu. Jeden koniec preparátu sme fixovali na držiak a druhý sme nitou pripevnili na tenzometer Sanborn FTA 10. Zmeny tenzie sme registrovali na kompenzačnom líniovom zapisovači TZ 21S. Pri všetkých cievach sme aplikovali predpätie 20 mN potrebné na zabezpečenie optimálnej reaktivity a dobrej reprodukovateľnosti odpovedí.

Na začiatku pokusov sme urobili pri oboch typoch preparátov funkčné testy na prítomnosť alebo neprítomnosť endotelu zaznamenávaním odpovede na acetylcholin (3·10⁻⁶ mol/l) v cievach predkontrahovaných fenylefrínom (10⁻⁶ mol/l). V artériách so zachovalým endotelom acetylcholin vyvolal relaxačnú odpoveď viac ako 60 %. V artériách s odstráneným endotelom bola relaxačná odpoveď veľmi redukovaná, až odstránená.

Neurogénne kontrakcie cievnych preparátov sa vyvolávali elektrickou stimuláciou intramurálnych nervov, ktorá sa uskutočňovala pomocou stimúlátora ST-3. Stimulačný impulz sa viedol do platínových elektród, paralelne umiestnených na držiaku preparátov, rovnobežne s ich plochou. V pokusoch sa použila nervová stimulácia s pravouhlými pulzmi šírky 0,2 ms; amplitúdy 35–50



Obr. 1. Vplyv mechanickej deendothelizácie (E-) a L-NAME (10⁻⁴ mol/l) na kontraktívne odpovede prstencov a. carotis vyvolané transmuralnou nervovou stimuláciou pri teplote 37 °C. K = kontrola. Jednotlivé body sú priemerné hodnoty kontrakcií, vertikálne úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. * štatistická významnosť rozdielov (p<0,05) v porovnaní s kontrolnou odpoveďou (K).

Fig. 1. Effect of mechanical deendothelization (E-) and L-NAME (10⁻⁴ mol/l) on contractile responses induced by transmural nerve stimulation of carotid artery rings at 37 °C. K = control. Values are means, vertical bars show ±S.E.M. * statistically significant difference (p<0.05) compared with control (K) response.

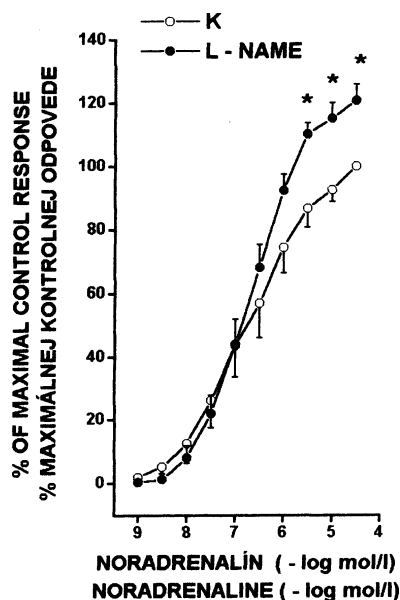
Tab. 1. Maximálne kontraktívne odpovede deendothelizovaných karotických artérií kráľika vyvolané transmuralnou nervovou stimuláciou (64 Hz) pri teplote 37 °C a 26 °C. Kontraktívne odpovede sú vyjadrené v mN·mm², n = počet zvierat.

Tab. 1. Maximal contractile responses induced by transmural nerve stimulation (64 Hz) in deendothelized rabbit carotid arteries at 37 °C and 26 °C. Contractions are expressed in mN·mm², n = number of animals.

	37 °C	26 °C
Kontrola E-	13,4±2,38	11,47±2,94
Control E-	n=4	n=5
L-NAME E-	14,49±2,66	12,42±3,43
	n=4	n=5

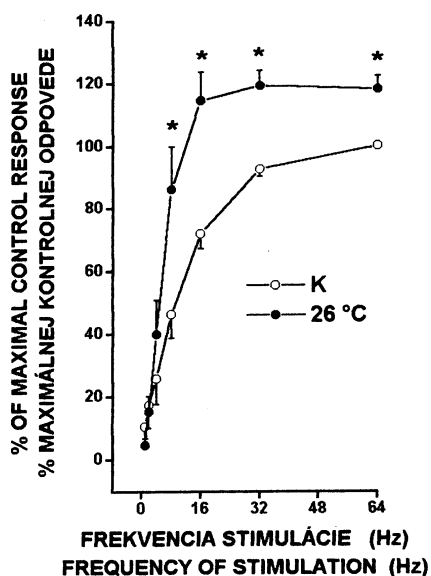
V a frekvencie 1, 2, 4, 8, 16, 32 a 64 Hz s dĺžkou trvania 20 sekúnd, s časovými odstupmi medzi jednotlivými kontrakciami 5–20 minút podľa času potrebného na dosiahnutie východiskovej tenzie. V predbežných pokusoch sa ukázalo, že tetrodotoxín (10⁻⁶ mol/l) úplne odstránil kontrakcie vyvolané elektrickou stimuláciou intramurálnych nervov, a preto tieto kontrakcie možno považovať za neurogénne.

Kontrakcie ciev vyvolané exogénnym noradrenalinom (NA) sa dosiahli aplikáciou NA pomocou injekčných striekačiek priamo do pracovného roztoku vo vaničkách.



Obr. 2. Vplyv L-NAME (10^{-4} mol/l) na kontraktilné odpovede vyvolané exogénnym noradrenalinom (10^{-9} – 3.10^{-3} mol/l) pri prstencoch a. carotis comm. so zachovalým endotelom pri teplote 37°C . K = kontrola. Jednotlivé body sú priemerné hodnoty kontrakcií, vertikálne úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. * $p < 0,05$.

Fig. 2. Effect of L-NAME (10^{-4} mol/l) on noradrenaline-induced contraction (10^{-9} – 3.10^{-3} mol/l) of carotid artery rings with endothelium at 37°C . K = control. Values are means, vertical bars show \pm S.E.M. * $p < 0.05$.



Obr. 3. Porovnanie kontraktilných odpovedí prstencov a. carotis so zachovalým endotelom vyvolaných transmuralnou nervovou stimuláciou pri teplote 37°C a počas mierneho ochladenia na 26°C . K = kontrola. Jednotlivé body sú priemerné hodnoty kontrakcií, vertikálne úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. * $p < 0,05$.

Fig. 3. Comparison of contractile responses of carotid artery rings with intact endothelium induced by transmural nerve stimulation at 37°C and during cooling 26°C . K = control. Values are means, vertical bars show \pm S.E.M. * $p < 0.05$.

Tab. 1. Maximálne oontraktilné odpovede deendotelizovaných karotických artérií kráľika vyvolané transmuralnou nervovou stimuláciou (64 Hz) pri teplote 37°C a 26°C . Kontraktilné odpovede sú vyjadrené v $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$, n = počet zvierat.

Tab. 1. Maximal contractile responses induced by transmural nerve stimulation (64 Hz) in deendotelized rabbit carotid arteries at 37°C and 26°C . Contractions are expressed in $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$, n = number of animals.

	37°C	26°C
Kontrola E-	13,4 \pm 2,38	11,47 \pm 2,94
Control E-	n=4	n=5
L-NAME E-	14,49 \pm 2,66	12,42 \pm 3,43
	n=4	n=5

V časti pokusov sa 20 minút pred vyvolaním adrenergických kontrakcií aplikoval do inkubačného roztoku N^{G} -nitro-L-argininmetylester (L-NAME), inhibítor syntázy oxidu dusnatého.

Kontraktilná odpoveď sa merala priamo z originálneho záznamu a po prepočítaní na jednotku plochy prierezu sa vyjadrovala v $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$. Pre získanie porovnateľných hodnôt sa jednotlivé kontraktilné odpovede prepočítavali na percento príslušnej maximálnej kontrolnej odpovede.

Výsledky sa štatisticky spracovali Studentovým t-testom. Za štatisticky významné sme považovali zmeny, pre ktoré boli hodnoty p menšie ako 0,05.

Použité farmakologické látky: noradrenalin (Spofa), fenylef-rín, acetylcholin, N^{G} -nitro-L-argininmetylester, tetrodotoxín (všetky Sigma). Farmaká sme riedili v destilovanej vode.

Výsledky

Kontrakcia a. carotis pri normálnej teplote 37°C

Pri teplote 37°C TNS vyvolala kontrakciu, ktorej hodnota sa zväčšovala so zväčšovaním frekvencie stimulácie. Maximálna hodnota sa dosiahla pri frekvencii stimulácie 64 Hz a bola $7,89\pm 2,04$ $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$ (n=6). V deendotelizovaných cievnych segmentoch (E-) maximum kontrakcie pri frekvencii 64 Hz dosiahlo $11,15\pm 2,20$ $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$ (n=6). Z krivky závislosti kontrakcie od frekvencie stimulácie (obr. 1) vyjadrenej v relatívnych hodnotách vyplýva, že kontrakcie deendotelizovaných ciev boli významne väčšie ako v cievach so zachovalým endotelom (K) pri hodnotách frekvencie stimulácie nad 4 Hz, t.j. 8, 16, 32 a 64 Hz. Maximálna hodnota pri 64 Hz sa zväčšila o $43,2\pm 15,9$ % (obr. 1) (n=6, $p < 0,05$).

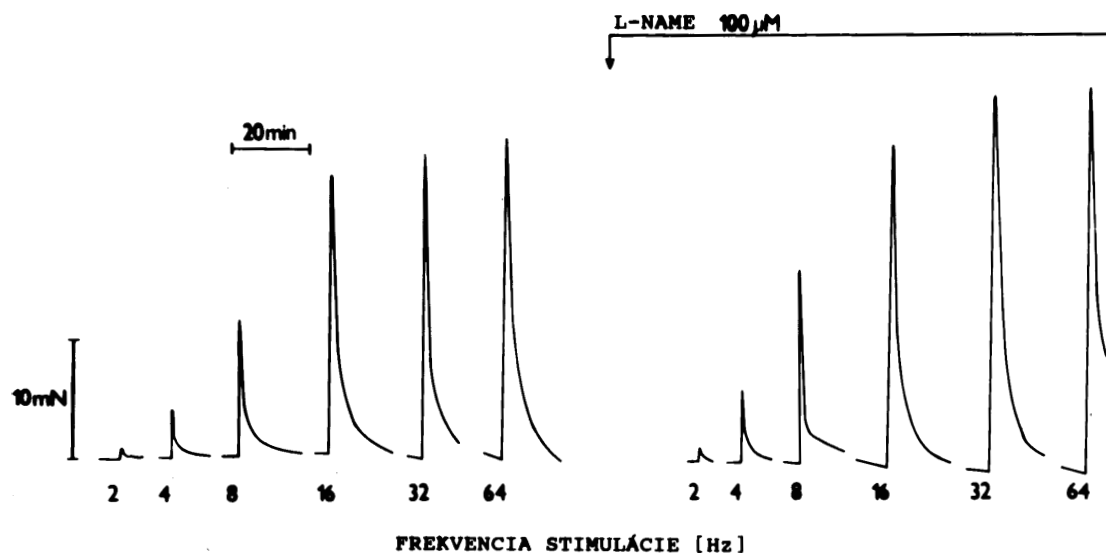
Podobne podanie L-NAME (10^{-4} mol/l) významne zväčšilo kontraktilné odpovede vyvolané TNS v cievach so zachovalým endotelom (obr. 1). Maximálna kontrakcia pri 64 Hz frekvencie stimulácie sa zväčšila o $23,3\pm 4,4$ % kontrolnej odpovede (n=7, $p < 0,05$).

Na druhej strane v cievach s odstráneným endotelom pri teplote 37°C podanie L-NAME významne nezmenilo veľkosť neurogénnych kontraktilných odpovedí (tab. 1).

L-NAME (10^{-4} mol/l) významne potencioval aj kontraktilné odpovede vyvolané aplikovaním exogénneho NA, a to pri vyšších koncentráciách (3.10^{-6} – 3.10^{-3} mol/l). Maximálna odpoveď dosiahla $120.6\pm 5,2$ % (n=4, $p < 0,05$) kontrolnej odpovede (obr. 2).

Kontrakcia a. carotis pri zníženej teplote 26°C

Zníženie teploty z 37°C na 26°C vyvolalo pokles bazálnej tenzie o 5–10 %. Ochladenie inkubačného roztoku na 26°C zá-



Obr. 4. Originálny záznam vplyvu L-NAME (10^{-4} mol/l) počas mierneho ochladenia (26°C) na kontraktívne odpovede prstencov a. carotis so zachovalým endotelom vyvolané stúpajúcimi frekvenciami stimulácie (1–64 Hz).

Fig. 4. Original record of the effect of L-NAME (10^{-4} mol/l) during cooling (26°C) on contractile responses of carotid artery rings with endothelium induced by gradual increasing frequency of stimulation (1–64 Hz).

roveň významne zväčšilo veľkosť kontraktívnych odpovedí vyvolaných TNS v cievach so zachovalým endotelom (obr. 3). Maximálna odpoveď pri 32 Hz frekvencie stimulácie dosiahla $119,0 \pm 5,1\%$ ($n=5$) kontrolnej odpovede.

Ako vidieť z originálneho záznamu (obr. 4), počas ochladenia na 26°C sa po aplikovaní L-NAME (10^{-4} mol/l) významne zväčšili kontraktívne odpovede vyvolané TNS v prstencoch so zachovalým endotelom. Priemerná maximálna hodnota pri 32 Hz bola významne väčšia ($121,0 \pm 2,8\%$, $n=5$, $p<0,05$) v porovnaní s kontrolnou odpoveďou pri zníženej teplote pred aplikáciou L-NAME (obr. 5).

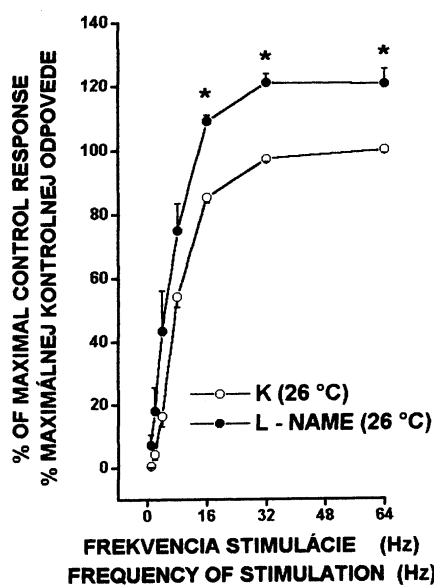
Na druhej strane v deendotelizovaných artériách inhibitor NO-syntázy L-NAME (10^{-4} mol/l) počas ochladenia na 26°C významne nezmenil veľkosť kontraktívnych odpovedí na elektrickú stimuláciu intramurálnych nervov (tab. 1). Maximálna hodnota pri stimulácii 64 Hz pri preparátoch s predradeným podaním L-NAME ($12,42 \pm 3,43$ mN.mm $^{-2}$) nebola významne väčšia od kontrolných ($11,47 \pm 2,94$ mN.mm $^{-2}$, $n=5$, $p>0,05$).

Odpovede ciev so zachovalým endotelom na exogénny NA boli v prítomnosti L-NAME (10^{-4} mol/l) počas ochladenia potencionované. Maximálna odpoveď dosiahla $127,3 \pm 6,8\%$ ($n=5$, $p<0,05$) kontrolnej odpovede (obr. 6).

Pri teplote inkubačného roztoku 37°C veľkosťou porovnateľné kontrakcie sa dosiahli pri použití exogénneho NA $3 \cdot 10^{-6}$ mol/l ($2,59 \pm 0,16$ mN.mm $^{-2}$) a TNS 32 Hz ($2,97 \pm 0,23$ mN.mm $^{-2}$). Pri zníženej teplote 26°C bola kontrakcia vyvolaná exogénnym NA ($4,24 \pm 0,25$ mN.mm $^{-2}$) o 23 % väčšia ako kontrakcia vyvolaná elektrickou stimuláciou 32 Hz ($3,44 \pm 0,14$ mN.mm $^{-2}$, $n=5$, $p<0,05$).

Diskusia

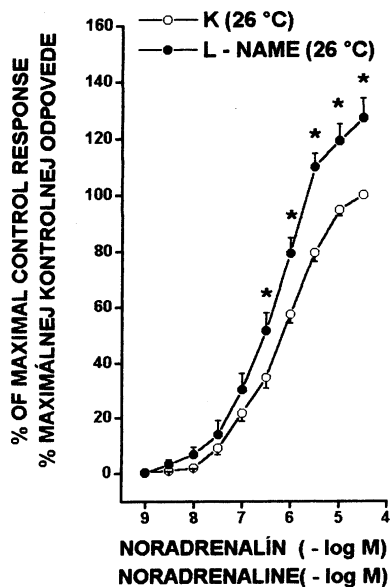
Výsledky tejto štúdie ukazujú, že mechanické odstránenie endotelu významne zväčšuje kontraktívne odpovede a. carotis vyvo-



Obr. 5. Vplyv L-NAME (10^{-4} mol/l) na kontraktívne odpovede vyvolané transmurálnou nervovou stimuláciou pri prstencoch a. carotis so zachovalým endotelom počas ochladenia na 26°C . K = kontrola. Jednotlivé body sú priemerné hodnoty kontrakcií, vertikálne úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. * $p<0,05$.

Fig. 5. Effect of L-NAME (10^{-4} mol/l) on contractile responses of carotid artery rings with endothelium induced by transmurálnou nervovou stimuláciou during cooling at 26°C . K = control. Values are means, vertical bars show \pm S.E.M. * $p<0,05$.

lané transmurálnou nervovou stimuláciou pri teplote 37°C . Získané hodnoty kvantitatívne zodpovedajú hodnotám Tesfamariama a spol. (1987), ktorí pri schodovitom zvyšovaní frekvencie stimu-



Obr. 6. Vplyv L-NAME (10^{-4} mol/l) na kontraktilné odpovede vyvolané exogénnym noradrenalinom (10^{-9} – 3.10^{-5} mol/l) pri prstencoch a. carotis so zachovalým endotelom počas ochladenia na 26°C . K = kontrola. Jednotlivé body sú priemerné hodnoty kontrakcií, vertikálne úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. * $p < 0,05$.

Fig. 6. Effect of L-NAME (10^{-4} mol/l) on noradrenaline-induced contraction (10^{-9} – 3.10^{-5} mol/l) of carotid artery rings with endothelium during cooling 26°C . K = control. Values are means, vertical bars show \pm S.E.M. * $p < 0,05$.

lacie pozorovali podobnú potenciáciu neurogénnych kontrakcií. V kožných artériách je potenciácia neurogénnych kontrakcií dokonca väčšia (Hynes a spol., 1988). Zväčšenie neurogénnych kontrakcií sa dá vysvetliť tým, že spontánne uvoľňovaný NO z endotelových buniek zvyšuje hladinu cGMP v cievnom tkanive (Hecker a spol., 1993), a tým inhibuje veľkosť kontraktilných odpovedí na TNS. Po odstránení endotelu vplyv inhibičného účinku NO chýba, a preto sú kontrakcie väčšie.

To, že NO uvoľňovaný endotelom inhibuje neurogénne kontraktilné odpovede ciev, potvrdzujú naše nálezy, ako aj výsledky mnohých ďalších autorov (Toda a Okamura, 1990; Vo a spol., 1992; Aldasoro a spol., 1993; Amerini a spol., 1995) dokumentujúce, že podanie analógov L-arginínu, ktoré inhibujú syntézu oxidu dusnatého, vyvoláva potenciáciu kontraktilných odpovedí v cievach so zachovalým endotelom. Na druhej strane v cievach s odstráneným endotelom podanie L-NAME nezmenilo veľkosť neurogénnych kontraktilných odpovedí.

To, že podanie L-NAME vyvolalo zväčšenie aj kontraktilných odpovedí vyvolaných aplikovaním exogénneho noradrenalinu pri a. carotis so zachovalým endotelom podobne ako pri TNS, poukazuje na priame ovplyvnenie α -adrenergických postsynaptických receptorov.

Hlavným zámerom práce bolo zistiť, či sa uplatňuje vplyv endotelu na neurogénne kontrakcie aj pri zníženej teplote. Už samo zníženie teploty na 26°C zväčšuje veľkosť kontraktilných odpove-

dí vyvolaných TNS (obr. 3). Aj kontraktilná odpoveď na exogénne aplikovaný NA bola významne zväčšená. Pritom veľkosťou rovnaké kontrakcie vyvolané TNS (32 Hz) a exogénnym NA (3.10^{-6} mol/l) pri teplote 37°C boli pri zníženej teplote ovplyvnené rozdielne; kontrakcie vyvolané exogénnym NA boli zväčšené viac ako neurogénne kontrakcie.

Rozdiely v potenciácii adrenergických kontrakcií vyplývajú pravdepodobne z účasti rozdielnych faktorov uplatňujúcich sa pri ochladení. Samo ochladenie má za následok zmenšené uvoľňovanie NA z nervových zakončení (Janssens a Vanhoutte, 1980; Bodelsson, 1990). Na druhej strane potencuje kontrakciu na exogénny NA. Táto potenciácia počas ochladenia je vyvolaná pravdepodobne zvýšenou citlivosťou postsynaptických α -adrenergických receptorov hladkosvalových buniek na noradrenalin (Janssens a spol., 1978). Takže v konečnom dôsledku neurogénna kontrakcia je vlastne výslednicou týchto zdanlivo proti sebe pôsobiacich procesov.

Výsledky našej práce ukázali, že L-NAME významne zväčšil kontraktilné odpovede ciev so zachovalým endotelom ako na elektrickú stimuláciu intramurálnych nervov, tak aj na exogénne aplikovaný NA aj za zníženej teploty. Na druhej strane významne neovplyvnil kontraktilné odpovede v deendotelizovaných cievach. Toto zistenie potvrdilo, že prítomnosť endotelu je nevyhnutnou podmienkou pre modulovanie kontraktilných odpovedí a. carotis aj pri zníženej teplote. To znamená, že NO uvoľňovaný z endotelových buniek zodpovedá za tlmivý vplyv endotelu na neurogénne kontrakcie karotických artérií nielen pri normálnej (37°C), ale aj zníženej teplote (26°C). Znížená teplota nebrzdí účinky NO ako regulačného faktora uvoľňovaného z endotelových buniek.

Vyskytujú sa práce, ktoré ukazujú, že v niektorých cievach (ušná artéria kráľika) (Fernández a spol., 1994) dochádza počas ochladenia dokonca k zvýšenej produkcii NO. A keby sa aj tvorba NO nezväčšovala, samo ochladenie má za následok spomalenie inaktívacie NO, čo vedie k jeho pretrvávajúcemu pôsobeniu (Karaki a Nagase, 1987; Török a Kolárik, 1992). Potom pri mechanickej alebo funkčnej deendotelizácii by sa mohla očakávať ešte väčšia potenciácia neurogénnych kontrakcií a. carotis ako pri normálnej teplote. Ako sme však už uviedli, ochladenie znižuje uvoľňovanie NA z cievnych nervových zakončení (Janssens a Vanhoutte, 1980; Bodelsson, 1990), a preto výsledný efekt modulácie neurogénnej odpovede pri zníženej teplote je porovnateľný s moduláciou kontrakcie pri normálnej teplote.*

Literatúra

Aldasoro M., Martínez C., Vila J.M., Flor B., Lluich S.: Endothelium-dependent component in the contractile responses of human omental arteries to adrenergic stimulation. *Europ. J. Pharmacol.*, 250, 1993, s. 103–107.

Altura B.M., Chand N.: Bradykinin-induced relaxation of renal and pulmonary arteries is dependent upon intact endothelial cells. *Brit. J. Pharmacol.*, 74, 1981, s. 10–11.

Amerini S., Mantelli L., Ledda F.: Enhancement of the vasoconstrictor response to KCl by nitric oxide synthesis inhibition: a comparison with noradrenaline. *Pharmacol. Res.*, 31, 1995, s. 175–181.

Bodelsson M.: Vascular effects of cooling. *Lund University, Bulletin N* 77, 1990, s. 1–71.

* Práca je venovaná prof. MUDr. J. Korpášovi, DrSc., k životnému jubileu.

- Carrier G.O., White R.E.:** Enhancement of α_1 - and α_2 -adrenergic agonist-induced vasoconstriction by removal of endothelium in rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 3, 1985, s. 682—687.
- Cocks T.M., Angus J.A.:** Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, 305, 1983, s. 627—680.
- Eichinger M.R., Walker B.R.:** Segmental heterogeneity of NO-mediated pulmonary vasodilation in rats. *Amer. J. Physiol.*, 276, 1994, s. H494—H499.
- Fernández N., Monge L., García-Villalón A.L., García J.L., Gómez B., Diéguez G.:** Cooling effects on nitric oxide production by rabbit ear and femoral arteries during cholinergic stimulation. *Brit. J. Pharmacol.*, 113, 1994, s. 550—554.
- Furchgott R.F., Zawadzki J.V.:** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288, 1980, s. 373—376.
- García-Villalón A.L., Monge L., Montoya J.J., García J.L., Gómez B., Diéguez G.:** Cooling and response to adrenoceptor agonists of rabbit ear and femoral artery: role of the endothelium. *Brit. J. Pharmacol.*, 106, 1992, s. 727—732.
- Harker C.T., Ousley P.J., Bowman C.J., Porter J.M.:** Cooling augments α_2 -adrenoceptor-mediated contractions in rat tail artery. *Amer. J. Physiol.*, 260, 1991, s. H1166—H1171.
- Hecker M., Bara A.T., Busse R.:** Relaxation of isolated coronary arteries by angiotensin-converting enzymes inhibitors: role of endothelium-derived kinins. *J. Vasc. Res.*, 30, 1993, s. 257—262.
- Hynes M.R., Dang H., Duckles S.P.:** Contractile responses to adrenergic nerve stimulation are enhanced with removal of endothelium in rat caudal artery. *Life Sci.*, 42, 1988, s. 357.
- Janssens W.J., Vanhoutte P.M.:** Effects of moderate cooling on overflow of endogenous and tritiated norepinephrine in canine saphenous veins. *Arch. Inter. Pharmacodyn. Ther.*, 244, 1980, s. 336—337.
- Janssens W.J., Vanhoutte P.M.:** Instantaneous changes of α -adrenoceptor affinity caused by moderate cooling in canine cutaneous veins. *Amer. J. Physiol.*, 234, 1978, s. H330—H337.
- Karaki H., Nagase H.:** Low temperature augments the endothelium-dependent relaxation in isolated rat aorta. *Europ. J. Pharmacol.*, 142, 1987, s. 129—132.
- Monge L., García-Villalón A.L., Montoya J.J., García J.L., Gómez B., Diéguez G.:** Response of rabbit ear artery to endothel-1 during cooling. *Brit. J. Pharmacol.*, 104, 1991, s. 609—619.
- Palmer R.M.J., Ferrigo A.G., Moncada S.:** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 337, 1987, s. 524—526.
- Palmer R.M.J., Ferrigo A.G., Moncada S.:** Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333, 1988, s. 664—666.
- Rappaport R.M., Murad F.:** Agonists-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circulat. Res.*, 52, 1983, s. 352—357.
- Rees D.D., Palmer M.J., Schulz P.J., Hodson H.F., Moncada S.:** Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Brit. J. Pharmacol.*, 101, 1990, s. 748—752.
- Szerek J.L., Bailly D.A., Stewart N.L., Gruetter C.A.:** Histamine H_1 -receptors mediate endothelium-dependent relaxation of rat isolated pulmonary arteries. *Pulmon. Pharmacol.*, 5, 1992, s. 67—74.
- Tesfamariam B., Weisbrod R.M., Cohen R.A.:** Endothelium inhibits responses of rabbit carotid artery to adrenergic nerve stimulation. *Amer. J. Physiol.*, 253, 1987, s. H792—H798.
- Toda N., Okamura T.:** Modification by L-N^G-monomethylarginine (L-NMMA) of the response to nerve stimulation in isolated dog mesenteric and cerebral arteries. *Jap. J. Pharmacol.*, 52, 1990, s. 170—173.
- Török J., Kolárik J.:** Acute cooling enhances endothelium-dependent relaxation in the rabbit thoracic aorta. *Physiol. Res.*, 41, 1992, s. 37P.
- Vo P.A., Reid J.J., Rand M.J.:** Attenuation of vasoconstriction by endogenous nitric oxide in rat caudal artery. *Brit. J. Pharmacol.*, 107, 1992, s. 1121—1128.

Do redakcie došlo 25.3.1996.