

## ORIGINAL ARTICLE

## Beneficial effect of exogenous NO donors on morphological changes evoked by long-term administration of NO synthase inhibitor

Kristek F, Varga I

The Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia. [Kristek@unpf.savba.sk](mailto:Kristek@unpf.savba.sk)

### Abstract

Nitric oxide represents an important mediator which is involved in a variety of cardiovascular functions. The goal of this work was to study the effect of long term NO synthase inhibition on the structure of conduit arteries. The second objective of this work was to determine whether changes in conduit arteries evoked by long term NO synthase inhibition could be prevented by concomitant delivery of exogenous NO. Two independent experiments (A, B) were performed. Both consisted of three groups of 10-week-old Wistar rats: (1) controls, (2) treated by L-N<sup>G</sup>-nitroarginine methyl ester (L-NAME) in water (50 mg/kg), and (3) in experiment A treated by L-NAME (50 mg/kg in water) + pentaerythritetranitrate (PETN) (2x50 mg/kg, using gavage), (3) in experiment B treated by L-NAME (50 mg/kg in water) + molsidomine (2x50 mg/kg, using gavage).

Blood pressure (BP) was measured in all groups by the tail plethysmographic method.

After 6 weeks the rats were killed and perfused by the glutaraldehyde fixative under the pressure equal to the control systolic blood pressure of 120 mmHg. Thoracic aorta, carotid artery and coronary artery were processed according to the standard electron microscopy procedure. Wall thickness (WT), cross sectional area (CSA), and inner diameter (ID) of the arteries were measured in light microscopy.

A significant increase in BP, WT, CSA and WT/ID ratio (all  $p < 0.01$ ) were observed after L-NAME administration in arteries, except of WT/ID in the coronary artery in experiment A where the increase was not significant. ID changed not.

Administration of PETN or molsidomine to L-NAME treated rats resulted in a significant decrease in BP, WT, and CSA. The decrease in WT/ID in coronary arteries was present however not significant in experiment A.

The inner diameter was significantly increased only in the thoracic aorta in experiment A.

In summary, long term NO synthase inhibition evoked considerable morphological changes in the arterial wall of conduit arteries. The replacement of endogenous NO deficiency using exogenous NO donors resulted in a considerably beneficial effect in all parameters studied. (Fig. 4, Ref. 54.)

**Key words:** nitric oxide, L-NAME, pentaerythryl tetranitrate, molsidomine, morphometry, hypertension.

Ascanio Sobrero na Academia delle Scienze di Torino predniesol vo februári 1847 prednášku, počas ktorej demonštroval látku schopnú i v malom množstve spôsobiť silnú detonáciu. Okrem iného uviedol, že látka je sladká, štiplavá a po podaní na jazyk, i vo veľmi malom množstve, vyvoláva silné bolesti hlavy. Látka patrí do skupiny nitrátov a bola neskôr známa predovšetkým pod názvom nitroglycerín.

Nitráty pre potreby klinickej praxe sa používajú dlhšie ako 150 rokov. Roku 1849 Hering po pokusoch na dobrovoľníkoch označil nitroglycerín ako homeopatický liek. Brunton (1867) a Murrel (1879) použili nitritamyl pri liečbe anginy pectoris. Je iróniou osudu, že Alfred Nobel, ktorého rodine nitroglycerín ako výbušnina priniesol bohatstvo a vede najprestížnejšiu cenu, bol

na sklonku života odkázaný používať nitroglycerín ako liek proti intenzívnym bolestiam anginy pectoris.

Dlho sa nevedelo takmer nič o spôsobe, akým tieto látky vyvolávajú účinok v organizme. Po viac ako sto rokoch sa začal objasňovať mechanizmus pôsobenia nitrátov v organizme. Relaxačné vlastnosti vlastného oxidu dusnatého (NO) sa začali zisťovať až približne pred 20 rokmi.

Slovakofarma, a.s., Hlohovec, Slovakia

**Address for correspondence:** F. Kristek, RND, PHD, Institute of Normal and Pathological Physiology, Sienkiewiczova 1, SK-813 71 Bratislava 1, Slovakia.

Phone: +421.7.3292 6271, Fax: +421.7.5296 8516

Roku 1977, keď sa ešte nevedelo, že endotelové bunky produkujú NO a uvoľňujú ho do cievnej steny, Katsuki a spol. ukázali, že rozpustná guanylátcykláza (GC) v hladkosvalových bunkách potkana bola stimulovaná látkami, ktoré obsahujú nitrity. To viedlo k zvýšeniu tvorby cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP) a k vaskulárnej relaxácii. Autori predpokladali, že aktivácia cGMP môže byť spojená s tvorbou NO, pretože NO tiež zvyšoval GC aktivitu a vyvolával výraznú relaxáciu. Roku 1979 (predtým ako bol NO identifikovaný ako endogénny messenger) Gruetter a spol. ukázali na hovädzej prekontrahovanej koronárnej artérii, že aplikácia NO ako plynu z mikropipety vyvoláva výraznú relaxáciu. Navyše NO aktivovalo rozpustnú GC. Podobný farmakologický účinok NO a nitroglycerínu viedol k predpokladu, že nitroglycerín vyvoláva relaxáciu, na ktorej sa zúčastňuje NO. Roku 1980 Furchgott a Zavadzki zistili, že z endotelu cievy sa uvoľňuje látka spôsobujúca dilatáciu hladkosvalových buniek. Látka bola označená EDRF (endothelium derived relaxing factor). Roku 1987 bola táto látka v dvoch od seba nezávislých laboratóriách identifikovaná ako oxid dusnatý (Ignarro a spol., 1987; Palmer a spol., 1987). Odtedy sa rapídne zväčšuje počet prác zaoberajúcich sa úlohou NO v organizme. Schopnosť organických nitrátov prinášať do organizmu a uvoľňovať v ňom oxid dusnatý až roku 1991 zistili Ahlner a spol.

Oxid dusnatý je anorganický voľný radikál, ktorý pôsobí v organizme ako mnohostranný messenger. Endogénny NO je syntetizovaný z L-arginínu tromi izoformami NO-syntázy (NOS): endotelovou NOS, nervovou NOS a indukovanou NOS. NO syntázy sú výrazne regulované viacerými kofaktormi. Vytvorené NO difunduje k okolitým bunkám, kde aktivuje rozpustnú GC s následným formovaním cyklického guanozín monofosfátu (cGMP). V kardiovaskulárnom systéme NO syntetizovaný endotelovou NOS sa pokladá predovšetkým za vazodilatátor hladkosvalových buniek. Neskôr sa zistili jeho ďalšie dôležité vlastnosti. Okrem iných pôsobí protektívne proti trombóзам, atherogenéze — inhibíciou adhézie monocytov a krvných doštičiek na cievnú stenu, má anti-proliferatívny účinok na hladkosvalové bunky cievnej steny. Dysfunkcia tvorby NO sa pokladá za jednu z najdôležitejších príčin pri rozvoji kardiovaskulárnych chorôb (hypertenzia, koronárne choroby, zlyhávanie srdca). Neprekvapuje preto, že sa vynakladá enormné úsilie na riešenie problému, ako dopraviť NO do oblasti cievného riečiska, kde je v dôsledku rôznych príčin hladina endogénneho NO nedostatočná.

Nitráty sú metabolizované v cievnej stene mimo endotelových buniek a uvoľnené NO vyvoláva od endotelu nezávislú dilatáciu hladkosvalových buniek. Takýto účinok exogénnych donorov oxidu dusnatého je pri nedostatočnej produkcii endogénneho NO z poškodených endotelových buniek veľmi prospešný. Komplikáciou a do značnej miery limitujúcim faktorom benefičného účinku nitrátov na hemodynamické a ischemické poškodenie kardiovaskulárneho systému je vznik nitrátovej tolerancie. Nitrátová tolerancia je komplexný fenomén zložený z mnohých faktorov, ktoré sú pri niektorých nitrovazodilatátoroch indukované už po 2—3 dňoch neprerušeného podávania. Navyše je dlhodobé podávanie nitroglycerínu spojené so zvýšenou produkciou superoxidu v cievnej stene (Münzel a spol., 1995). Predpokladalo sa, že nitrátová tolerancia je spôsobená depléciou tiolov (Packer a spol., 1987; Horowitz a spol., 1983). Novšie nálezy však prisudzujú väčšiu úlohu oxidatívneho stresu (Watanabe a spol., 1997; Bassenge a spol.,

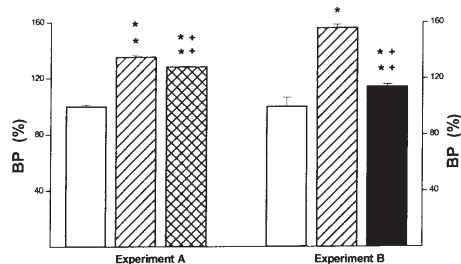
1998; Watanabe a spol., 1998). Napriek týmto prekážkam význam NO, a tým i jeho donorov pre kardiovaskulárny systém stimuluje výskum v hľadaní nových terapeutických možností v nahradzovaní nedostatku endogénneho NO exogénnymi donormi. Požiadavka klinickej praxe je zameraná predovšetkým na získanie účinnej látky uvoľňujúcej NO, pri ktorej by ani po dlhodobom podávaní neklesala účinnosť.

Medzi látky, ktoré by mohli spĺňať uvedené požiadavky, patria pentaerythryltetranitrát (PETN) a molzidomín. PETN je exogénny NO donor s dlhodobým farmakodynamickým efektom. Ako jediný nitrát nevyvoláva ani po dlhodobom podávaní nitrátovú toleranciu a neindukuje oxidačný stres (Dücker a Richard, 1990; Fink a Bassenge, 1997; Hinz a spol., 1998). PETN pôsobí aj ako antioxidant (Oberle a spol., 1999). Táto vlastnosť je dôležitá obzvlášť preto, lebo pozorovania ukázali, že superoxidové radikály vedú k inaktivácii NO a pri metabolizme nitrátov priamo úmerne korelujú s nitrátovou toleranciou (Dikalov a spol., 1999). PETN má pravdepodobne protektívny účinok aj proti ateroskleróze a endotelovej dysfunkcii (Oberle a spol., 1999; Kojda a spol., 1995). Navyše v porovnaní s inými klinicky používanými organickými nitrátmi je najväčší aktivátor syntézy cGMP (Hinz a spol., 1998). Za dlhodobý vazodilatačný a antiischemický efekt je zodpovedná predovšetkým aktívna fáza I (Hinz a spol., 1998). Komplexná farmakodynamika PETN však nie je známa. Navyše úplne chýbajú poznatky, ako ovplyvňuje dlhodobé podávanie PETN počas NO deficitnej hypertenzie štruktúru cievnej steny.

Molzidomín patrí do skupiny donorov NO označovaných ako sydnonimíny. Predpokladá sa, že nevyvoláva ani po dlhodobom podávaní nitrátovú toleranciu. Metabolizuje sa v pečeni na 3-morfolinisydnonomín (SIN-1), z neho sa v organizme spontánne hydroxyláciou cez SIN-1A a SIN-1C uvoľňuje NO (Noack a Feelish, 1989; Bohn a Schonafinger, 1989). Benefičný efekt molzidomínu sa zistil už roku 1978. Molzidomín po podaní vyvoláva rovnako ako PETN endotelovo nezávislú dilatáciu cievného riečiska a inhibuje aktiváciu trombocytov (Megson, 2000). Rovnako ako pri PETN chýbajú údaje o vplyve molzidomínu na štruktúru cievnej steny pri NO deficitnej hypertenzii.

V tejto práci sme sledovali dlhodobý účinok PETN a molzidomínu na štruktúru cievnej steny pri zvieracom modeli NO deficitnej hypertenzie. Patofyziologický podklad NO deficitnej hypertenzie je blokáda NOS, enzýmu, ktorý metabolizuje L-arginín na L-citrulín s koprodukciou NO. Blokáda NOS spôsobuje zníženie endogénnej produkcie NO, čo má za následok popri značnom zvýšení krvného tlaku aj výrazný nárast hrúbky cievnej steny (Delacretaz a spol., 1994; Kristek a Gerová, 1996). S prihliadnutím na Laplaceho zákon je zrejme, že zmeny v geometrii artérií majú výrazne negatívny vplyv na kardiovaskulárny systém. Okrem toho zvýšený tlak krvi spoločne so zväčšenou kontraktilitou hladkosvalových buniek po blokáde NO-syntázy (Ribeiro a spol., 1995; Holéciová a spol., 1996) pravdepodobne ďalej zosilňujú tento nepriaznivý efekt.

Všeobecne sa akceptuje, že NO inhibuje bunkovú proliferáciu (Garg a Hassid, 1989; Nakaki a spol., 1990; Arnal a spol., 1994; Cornwell a spol., 1994). Predpokladáme teda, že NO uvoľnený z exogénnych donorov NO bude mať pri NO deficitnej hypertenzii anti-proliferatívny účinok na hladkosvalové bunky cievnej steny. Uvoľnené NO pravdepodobne ovplyvní hypertrofiu cievnej steny a celkovo zlepši hemodynamické parametre kardiovaskulárneho systému.



**Fig. 1.** Changes in blood pressure evaluated as a percentage of control value (empty column). Long-term administration of: L-NAME (hatched column), L-NAME + PETN (cross-hatched column), L-NAME + molzidomine (black column). \*\*  $p < 0.01$  in comparison to control value, ++  $p < 0.01$  in comparison to L-NAME value.

**Obr. 1.** Zmeny tlaku krvi vyjadrené v percentách kontrolnej hodnoty (prázdny stĺpec). Dlhodobé podávanie: L-NAME (šrafovaný stĺpec), L-NAME + PETN (dvojito šrafovaný stĺpec), L-NAME + molzidomín (tmavý stĺpec). \*\*  $p < 0,01$  v porovnaní s kontrolnými hodnotami, ++  $p < 0,01$  v porovnaní s L-NAME skupinou.

Cieľom tejto práce bolo: 1. sledovať základné hemodynamické parametre cievneho riečiska, 2. sledovať morfológické zmeny v kardiovaskulárnom systéme pri NO deficitnej hypertenzii a 3. zistiť, či spoločné dlhodobé podávanie blokátora NOS— $N^G$ -nitro L-arginínmetylesteru (L-NAME) s exogénnym donorom NO — PETN, resp. exogénnym donorom NO — molzidomínom zabráni vzniku hemodynamických a štruktúrnych zmien v cievnej stene hrudnej aorty, krkavici a koronárnej artérii potkana.

## Materiál a metódy

Všetky procedúry sa na experimentálnych zvieratách robili podľa predpisu pre prácu s laboratórnymi zvieratami (Etická komisia pre experimentálnu prácu SAV, 1995).

Potkany boli chované vo zverinci so štandardným vybavením, individuálne v klietkach pri teplote 22–24 °C a pri 12-hodinovom svetelnom režime. Boli pravidelne kŕmené peletami. V pokuse sa použili potkany — samce kmeňa Wistar s hmotnosťou 310–320 g. Na začiatku pokusu mali potkany vek 10 týždňov. Robili sa dva samostatné experimenty A a B. V každom experimente sme zvieratá rozdelili do troch skupín, každá skupina mala 8 zvierat.

**Experiment A:** V prvej skupine boli kontrolné zvieratá. Podávali sme im pitnú vodu. Druhej skupine zvierat sme podávali blokátor NOS — L-NAME v pitnej vode v koncentrácii 50 mg/kg/deň počas 6 týždňov. Tretej skupine zvierat sme podávali blokátor NO-syntázy 50 mg/kg/deň počas 6 týždňov v pitnej vode a súčasne sondou do žalúdka dvakrát denne PETN v dávke 50 mg/kg/deň počas 6 týždňov (ráno a večer) — celková denná dávka PETN bola 100 mg/kg.

**Experiment B:** Prvé dve skupiny boli rovnaké ako v experimente A. Tretej skupine zvierat sme podávali blokátor NOS 50 mg/kg/deň počas 6 týždňov v pitnej vode a súčasne sondou do žalúdka dvakrát denne molzidomín v dávke 50 mg/kg/deň počas 6 týždňov (ráno a večer) — celková denná dávka molzidomínu bola 100 mg/kg. Vo všetkých skupinách sme merali krvný tlak nepriamo použitím chvostovej pletyzmografickej metódy.

Po 6 týždňoch sme zvieratá usmrtili vyššou dávkou pentobarbitalu (100 mg/kg i.p.), otvorili sme hrudník a kardiovaskulárny systém sme cez ľavú komoru perfundovali fixačnou látkou pod konštantným tlakom 120 mmHg počas 10 minút. Ako fixačnú látku sme použili 300 mmol/l glutaraldehyd v 100 mmol/l fosfátovom tlmivom roztoku. Strednú časť hrudnej aorty, strednú časť krkavice a hornú časť septálnej vetvy ľavej descendentnej koronárnej artérie sme vybrali a rozdelili na časti dlhé približne 1 mm. Vzorky sme ďalej spracovali štandardným postupom pre transmisnú elektrónovú mikroskopiu (Kristek, 1998). Tri náhodne vybrané bločky z každej cievy sme krájali kolmo na pozdžnu os cievy. Vnútorý obvod cievy a hrúbku cievnej steny (tunica intima + tunica media) sme merali vo svetelnom mikroskope. Vnútorý diameter a pomer hrúbky cievnej steny k vnútornému diameteru sme vypočítali. Výsledky sme vyhodnotili podľa Anova a Bonferroniho testu. Hodnoty sú uvedené ako  $\pm$ SEM. Za signifikantné rozdiely sa považovali vtedy, keď rozdiel bol  $p < 0,05$ .

## Výsledky

### Blood pressure

Dlhodobé podávanie blokátora NO-syntázy vyvolalo po 6 týždňoch signifikantné zvýšenie tlaku krvi. V experimente A bol tlak krvi  $135,43 \pm 0,99$  % kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 1,10$  %) ( $p < 0,01$ ); v experimente B  $156,08 \pm 2,24$  % kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 6,62$  %), ( $p < 0,01$ ). Spoločné podávanie blokátora s PETN spôsobilo signifikantne nižší nárast tlaku krvi len na  $128,35 \pm 0,55$  % ( $p < 0,01$ ). Po podávaní molzidomínu len na  $114,24 \pm 1,74$  % ( $p < 0,01$ ), v porovnaní s kontrolnými hodnotami bol však signifikantne vyšší ( $p < 0,01$ ) (obr. 1).

### Arteriálne parametre

#### Vnútorý diameter

**Hrudná aorta.** Podávanie blokátora NO-syntázy nevyvolalo ani v experimente A signifikantný nárast vnútorného diameteru cievy —  $107,90 \pm 1,41$  %, kontrolná hodnota predstavovala  $100 \pm 2,24$  % a ani v experimente B —  $98,03 \pm 2,73$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 3,07$  %. Spoločná aplikácia blokátora NOS s PETN spôsobila nárast vnútorného diameteru aorty  $117,11 \pm 1,54$  %. Hodnota bola signifikantne vyššia ( $p < 0,01$ ) v porovnaní s kontrolnými zvieratami, ako aj s hodnotami zistenými u potkanov, ktorým bol aplikovaný samotný L-NAME. Spoločné podávanie L-NAME s molzidomínom nevyvolalo štatisticky významnú zmenu  $88,16 \pm 3,22$  % (obr. 2A).

**Krkavica.** Samo podávanie blokátora NOS signifikantne neovplyvnilo vnútorný diameter cievy ani v experimente A —  $105,14 \pm 2,48$  % kontrolná hodnota bola  $100 \pm 4,36$  % ani v experimente B —  $92,41 \pm 3,07$  %, kontrolná hodnota bola  $100 \pm 4,65$  %. Vnútorý diameter cievy neovplyvnilo ani spoločné podávanie blokátora s PETN —  $112,60 \pm 3,05$  %, ani v kombinácii s molzidomínom  $98,18 \pm 6,15$  % (obr. 2B).

**Koronárna artéria.** Vnútorý diameter koronárnej artérie nebol signifikantne zmenený po podávaní samotného L-NAME. V experimente A bol —  $118,00 \pm 3,09$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 4,80$  %, v experimente B  $86,36 \pm 6,38$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 7,31$  %. Spoločné podávanie inhibítora NOS s PETN nevyvolalo signifi-

kantnú zmenu  $114,40 \pm 8,10$  %, rovnako ako podávanie s molzidomínom  $89,39 \pm 6,44$  % (obr. 2C).

#### Hrúbka cievnej steny

**Hrudná aorta.** Aplikácia samotného blokátora NOS vyvolala nárast hrúbky cievnej steny (tunica intima + tunica media) v experimente A —  $133,12 \pm 1,62$  % (kontrolná hodnota bola  $100 \pm 3,84$  %), ako aj v experimente B —  $162,81 \pm 5,79$  % (kontrolná hodnota bola  $100 \pm 3,64$  %). Hrúbka cievnej steny bola po spoločnom podávaní blokátora s PETN signifikantne menšia  $117,08 \pm 2,26$  % ( $p < 0,01$ ), bola však signifikantne väčšia ako v kontrolnej skupine ( $p < 0,01$ ). Po spoločnom podávaní L-NAME s molzidomínom bola hrúbka cievnej steny výrazne menšia ako po samotnom podávaní blokátora —  $92,46 \pm 5,38$  % ( $p < 0,01$ ), táto hodnota nebola významná v porovnaní s kontrolnou hodnotou (obr. 3A).

**Krkavica.** Podávanie blokátora spôsobilo výrazný nárast hrúbky cievnej steny v oboch experimentoch. V experimente A bol  $152,07 \pm 3,52$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 7,35$  % ( $p < 0,01$ ), v experimente B  $197,92 \pm 7,12$  % ( $p < 0,01$ ) kontrolnej hodnoty  $100 \pm 3,20$  %. Spoločné podávanie blokátora s PETN zamedzilo zhrubnutiu arteriálnej steny  $94,74 \pm 6,48$  % ( $p < 0,01$ ), rovnako hrúbka cievnej steny bola po spoločnom podávaní blokátora s molzidomínom len  $97,08 \pm 9,40$  % kontrolnej hodnoty. Tieto hodnoty neboli signifikantné v porovnaní s kontrolnými hodnotami (obr. 3B).

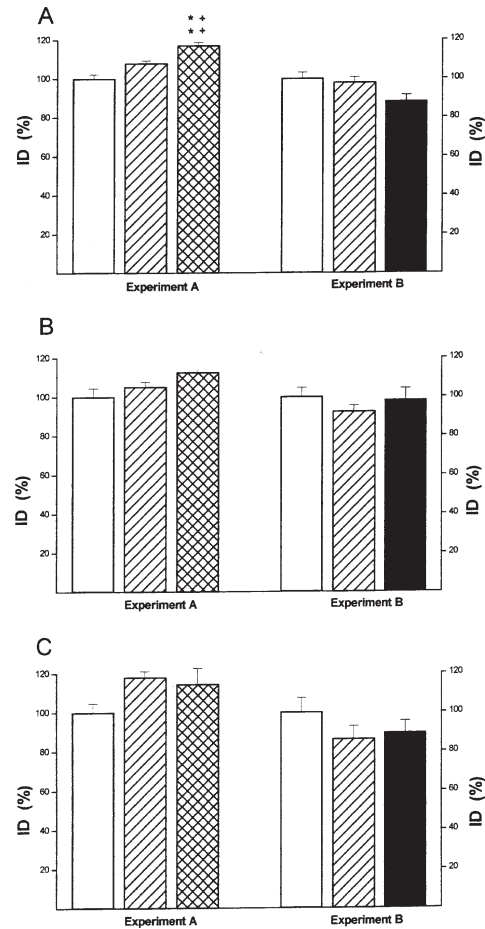
**Koronárna artéria.** Blokátor NOS vyvolal nárast hrúbky cievnej steny. Hodnota v experimente A bola —  $174,49 \pm 7,62$  % ( $p < 0,01$ ) kontrolnej hodnoty  $100 \pm 7,18$  %, v experimente B bola  $201,34 \pm 5,98$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 13,08$  %, ( $p < 0,05$ ). Spoločné podávanie blokátora s PETN vyvolalo zníženie nárastu hrúbky arteriálnej steny na  $136,76 \pm 6,19$  % ( $p < 0,05$ ). Hrúbka cievnej steny po spoločnom podávaní blokátora s molzidomínom predstavovala  $174,58 \pm 13,08$  %. Hodnoty po spoločnom podávaní blokátora s PETN, resp. molzidomínom sa štatisticky neodlišovali od kontrolných hodnôt (obr. 3C).

#### Pomer hrúbka cievnej steny/vnútorňý diameter ciev

**Hrudná aorta.** Pomer hrúbky cievnej steny k vnútornému diameteru cievy sa po podávaní blokátora NOS v oboch experimentoch signifikantne zvýšil. V experimente A na  $124,43 \pm 2,26$  % kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 5,34$  %) ( $p < 0,01$ ). V experimente B nárast predstavoval  $167,10 \pm 6,88$  kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 5,74$  %), ( $p < 0,01$ ). Spoločné podávanie blokátora s PETN viedlo k signifikantnému zníženiu pomeru  $104,21 \pm 4,04$  % ( $p < 0,01$ ), spoločné podávanie s molzidomínom znížilo tento pomer na  $104,44 \pm 8,00$  %, ( $p < 0,01$ ). Tieto hodnoty v porovnaní s kontrolnými hodnotami neboli významné (obr. 4A).

**Krkavica.** Samo podávanie blokátora spôsobilo zvýšenie pomeru v oboch experimentoch. V experimente A bol pomer  $143,35 \pm 4,86$  % kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 10,44$ ), ( $p < 0,01$ ), v experimente B  $210,67 \pm 6,33$  % kontrolnej hodnoty ( $100 \pm 7,00$  %) ( $p < 0,01$ ). Spoločné podávanie blokátora s PETN vyvolalo zníženie na  $84,81 \pm 10,45$  % ( $p < 0,01$ ), spoločné podávanie s molzidomínom spôsobilo zníženie na  $113,33 \pm 12,94$  % ( $p < 0,01$ ). Tieto hodnoty sa štatisticky nelíšili od kontrolných hodnôt (obr. 4B).

**Koronárna artéria.** Pomer hrúbky cievnej steny k vnútornému diameteru po aplikácii samotného inhibítora NOS bol v experimente A  $140,27 \pm 7,90$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 6,22$  %. V ex-



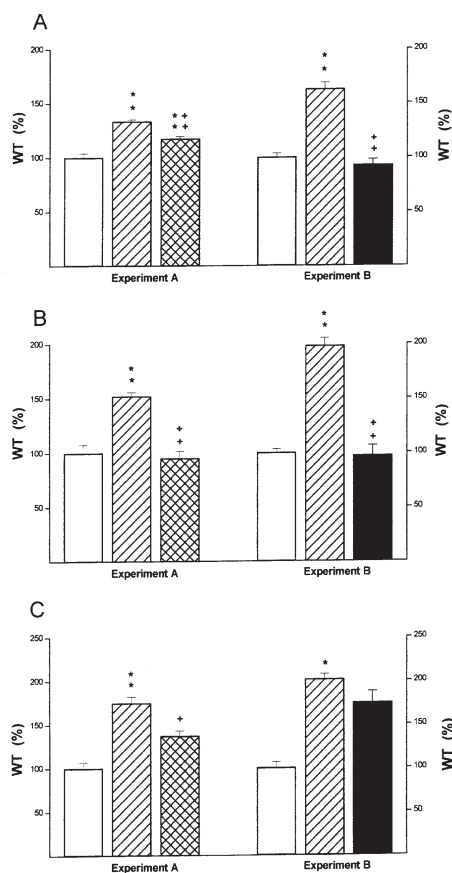
**Fig. 2.** Changes in inner diameter of thoracic aorta (A), carotid artery (B), and coronary artery (C) evaluated as a percentage of control value (empty column). Long-term administration of: L-NAME (hatched column), L-NAME + PETN (cross-hatched column), L-NAME + molzidomine (black column). \*\*  $p < 0,01$  in comparison to control value, +  $p < 0,01$  in comparison to L-NAME value.

**Obr. 2.** Zmeny vnútorného diameteru hrudnej aorty (A), krkavice (B) a koronárnej artérie (C) vyjadrené v percentách kontrolnej hodnoty (prázdny stĺpec). Dlhodobé podávanie: L-NAME (šrafovaný stĺpec), L-NAME + PETN (dvojite šrafovaný stĺpec), L-NAME + molzidomín (tmavý stĺpec). \*\*  $p < 0,01$  v porovnaní s kontrolnými hodnotami, +  $p < 0,01$  v porovnaní s L-NAME skupinou.

perimente B bol  $236,96 \pm 9,36$  % kontrolnej hodnoty  $100 \pm 7,17$  % ( $p < 0,05$ ). Tento pomer bol po spoločnom podávaní blokátora s PETN  $110,81 \pm 15,12$  %. Po spoločnom podávaní blokátora s molzidomínom bol  $193,48 \pm 11,01$  %. Hodnoty sa štatisticky nelíšili ani od skupiny s podávaním samotného blokátora, ani od kontrolných hodnôt (obr. 4C).

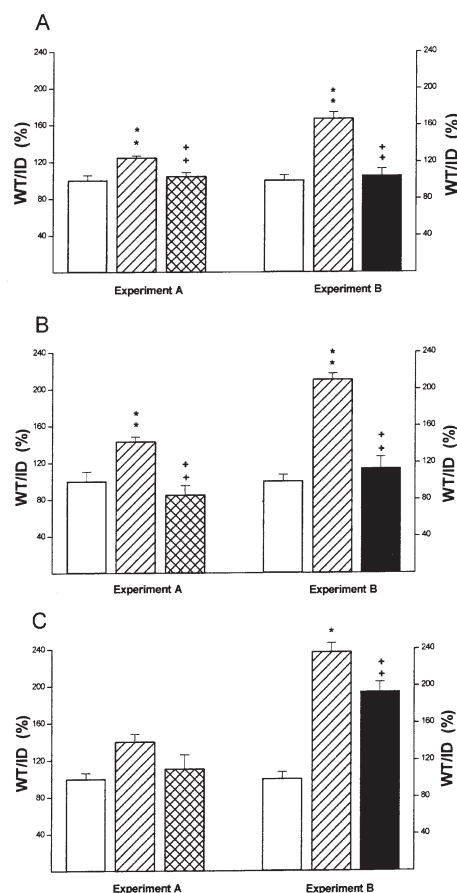
#### Diskusia

Dlhodobá blokáda NO-syntázy vyvolala u experimentálnych zvierat stabilne zvýšený krvný tlak. Tieto pozorovania sa zhodujú s našimi predchádzajúcimi pozorovaniami (Kristek a spol., 1995,



**Fig. 3.** Changes in wall thickness (tunica intima + tunica media) of thoracic aorta (A), carotid artery (B), and coronary artery (C) evaluated as a percentage of control value (empty column). Long-term administration of: L-NAME (hatched column), L-NAME + PETN (cross-hatched column), L-NAME + molzidomine (black column). \*\*  $p < 0.01$  in comparison to control value, ++  $p < 0.01$  in comparison to L-NAME value.

**Obr. 3.** Zmeny hrúbky steny (tunica intima + tunica media) hrudnej aorty (A), krkavice (B) a koronárnej artérie (C) vyjadrené v percentách kontrolnej hodnoty (prázdny stĺpec). Dlhodobé podávanie: L-NAME (šrafovaný stĺpec), L-NAME + PETN (dvojite šrafovaný stĺpec), L-NAME + molzidomín (tmavý stĺpec). \*\*  $p < 0,01$  v porovnaní s kontrolnými hodnotami, ++  $p < 0,01$  v porovnaní s L-NAME skupinou.



**Fig. 4.** Changes in the ratio of wall thickness (tunica intima + tunica media) to inner diameter of thoracic aorta (A), carotid artery (B), and coronary artery (C) evaluated as a percentage of control value (empty column). Long-term administration of: L-NAME (hatched column), L-NAME + PETN (cross-hatched column), L-NAME + molzidomine (black column). \*\*  $p < 0.01$  in comparison to control value, ++  $p < 0.01$  in comparison to L-NAME value.

**Obr. 4.** Zmeny pomeru hrúbky steny (tunica intima + tunica media) ku vnútornému diametru hrudnej aorty (A), krkavice (B) a koronárnej artérie (C) vyjadrené v percentách kontrolnej hodnoty (prázdny stĺpec). Dlhodobé podávanie: L-NAME (šrafovaný stĺpec), L-NAME + PETN (dvojite šrafovaný stĺpec), L-NAME + molzidomín (tmavý stĺpec). \*\*  $p < 0,01$  v porovnaní s kontrolnými hodnotami, ++  $p < 0,01$  v porovnaní s L-NAME skupinou.

1996; Kristek a Gerová, 1996; Kristek, 2000) ako aj s pozorovaniami iných autorov, ktorí podávali približne rovnaké dávky blokátora NO-syntázy (L-NAME) po približne rovnakú dobu (Baylis a spol., 1992; Ribeiro a spol., 1992; Jover a spol., 1993).

Spoločné neprerušované podávanie blokátora NO-syntázy s PETN, resp. s molzidomínom spôsobilo signifikantne nižší nárast krvného tlaku v porovnaní s podávaním samotného blokátora. Zníženie nárastu krvného tlaku je veľmi pravdepodobne spôsobené aktiváciou guanylátcyklázy oxidom dusnatým uvoľneným z exogénneho donora. Aktivácia tohto enzýmu spôsobuje premenu guanozíntrifosfátu na cyklický guanozínmonofosfát (cGMP) (Mittal a Murad, 1982). Aktivácia cGMP vedie k relaxácii hlad-

kosvalových buniek v cievnej stene (Mittal a Murad, 1982). Schultz a spol. (1977) a Hinz a spol. (1998) zistili, že PETN je v porovnaní s inými klinicky relevantnými organickými nitrátmi (glycerylnitrát, isosorbidedinitrát, isosorbid-5-mononitrát) najpotentnejší v stimulácii tvorby cGMP. Napriek tomu zníženie krvného tlaku po spoločnom podávaní PETN a blokátora NO-syntázy bolo pomerne málo výrazné. Po 6 týždňoch bol krvný tlak signifikantne vyšší v porovnaní s kontrolnými zvieratami. Ani spoločné podávanie blokátora NO-syntázy s molzidomínom úplne nezabránilo zvýšeniu krvného tlaku. Nevýrazné zmeny po podávaní donorov NO podporujú nálezy iných autorov, že vazodilatačná aktivita nitrátov sa preferenčne uplatňuje vo venóznej časti cievneho riečis-

ka, kde dilatujú hladkosvalové bunky a znižujú predovšetkým „preload“ (Ahlner a spol., 1991; Mülsch a spol., 1995; Gruetter a spol., 1995). Je však možné, že exogénne donory NO nie sú schopné úplne nahradiť zníženú produkciu endogénneho NO. Táto otázka zostáva nezodpovedaná predovšetkým preto, lebo sa s istotou nedokáže určiť presná hladina NO v organizme. Často sa vyskytujú protichodné výsledky o hladine NO pri rôznych typoch hypertenzie. Hladina NO v organizme sa vo väčšine prác určuje len nepriamo, a to predovšetkým na základe zvýšenej hladiny cGMP, alebo nitrátov, či nitritov. Takéto stanovovanie má veľa úskalí. Hladinu cGMP ovplyvňujú aj iné látky (ANP) a hladina nitrátov, resp. nitritov môže závisieť aj od hypoxie v organizme. Rozriešeniu otázky koncentrácie NO v organizme za normálnych a patologických stavov by pomohlo vyvinutie spoľahlivej metódy na meranie hladiny NO in vivo.

Po spoločnom podávaní blokátora NO-syntázy s exogénnymi donormi NO sme zistili prekvapujúco nevýrazné zväčšenie vnútorného diametra ciev. Predpokladali sme, že uvoľnené NO z donorov spôsobí mohutnejšiu dilatáciu cievnej steny. Signifikantný nárast vnútorného diametra sme však pozorovali len pri aorte a len po podávaní PETN. Podobne malú dilatáciu pozorovali aj Fink a Bassenge (1977). Po 6-dňovej kontinuálnej infúzii PETN zistili nárast diametra koronárnej artérie psa len približne o 10 %. Aj malá dilatácia artérií podporuje nálezy, že vazodilatačná aktivita sa pravdepodobne výraznejšie uplatňuje vo venóznej časti kardiovaskulárneho riečiska.

Dlhodobé podávanie blokátora NO-syntázy ovplyvnilo veľmi výrazne nárast hrúbky steny veľkých prívodných tepien. Tieto nálezy sú v zhode s našimi predchádzajúcimi pozorovaniami (Kristek a Gerová, 1996; Kristek a spol., 1996; Kristek, 2000) na hrudnej aorte, krkavici a koronárnych cievach aj s pozorovaniami Delacretaza a spol. (1994) na krkavici, Mortona a spol. (1993) a Denga a spol. (1993) na mezenterických artériách. Dunn a Wilson (1993) nepozorovali pri tomto modeli hypertenzie hypertrofiu cievnej steny ani pri prívodných, ani pri rezistentných mezenterických artériách.

Dlhodobé podávanie exogénnych donorov PETN a molzidomínu spolu s blokátorom NO-syntázy signifikantne zabránilo nárastu hrúbky cievnej steny. Podľa našich vedomostí v literatúre nie sú okrem našich predchádzajúcich Kristek (2000) dáta pre porovnanie prezentovaných výsledkov. Benefičný účinok donorov NO na cievnu stenu je však v dobrej zhode s nálezmi Garga a Hasida (1989), Nakakiho a spol. (1990), Arnala a spol. (1994) a Cornwella a spol. (1994), ktorí zistili, že NO inhibuje proliferáciu a mitotickú aktivitu buniek. Je teda možné predpokladať, že zvýšená hladina NO uvoľneného z exogénnych donorov bude mať za následok antiproliferačný efekt na hladkosvalové bunky cievnej steny. Napriek uvedeným vlastnostiam oxidu dusnatého nepozorovali sme v skupine potkanov po samotnom podávaní blokátora NO-syntázy (pri pravdepodobnom znížení hladiny NO) mitotickú aktivitu hladkosvalových buniek. Nárast hrúbky cievnej steny je pravdepodobne spôsobený hypertrofiou svalových buniek a predovšetkým, ako sme ukázali Kristek a spol. (1996), nárastom hmoty extracelulárneho matrixu. „Remodelling“ (pojem remodelling cievnej steny nie je jednoznačný — niektorí autori uvádzajú len prestavbu existujúceho materiálu v cieve, iní (aj my) prestavbu s možnou hypertrofiou, alebo hyperpláziou hladkosvalových buniek) cievnej steny počas hypertenzie je kom-

plexný dej, v ktorom viaceré podnety pôsobia synergicky. Otázkou je, ktorý podnet má najdôležitejšiu úlohu. Predpokladáme, že zvýšenie tlaku môže byť pre zhrubnutie cievnej steny veľmi dôležité, naznačuje to aj naše pozorovanie. V experimente, v ktorom bol rozdiel v tlaku krvi medzi kontrolnou skupinou a L-NAME skupinou vyšší, bol aj nárast hrúbky cievnej steny pri všetkých troch artériách podstatne väčší. Dominantná úloha tlaku krvi nie je však jednoznačná. U spontánne hypertenzných potkanov zhrubnutie cievnej steny predchádza zvýšenému krvnému tlaku, to znamená, že už v prehypertenznej fáze pri tomto modeli je cievná stena zhrubnutá (Lee, 1985; Rizzoni a spol., 1994). Tento predpoklad podporujú Krivošíková a spol. (1999) a Rizzoni a spol. (1995), ktorí zistili, že ACE-inhibítory v dávke neovplyvňujúcej tlak krvi spôsobujú zníženú proliferáciu obličiek, resp. stenčenie cievnej steny. Z týchto pozorovaní vyplýva, že tlak krvi nemusí mať nevyhnutne dominantnú úlohu v patologickom remodelingu cievnej steny. Predpokladáme, že pomerne značný benefičný účinok PETN a molzidomínu na hrúbku cievnej steny pri relatívne malom vplyve na tlak krvi môže byť spôsobený aj inými regulačnými mechanizmami. NO ovplyvňuje množstvo procesov v kardiovaskulárnom systéme, známych i doteraz neznámych. Medzi známe patria zmeny v aktivite renínovo-angiotenzínovom systéme (Auch-Schwelk a spol., 1993; Lemay a spol., 2000) zmeny v hladine bradykinínu (Grafe a spol., 1993; Hecker a spol., 1994), zmeny v hladine endotelínov (Rizvi a Meyers, 1997), zmeny v apoptóze buniek cievnej steny (Brüne a spol., 1998) a iné. Popri zmene v bunkových komponentoch — endotelových a hladkosvalových bunkách významnú úlohu v remodelingu a v elasticite cievnej steny pri NO-deficitnej hypertenzii veľmi pravdepodobne má aj extracelulárny matrix (Kristek a spol., 1996).

Pomer hrúbky cievnej steny ku vnútornému diametru cievy je veľmi významným ukazovateľom zmien v kardiovaskulárnom systéme. Vo všetkých troch cievach bol tento pomer po podávaní L-NAME zvýšený a po spoločnom podávaní blokátora s exogénnymi donormi znížený. Pri hrudnej aorte a krkavici boli zmeny vysokosignifikantné. Pri septálnej vetve ľavej descendentnej koronárnej artérie boli absolútne hodnoty zmenené, signifikantné zmeny však boli len v experimente B, a to len po podávaní L-NAME. Predpokladáme však, že nesignifikantnosť zmien bola spôsobená vetvením septálnej artérie. Vetvenie tejto cievy nie je u jednotlivých zvierat rovnaká, čo spôsobuje vyššiu variabilitu súboru, a tým i vyššie nároky na signifikantnosť. Zvýšený počet experimentálnych zvierat by veľmi pravdepodobne potvrdil tento predpoklad.

Podľa Laplaceho zákona predpokladáme, že zmeny v geometrii veľkých prívodných tepien (vnútorný diameter, hrúbka cievnej steny, pomer hrúbky cievnej steny k vnútornému diametru) majú veľmi negatívny vplyv na fyziologické parametre kardiovaskulárneho systému (transmurálny tlak, napätie cievnej steny) vyúsťujúci predovšetkým do nedostatočného vyživovania zásobovanej oblasti. Tieto cievy a obzvlášť aorta pôsobia aj ako „windkessel“ a prenášajú rytmický výdaj srdca smerom na perifériu. Sú miestom rôznych typov baroreceptorov (aj keď ich úloha pri dlhodobej hypertenzii sa zdá menej významná (Mancia a Mark, 1983)). Predpokladáme preto, že akékoľvek zlepšenie morfológických a funkčných parametrov cievnej steny po podávaní exogénnych donorov NO má pri NO

deficitnej hypertenzii výrazný benefičný účinok na celý kardiovaskulárny systém.\*

## Literatúra

**Ahlner J., Andersson R.G.G., Torfgard K., Axelsson, K.L.:** Organic nitrate esters: Clinical use and mechanisms of actions. *Pharmacol. Rev.*, 43, 1991, s. 351–423.

**Arnal J.F., Yamin J., Dockery S., Harrison D.G.:** Regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA, protein, and activity during cell growth. *Amer. J. Physiol.*, 267, 1994, s. C1381–C1388.

**Auch-Schwelk W., Kuchenbuch C., Walter C.B., Bossaler C., Friedel N., Graf K., Grafe M., Fleck E.:** Local regulation of vascular tone by bradykinin and angiotensin converting enzyme inhibitors. *Europ. Heart J.*, 14, 1993, Suppl. 1, s. 154–160.

**Bassenge E., Fink N., Skatchkov M., Fink B.:** Dietary supplement with vitamin C prevents nitrate tolerance. *J. Clin. Invest.*, 102, 1998, s. 67–71.

**Baylis C., Mitruka B., Deng A.:** Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J. Clin. Invest.*, 90, 1992, s. 278–281.

**Bohn H., Schonafinger K.:** Oxygen and oxidation promote the release of nitric oxide from sydnonimines. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 14, 1989, Suppl. 11, s. S6–12.

**Brüne B., Sandau K., von Knethen A.:** Apoptotic cell death and nitric oxide: Activating and antagonistic transducing pathways. *Biokhimiya*, 63, 1998, s. 966–975.

**Brunton L.:** On the use of nitrite of amyl in angina pectoris. *Lancet*, 1868, s. 97–98.

**Cornwell T.L., Arnold E., Boerth N.J., Lincoln T.M.:** Inhibition of smooth muscle growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Amer. J. Physiol.*, 267, 1994, s. C1405–C1413.

**Delacretaz E., Hayoz D., Osterheld M.C., Genton C.Y., Brunner H.R., Waeber, B.:** Long-term nitric oxide synthase inhibition and distensibility of carotid artery in intact rats. *Hypertension*, 23, 1994, s. 967–970.

**Deng L.Y., Thibault G., Schiffrin L.:** Effect of hypertension induced by nitric oxide synthase inhibition on structure and function of resistance arteries in the rat. *Clin. Exp. Hypertens.*, 15, 1993, s. 527–537.

**Düick K.D., Richard F.:** Langzeitnitrattherapie bei koronarer Herzkrankheit — Wirkungsverlust durch Toleranzentwicklung? (Long-term therapy of coronary artery disease-loss of efficacy through development of tolerance?). *Z. Gesamte Inn. Med.*, 24, 1990, s. 736–741.

**Dunn W.R., Wilson V.G.:** No evidence for vascular remodelling in an L-NAME-induced model of hypertension. Abstracts of the XXXII Congress IUPS, Glasgow, 1993, s. 109–110.

**Fink B., Bassenge E.:** Unexpected, tolerance-devoid vasomotor and platelet actions of pentaerythrityl tetranitrate. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 30, 1997, s. 831–836.

**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.

**Garg U.C., Hassid A.:** Nitric oxide generating vasodilators and 8-bromo cyclic GMP inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 83, 1989, s. 1774–1777.

**Grafe M., Bossaler C., Graf K., Auch-Schwelk W., Baumgarten C.R., Hildebrandt A., Fleck E.:** Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on bradykinin metabolism by vascular endothelial cells. *Amer. J. Physiol.*, 264, 1993, s. H1493–1497.

**Gruetter C.A., Barry B.K., McNamara D.B., Gruetter D.Y., Kadowitz P.J., Ignarro L.J.:** Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine. *J. Cycl. Nucleotide Protein Phosph. Res.*, 5, 1979, s. 211–224.

**Hecker M., Porsti I., Bara AT., Busse R.:** Potentiation by ACE inhibitors of the dilator response to bradykinin in the coronary microcirculation-interaction at the receptor level. *Brit. J. Pharmacol.*, 1994, 11, s. 238–244.

**Hering C.:** Glonoine, a new medicine for headache etc. *Amer. J. Homeopathy*, 4, 1849, s. 3.

**Hinz B., Kuntze U., Schröder H.:** Pentaerythrityl tetranitrate and its phase I metabolites are potent activators of cellular cyclic GMP accumulation. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 253, 1998, s. 658–661.

**Holéciová A., Török J., Bernátová I., Pecháňová O.:** Restriction of nitric oxide rather than elevated blood pressure is responsible for alterations of vascular responses in nitric oxide-deficient hypertension. *Physiol. Res.*, 45, 1996, s. 317–321.

**Horowitz J.D., Antman E.M., Lorell B.H., Barry W.H., Smith T.W.:** Potentiation of the cardiovascular effects of nitroglycerin by A-acetylcysteine. *Circulation*, 68, 1983, s. 1247–53.

**Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhury G.:** Endothelium derived relaxing factor produced and released from arteries and veins is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 1987, s. 9265–9269.

**Jover B., Herizi A., Ventre F., Dupont M., Mimran A.:** Sodium and angiotensin in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade. *Hypertension*, 21, 1993, s. 944–948.

**Katsuki S., Arnold W., Mittal C., Murad F.:** Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. *J. Cycl. Nucl. Prot. Phosphoryl. Res.*, 3, 1977, s. 23–25.

**Kojda G., Stein D., Kottenberg E., Schnaith E.M., Noack E.:** In vivo effects of pentaerythrityl-tetranitrate and isosorbide-5-mononitrate on the development of atherosclerosis and endothelial dysfunction in cholesterol-fed rabbits. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 25, 1995, s. 763–773.

**Kristek F.:** Long-term administration of L-arginine did not influence blood pressure, heart rate, cardiac hypertrophy or arterial wall thickness of spontaneously hypertensive rats. *Exp. Physiol.*, 83, 1998, s. 595–603.

**Kristek F.:** Pentaerythrityl tetranitrate attenuates structural changes in conduit arteries evoked by long-term NO-synthase inhibition. *Brit. J. Pharm.*, 130, 2000, s. 450–456.

**Kristek F., Gerová M.:** Long-term NO synthase inhibition affects heart weight and geometry of coronary and carotid arteries. *Physiol. Res.*, 45, 1996, s. 361–367.

\* Ďakujeme p. M. Danayovi za technickú asistenciu pri spracovaní a vyhodnotení experimentov. Prácu sponzorovala Slovako-farma, a.s., Hlohovec, Slovenská republika.

- Kristek F., Gerová M., Devát L., Varga I.:** Remodelling of septal branch of coronary artery and carotid artery in L-NAME treated rats. *Physiol. Res.*, 45, 1996, s. 329—333.
- Kristek F., Gerová M., Devát L., Varga I.:** Cardiac hypertrophy and vascular remodelling in NO-deficient hypertension. *Endothelium*, 3, 1995, Suppl., s. 94.
- Krivišková Z., Šebeková K., Spustová V., Lajdová I., Džúrik R.:** Enalapril in subantihypertensive dosage attenuates kidney proliferation and functional recovery in normotensive ablation nephropathy of the rat. *Physiol. Res.*, 48, 1999, s. 429—435.
- Lee R.M.K.W.:** Vascular changes at the prehypertensive phase in the mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels*, 22, 1985, s. 105—126.
- Lemay J., Hou Y., deBlois D.:** Evidence that nitric oxide regulates AT1-receptor agonist and antagonist efficacy in rat injured carotid artery. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 35, 2000, s. 693—699.
- Mancia G., Mark A.L.:** Arterial baroreflex in humans. S. 755—761. In: Shepherd, Abbott (Eds.): *Handbook of Physiology. Section 2, Volume III.* American Physiological Society 1983.
- Megson I.L.:** Nitric oxide donor drugs. *Drugs Future*, 25, 2000, s. 701—715.
- Mittal C.K., Murad F.:** Guanylate cyclase: Regulation of cyclic GMP metabolism. S. 225—260. In: Nathanson J.A., Keabian J.W. (Eds.): *Cyclic nucleotides I.* Berlin—Heilderberg—New York, Springer 1982.
- Morton J.J., Beattie E.C., Speirs A., Gulliver F.:** Persistent hypertension following inhibition of nitric oxide formation in the young Wistar rat: role of renin and vascular hypertrophy. *J. Hypertens.*, 11, 1993, s. 1083—1088.
- Mülsch A., Mordvintcev P., Bassenge E., Jung F., Clement B., Busse R.:** In vivo spin trapping of glyceryl trinitrate-derived nitric oxide in rabbit blood vessels and organs. *Circulation*, 92, 1994, s. 1876—1882.
- Münzel T., Sayegh H., Freeman B.A., Tarpey M., Harrison D.G.:** Evidence for enhanced vascular superoxide anion production in nitrate tolerance. *J. Clin. Invest.*, 95, 1995, s. 187—194.
- Murrel W.:** Nitro-glycerine as a remedy for angina pectoris. *Lancet*, 1878, s. 80—81.
- Nakaki T., Nakayama M., Kato R.:** Inhibition by nitric oxide and nitric oxide-producing vasodilators of DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Europ. J. Pharmacol.*, 189, 1990, s. 347—353.
- Noack E., Feelisch M.:** Molecular aspects underlying the vasodilator action of molsidomine. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 14 1989, Suppl. 11, s. S1—5.
- Packer M., Lee W., Kessler P.D., Gottlieb S.S., Medina N., Yusuf S.:** Prevention and reversal of nitrate tolerance in patients with congestive heart failure. *New Engl. J. Med.*, 317, 1987, s. 799—804.
- Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S.:** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327, 1987, s. 524—526.
- Ribeiro M.O., Antunes E., De Nucci G., Lovisolio S.M., Zatz R.:** Chronic inhibition of nitric oxide do not elicit an acute negative inotropic effect in unstimulated cardiac muscle. *Circulat. Res.*, 75, 1992, s. 692—700.
- Ribeiro M.O., Antunes E., Muscara M.N., De Nucci G., Zatz R.:** Nifedipine prevents renal injury in rats with chronic nitric oxide inhibition. *Hypertension*, 26, 1995, s. 150—155.
- Rizvi M.A.D., Myers P.R.:** Nitric oxide modulates basal and endothelin-induced coronary artery vascular smooth muscle cell proliferation and collagen levels. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 29, 1997, s. 1779—1789.
- Rizzoni D., Castellano M., Porteri E., Bettoni G., Muiesan M.L., Cionelli A., Rosei A.:** Effects of low and high doses of fosinopril on the structure and function of resistance arteries. *Hypertension*, 26, 1995, s. 118—123.
- Rizzoni D., Castellano M., Porteri E., Bettoni G., Muiesan M.L., Rosei A.:** Delayed development of hypertension after short-term nitrendipine treatment. *Hypertension*, 24, 1994, s. 131—139.
- Schultz K.D., Schultz K., Schultz G.:** Sodium nitropruside and other smooth muscle relaxants increase cyclic GMP levels in rat ductus deferens. *Nature*, 265, 1997, s. 750—751.
- Watanabe H., Kakihami M., Otsuka S., Sugishita Y.:** Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental vitamin E on attenuation of the development of nitrate tolerance. *Circulation*, 96, 1997, s. 2545—2550.
- Watanabe H., Kakihami M., Otsuka S., Sugishita Y.:** Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental vitamin E on attenuation of the development of nitrate tolerance. *Circulation*, 97, 1998, s. 886—891.

Received January 27, 2001.

Accepted March 25, 2001.



## Abstrakt

Kristek F., Varga I.:

Benefičný účinok exogénnych donorov NO na morfológické zmeny vyvolané dlhodobým podávaním blokátora NO syntázy

Bratisl. lek. Listy, 102, 2001, č. 4, s. 200–208

Oxid dusnatý je dôležitým mediátorom, ktorý ovplyvňuje množstvo kardiovaskulárnych funkcií. Cieľom práce bolo sledovať efekt dlhodobého podávania blokátora NO-syntázy na štruktúru steny veľkých prívodných tepien. Druhým cieľom práce bolo určiť, či exogénne dodanie oxidu dusnatého (NO) môže predísť zmenám vyvolaným dlhodobým podávaním blokátora NO-syntázy.

Boli vykonané dva od seba nezávislé experimenty (A, B). Oba pozostávali z troch skupín 10-týždňových potkanov: 1. kontroly, 2. zvieratá, ktorým sa podával L-N<sup>G</sup>-nitroarginine methyl ester (L-NAME) vo vode (50 mg/kg), 3. v experimente A sa podával L-NAME (50 mg/kg vo vode) + PETN (2x50 mg/kg, sondou), v experimente B sa podával L-NAME (50 mg/kg vo vode) + molsidomín (2x50 mg/kg, sondou).

Tlak krvi (BP) sa meral vo všetkých skupinách chvostovou pletyzmografickou metódou.

Po 6 týždňoch sme potkany usmrtili a perfundovali glutaraldehydovým fixatívom pod tlakom rovným systolickému tlaku kontrolných zvierat 120 mmHg. Hrudnú aortu, krkavicu a koronárnu artériu sme spracovali metódou pre štandardnú elektrónovú mikroskopiu. Hrúbku steny (WT), plochu steny na priečnom reze (CSA) a vnútorný diameter (ID) sme merali vo svetelnom mikroskope.

Signifikantné zvýšenie BP, WT, CSA a WT/ID pomer (všetko  $p < 0,01$ ) sme zistili po podávaní L-NAME pri artériách okrem WT/ID v koronárnej artérii v experimente A, kde zvýšenie nebolo signifikantné. ID nebol zmenený.

Spoločné podávanie PETN, resp. molzidomínu potkanom, ktorým sme podávali L-NAME, spôsobilo zmenšenie zmien v BP, WT, CSA a WT/ID, okrem WT/ID v koronárnych artériách v experimente A, kde zmenšenie zmien nebolo signifikantné.

Vnútorný diameter bol signifikantne zväčšený len v hrudnej aorte v experimente A.

Možno konštatovať, že dlhodobá inhibícia NO-syntázy spôsobuje výrazné morfológické zmeny v stene prívodných tepien. Nahradenie dlhodobého nedostatku endogénneho NO exogénnymi donorami NO vyvoláva výrazný benefičný účinok vo všetkých sledovaných parametroch. (Obr: 4, lit. 54.)

Kľúčové slová: oxid dusnatý, L-NAME, pentaerythryltetranitrát, molzidomín, morfometria, hypertenzia.