

The effect of neuronal NO-synthase inhibition on the cardiovascular system of Wistar rats from the prenatal period to adulthood

Vplyv inhibície neuronálnej NO-syntázy na kardiovaskulárny systém Wistar potkanov od prenatalného obdobia do dospelosti

Drobná M, Čačányiová S, Berényiová A, Kristek F

Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum excelentnosti pre výskum regulačnej úlohy oxidu dusnatého v chorobách z civilizácie, SAV, Bratislava, Slovenská republika

Drobná M, Čačányiová S, Berényiová A, Kristek F. **The effect of neuronal NO-synthase inhibition on the cardiovascular system of Wistar rats from the prenatal period to adulthood.** Cardiology Lett. 2014;23(2):133–138

Abstract. *Aim:* The long-term decrease of nitric oxide (NO) production evokes serious alterations in the cardiovascular system. The aim of this study was to investigate the long-term effect of neuronal NO-synthase (nNOS) inhibition with 7-nitroindazole (7-NI) on blood pressure, heart, kidneys, thoracic aorta and carotid artery of normotensive Wistar rats from the prenatal period to early adulthood.

Methods: In the experimental group 4-week-old males (n=10) were treated with 7-NI (10 mg/kg/day, in drinking water) for six weeks. The animals were offspring of mothers who had been administered 7-NI (10 mg/kg/day) in drinking water from two weeks before pregnancy until end of weaning. Age-matched animals (n=10) were taken into control group. Blood pressure was measured weekly noninvasively by the plethysmographic method on the tail artery. After perfusion with a glutaraldehyde fixative (120 mmHg), the heart and kidneys were weighed and the thoracic aorta and carotid arteries were processed for morphological investigation.

Results: Long-term administration of 7-NI resulted, in spite of unchanged blood pressure and body weight compared with the control group, in decrease of heart and kidney weight. Morphological investigation of the vessel wall (tunica intima+media) of experimental rats revealed a decrease of the wall thickness, cross sectional area and wall thickness/inner diameter ratio, without affecting the inner diameter in the both conduit arteries. Circumferential tension of thoracic aorta and carotid artery was increased.

Conclusion: Chronic NO deficiency due to the inhibition of nNOS from prenatal period to adulthood resulted in pressure-independent hypotrophy of the heart, kidney and arterial wall of conduit arteries in normotensive Wistar rats. Fig. 3, Tab. 1, Ref. 28, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Key words: 7-nitroindazole – nitrid oxide – conduit arteries – structure

Drobná M, Čačányiová S, Berényiová A, Kristek F. **Vplyv inhibície neuronálnej NO-syntázy na kardiovaskulárny systém Wistar potkanov od prenatalného obdobia do dospelosti.** Cardiology Lett. 2014;23(2):133–138

Abstrakt. *Cieľ:* Dlhodobé zníženie produkcie oxidu dusnatého (NO) vyvoláva závažné zmeny v kardiovaskulárnom systéme. Cieľom tejto štúdie bolo sledovať účinok dlhodobej inhibície neuronálnej NO-syntázy (nNOS) na tlak krvi, srdce, obličky a štruktúru hrudnej aorty a karotickej artérie od začiatku prenatalného obdobia do dospelosti u Wistar potkanov.

Metódy: Do experimentálnej skupiny boli zaradené štvrtýždňové samce (n = 10), ktoré dostávali počas šiestich týždňov špecifický inhibitor nNOS, 7-nitroindazol (7-NI) (10 mg/kg/deň) v pitnej vode. Potkany boli

od matiek, ktorým sa podával 7-NI (10 mg/kg/deň) v pitnej vode od dvoch týždňov pred graviditou až do odstavu mláďat. Kontrolná skupina bola vytvorená z rovnako starých zvierat ($n = 10$). V oboch skupinách sa tlak krvi meral týždenne neinvazívnou pletysmografickou metódou na chvostovej artérii. Po perfúznej fixácii s glutaraldehydom (120 mmHg) sa srdce a obličky odvážili a hrudná aorta a karotická artéria boli spracované na morfológické vyšetrenia.

Výsledky: Podávaním 7-NI sa napriek nezmenenému tlaku krvi a hmotnosti tela v porovnaní s kontrolnou skupinou znížila hmotnosť srdca a obličiek. Morfológické vyšetrenie cievnej steny (tunica intima + media) u oboch prírodných artérií odhalilo v experimentálnej skupine zmenšenú hrúbku steny, plochu steny na priečnom priereze a zmenšený pomer hrúbky steny k vnútornému diametru bez zmeny vnútorného diametra. Z nameraných hodnôt sme zistili zvýšenú cirkumferenčnú tenziu v hrudnej aorte a karotickej artérii.

Záver: Deficit produkcie NO inhibíciou nNOS, od prenatálneho štádia vývinu do dospelosti, má za následok vznik tlakovo nezávislej hypotrofie srdca, obličiek a cievnej steny prírodných artérií u normotenzných Wistar potkanov. Obr. 3, Tab. 1, Lit. 28, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: 7-nitroindazol – oxid dusnatý – prírodné artérie – štruktúra

Jedným z najdôležitejších rizikových faktorov rozvoja kardiovaskulárnych chorôb je vysoký krvný tlak (TK). Chronicky zvýšený TK vyvoláva funkčné a štruktúrne zmeny v cievnej stene a súčasne je týmito zmenami spätne modulovaný. Prvotná príčina vzniku esenciálnej hypertenzie však nie je objasnená. V regulácii TK sú zapojené mnohé mechanizmy, ktoré svojimi vazokonstriktorskými alebo vazodilatačnými účinkami zabezpečujú optimálnu funkciu kardiovaskulárneho systému. K vazorelaxácii významnou mierou prispieva aj oxid dusnatý (NO), ktorý je pri fyziologických podmienkach konštitutívne tvorený endotelovou (eNOS) a neuronálnou (nNOS) izoformou NO-syntázy (NOS). Deficit NO vyvoláva v kardiovaskulárnom systéme (1, 2) patologické zmeny podobné zmenám zisteným pri esenciálnej hypertenzii. V experimentoch sa na vyvolanie NO deficiencie najčastejšie používa blokátor N^G -nitro-L-arginín metylester (L-NAME). Aj keď účinok L-NAME nie je špecifický, pre opakovane potvrdené zníženie od endotelu závislej relaxácie na acetylcholín (3, 4), plní predovšetkým funkciu blokátora eNOS. Viacerí autori vo svojich štúdiách preukázali, že trvalo zvýšený TK vyvolaný dlhodobým podávaním L-NAME (5 – 8) sprevádza hypertrofia srdca a hypertrofia steny prírodných aj rezistentných artérií. Úlohu NO pri udržiavaní optimálnej funkcie kardiovaskulárneho systému potvrdzuje aj podávanie exogénnych donorov NO potkanom s L-NAME vyvolanou NO deficitnou hypertenziou. Benefičný účinok donorov sa prejavil na znížení TK, zníženej trofike srdca a cievnej steny, štruktúre prírodných artérií a na zlepšení funkčných vlastností kardiovaskulárneho systému (9, 10).

Na rozdiel od jednoznačného účinku inhibície eNOS, účinok inhibície nNOS na kardiovaskulárny systém nie je jednoznačný. Dlhodobé podávanie špecifického blokátora nNOS, 7-nitroindazolu (7-NI), dospelým normotenzným (10 – 15) a dospelým spontánne hypertenzným potkanom (16, 17) nevyvoláva zmenu TK. Predchádzajúce práce z nášho laboratória preukázali, že dlhodobé podávanie 7-NI vyvoláva od TK nezávislú hypotrofiu srdca a hypotrofiu steny prírodných artérií (15, 18, 19).

Podrobnejšie štúdie venované ultraštruktúre cievnej steny u 7-NI vyvolanej hypotrofie odhalili v prírodných artériách zníženie masy hladkosvalových a endotelových buniek, kým extracelulárna matrix v tunica intima a media sa významne nezmenila. V súlade so zistenými štruktúrnymi zmenami sme zistili oslabenie kontraktilnej odpovede hrudnej aorty na noradrenalin (14). Uvedené výsledky naznačujú odlišnú, až protichodnú úlohu eNOS a nNOS pri regulácii kardiovaskulárneho systému u normotenzných Wistar potkanov.

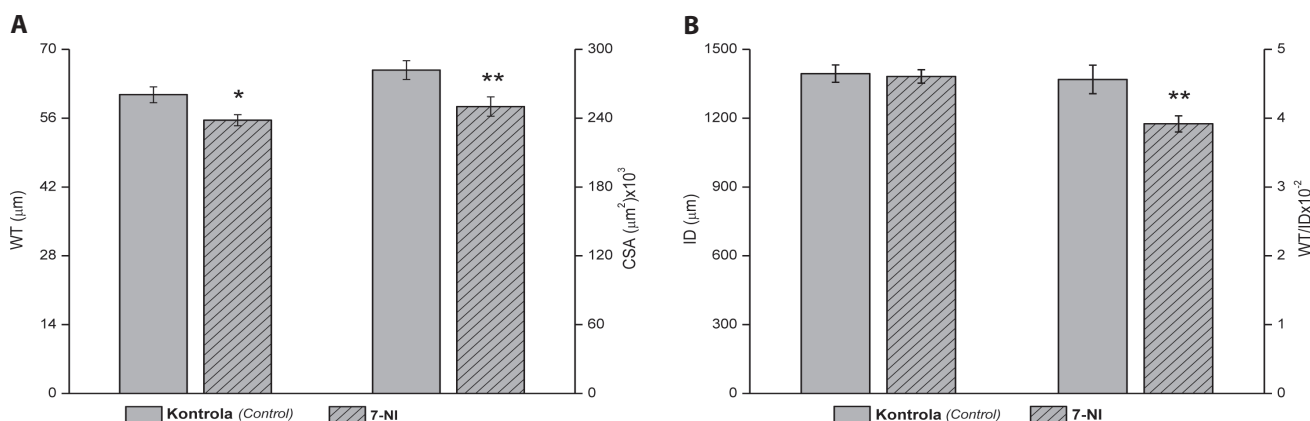
Cieľom tejto práce bolo sledovať vplyv podávania 7-NI na kardiovaskulárne funkcie Wistar potkanov, ktoré boli potomkami matiek liečených so 7-NI počas gravidity a dojčenia. Sledovali sme, či inhibícia nNOS počas skorého prenatálneho vývoja a následne do obdobia pohlavnej dospelosti (do veku 10 týždňov) vyvolá podobné zmeny, ako sme zistili u dospelých Wistar potkanov, ktorým bol 7-NI podávaný od 10. do 16. týždňa veku.

Štúdie regulačných systémov, osobitne v skorých vývojových štádiách, by mohli viesť k lepšiemu pochopeniu úlohy nNOS v organizme a predovšetkým môžu poskytnúť vhodnú príležitosť preventívne pôsobiť proti rozvoju patologických zmien v kardiovaskulárnom systéme.

Metodika

Experimenty na zvieratách sa uskutočnili v súlade s ústavnými smernicami odsúhlasenými Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR a Etickou komisiou podľa Európskej dohody na ochranu zvierat použitých na experimentálne a iné vedecké účely (smernica 2010/63/EU Európskeho parlamentu). Zvieratá boli chované pri teplote 22 – 24 °C, 12-hodinovom cykle svetlo/tma a kŕmené peletami pre laboratórne potkany.

V experimentálnej skupine boli tri samice Wistar potkanov. Od veku 10 týždňov dostávali inhibítor nNOS, 7-NI, v pitnej vode (10 – 12 mg/kg/deň). V druhom týždni podávania 7-NI došlo k oplodneniu samičiek. V podávaní



Obrázok 1 A) Hrúbka (WT) a plocha (CSA) cievnej steny (tunica intima + media) na priečnom priereze, B) vnútorný diameter (ID) a pomer hrúbka cievnej steny/vnútorný diameter (WT/ID) hrudnej aorty u kontrolných Wistar potkanov (Kontrola, n = 10) a Wistar potkanov, ktorým sa podával 7-nitroindazol (7-NI, n = 10). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. kontrolné Wistar potkany

Figure 1 A) Wall thickness (WT) and cross sectional area (CSA) of arterial wall (tunica intima+media), B) inner diameter (ID) and wall thickness/inner diameter ratio (WT/ID) of thoracic aorta in control Wistar rats (Control, n=10) and Wistar rats treated with 7-nitroindazole (7-NI, n=10). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. control Wistar rats

7-NI sa pokračovalo počas gravidity a dojčenia. V štvrtom týždni veku mláďat bolo desať samcov odstavených od matiek a zaradených do experimentálnej skupiny. Týmto mláďatám sa naďalej podával 7-NI v pitnej vode (10 – 12 mg/kg/deň) až do veku 10 týždňov. Kontrolná skupina bola vytvorená z rovnakého počtu mláďat od troch matiek rovnakého veku chovaných v rovnakých podmienkach ako matky experimentálnej skupiny.

Mláďatá boli od 28. dňa po narodení každý týždeň vážené a bol im meraný TK neinvazívnou pletyzmografickou metódou na chvostovej artérii. Desať týždňov starým zvieratám bola i.p. podaná zmes zoletil + xylazín a následne sa použili pre morfológickú štúdiu. Cez kanylu zavedenú do ľavej komory srdca bol fixatívom (300 mmol/l glutaraldehydu v 100 mmol/l fosfátového pufru) pod tlakom 120 mmHg počas 10 minút perfundovaný kardiovaskulárny systém. Po perfúzii boli odobraté obe obličky, srdce, hrudná aorta a stredná časť karotickej artérie. Obličky a srdcia sa odvážili, ich vzorky a vzorky ciev boli po očistení spracované metódou pre elektrónovú mikroskopiu. Dva náhodne vybrané bločky z každej cievy sa krájali kolmo na pozdĺžnu os cievy. Vnútorný obvod a hrúbka cievnej steny (tunica intima a media) (WT)

sa merali vo svetelnom mikroskope, z nameraných hodnôt bol vypočítaný vnútorný diameter (ID) a plocha cievnej steny (CSA) (tunica intima a media) na priečnom priereze $CSA = \pi[(ID/2 + WT)^2 - (ID/2)^2]$. Z hodnôt TK, vnútorného diametera a hrúbky cievnej steny bola vypočítaná cirkumferenčná tensia ($TK \times ID/WT$).

Získané údaje boli vyjadrené ako priemerná hodnota $\pm$ S.E.M. Štatistická významnosť sa hodnotila analýzou Anova a následne Bonferroniho testom pre nepárovú premennú. Výsledky na úrovni $p < 0,05$ sa považovali za štatisticky významné.

Výsledky

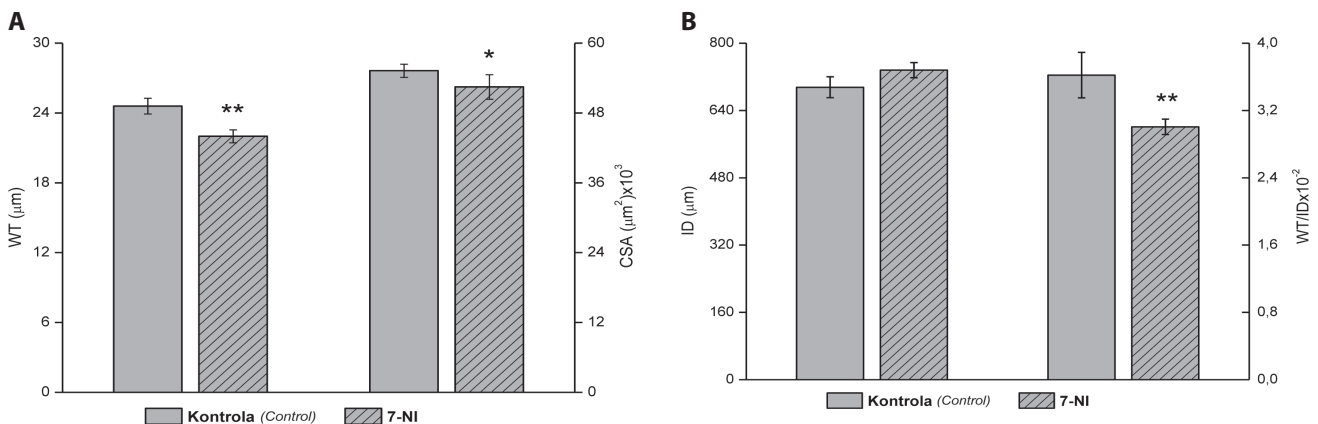
Základné kardiovaskulárne parametre

Podávanie 7-NI nevyvolalo počas experimentu zmenu TK v porovnaní s kontrolnou skupinou (TK sa meral od 4. do 10. týždňa veku zvierat). Na konci experimentu sa u desať týždňov starých zvierat hmotnosť tela a hmotnosť srdca medzi oboma skupinami neodlišovala. Pomer hmotnosti srdca k hmotnosti tela (HW/BW) sa však po podávaní 7-NI v po-

Tabuľka 1 Vplyv dlhodobého podávania 7-nitroindazolu na tlak krvi (TK), hmotnosť tela (BW), hmotnosť srdca (HW), pomer hmotnosti srdca k hmotnosti tela (HW/BW) a pomer hmotnosti obličky k hmotnosti tela (KW/BW) u Wistar potkanov (7-NI, n = 10). ** $p < 0,01$ vs. kontrolné Wistar potkany (Kontrola, n = 10)

Table 1 The long-term effect of 7-nitroindazole administration on blood pressure (TK), body weight (BW), heart weight (HW), heart weight/body weight ratio (HW/BW), and kidney weight/body weight ratio (KW/BW) of Wistar rats (7-NI, n=10). ** $p < 0,01$ vs. control Wistar rats (Control, n=10)

	TK (mmHg)	BW (g)	HW (mg)	HW/BW	KW/BW
Kontrola (Control)	114 $\pm$ 3,19	231 $\pm$ 9,06	768 $\pm$ 27,46	3,33 $\pm$ 0,13	9,55 $\pm$ 0,44
7-NI	112 $\pm$ 2,81	254 $\pm$ 11,79	738 $\pm$ 36,16	2,90 $\pm$ 0,05**	7,72 $\pm$ 0,18**



Obrázok 2 A) Hrúbka (WT) a plocha (CSA) cievnej steny (tunica intima + media) na priečnom priereze, B) vnútorný diameter (ID) a pomer hrúbka cievnej steny/vnútorný diameter (WT/ID) karotickej artérie u kontrolných Wistar potkanov (Kontrola, n = 10) a Wistar potkanov, ktorým sa podával 7-nitroindazol (7-NI, n = 10). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. kontrolné Wistar potkany

Figure 2 A) Wall thickness (WT) and cross sectional area (CSA) of arterial wall (tunica intima+media), B) inner diameter (ID) and wall thickness/inner diameter ratio (WT/ID) of carotid artery in control Wistar rats (Control, n=10) and Wistar rats treated with 7-nitroindazole (7-NI, n=10). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. control Wistar rats

rovnaní s kontrolnou skupinou znížil. Rovnako sa významne znížil pomer hmotnosti obličky k hmotnosti tela (KW/BW) v experimentálnej skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou. Hodnoty základných kardiovaskulárnych parametrov sú uvedené v **tabuľke 1**.

Geometria hrudnej aorty a karotickej artérie

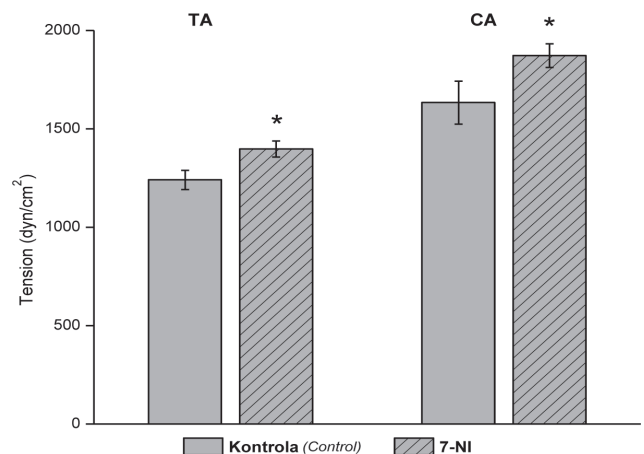
Hrúbka cievnej steny (intima + média) oboch artérií sa po podávaní 7-NI oproti kontrolnej skupine zmenšila, hrudnej aorty približne o 9 % ($55,58 \pm 1,13 \mu\text{m}$ vs. $60,77 \pm 1,60 \mu\text{m}$, $p < 0,05$) a karotickej artérie približne o 12 % ($21,69 \pm 0,54 \mu\text{m}$ vs. $24,59 \pm 0,68 \mu\text{m}$, $p < 0,01$) (**obrázok 1A**, **obrázok 2A**).

Dlhodobé podávanie 7-NI vyvolalo pokles CSA hrudnej aorty približne o 12 % ($250130 \pm 8407 \mu\text{m}^2$ vs. $281890 \pm 8180 \mu\text{m}^2$, $p < 0,01$), karotickej artérie približne o 9 % ($50494 \pm 1665 \mu\text{m}^2$ vs. $55252 \pm 1141 \mu\text{m}^2$, $p < 0,05$) (**obrázok 1A**, **obrázok 2A**).

Po podávaní 7-NI sa pri porovnaní s kontrolnou skupinou nezistili významné zmeny v ID ani pri hrudnej aorte ($1382 \pm 29 \mu\text{m}$ vs. $1394 \pm 38 \mu\text{m}$) ani pri karotickej artérii ($721 \pm 15 \mu\text{m}$ vs. $695 \pm 25 \mu\text{m}$) (**obrázok 1B**, **obrázok 2B**).

Podávanie 7-NI vyvolalo signifikantné zníženie pomeru WT/ID ciev, pri hrudnej aorte približne o 14 % ($3,917 \pm 0,118$ vs. $4,563 \pm 0,207$, $p < 0,01$), pri karotickej artérii približne o 16 % ($3,025 \pm 0,094$ vs. $3,62 \pm 0,271$, $p < 0,01$) (**obrázok 1B**, **obrázok 2B**).

Hodnota cirkumferenčnej tenzie sa po podávaní 7-NI zväčšila pri hrudnej aorte približne o 13 % (1241 ± 49 vs. $1398 \pm 41 \text{ mmHg}$, $p < 0,01$) a pri karotickej artérii približ-



Obrázok 3 Cirkumferenčná tenzia v stene hrudnej aorty (TA) a karotickej artérie (CA) kontrolných Wistar potkanov (Kontrola, n = 10) a Wistar potkanov, ktorým sa podával 7-nitroindazol (7-NI, n = 10). * $p < 0,05$ vs. kontrolné Wistar potkany

Figure 3 Circumferential wall tension in wall of the thoracic aorta (TA) and carotid artery (CA) in control Wistar rats (Control, n=10) and rats treated with 7-nitroindazole (7-NI, n=10). * $p < 0,05$ vs. control Wistar rats

ne o 15 % (1633 ± 109 vs. $1872 \pm 60 \text{ mmHg}$, $p < 0,01$) (**obrázok 3**).

Diskusia

Hlavným nálezom tejto štúdie je, že podávanie 7-NI normotenzným Wistar potkanom počas fetálneho obdobia, dojčenia a následne do 10. týždňa veku vyvoláva od tlaku

nezávislú hypotrofiu srdca a obličiek a hypotrofiu steny prívodných artérií.

Tlak krvi meraný týždenne od štvrtého týždňa veku zvierat do konca experimentu sa po podávaní 7-NI neodlišoval od kontrolnej skupiny. V literatúre nie sú údaje iných autorov o účinku 7-NI podávaného od skorého prenatalného vývoja do dospelosti pre porovnanie našich výsledkov. Nezmenený krvný tlak po podávaní 7-NI je v dobrej zhode s výsledkami experimentov, v ktorých sa inhibitor podával počas niekoľkých dní, alebo niekoľkých týždňov dospelým normotenzným potkanom (11 – 15).

Aj keď podávanie 7-NI v experimentálnej skupine nevyvolalo významnú zmenu hmotnosti tela a ani hmotnosti srdca (zistil sa mierny nárast telesnej hmotnosti a naopak mierny pokles hmotnosti srdca), pomer hmotnosti srdca k hmotnosti tela bol oproti kontrolnej skupine významne znížený, čo poukazuje na hypotrofiu srdca. Otázkou zostáva, či hypotrofia srdca (úbytok masy myokardu) bez adekvátneho zníženia TK je benefičný účinok, alebo či bude postupne viesť až k srdcovému zlyhávaniu.

Po podávaní 7-NI sa zistila hypotrofia nielen myokardu, ale aj cievnej steny tak hrudnej aorty, ako aj karotickej artérie. V oboch cievnach došlo po podávaní 7-NI k zmenšeniu hrúbky a plochy steny bez zmeny vnútorného diametra. Tieto zmeny sú podobné zmenám zisteným v stene prívodných artérií po šesťtyždňovom podávaní 7-NI dospelým Wistar potkanom (14, 15). Pre porovnanie, podávanie L-NAME dospelým Wistar potkanom bolo naopak spojené so zvýšením TK, hypertrofiou srdca a steny prívodných artérií (3, 4, 20).

Príčiny vzniku hypotrofie srdca, obličiek (znížený pomer hmotnosti obličiek k hmotnosti tela) a cievnej steny prívodných artérií po 7-NI bez zmeny tlaku krvi nie sú známe. Ako ukazujú naše výsledky a výsledky iných autorov, špecifická inhibícia nNOS so 7-NI a nespecifická inhibícia eNOS s L-NAME nemá identický účinok na kardiovaskulárny systém dospelých normotenzných potkanov. Protichodné účinky môžu súvisieť s odlišnou úlohou NO syntetizovaného rôznymi izoformami NOS, môžu tiež závisieť od miesta syntézy, koncentrácie NO a jeho účinku na lokálne regulačné systémy. Obe izoformy NOS sú prítomné v rôznych tkanivách v odlišných koncentráciách (21). Kým eNOS je lokalizovaná predovšetkým v endotelových bunkách, nNOS bola primárne nájdená v nervovom systéme (22). Za miesto vysokej koncentrácie nNOS boli označené aj obličky, predovšetkým bunky macula denza juxtaglomerulárneho aparátu (23, 24). Viaceré vlastnosti 7-NI, ako orgánová selektivita a schopnosť prešupovať cez placentu a do materského mlieka, nie sú známe. 7-NI sa javí ako vhodný inhibítor nNOS pri objasňovaní účinkov NO v centrálnom nervovom systéme vďaka jeho pasívnemu transportu cez mozgovú bariéru (25). 7-NI je považovaný za selektívny blokátor nNOS, pri vysokých koncentráciách (25 – 100 mg/kg) môže čiastočne blokať aj

eNOS (26). Zistilo sa, že NO produkované nNOS sa podieľa na stimulácii syntézy renínu a nNOS je hlavným regulátorom renálnej hemodynamiky (11). Predpokladáme, že NO deficiencia vyvolaná inhibíciou nNOS vedie k poklesu syntézy renínu a tým k poklesu produkcie angiotenzínu II. Silný proliferatívny a trofický účinok angiotenzínu II na kardiovaskulárny systém môže byť zníženou tvorbou renínu výrazne oslabený. Znížený účinok renín-angiotenzínového systému môže zároveň tlmieť nárast tlaku krvi po deficite NO. Silnejší trofický účinok angiotenzínu II v porovnaní s NO by mohol byť príčinou vzniku hypotrofie tak srdca, ako aj obličiek a cievnej steny prívodných artérií po inhibícii nNOS.

Zásobovanie tkanív krvou pre aktuálne metabolické potreby závisí od vzájomného vzťahu medzi tlakom krvi, cievnu stenou a diametrom cievy. Ich vzájomný pomer určuje cirkumferenčnú tenziu ($TK \times ID/WT$) v cievnej stene. Zmena jedného z parametrov bez kompenzačných zmien ostatných parametrov má za následok zmenu cirkumferenčnej tenzie v cievnej stene a môže výrazne ovplyvňovať funkciu a štruktúru kardiovaskulárneho systému. Zníženie hrúbky cievnej steny bez zmien TK a diametra cievy po 7-NI vyvolalo nárast cirkumferenčnej tenzie. Zvýšená cirkumferenčná tenzia sa pokladá za primárny faktor, ktorý prispieva k vzniku patologických zmien v cievnej stene (27, 28).

Záver

Výsledky experimentu naznačujú, že odpovede kardiovaskulárneho systému sú výrazne odlišné v závislosti od inhibície NO-syntáz so 7-NI a L-NAME. Mechanizmy rozdielnych účinkov nie sú známe. Sú potrebné ďalšie experimenty na objasnenie rôznych úloh NO v kardiovaskulárnom systéme a na preukázanie presnej úlohy NO v jednotlivých fyziologických procesoch. Lepšie pochopenie vzťahu medzi faktormi kontrolujúcimi kardiovaskulárne funkcie môže pomôcť presnejšie vysvetliť funkčné odlišnosti prebiehajúce v cievnach v odlišných typoch hypertenzie.

Podakovanie

Autori ďakujú pani Ľubici Kosnáčovej za technickú asistenciu.

Práca bola finančne podporená grantom VEGA 2/0067/13 a grantom Ministerstva zdravotníctva SR 2012/51-SAV-1.

Literatúra

1. Arnal JF, Tack I, Besombes JP, Pipy B, Negre-Salvayre A. Nitric oxide and superoxide anion production during endothelial cell proliferation. *Am J Physiol.* 1996; 271:C1521-526.

2. Delacrétaz E, Hayoz D, Osterheld MC, Genton CY, Brunner HR, Waeber B. Long-term nitric oxide synthase inhibition and distensibility of carotid artery in intact rats. *Hypertension*. 1994;23:967-970.
3. Torok J. Histamine-induced relaxation in pulmonary artery of normotensive and hypertensive rats: relative contribution of prostanooids, nitric oxide and hyperpolarization. *Physiol Res* 2000;49:107-114.
4. Torok J. Participation of nitric oxide in different models of experimental hypertension. *Physiol Res* 2008;57:813-825.
5. Morton JJ, Beattie EC, 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* 1993;11:1083-1088.
6. Delacretaz E, Hayoz D, Osterheld MC, Genton CY, Brunner HR, Waeber B. Long-term nitric oxide synthase inhibition and distensibility of carotid artery in intact rats. *Hypertension* 1994;23:967-970.
7. Kristek F, Gerova M. Long-term NO synthase inhibition affects heart weight and geometry of coronary and carotid arteries. *Physiol Res* 1996;45:361-367.
8. Pessanha MG, Mandarin-de-Lacerta CA. Influence of the chronic nitric oxide synthesis inhibition on cardiomyocyte number. *Virchows Arch* 2000;437:667-674.
9. Kristek F. Pentaerythrityl tetranitrate attenuates structural changes in conduit arteries evoked by long-term NOSynthase inhibition. *Br J Pharmacol* 2000;130:450-456.
10. Gerova M, Kristek F. Efficiency of NO donors in substituting impaired endogenous NO production: a functional and morphological study. *Physiol Res* 2001;50:165-173.
11. Beierwaltes WH. Macula densa stimulation of renin is reversed by selective inhibition of neuronal nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1997;272:R1359-R1364.
12. Wangenstein R, Sainz L, Rodriguez-Gomez I, Moreno JM, Osuna A, Vargas F. Chronic blockade of neuronal nitric oxide synthase does not affect long-term control of blood pressure in normal, saline-drinking or deoxycorticosterone-treated rats. *Exp Physiol* 2003;88:243-250.
13. Wangenstein R, Rodriguez-Gomez I, Moreno JM, Alvarez-Guerra M, Osuna A, Vargas F. Effects of chronic treatment with 7-nitroindazole in hyperthyroid rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;291:R1376-R1382.
14. Cacanyiova S, Kristek F, Gerova M, Krenek P, Klimas J. Effect of chronic nNOS inhibition on blood pressure, vasoactivity, and arterial wall structure in Wistar rats. *Nitric Oxide* 2009;20:304-310.
15. Kristek F, Cacanyiova S, Gerova M. Hypotrophic effect of long-term neuronal NO-synthase inhibition on heart and conduit arteries of the Wistar rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60:21-27.
16. Fouyas IP, Kelly PA, Ritchie IM, Whittle IR. Cerebrovascular effects of nitric oxide manipulation in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*. 1997;121(1):49-56.
17. Cacanyiova S, Kristek F, Malekova M, Ondrias K. Effect of chronic neuronal nitric oxide-synthase inhibition on arterial function and structure in spontaneously hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol* 2012;63:23-28.
18. Kristek F, Malekova M, Ondrias K, Cacanyiova S. Blood pressure-independent hypotrophy of the heart, kidneys and conduit arteries after 7-nitroindazole administration to Wistar rats from the prenatal period to adulthood. *J Physiol Pharmacol* 2013;64(1):35-39.
19. Kristek F, Malekova M, Cacanyiova S. Protichodný účinok inhibície endotelovej a neuronálnej NO-syntázy na kardiovaskulárny systém v experimente. *Cardiology Lett*. 2011;20(2):105-112.
20. Torok J, Kristek F. Functional and morphological pattern of vascular responses in two models of experimental hypertension. *Exp Clin Cardiol* 2001;6:142-148.
21. Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *N Engl J Med* 2006;355:2003-2011.
22. Pechanova O, Kunes J, Dobesova Z, Vrankova S, Zicha J. Contribution of neuronal nitric oxide (no) synthase to n-acetylcysteine-induced increase of no synthase activity in the brain of normotensive and hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60:21-25.
23. Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997;272:F561-F578.
24. Thorup C, Persson AEG. Nitric oxide and renal blood pressure regulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998;7:197-202.
25. Bush MA, Pollack GM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of 7-Nitroindazole, a Selective Nitric Oxide Synthase Inhibitor, in the Rat Hippocampus. *Pharm Res* 2001;18(11):1607-1612.
26. Ayajiki K, Fujioka H, Okamura T, Toda N. Relatively selective neuronal nitric oxide synthase inhibition by 7-nitroindazole in monkey isolated cerebral arteries. *Eur J Pharmacol* 2001; 423:179-183.
27. Bokov P, Chironi G, Orobinskaia L, Flaud P, Simon A. Carotid circumferential wall stress homeostasis in early remodeling: theoretical approach and clinical application. *J Clin Ultrasound* 2012;40:486-494.
28. Jacobsen JC, Holstein-Rathlou NH. Life under pressure: circumferential stress in the microvascular wall. *Basic Clin Pharmacol* 2012;110:26-34.