

Compensatory effects of nitric oxide and hydrogen sulfide in thoracic aorta in conditions of essential hypertension

Kompenzačné účinky oxidu dusnatého a sírovodíka v hrudníkovej aorte v podmienkach esenciálnej hypertenzie

Čačányiová S¹, Berényiová A¹, Cebová M¹, Kristek F^{1†}, Drobná M¹, Ondriaš K², Grman M²

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Cacanyiova S, Berenyiova A, Cebova M, Kristek F[†], Drobna M, Ondrias K, Grman M. **Compensatory effects of nitric oxide and hydrogen sulfide in thoracic aorta in conditions of essential hypertension.** Cardiology Lett. 2018;27(4):185–191

Abstract. Several studies have already confirmed the cross-talk between nitric oxide (NO) and hydrogen sulfide (H₂S) signaling systems in normotensive rats, but results in spontaneously hypertensive rats (SHRs) are limited. The aim of this study was to describe the vasoactive effects of endogenous NO and exogenous Na₂S and their interaction in vasomotor responses of the thoracic aorta (TA) in young (4 weeks old) and adult (16 weeks old) normotensive Wistar rats and SHRs. Although hypertrophy of the heart was observed in young and adult SHRs, the sBP was increased only in adulthood. The contractile responses of the TA were decreased in young as in adult SHRs with the key participation of the endogenous NO/NO-synthase system. NO-dependent component of acetylcholine-induced relaxation was higher in the young SHRs and comparable in the adult SHRs. NOS activity was higher in the young SHRs as well as in the adult SHRs. The acute NO inhibition generally increased the relaxant phase of H₂S donor responses; nevertheless, the development of hypertension potentiated this effect. The TA of the SHRs is endowed with a unique inherent predisposition of vasoactive mechanisms, which serve as compensatory processes during the developed stage of hypertension: the NO component and H₂S signaling pathways are implicated. Fig. 5, Tab. 2, Ref. 15, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Key words: nitric oxide – hydrogen sulfide – thoracic aorta – spontaneously hypertensive rats

Čačányiová S, Berényiová A, Cebová M, Kristek F[†], Drobná M, Ondriaš K, Grman M. **Kompenzačné účinky oxidu dusnatého a sírovodíka v hrudníkovej aorte v podmienkach esenciálnej hypertenzie.** Cardiology Lett. 2018;27(4):185–191

Abstrakt. Interakciu medzi signálnymi dráhami oxidu dusnatého (NO) a sírovodíka (H₂S) už potvrdili viaceré štúdie u normotenzných potkanov, avšak výsledky u spontánne hypertenzných potkanov (SHR) sú limitované. Cieľom štúdie bolo charakterizovať vazoaktívne účinky endogénneho NO a exogénneho H₂S a ich interakciu vo vazomotorických odpovediach hrudníkovej aorty (HA) u mladých (4-týždňových) a dospelých (16-týždňových) normotenzných Wistar potkanov a SHR. Hoci hypertrofia srdca sa pozorovala tak u mladých, ako aj dospelých SHR, hypertenzia bola zaznamenaná len u dospelých SHR. Kontraktilné odpovede HA boli zmenšené tak u mladých, ako aj u dospelých SHR, s výrazným podielom endogénneho NO systému. NO-závislá zložka acetylcholínom vyvolanej relaxácie bola väčšia u mladých a porovnateľná u dospelých SHR. Aktivita NO-syntázy bola zvýšená u oboch vekových skupín SHR. Akútna endogénna inhibícia NO vše-

Z ¹Ústavu normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Bratislava a ²Ústavu klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 14. augusta 2018; prijaté dňa 17. augusta 2018

Adresa pre korešpondenciu: RNDr. Soňa Čačányiová, PhD., Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Sienkiewiczova 1, 813 71 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: sona.cacanyiova@savba.sk

obecne zvýšila relaxačnú fázu odpovedí H_2S donora, avšak rozvoj hypertenzie tento efekt ešte potencioval. Hrudníková aorta SHR je vybavená vrodennou predispozíciou vazoaktívnych mechanizmov zahŕňajúcich tak NO, ako aj H_2S signálnu dráhu, ktoré slúžia ako kompenzačné v štádiu rozvinutej hypertenzie. Obr. 5, Tab. 2, Lit. 15, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Kľúčové slová: oxid dusnatý – sírovodík – hrudníková aorta – spontánne hypertenzné potkany

Aorta má vďaka jej elasticite významnú úlohu pri šírení pulzovej vlny a zúčastňuje sa aj na kontrole systémovej cievnej rezistencie a frekvencie srdca. Zvýšená tuhosť aorty ako jedno z predklinických kardiovaskulárnych ochorení vedie k poruche pružníkovej funkcie a môže byť integrujúcim ukazovateľom kardiovaskulárneho rizika u pacientov s arteriálnou hypertenziou. Je preto dôležité charakterizovať funkčné vlastnosti aorty už v skorom prehypertenznom štádiu vývinu a následne zistiť, ako budú modifikované v rozvinutom štádiu hypertenzie. Po zistení vazorelaxačných vlastností oxidu dusnatého (NO) vznikla otázka, či defekt v jeho produkcii nie je zodpovedný za zmeny v kardiovaskulárnom systéme arteriálnej hypertenzie. Zvieracím modelom ľudskej esenciálnej hypertenzie sú spontánne hypertenzné potkany (SHR). V prírodných artériách plodov a novorodencov SHR bol demonštrovaný úplne funkčný NO systém (1). Na druhej strane, u dospelých SHR, ako aj v izolovaných ľudských cievach sa vzhľadom na endotelovú reguláciu pozorovali protichodné výsledky: tak inhibícia, ako aj potenciácia NO závislej relaxácie spojená so zníženou či zvýšenou produkciou NO cievnu stenou (2, 3). Naše predchádzajúce výsledky (4) ukázali, že hrudníková aorta mladých prehypertenzných SHR disponuje zväčšenou relaxačnou odpoveďou závislou od endotelu a zároveň zmenšenou kontraktilitou. Tieto vlastnosti zaznamenané v skorom postnatálnom období vývinu by mohli byť súčasťou geneticky vrodenných vlastností slúžiacich v štádiu rozvinutej hypertenzie ako adaptačné. Overiť túto hypotézu bol jeden z cieľov tejto práce.

Ďalší významný plynný mediátor interagujúci s NO, ktorý sa podieľa na regulácii cievneho tonusu a tlaku krvi, je sírovodík (H_2S). Úloha týchto dvoch mediátorov a ich vzájomnej interakcie či už v prehypertenznom štádiu alebo v štádiu rozvinutej esenciálnej hypertenzie doteraz nebola sledovaná. V našej predchádzajúcej práci (4) sme pozorovali, že v hrudníkovej aorte mladých normotenzných potkanov, ako aj prehypertenzných SHR vyvolal exogénny donor H_2S od koncentrácie závislú duálnu odpoveď (vazokontrakcia nasledovaná vazorelaxáciou), avšak u SHR bol cievny tonus regulovaný v prospech vazorelaxačných odpovedí s väčšou senzitivitou než u normotenzných potkanov. Aj tento mechanizmus by mohol byť súčasťou vrodenných kompenzačných mechanizmov. Overiť túto hypotézu bol ďalší cieľ tejto práce. Cieľom práce preto bolo porovnať kontraktilné a relaxačné odpovede hrudníkovej aorty, ako aj účasť NO- H_2S interakcie v regulácii cievneho tonusu u mladých a dospelých normotenz-

ných Wistar potkanov a SHR. Taktiež sme sledovali aktivitu NO-syntázy v hrudníkovej aorte potkanov.

Súbor a metodika

Experimenty na zvieratách sa uskutočnili v súlade s predpismi Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR a Etickej komisie Centra experimentálnej medicíny Slovenskej akadémie vied. Do experimentov boli zahrnuté samce štvrtýždňových a 16-týždňových Wistar ($n = 8$, $n = 8$) a SHR ($n = 8$, $n = 8$) potkanov. Zvieratá sa chovali v podmienkach striedajúcich cyklus 12 hodín svetlo – 12 hodín tma, pri konštantnej teplote a vlhkosti, štandardné krmivo a voda im bolo poskytnuté ad libidum. Ústav normálnej a patologickej fyziológie zabezpečoval ich kompletnú veterinárnu kontrolu. Systolický krvný tlak sa meral neinvazívnou pletyzmografickou metódou na chvostovej artérii zvierata.

Funkčné in vitro štúdie

Potkany boli usmrtené dekapitáciou po krátkej CO_2 anestéze. Hrudníková aorta bola odobratá, očistená od okolitého tkaniva a nakrájaná na prúžky (4 mm dĺžky). Cievne preparáty boli vertikálne zafixované na trojuholníky z nehrdzavejúcej ocele a ponorené do 20 ml orgánovej vaničky obsahujúcej Krebsov roztok (118 mM NaCl, 5 mM KCl, 25 mM $NaHCO_3$, 1,2 mM $MgSO_4$, 1,2 mM KH_2PO_4 , 2,5 mM $CaCl_2$, 11 mM glukóza, 0,032 mM $CaNa_2EDTA$) a inkubované pri teplote 37 °C. Roztok bol prekysličovaný zmesou O_2 (95 %) a CO_2 (5 %). Horný trojuholník bol spojený s elektromechanickým snímačom (Experimetria, Maďarsko), zmeny izometrickej tenzie sa zaznamenávali pomocou AD prevodníka a programom Dewetron software. Pri každom prstenci bolo aplikované predpätie 1 g. Následne sa preparáty ušľachovali 60 – 90 minút až do dosiahnutia ustálenej tenzie. Funkčnosť endotelu sa zisťovala pri všetkých preparátoch vyšetrením schopnosti podávaného acetylcholínu (10^{-5} M) vyvolať vazorelaxáciu na fenylefrínom predkontrahovanej cieve (10^{-6} M). Po dosiahnutí vyrovnanej tenzie sa aplikovali vazoaktívne látky v príslušnej koncentrácii: noradrenalin (10^{-10} – 3×10^{-6} M), acetylcholin (10^{-10} – 3×10^{-6} M), Na_2S (20, 40, 80, 100, 200, 400 μM) – exogénny donor H_2S . Acetylcholin a Na_2S sa aplikovali na noradrenalinom (10^{-6} M) predkontrahovaný cievny prstenec. V časti preparátov sa po vypláchnutí inkubačného média, 20 minút pred opakovaným

Tabuľka 1 Základné kardiovaskulárne parametre u 4-týždňových a 16-týždňových Wistar potkanov a SHR

	n	mT (g)	mS (mg)	mS/mT (mg/g)	TK (mmHg)
Wistar 4-týždňové	8	107,00 ± 4,55	437,70 ± 35,09	4,08 ± 0,28	95 ± 1,16
SHR 4-týždňové	8	61,75 ± 3,33***	378,90 ± 27,39	6,12 ± 0,28***	93 ± 1,20
Wistar 16-týždňové	8	366,20 ± 13,89	1123,52 ± 55,40	3,09 ± 0,19	120 ± 3,02
SHR 16-týždňové	8	299,17 ± 18,52*	1109,26 ± 27,51	3,77 ± 0,18*	178 ± 3,98**

N = počet potkanov, mT = hmotnosť tela, mS = hmotnosť srdca, mS/mT = pomer hmotnosti srdca a tela, TK = tlak krvi, hodnoty sú uvádzané ako priemer ± SEM,

*** p < 0,001 vs Wistar rovnakého veku

podaním noradrenalínu a acetylcholínu, respektíve Na₂S predradene aplikoval inhibitor NO-syntázy (N^G-nitro-L-arginín metylester, L-NAME, 10⁻⁶ M). Relaxačná odpoveď vyvolaná acetylcholínom sa vyjadrovala percentuálne ako úbytok noradrenalínom vyvolanej kontrakcie.

Aktivita NO-syntázy

Celková aktivita NO-syntázy bola determinovaná v homogenátoch aorty meraním tvorby [³H] – L-citrulínu z [³H] – L-arginínu (ARC, Montana, USA), ako bolo popísané a mierne modifikované Pecháňovou et al (5). [³H] – L-citrulín sa meral pomocou Quanta Smart Tri-Carb Liquid Scintillation Analyzer (Packard Instrument Company, Meriden, CT, USA). Aktivita NO-syntázy bola vyjadrená ako pkat/min/gram proteínu.

Štatistika

Hodnoty boli vyjadrované ako priemerná hodnota ± S.E.M. Štatistická významnosť medzi jednotlivými skupinami sa hodnotila jednofaktorovou analýzou variancie (ANOVA) a následne Boniferroniho testom a párovým Student's t-testom. Rozdiely medzi priermi sa považovali za štatisticky významné na hladine významnosti p < 0,05.

Použité chemikálie

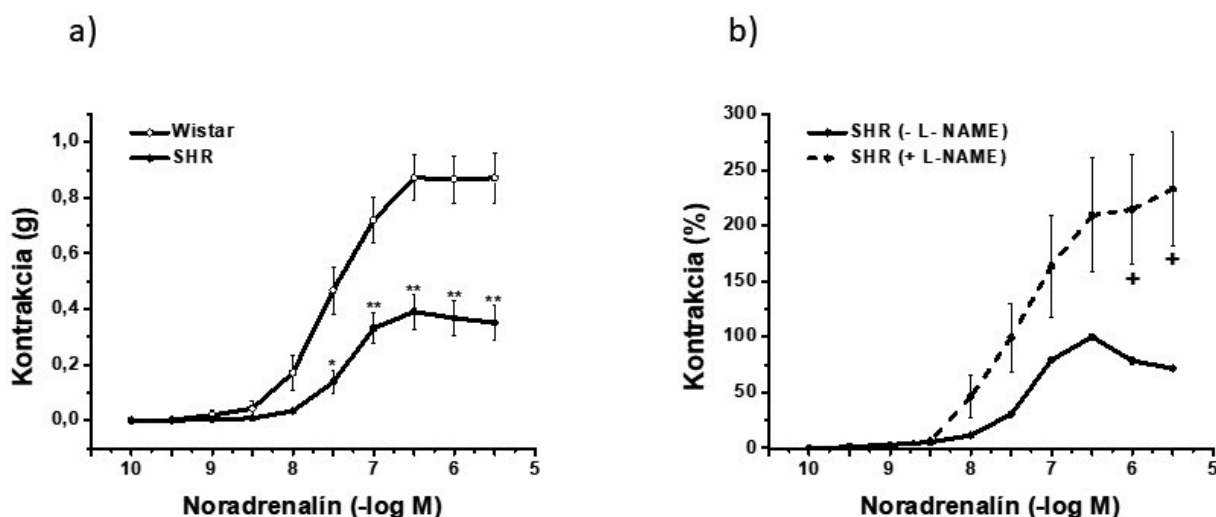
V práci boli použité tieto látky: noradrenalín (Zentiva, Czech Republic), acetylcholín (Sigma-Aldrich), Na₂S.9H₂O (Sigma-Aldrich), N^G-nitro-L-arginín metylester (Sigma-Aldrich).

Výsledky a diskusia

U mladých SHR nebol tlak krvi zvýšený napriek hypertrofii srdca v porovnaní s normotenznými potkanmi. Na druhej strane, u dospelých SHR sme zaznamenali významne zvýšený tlak krvi, ktorý bol sprevádzaný hypertrofiou srdca (**tabuľka 1**). Podobne Cebová a Kristek (6) ukázali už u trojtýždňových SHR hypertrofiu myokardu, ktorá mohla byť tak ako v našom experimente spôsobená menšou hmotnosťou

SHR. Zvýšený krvný tlak všeobecne takmer vždy sprevádza hypertrofia srdca ako to potvrdzujú aj naše výsledky. Predpokladá sa, že zmeny v štruktúre srdca a ciev sú adaptáciou na rozvíjajúcu sa hypertenziu. Tento predpoklad však nebol doteraz jednoznačne potvrdený. Uvádzajú sa dva protikladné názory: (i) štrukturálne zmeny sú sekundárne, ako následok zvýšeného tlaku krvi, (ii) zvýšený krvný tlak je následkom štrukturálnych zmien predovšetkým rezistentných ciev. Štúdie teda neobjasňujú, či hypertenzia je príčinou alebo dôsledkom štrukturálnych zmien v kardiovaskulárnom systéme, respektíve či je kombináciou oboch procesov. Výsledky nášho experimentu však potvrdzujú, že rozvoj hypertrofie srdca nie vždy súvisí s hypertenziou.

Vazokonstriktorická odpoveď hrudníkovej aorty bola u mladých SHR zmenšená oproti normotenzným potkanom (**obrázok 1a**), čo súviselo s hypotrofiou cievnej steny (nepublikované údaje). Hrudníková aorta je elastický typ cievy a viaceré práce ukázali, že v podmienkach hypertenzie, či spontánnej alebo NO-deficitnej, je schopná na rozdiel od svalového typu ciev adaptovať kontraktilné vlastnosti (zmenšenie kontraktilných odpovedí na exogénne podávané látky) v prospech kompenzácie vysokého cievneho tonusu (7, 8). Naša práca ukázala, že tieto vlastnosti hrudníkovej aorty sa prejavujú v prehypertenznom štádiu SHR a sú pravdepodobne vrodené. U dospelých SHR sme taktiež pozorovali zmenšenú vazokonstriktorickú odpoveď vyvolanú exogénnym noradrenalínom (**obrázok 2a**), čo však bolo spojené s hypertrofiou cievnej steny (nepublikované údaje). Vplyvom hypertenzie môže dôjsť k prestavbe jednotlivých komponentov cievnej steny a zvýšeniu množstva kolagénových vlákien a elastínových filamentov, čo naruší mechanické vlastnosti cievy (9). Navyše, naše predchádzajúce výsledky potvrdili, že v aorte dospelých SHR dochádza nielen k nárastu hladkých svalových buniek, ale aj zmnoženiu extracelulárnej matrix (10). Zmenšená kontraktilita hrudníkovej aorty v štádiu rozvinutej hypertenzie by potom mohla byť skôr spojená s negatívnym štrukturálnym remodelingom. V týchto súvislostiach je preto potrebné zvážiť, či zmenšená kontraktilita hrudníkovej aorty zaznamenaná už v prehypertenznom štádiu SHR nepred-

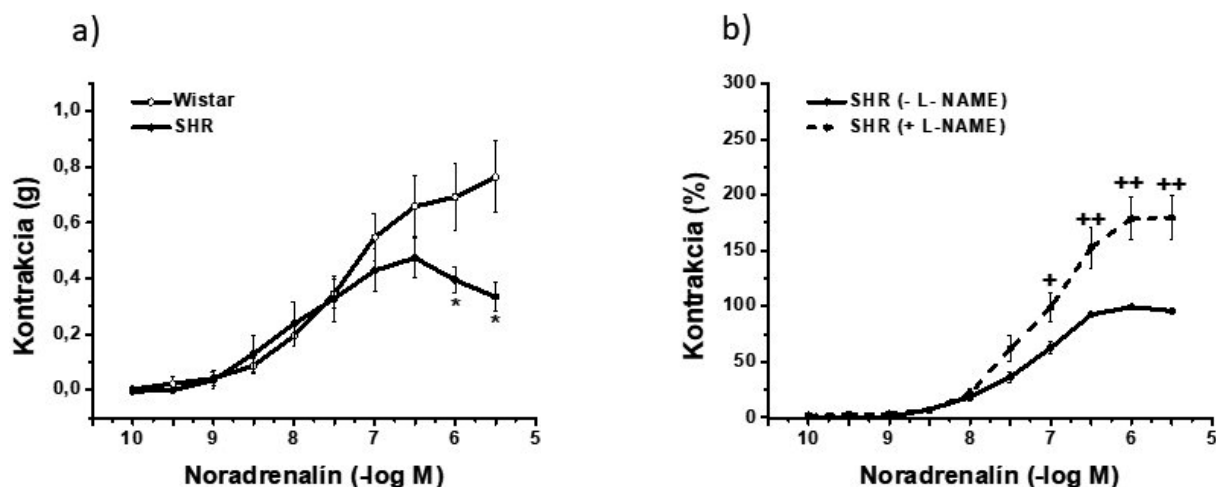


Obrázok 1 Noradrenalinom vyvolaná kontraktálna odpoveď hrudníkovej aorty u 4-týždňových Wistar potkanov a SHR (a) a u SHR po akútnej inhibícii NO-syntázy vyvolanej predradenou aplikáciou L-NAME (10⁻⁶ M) (b)
^{*}p < 0,05 ^{**}p < 0,01 vs Wistar, +p < 0,05 vs SHR (- L-NAME)

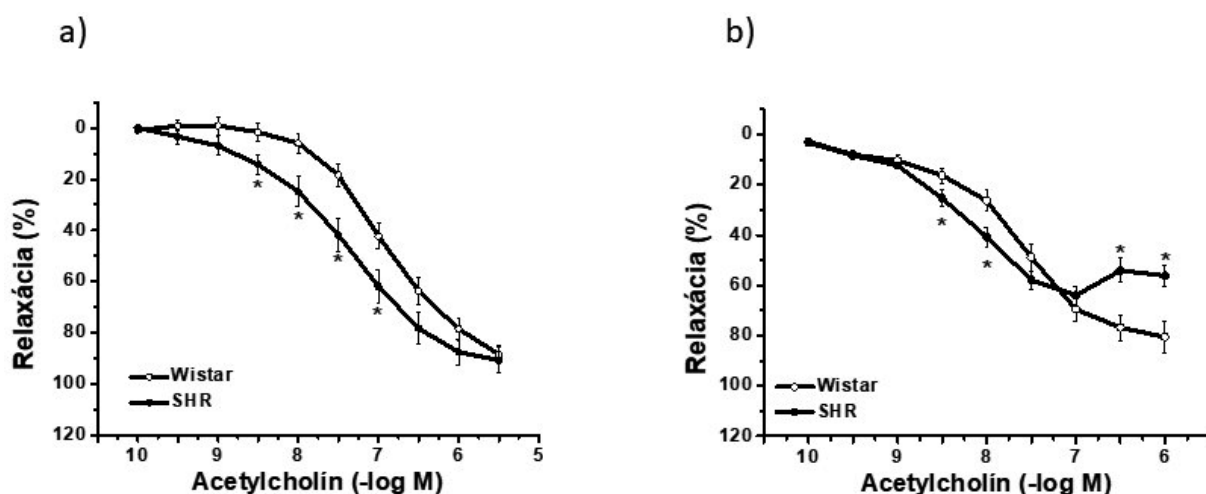
stavuje vo fáze rozvinutej hypertenzie skôr nepriaznivý než adaptačný efekt. Naše výsledky tiež ukázali, že v zmenšení adrenergických kontraktálnych odpovedí u obidvoch vekových skupín SHR (obrázky 1b, 2b) zohrával významný podiel endogénne produkovaný NO. To naznačuje, že NO produkovaný cievnou stenou môže predstavovať vrodený kompenzačný prostriedok voči zvýšenému sympatikovému tonusu bez zreteľa na charakter remodelingu hrudníkovej aorty.

Od endotelu závislá acetylcholínom vyvolaná relaxácia hrudníkovej aorty bola zväčšená u mladých SHR, na druhej

strane, u dospelých SHR bola zväčšená len pri nižších koncentráciách acetylcholínu, maximálna odpoveď však bola inhibovaná (obrázok 3). Naše ďalšie výsledky potvrdili, že u mladých SHR participoval NO na vazorelaxačnej odpovedi významne viac, keďže po aplikácii inhibítora NO-syntázy L-NAME bola maximálna relaxačná odpoveď vyvolaná acetylcholínom inhibovaná oveľa viac v porovnaní s normotenznými štvrtýždňovými potkanmi. Taktiež bola signifikantne vyššia aktivita NO-syntázy u mladých SHR v porovnaní s rovnako starými Wistar potkanmi (tabuľka 2). U dospelých SHR sme



Obrázok 2 Noradrenalinom vyvolaná kontraktálna odpoveď hrudníkovej aorty u 16-týždňových Wistar potkanov a SHR (a) a u SHR po akútnej inhibícii NO-syntázy vyvolanej predradenou aplikáciou L-NAME (10⁻⁶ M) (b)
^{*}p < 0,05 vs Wistar, +p < 0,05 ++p < 0,01 vs SHR (- L-NAME)



Obrázok 3 Acetylcholínom vyvolaná relaxačná odpoveď hrudníkovej aorty u 4-týždňových (a) a 16-týždňových (b) Wistar potkanov a SHR
* $p < 0,05$ vs Wistar

síce pozorovali zmenšenú maximálnu relaxačnú odpoveď vyvolanú acetylcholínom, avšak nie na úkor inhibície endogénnej produkcie NO, čo dokazuje stále zvýšená produkcia NO u dospelých SHR oproti dospelým normotenzným potkanom, ako aj charakter inhibície maximálnej relaxačnej odpovede po podaní L-NAME (tabuľka 2). Zmenšenie maximálnej vazorelaxačnej odpovede u dospelých SHR ide skôr na vrub zvýšenej produkcie voľných kyslíkových radikálov alebo vazokonstriktorických produktov cyklooxygenázy zaznamenaných u SHR (11, 12). NO sa ukazuje byť kompenzačnou látkou produkovanou cievnu stenou v snahe zmierniť následky vysokého cievneho tonusu a zväčšenej kontraktility u dospelých SHR. Naše predchádzajúce výsledky na dospelých potkanoch ukázali, že cievna stena je schopná produkovať fyziologicky aktívne NO aj hladkosvalovými bunkami, kde bola dokázaná expresia oboch konštitutívnych izoform NO syntázy – endotelovej aj neuronálnej (13, 14). Tieto neendotelové zdroje NO predstavujú záložný a kompenzačný mechanizmus zabezpečenia vazorelaxácie v prípade, keď zvýšená

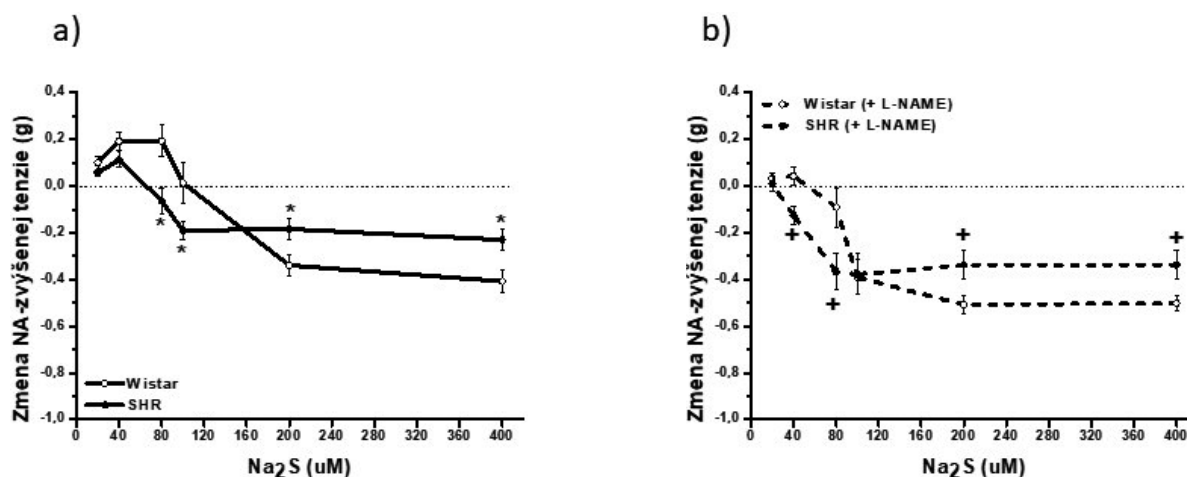
produkcia voľných radikálov eliminuje endotelové zdroje NO. Výsledky tejto štúdie potvrdzujú, že schopnosť hrudníkovej aorty syntetizovať dostatočné až nadbytočné množstvo NO je pravdepodobne súčasťou vrodených mechanizmov hrudníkovej aorty, keďže sa spúšťa už v prehypertenznom štádiu a pretrváva až do štádia rozvinutej hypertenzie.

Vplyv H_2S na tlak krvi, podobne ako na cievnu reaktivitu, má značnú heterogenitu, čo súvisí najmä so skutočnosťou, že pôsobenie H_2S závisí od koncentrácie. V našich experimentoch sme porovnávali vazoaktívne účinky Na_2S , exogénneho donora H_2S , podávaného v koncentračnom rozpätí 20, 40, 80, 100, 200, 400 μM . Na_2S vyvolal v oboch skupinách mladých zvierat bifázický efekt: nižšie koncentrácie vyvolali vazokonstrikciu, vyššie dávky vyvolali vazorelaxáciu, avšak u SHR sme zaznamenali zvýšenú citlivosť v prospech vazorelaxačných odpovedí (obrázok 4a). Taktiež sme sledovali vplyv akútnej inhibície endogénnej produkcie NO na vazoaktívne odpovede vyvolané H_2S (obrázok 4b). Po predradenej aplikácii L-NAME sme u oboch kmeňov pozorovali

Tabuľka 2 Aktivita NO-syntázy a vplyv inhibítora NO-syntázy L-NAME (10^{-6} M) na maximálnu relaxačnú odpoveď vyvolanú acetylcholínom (10^{-5} M) na hrudníkovej aorte 4-týždňových a 16-týždňových Wistar potkanov a SHR

	n	Aktivita NOS (pkat/g)	Maximálna relaxačná odpoveď (%)	Maximálna relaxačná odpoveď po L-NAME (%)
Wistar 4-týždňové	10	60,39 $\pm$ 4,30	92,68 $\pm$ 3,53	63,34 $\pm$ 5,97 +++
SHR 4-týždňové	10	136,57 $\pm$ 10,2 ***	95,00 $\pm$ 3,03	28,85 $\pm$ 10,46 +++
Wistar 16-týždňové	10	20,30 $\pm$ 1,58	86,23 $\pm$ 3,18	59,72 $\pm$ 5,35 +++
SHR 16-týždňové	10	29,28 $\pm$ 1,68 **	46,40 $\pm$ 6,16	23,47 $\pm$ 5,34 ++

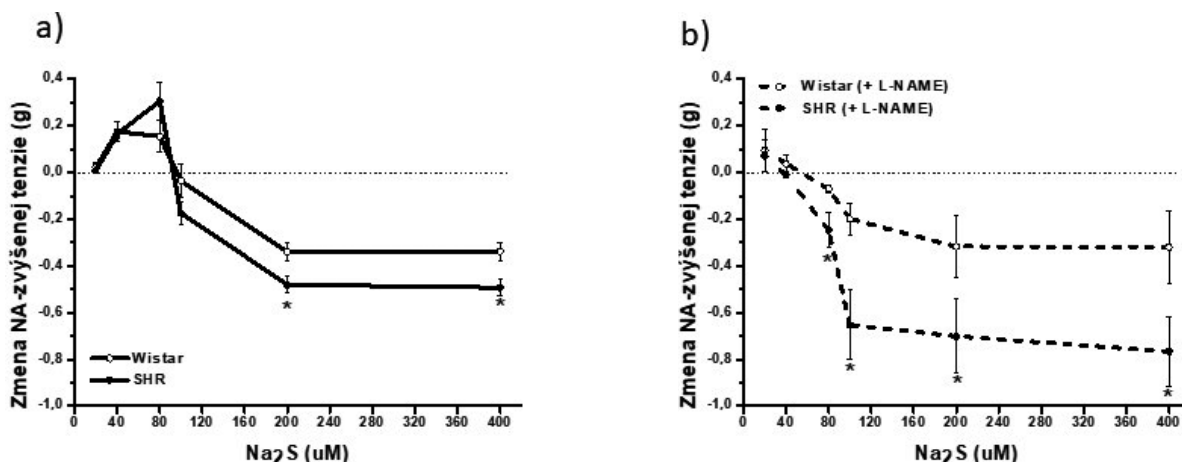
N = počet potkanov, NOS = NO syntáza, hodnoty sú uvádzané ako priemer $\pm$ SEM, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs Wistar rovnakého veku, ++ $p < 0,01$, +++ $p < 0,001$ vs Maximálna relaxačná odpoveď v rámci kmeňa a veku



Obrázok 4 Duálny vazoaktívny efekt Na₂S vyvolaný na noradrenalinom (NA) predkontrahovanej (10⁻⁶ M) hrudníkovej aorte 4-týždňových Wistar potkanov a SHR pred (a) a po (b) akútnej inhibícii NO-syntázy vyvolanej predradenou aplikáciou L-NAME (10⁻⁶ M)
*p < 0,05 vs Wistar, +p < 0,05 vs Wistar (+ L-NAME)

vymiznutie kontraktálnych odpovedí, ktoré boli nahradené vazorelaxačnými, avšak tento efekt bol u SHR posunutý v prospech nižšej koncentrácie, čo taktiež poukazuje na zvýšenú citlivosť v prospech vazorelaxácie u prehypertenzných zvierat. Inhibíciu kontraktálnych odpovedí po podaní L-NAME možno vysvetliť tým, že H₂S v nízkych koncentráciách inhibuje produkciu a/alebo aktivitu endogénneho NO a keďže po L-NAME je endogénna produkcia už vyblokovávaná, inhibičný účinok H₂S na ňu sa už nemohol prejavíť. Túto teóriu podporuje práca Kubo et al (15), ktorí zistili, že H₂S inhiboval aktivitu endotelovej NO-syntázy, čo viedlo k zväčšovaniu tenzie predkontrahovanej artérie. U dospelých

zvierat sme pozorovali zosilnenie vazorelaxačných odpovedí vyvolaných Na₂S už nielen na úrovni zvýšenej citlivosti, ale aj maximálnej odpovede – v podmienkach esenciálnej hypertenzie boli vazorelaxačné odpovede vyvolané Na₂S väčšie než u dospelých normotenzných potkanov a tento efekt bol navyše potenciován akútnou NO deficienciou (obrázok 5). Naše výsledky potvrdili vzájomnú interakciu dvoch signálnych systémov – NO a H₂S u oboch kmeňov obidvoch ontogenetických štádií. H₂S reguloval zvýšený cievný tonus v prospech vazorelaxačnej fázy odpovedí u SHR signifikantne viac než u normotenzných potkanov a tento efekt sa zosilňoval tak s rozvojom hypertenzie, ako aj s ďal-



Obrázok 5 Duálny vazoaktívny efekt Na₂S vyvolaný na noradrenalinom (NA) predkontrahovanej (10⁻⁶ M) hrudníkovej aorte 16-týždňových Wistar potkanov a SHR pred (a) a po (b) akútnej inhibícii NO-syntázy vyvolanej predradenou aplikáciou L-NAME (10⁻⁶ M)
*p < 0,05 vs Wistar, *p < 0,05 vs Wistar (+ L-NAME)

ším negatívnym zásahom – endogénnou NO deficienciou. Naše nálezy potvrdzujú, že okrem NO významnú úlohu v kompenzačných vazoaktívnych účinkoch v podmienkach esenciálnej hypertenzie môže zohrávať ďalší plynný transmitter – H_2S , ktorý by mohol pôsobiť aj ako záložný mechanizmus v prípade nedostatku NO. Navyše, schopnosť efektívne znižovať zvýšené napätie v cievnej stene smerom k relaxácii poukazuje na možnosť využitia exogénnych donorov H_2S ako potenciálneho farmakologického prostriedku s terapeutickými možnosťami v podmienkach hypertenzie.

Zhrnutie

Naše výsledky ukazujú, že hrudníková aorta SHR je vybavená pravdepodobne vrodenou predispozíciou zväčšených vazorelaxačných mechanizmov, ktoré zahŕňajú zvýšenú aktivitu NO, ako aj signálnu dráhu H_2S a jej interakciu s NO. Tieto vlastnosti sa spúšťajú už v prehypertenznom juvenilnom štádiu života a slúžia pravdepodobne ako adaptačné mechanizmy smerujúce k zníženiu cievneho tonusu v štádiu rozvinutej esenciálnej hypertenzie.

Podakovanie

Práca bola podporená grantmi: VEGA 2/0103/18, 2/0067/13 a APVV-15-0565. Venujeme pamiatke Dr. F. Kristeka, ktorý do poslednej chvíle, napriek vyčerpávajúcej chorobe, pracoval na hodnotení výsledkov.

Literatúra

- Gerová M, Bernátová I, Török J, et al. Cardiovascular system of offsprings of hypertensive rats with defective nitric oxide production. *Physiol Res* 2002;51:465-474.
- Briones AM, Montoya N, Giraldo J, et al. Ageing affects nitric oxide synthase, cyclooxygenase and oxidative stress enzymes expression differently in mesenteric resistance arteries. *Auton Autacoid Pharmacol* 2005;25:155-162.
- Yoon HJ, Cho SW, Ahn BW, et al. Alterations in the activity and expression of endothelial NO synthase in aged human endothelial cells. *Mech Ageing Dev* 2010;131:119-123.
- Cacanyiova S, Berenyiova A, Kristek F, et al. The adaptive role of nitric oxide and hydrogen sulphide inosensitive responses of thoracic aorta is triggered already in young spontaneously hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol* 2016;67:501-512.
- Pechanova O, Bernatova I, Pelouch V, et al. Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension: the effect of captopril. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:3365-3374.
- Cebova M, Kristek F. Age-dependent ultrastructural changes of coronary artery in spontaneously hypertensive rats. *Gen Physiol Biophys* 2011;30:364-372.
- Cacanyiova S, Berenyiova A, Malekova M, et al. Different vasoactive effects of chronic endothelial and neuronal NO-synthase inhibition in young Wistar rats. *J Physiol Biochem* 2014;70:749-760.
- Oliver E, Flacco N, Arce C, et al. Changes in adrenoceptors and G-protein-coupled receptor kinase 2 in L-NAME-induced hypertension compared to spontaneous hypertension in rats. *J Vasc Res* 2014;51:209-220.
- Paulis L, Becker ST, Lucht K, et al. Direct angiotensin II type 2 receptor stimulation in Nomega-nitro-L-arginine-methyl ester-induced hypertension: the effect on pulse wave velocity and aortic remodeling. *Hypertension* 2012;59:485-492.
- Kristek F, Drobna M, Cacanyiova S. Different Structural Alterations in Individual Conduit Arteries of SHR Compared to Wistar Rats From the Prehypertensive Period to Late Adulthood. *Physiol Res* 2017;66:769-780.
- Tang EH1, Leung FP, Huang Y, et al. Calcium and reactive oxygen species increase in endothelial cells in response to releasers of endothelium-derived contracting factor. *Br J Pharmacol* 2007;151:15-23.
- Puzserova A, Ilovská V, Balis P, et al. Age-related alterations in endothelial function of femoral artery in young SHR and WKY rats. *Biomed Res Int* 2014;2014:658479.
- Berenyiová A, Kristek F, Dvořáková I, et al. The effect of oxidative stress on acetylcholine-induced relaxation in deendothelized arteries. *Cardiology Lett* 2014;23:397-404.
- Čačányiová S, Török J, Kristek F, et al. NO-rezervné a kompenzačné mechanizmy vo vazoaktívnych odpovediach normotenzných a spontánne hypertenzných potkanov. *Cardiology Lett* 2017;26:179-180.
- Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, et al. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology* 2007;232:138-146.