

NO – rezervné a kompenzačné mechanizmy vo vazoaktívnych odpovediach normotenzných a spontánne hypertenzných potkanov

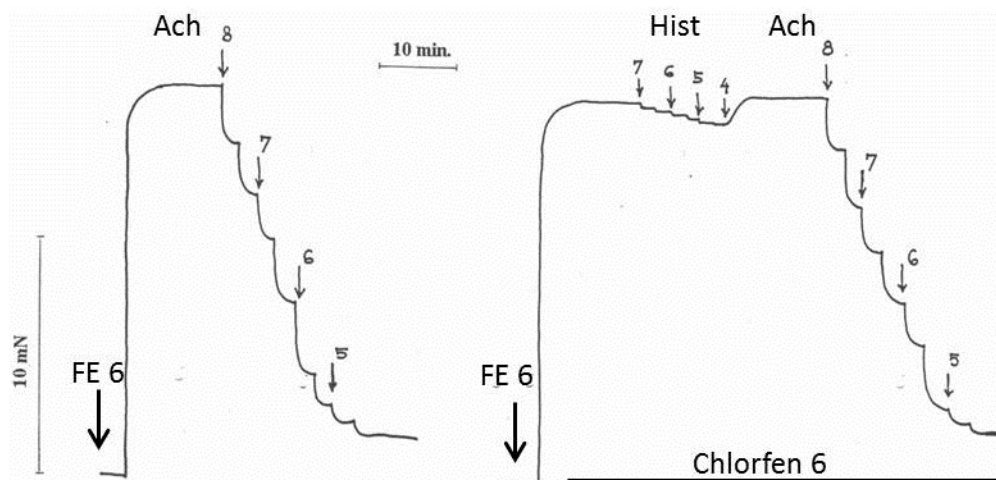
Čačányiová S¹, Török J¹, Kristek F¹, Berényiová A¹, Buchwalow IB², Dovinová I¹, Drobná M¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Institute for Pharmacology und Toxicology, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany

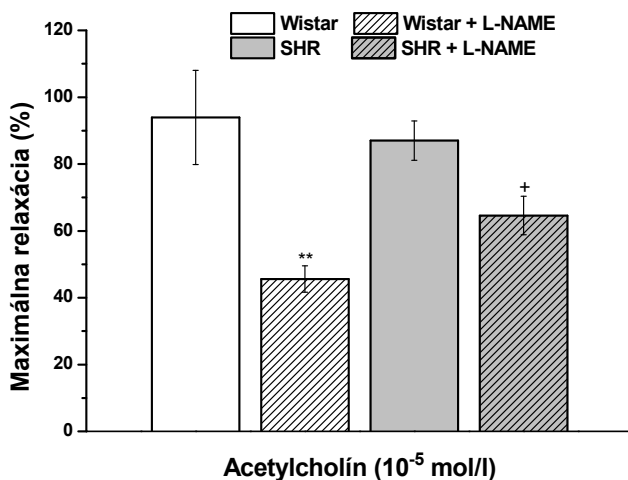
e-mail: sona.cacanyiova@savba.sk

Vazodilatátory, ktorých aktivita je spojená s priamym uvoľnením NO (nitrovazodilatátory) pôsobia neselektívne a uniformne v celom cievnom strome. Na druhej strane sa zistilo, že relaxačné odpovede vyvolané vazodilatátormi, ktoré pôsobia prostredníctvom stimulácie receptorov endotelových buniek, prejavujú segmentálnu heterogenitu. Aktivita týchto vazodilatátorov je závislá od prítomnosti príslušného typu receptorov v danom cievnom segmente – rôzne vazodilatátory aktivujú len korešpondujúci typ receptora. Aktivácia rôznych typov receptorových väzobných miest vedie následne k rovnakému mechanizmu – syntéze a uvoľneniu NO. Inhibícia produkcie NO použitím analógových inhibítorov L-arginínu (napr. N^G-nitro-L-arginín metyl ester – L-NAME) vedie k vyblokovaniu relaxačného účinku sprostredkovaného akoukoľvek vazorelaxačnou látkou (acetylcholín, histamín, adenosín, klonidín) stimulujúcou príslušné receptory endotelových buniek. Na druhej strane, inhibícia jedného typu špecifických receptorov neovplyvňuje schopnosť endotelu tvoriť a uvoľňovať NO aktiváciou iného typu receptorov. Pokusy na pľúcnej artérii potkana ukázali, že akútna inhibícia histamínových H₁ receptorov chlorfenyramínom síce inhibovala relaxačnú odpoveď na

histamín, avšak vazorelaxačná odpoveď na acetylcholín ostala nezmenená (**obrázok 1**) (1). Podobne, aplikácia atropínu, inhibítora muskarínových receptorov, inhibovala relaxačnú odpoveď vyvolanú acetylcholínom, avšak neovplyvnila od endotelu závislú vazorelaxačnú odpoveď vyvolanú histamínom, klonidínom a adenosínom (2). Tieto údaje naznačujú, že inaktivácia jedného typu endotelových receptorov neinterferuje so spôsobilosťou endotelových buniek produkovať a uvoľňovať NO aktiváciou iného typu receptorov. Cievny systém si vybudoval mechanizmus, ktorý zabezpečuje, že v prípade zlyhania alebo poškodenia jedného endotelového receptorového typu, je schopnosť vazodilatácie sprostredkovanej NO zabezpečená aktiváciou iného prítomného typu receptorov. Zástupná aktivácia rôznych typov receptorov ako záložný (rezervný) mechanizmus nadobúda význam najmä v prípade poškodenia endotelu, resp. jeho určitých úsekov, čo je jedným z charakteristických znakov patologických stavov hypertenzie. Mechanické odstránenie endotelovej výstelky spúšťa produkciu superoxidových radikálov, ktoré môžu po podaní acetylcholínu eliminovať vazorelaxačný účinok NO z neendotelových zdrojov, akými sú hladkosvalové bunky cievnej steny, a vyvolať tak necitlivosť deendotelizovaných ciev na vazorelaxačné látky. Túto hypotézu otestovali Buchwalow a spol. (3), keď sledovali acetylcholínom vyvolanú relaxačnú odpoveď artérií ako so zachovalým tak odstráneným endotelom, avšak v prítomnosti antioxidantov chrániacich pred oxidačným stresom. Deendotelizácia artérií viedla k inhibícii acetylcholínom-vyvolanej relaxácie, avšak predradená aplikácia vychytávačov voľných radikálov významne zlepšila a obnovila potlačenú vazorelaxačnú odpoveď deendotelizovaných ciev. Autori súčasne ukázali prítomnosť konštitutívnych izozforiem NO-syntázy nielen v endotelových bunkách, ale aj v hladkosvalových bunkách, ktoré predstavujú potenciálny zdroj NO v prípade



Obrázok 1 Acetylcholínom (Ach /-log mol/l/) a histamínom (Hist /-log mol/l/) vyvolaná odpoveď fenylefrínom (FE /-log mol/l/) pred- a po predradenej aplikácii inhibítora histamínových receptorov chlorfenyramínu (Chlorfen /-log mol/l/)



Obrázok 2 Vplyv chronickej inhibície NO-syntázy po podávaní inhibítora L-NAME (50 mg/kg/deň v pitnej vode, 4. – 10. týždeň života) na acetylcholínom vyvolanú maximálnu relaxačnú odpoveď hrudnej aorty normotenzných Wistar potkanov a spontánne hypertenzných potkanov (SHR). ** $p < 0.01$ vs Wistar, + $p < 0.05$ vs SHR

poškodenia endotelovej vrstvy. Následne Čáčanyiová et al. (4) dokázali dôležitosť oxidačného stresu v inhibícii relaxačných odpovedí deendotelizovaných ciev, keď dokázali pomocou lucigenínovej chemiluminiscenčnej metódy zvýšenú tvorbu superoxidových iónov po deendotelizácii. Aplikácia antioxidantu však dokázala zvýšenú produkciu radikálov eliminovať a obnoviť vazorelaxáciu v deendotelizovanej cieve. Autori súčasne dokázali, že obnovená vazorelaxačná odpoveď bola sprostredkovaná NO a cGMP. Uvedené výsledky dokázali existenciu rezervných mechanizmov pre zabezpečenie fyziologického účinku NO aj pri porušení integrity cievnej steny: lokálne uvoľňovaný NO v bunkách hladkej svaloviny tiež môže vyvolať vazorelaxačný efekt nezávisle od funkčnosti endotelových buniek. Dôkazy o dôležitosti ochrany pred oxidačným stresom v deendotelizovaných cievach vyvracajú predstavu o výlučnej úlohe endotelových buniek v cievnej relaxácii vyvolanej NO.

Ďalšie nálezy potvrdzujú prítomnosť rezervných mechanizmov NO aj v kardiovaskulárnom systéme spontánne hypertenzných potkanov (SHR). Biochemické a funkčné analýzy karotickej artérie dospelých SHR demonštrovali dôkaz, že neuronálna izoforma NO-syntázy nachádzajúca sa v hladkosvalových bunkách bola aktivovaná po stimulácii angiotenzínom II u hypertenzných, ale nie u normotenzných potkanov, čím boli

kompenzované oslabené endotelové odpovede hypertenzných ciev (5). Na základe uvedených výsledkov sme sa zamerali na úlohu NO signálnej dráhy vo vazoaktívnych odpovediach v podmienkach rozvíjajúcej sa esenciálnej hypertenzie. U mladých 4-týždňových SHR sa na acetylcholínom vyvolanej vazorelaxácii hrudnej aorty podieľa NO signifikantne viac než u normotenzných potkanov (6). Navyše, zatiaľčo u mladých normotenzných potkanov vyvolalo dlhodobé podávanie L-NAME výraznú inhibíciu acetylcholínom vyvolanej od endotelu závislej vazorelaxačnej odpovede, prekvapujúco u SHR zostala do značnej miery zachovaná (obrázok 2) a akútna predradená aplikácia L-NAME dokázala prítomnosť NO produkovaného cievnu stenou aj po dlhobojnej inhibícii NO syntázy. **Výsledky ukazujú, že cievna stena disponuje kompenzačnými mechanizmami, ktoré v prípade zlyhania jednej signálnej dráhy NO môžu zabezpečiť spustenie vazorelaxácie alternatívnou signálnou dráhou. Signálna dráha NO sa ukazuje byť významnou súčasťou pravdepodobne vrodených adaptačných mechanizmov spúšťaných v podmienkach esenciálnej hypertenzie.**

Práca bola podporená grantmi VEGA 2/0074/14, 2/0048/17 a APVV-15-565.

Literatúra

1. Kysela S, Torok J. Histamine H_1 -receptor antagonists do not prevent the appearance of endothelium-dependent relaxation to acetylcholine in rat pulmonary artery. *Physiol. Res.* 1996;45:345-350.
2. Kysela S, Torok J. Contemporary activation of different endothelial receptors accounts for a reserved mechanism of nitric oxide-mediated relaxation. *Physiol. Res.* 2000;49:115-122.
3. Buchwalow IB, Cacanyiova S, Neumann J, SamoiloVA VE, Boecker W, Kristek F. The role of arterial smooth muscle in vasorelaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008;377:504-507.
4. Cacanyiova S, Dovinova I, Kristek F. The role of oxidative stress in acetylcholine-induced relaxation of endothelium-denuded arteries. *J. Physiol. Pharmacol.* 2013;64:241-247.
5. Boulanger CM, Heymes C, Benessiano J, Geske RS, Levy BI, Vanhoutte PM. Neuronal nitric oxide synthase is expressed in rat vascular smooth muscle cells: activation by angiotensin II in hypertension. *Circ. Res.* 1998;83:1271-1278.
6. Cacanyiova S, Berenyiova A, Kristek F, Drobna M, Ondrias K, Graman M. The adaptive role of nitric oxide and hydrogen sulphide in vasoactive responses of thoracic aorta is triggered already in young spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 2016;67(4):201-212.