

Morphological Changes in the Target Organs during Experimental Hypertension and its Treatment in Rats

Ketevan Kakabadze^{*}, Irakli Megreladze^{}, Tamar Sanikidze^{*},
Nina Kipiani^{*}, Nino Khvichia[§], Nodar Mitagvaria[#]**

** Department of Physics, Biophysics, Biomechanics and Informational Technologies, Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

*** Department of Cardiology, Amtel Hospital, Tbilisi, Georgia*

§ Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

Academy Member, Georgian National Academy of Sciences; Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia

ABSTRACT. The clinical outcome of arterial hypertension depends on the type and severity of target organs damage. Therefore, in the treatment of hypertension both normalization of blood pressure and ensuring the protection of target organs from damage are equally important. The aim of the study was investigation of the effectiveness of hypertension treatment in experimental model of hypertension in rats. It was shown that hypertension develops against the background of lack of NO synthesis (L-NAME-induced hypertension) and it has reversible character, but induces irreversible damage in the target organs: heart and kidney – the left ventricular irreversible hypertrophy, overflow of blood vessels, local hemorrhages in the heart and local sclerotic changes in the blood vessels wall of the left and right kidneys. Treatment of hypertensive rats for the last 3 weeks with Nebilet Plus, Lozap Plus, Hydrochlorothiazide and combination of Norvasc + Hydrochlorothiazide induced normalization of the blood pressure. The left ventricular hypertrophy and changes in the blood vessels of the kidneys regressed. We can conclude that normalization of NO synthesis is effective in the normalization of the resistance of central arteries and correction of blood pressure, but is not enough for prevention of irreversible damage of target organs. Used antihypertensive drugs are effective in the normalization of functions of peripheral arteries that supports prevention of target organs damage. © 2019 Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.

Key words: hypertension, target organs, systolic pressure, diastolic pressure

Pathogenesis of essential hypertension is complex and multifactorial. Investigation of its driving mechanisms is an actual problem [1-5]. The target organs of essential hypertension, determining the outcome of disease (cerebral stroke, heart coronary disease, heart and kidney failure) are heart, kidney, and brain. One of the form of the heart remodeling,

as a target organ of hypertension, is the left ventricular hypertrophy, which is a background of the development of heart failure, coronary acute syndrome, the complex genesis of arrhythmia and sudden death [6-9]. The clinical outcome of arterial hypertension depends on the type and severity of target organs damage. Therefore, in the treatment

of the hypertension both normalization of blood pressure and ensuring the protection of target organs from damage are equally important.

The aim of the study was investigation of the effectiveness of different ways of hypertension treatment in an experimental model of hypertension in rats.

Materials and Methods

The study was conducted on the 49 experimental white male rats (200-220g), taking into consideration according to Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale and Pasteur Institute animal welfare guidelines. Animals were divided into two groups: I group – 7 intact rats; II group – 42 rats with experimental model of hypertension. Group II contained six subgroups: IIa subgroup (7 rats) L-NAME (nonselected inhibitor of NO-synthase) was intraperitoneally injected daily (40 mg/kg) for 4 weeks; IIb subgroup (7 rats) – control subgroup L-NAME was intraperitoneally administered (40 mg/kg) for 4 weeks following with 3 weeks spontaneous recovery [7, 10]; II (c,d,e,f) subgroups L-NAME (40 mg/kg) were intraperitoneally injected for 7 weeks. From the beginning of the 5th week (week 5, 6, 7) additionally with L-NAME antihypertensive drugs were added; IIc subgroup (7 rats) L-NAME (40 mg/kg) + Nebilet Plus (beta-blocker + diuretic 10/25 mg/kg); IId subgroup (7 rats) L-NAME (40 mg/kg) + Lozap Plus (Specific antagonist of angiotensin II receptors + diuretic 50/12.5 mg/kg); IIe subgroup (7 rats) L-NAME (40 mg/kg) + Hydrochlorothiazide (diuretic medication 50 mg/kg); II f subgroup (7 rats) L-NAME (40 mg/kg) + Norvasc + Hydrochlorothiazide (calcium channel blocker + diuretic 10/12.5 mg/kg). The blood pressure (systolic and diastolic) of the rats was measured every second-day by the tail-cuff method by equipment „Systola“ and oscillograph, made by “Neurobotics”, according to the obtained results the blood arterial pressure (BAP).

At the beginning of the experiment after 4 weeks and 7 weeks of euthanasia of the rats was

performed under ether narcosis. The target organs of hypertension heart, kidney and brain were prepared for the morphological investigation.

For the morphological studies the samples of heart, kidney and brain were fixed in 10% formalin phosphate buffer 0.1 M, pH-7.3, in order to prepare the paraffin slices with thickness of sections – 3-5 μm . The slices were stained in hematoxylin-ezine.

Statistical analysis of the obtained results was performed with the use of SPSS statistical analysis program package (version 10.0). The average of parameters and their statistical derivations were analyzed. Difference between groups was evaluated by Student t-criterium. In all the cases, statistical significance was obtained at $p < 0.05$.

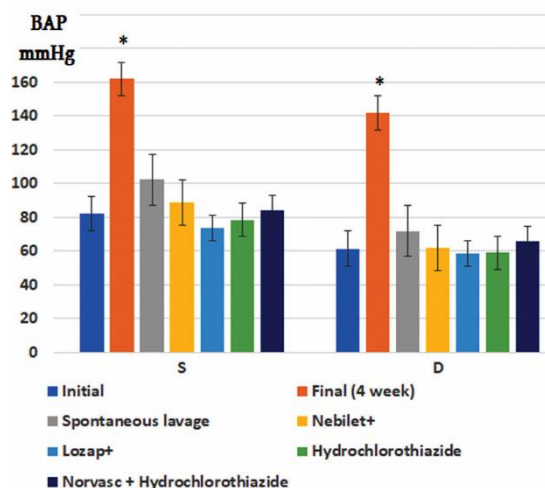


Fig. 1. Blood systolic (S) and diastolic (D) pressure in rats under the influence of NO-synthase inhibitor L-NAME (for 4 weeks) and treatment with antihypertensive drugs (for 3 weeks) (* - $p < 0.05$).

Results and Discussion

Fig. 1 shows the systolic and diastolic pressure in rats. NO-synthase inhibitor L-NAME (40 mg/kg) was intraperitoneally administered for 4 and 7 weeks; and from the beginning of the 5th week together with L-NAME the antihypertensive drugs were added. As a result of the study, after 4 weeks systolic pressure in IIa subgroup increased by 110% and diastolic increased – by 66%. Systolic and diastolic pressure of the animals in subgroup

I**b** decreased by 55%/54% and returned to baseline.

In the subgroup I**a** the left ventricular hypertrophy, overflow of blood vessels, local hemorrhages in the heart and sclerotic changes in the blood vessels wall of the left and right kidneys were detected; in the brain no morphological changes were revealed; in the subgroup I**b** morphological alterations in the heart and the kidney were maintained. Obtained results indicate that hypertension develops against the background of lack of NO (L-NAME-induced hypertension) and has a reversible character, but induces irreversible damage in target organs, heart and kidney – the left ventricular irreversible hypertrophy, overflow of blood vessels, local hemorrhages in the heart and local sclerotic changes in the blood vessels wall of the left and right kidneys (Fig. 2 a,c).

Treatment of hypertensive rats for the last 3 weeks with Nebilet Plus, Lozap Plus, Hydrochlorothiazide, and combination of Norvasc + Hydrochlorothiazide induced decrease of arterial pressure (by 55%/63% 63%65%, 61%/65%, 58%/55%, correspondingly) which reached the initial level (Fig.1); the left ventricular hypertrophy and changes in the blood vessels of the kidneys regressed (Fig. 2 b,d).

In our experiments, L-NAME-induced blockage of NO synthesis probably induced remodeling of blood vessels walls, increased their resistance due to their structure and mechanical properties and changed their functions. Increase of resistance and remodeling of peripheral blood vessels (precapillary level – including small arteries and arterioles) during hypertension (an increase of systolic pressure) induced damage to target organs [11, 12] that was revealed by the left

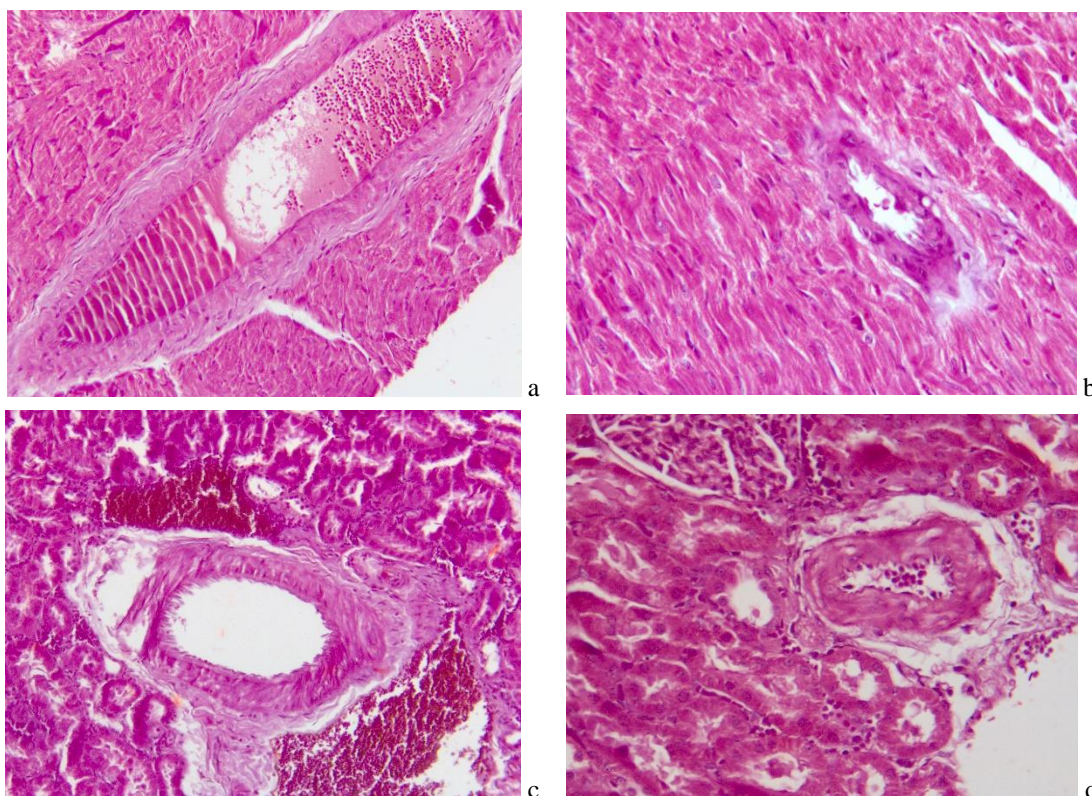


Fig. 2. Heart of rat, control subgroup L-NAME, was intraperitoneally injected daily (40 mg/kg) for 4 weeks, followed by 3 weeks spontaneous recovery (a), heart of rat, L-NAME (40 mg/kg) + Hydrochlorothiazide (50 mg/kg) (b), kidney of rat, control subgroup L-NAME was intraperitoneally injected daily (40 mg/kg) for 4 weeks, followed by 3 weeks spontaneous recovery (c), kidney of rat, L-NAME (40 mg/kg) + Hydrochlorothiazide (50 mg/kg) (d).

ventricular hypertrophy and damage of the heart and kidneys.

So we can make conclusion that normalization of NO content reduces the arteries resistance and therefore, inhibits increase of the pressure in the central vessels and left ventricle, causing significant reduction in central systolic

pressure, without the corresponding impact on systolic and diastolic pressure on the periphery [13] that increases cardiac metabolic requirements and is the precondition for irreversible hypertrophy of left ventricle. Antihypertensive drugs are effective support for prevention of target organs damage.

სამედიცინო მეცნიერებათა

ექსპერიმენტული ჰიპერტენზიის განმავლობაში სამიზნე ორგანოებში მორფოლოგიური ცვლილებები ვირთაგვებზე და მათი მკურნალობა

ქ. კაკაბაძე*, ი. მეგრელაძე**, თ. სანიკიძე*, ნ. ყიფიანი*, ნ. ხვიჩია§, ნ. მითაგვარია#

* თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფიზიკის, ბიოფიზიკის, ბიომექანიკისა და ინფორმაციული ტექნოლოგიების დეპარტამენტი, თბილისი, საქართველო

** ამტელ ჰოსპიტალი, კარდიოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისი, საქართველო

§ ივანე ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, მედიცინის ფაკულტეტის პათოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისი, საქართველო

აკადემიის წევრი, საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემია; ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი, საქართველო

ესენციური არტერიული ჰიპერტენზიის პათოგენეზი რთული, მულტიფაქტორული პროცესია. არტერიულ ჰიპერტენზიას აქვს სამი ძირითადი სამიზნე ორგანო – გული, თავის ტვინი და თირკმელი, რომელთა დაზიანებაც (ცერებრალური ინსულტის, კორონარული დაავადების, გულისა და თირკმლის უკმარისობა) განსაზღვრავს ამ დაავადების საბოლოო გამოსავალს. გულის, როგორც არტერიული ჰიპერტენზიის სამიზნე ორგანოს, რემოდელირების გამოვლინების ერთ-ერთი ფორმაა მარცხენა პარკუჭის ჰიპერტროფია. არტერიული ჰიპერტენზიის კლინიკური გამოსავალი დამოკიდებულია ე.წ. სამიზნე ორგანოების დაზიანების ხასიათსა და ხარისხზე. კვლევა ჩატარდა 49 თეთრ ექსპერიმენტულ ვირთაგვებზე, მასით 200-220 გ. ჯანმრთელობისა და სამედიცინო კვლევების ეროვნული ინსტიტუტისა (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale) და პასტერის ინსტიტუტის ცხოველთა დაცვის გაიდლაინების გათვალისწინებით. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სხვადასხვა ანტიჰიპერტენზიული საშუალებების ეფექტურობის შესწავლა ჰიპერტენზიის L-NAME-ს ექსპერიმენტულ მოდელზე ვირთაგვებში. ექსპერიმენტის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ NO-ს

უკმარისობის ფონზე განვითარებული ჰიპერტენზია შექცევად ხასიათს ატარებს, თუმცა იწვევს გულის მარცხენა პარკუჭის ჰიპერტროფიას, სისხლძარღვების სისხლსავსეობას, კეროვან სისხლჩაქცევებს და თირკმლების სისხლძარღვის კედლებში სკლეროზული ცვლილებების განვითარებას. სამკვირიანი ანტიჰიპერტენზიული მედიკამენტებით: ნეზილეტ პლუსი (10/25 მგ/კგ), ლოზაპი პლუსი (50/12,5 მგ/კგ), ნორვასკი+ჰიპოთიაზიდი (10/12,5 მგ/კგ), ჰიდროქლორთიაზიდი (50 მგ/კგ) მკურნალობის ფონზე მარცხენა პარკუჭის ჰიპერტროფიამ და თირკმლების სისხლძარღვების კედელში არსებულმა ცვლილებებმა განიცადა რეგრესი. ჩვენ შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ NO-ს სინთეზის ნორმალიზაცია ეფექტურია ცენტრალური არტერიების რეზისტენტობის და სისხლის წნევის რეგულირებისთვის, მაგრამ არ არის საკმარისი სამიზნე ორგანოების დაზიანების თავიდან აცილებისთვის. რაც შეეხება ანტიჰიპერტენზიული მედიკამენტების გამოყენებას, ეფექტურია როგორც პერიფერიული არტერიების ფუნქციის ნორმალიზებაში, ასევე სამიზნე ორგანოების დაზიანების პრევენციისათვის.

REFERENCES

1. Garfinkle M A. (2017) Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment. *J. Am. Soc. Hypertens.*, **11**(6): 385-391.
2. Monticone S., D'Ascenzo F., Moretti C., Williams T.A., Veglio F., Gaita F., Mulatero P. (2018) Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, **6** (1): 41-50.
3. Ushakov A.V., Ivanchenko V.S., Gagarina A.A. (2016) Psychological stress in pathogenesis of essential hypertension. *Curr. Hypertens. Rev.*, **12**(3): 203-214.
4. Ratiani L., Khorava M., Dgebuadze M., Zhvania N., Sanikidze T. (2012) The role of estrogens in pathogenesis of age-related arterial hypertension. *Georgian Medical News*, 208-209: 71-76.
5. Buleishvili M., Lobjanidze N., Ormotsadze G., Erukidze M., Machavariani M. (2016) Estrogen related mechanisms of hypertension in menopausal women. *Georgian Medical News*, 255: 45-51.
6. Bauml M.A., Underwood D.A. (2010) Left ventricular hypertrophy: an overlooked cardiovascular risk factor. *Cleve Clin J. Med.*, **77**: 381-387.
7. Bernátová I., Pechánová O., Simko F. (1999) Effect of captopril in L-NAME-induced hypertension on the rat myocardium, aorta, brain and kidney. *Exp. Physiol.*, **6**: 1095-2105.
8. Rodrigo C., Weerasinghe S., Jeevagan V., Rajapakse S., Constantine G. (2012) Addressing the relationship between cardiac hypertrophy and ischaemic stroke: an observational study. *International Archives of Medicine*, **5**: 32.
9. de Simone G., Palmieri V., Koren M., Mensah G.A., Roman M.J., Devereux R.B. (2001) Prognostic implications of the compensatory nature of left ventricular mass in arterial hypertension. *J. Hypertens*, **19**: 119-125.
10. Pechánová O., Dobesová Z., Cejka J., Kunes J., Zicha J. (2004) Vasoactive systems in L-NAME hypertension: the role of inducible nitric oxide synthase. *J. Hypertens.*, **22**(1): 167-73.
11. Safar M.E. (1999) Hypothesis on isolated systolic hypertension in the elderly. *J. Hum. Hypertens.*, **13**(12): 813-81.
12. Mulvany MJ, Aalkjaer C. (1990) Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.*, **70**(4): 921-61.
13. Kjeldsen S.E., Hedner T., Syvertsen J.O., Lund-Johansen P., Hansson L. (2002) Comparison of home and office blood pressure in treated hypertensives in the Nordic Diltiazem (NORDIL) Study. *Blood Press.*, **11**(6):371-6.

Received October, 2019