



Ο ρόλος των ζωικών μοντέλων ως εργαλείων μελέτης της παθογένεσης και θεραπείας της αρτηριακής υπέρτασης

Φ.-Π. Τατάκης¹
Δ. Κωνσταντινίδης¹
Θ. Μακρής²
Δ. Τούσουλης¹
Κ. Τσιούφης¹

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα ζωικά μοντέλα της αρτηριακής υπέρτασης (ΑΥ) αποτελούν χρήσιμα εργαλεία στην κατανόηση της υποκείμενης παθογένεσης, της πρόληψης, της θεραπείας, καθώς και των συν-νοσηροτήτων της ΑΥ. Η δημιουργία μοντέλων πρωτοπαθούς ΑΥ καθίσταται ένα ιδιαίτερα απαιτητικό ερευνητικό εγχείρημα, λόγω της πολυπαραγοντικής αιτιολογίας της νόσου στον άνθρωπο. Η επιλογή κάθε ερευνητικού πειραματικού μοντέλου βασίζεται πρωτίστως στις ιδιότητες του μοντέλου αυτού, όπως επίσης και στα συγκριτικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά του, καθώς δεν διαθέτουμε —μέχρι στιγμής τουλάχιστον— το ιδανικό ζωικό μοντέλο. Μια σειρά μελετών σε ζωικά μοντέλα ΑΥ έχει επιτυχώς αξιολογήσει σημαντικές ερευνητικές υποθέσεις, ενώ ακόμη έχει οδηγήσει στον σχεδιασμό και υλοποίηση κλινικών μελετών, οδηγώντας κατά αυτό τον τρόπο σε σημαντική βελτίωση της κλινικής διαχείρισης και αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών αγωγών της ΑΥ.

 **Λέξεις-κλειδιά:** αρτηριακή υπέρταση, ζωικά μοντέλα, παθογένεση, θεραπευτικές αγωγές, κλινικές μελέτες

ΜΙΚΡΑ ΕΝΑΝΤΙ ΜΕΓΑΛΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΑΥ

Τα μικρά ζώα χρησιμοποιούνται συχνά στη μελέτη της ΑΥ στοχεύοντας κομβικούς παράγοντες στην παθογένεση της ανθρώπινης ΑΥ, όπως την ευαισθησία στο άλας, την ενεργοποίηση του άξονα της ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (RAAS), καθώς και γενετικούς παράγοντες.

Ένα συγκριτικό πλεονέκτημα των αρουραίων αποτελεί η ύπαρξη πολυάριθμων γενετικών στελεχών με υπερτασικούς φαινοτύπους αυθόρμητους ή επαγόμενους από κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Επιπρόσθετα, οι αρουραίοι είναι εύκολοι

στους χειρισμούς και οικονομικά αποδοτικοί στη συντήρηση, στην ανάπτυξη και στην αναπαραγωγή τους, όμως συγχρόνως θεωρούνται αρκετά μεγάλοι για αναλυτικές μελέτες, συμπεριλαμβανομένης της δυναμικής καρδιαγγειακής παρακολούθησης και της δειγματοληψίας αίματος και ιστών. Έτσι, λόγω επίδειξης φαινοτυπικών χαρακτηριστικών που ομοιάζουν με τα χαρακτηριστικά της ανθρώπινης ΑΥ, οι αρουραίοι χρησιμοποιούνται ευρέως ερευνητικά, προκειμένου να εξεταστεί το γενετικό υπόβαθρο και οι μηχανιστικές βάσεις της ΑΥ. Σημειώνεται πάντως πως κατά τα τελευταία χρόνια, αρκετές από τις τεχνικές έχουν προσαρμοστεί και στα

* Η εργασία έχει χρηματοδοτηθεί από την Ελληνική Εταιρεία Υπέρτασης.

¹Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ιπποκράτειο». ²Καρδιολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο «ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ»

✉ **Αλληλογραφία:** Φώτιος-Παναγιώτης Τατάκης, Δημητρίου Γάννου 2, ΤΚ 19200, Ελευσίνα, Ελλάδα • Τηλ.: 6983128624 • Email: fotis-tatakis@yahoo.gr

ποντίκια, τα οποία έχουν χαμηλότερα πειραματικά κόστη και χαμηλά έξοδα συντήρησης σε σχέση με τους αρουραίους.

Από την άλλη πλευρά, τα σημαντικά πλεονεκτήματα των μεγάλων ζώων, όπως των χοίρων και των ανθρωποειδών, αποτελούν οι ανατομικές, φυσιολογικές και αιμοδυναμικές ομοιότητες τους με τον άνθρωπο σε συνδυασμό πάντοτε με την αναπτυξιακή παθοφυσιολογία της ΑΥ, η οποία προσομοιάζει αυτή των ανθρώπων. Επιπλέον, τα μεγάλα ζώα προσφέρονται για μελέτες των αιμοδυναμικών επιπτώσεων της αύξησης της αρτηριακής πίεσης (ΑΠ) μακροπρόθεσμα, με το επιπρόσθετο πλεονέκτημα της επαναλαμβανόμενης δειγματοληψίας πλάσματος και ιστών, προκειμένου να ποσοτικοποιηθεί η λειτουργική και δομική βλάβη των οργάνων-στόχων *in vivo* και *ex vivo*. Σημαντικό μειονέκτημα ωστόσο αποτελεί η περιορισμένη διαθεσιμότητα γενετικώς τροποποιημένων μεγάλων ζώων στην ΑΥ. Τέλος, τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα μεγάλα ζώα στην ΑΥ θεωρούνται ο κύκνος, το πρόβατο, τα ανθρωποειδή και σπανίως οι σκύλοι.

ΜΕΣΑ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΑΥ ΣΕ ΖΩΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

Τα μέσα επαγωγής της ΑΥ απαιτούν φαρμακολογικούς ή χειρουργικούς χειρισμούς. Οι **φαρμακολογικές παρεμβάσεις** που αφορούν στη χρήση μακροπρόθεσμων εγχύσεων αγγειοτενσίνης II, γλυκοκορτικοειδών ή DOCA (με ή χωρίς παράλληλη διαίτα υψηλή σε άλας) σε χοίρους και σκύλους¹⁻⁴ είναι οι πιο σπάνια χρησιμοποιούμενες τεχνικές, σε σχέση με την εφαρμογή αυτών σε μικρά ζώα, λόγω του υψηλού κόστους τιτλοποίησης των φαρμάκων.

Από την άλλη πλευρά, η **χειρουργική επαγωγή της ΑΥ** είναι απλή, ευρέως χρησιμοποιούμενη και καλώς ανεκτή, με χαμηλή μάλιστα θνητότητα. Τέτοιοι χειρουργικοί χειρισμοί περιλαμβάνουν τη συμπίεση της αορτής με εξωτερική περιίδεση⁵, την τοποθέτηση ενδαγγειακών συσκευών στις νεφρικές αρτηρίες¹⁰ ή εμφυτεύσιμων προσαρμόσιμων occluders στην υπερνεφρική χώρα της αορτής⁶⁻⁷ ή στις νεφρικές αρτηρίες^{8,9}. Αυτές οι μέθοδοι μας παρέχουν αξιόπιστα μοντέλα νεφραγγειακής υπέρτασης, ενώ η χρήση των occluders, που περιορίζουν την αιματική ροή, επιτρέπουν την ανίχνευση του βαθμού αύξησης της ΑΠ και του ουδού, πάνω από τον οποίο πυροδοτούνται οι βλάβες τελικών οργάνων-στόχων.

Οι ενδαγγειακές συσκευές μάλιστα που οδηγούν σε προοδευτική στένωση του αυλού του αγγείου, αντικατοπτρίζουν τον ρόλο των αθηρωματικών πλακών στη στένωση της νεφρικής αρτηρίας. Τέλος, πρόσφατα δεδομένα καταδεικνύουν ολοένα και συχνότερα τη χρήση του αφρικανικού πράσινου πιθήκου ως μοντέλου αυθόρμητης ΑΥ¹¹. Η ΑΥ σε αυτό το μοντέλο δεν απαιτεί εξωτερικούς χειρισμούς, επιτείνεται με τη γήρανση και σχετίζεται με την ανάπτυξη και εγκατάσταση των βλαβών των τελικών οργάνων-στόχων.

ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΑΥ

Πέραν της δυνατότητας επαγωγής της ΑΥ, υπάρχουν και τα γενετικά μοντέλα των αρουραίων¹²⁻¹⁴ (Πίν. 1), καθώς και τα μοντέλα αυθόρμητης ΑΥ των **μεγάλων ζώων**. Το πιο ευρέως μελετημένο μοντέλο αρουραίων είναι το spontaneously hypertensive rats [SHRs]. Η πλειοψηφία των γενετικά υπερτασικών αρουραίων προέρχεται πάντως από τη δεξαμενή των Wistar ή Sprague-Dawley (SD) με επιλογή για χαρακτηριστικά, που συσχετίζονται ισχυρά με την ΑΥ.

Ιδιοπαθής ή πρωτοπαθής ΑΥ έχει περιγραφεί σε μια ποικιλία μεγάλων ζωικών ειδών, όπως στα κοτόπουλα, τις γαλοπούλες, τα κουνέλια, τους κύκνους, τους σκύλους και άλλα ανθρωποειδή²⁶⁻²⁸. Ακόμη, οι σκύλοι²⁹ και οι χοίροι²⁸ ως μοντέλα εμφανίζουν υπερτροφία της αριστερής κοιλίας (LVH), μία από τις σημαντικότερες επιπλοκές δηλαδή της ΑΥ, η οποία συνιστά δείκτη καρδιαγγειακής θνησιμότητας και θνητότητας. Οι υποκατηγορίες των Guizhou μικρών χοίρων (minipigs) και των Sichuan χοίρων πάντως παρουσιάζουν νεφρική νόσο με ήπια ίνωση των νεφρών, η οποία μπορεί εν μέρει να είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη ΑΥ. Σε αυτό το μοντέλο συστηματικής ΑΥ, η αμφοτερόπλευρη απονεύρωση των νεφρών αποδείχθηκε πως ομαλοποιεί την ΑΠ²⁸. Τέλος, το μοντέλο των κύκνων με τη σειρά του καταδεικνύει πως η αυθόρμητη ΑΥ είναι αποτέλεσμα νευρογενών μηχανισμών, μέσω κυρίως αυξημένης εκφόρτισης του συμπαθητικού νευρικού συστήματος.

ΜΟΝΤΕΛΑ ΝΕΦΡΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΑΥ

Τα θεμελιώδη πειράματα των Goldblatt et al⁸ και αργότερα του Page³⁰ το 1930 έθεσαν τις βάσεις για την ανάπτυξη των χειρουργικά επαγόμενων μοντέλων ΑΥ και άνοιξαν έτσι ένα νέο κεφάλαιο στην έρευνα της ΑΥ. Τα πειράματα αυτά έθεσαν τον νε-

Πίνακας 1. Ζωικά μοντέλα αρουραίων και βασικά τους χαρακτηριστικά

Ζωικά μοντέλα αρουραίων	Χαρακτηριστικά μοντέλων
SHR	<ul style="list-style-type: none"> • Διασταύρωση αρσενικού του Wistar, το οποίο παρουσιάζει αυθόρμητα αυξημένη ΑΠ με ένα θηλυκό, με ελαφρώς αυξημένη ΑΠ¹⁴ • Τα μοντέλα αυτά είναι ευρέως χρησιμοποιούμενα ως μοντέλα πρωτοπαθούς ή ιδιοπαθούς ΑΥ • Ο υπο-πληθυσμός των stroke-prone SHR έχει αποδειχθεί ιδιαίτερος ωφέλιμος στις μελέτες των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, της αγγειακής λειτουργίας, της ρύθμισης του αυτονόμου νευρικού συστήματος, της νεφρικής λειτουργίας, των θεραπευτικών παρεμβάσεων και, τέλος, της γενετικής βάσης της πρωτοπαθούς ΑΥ^{15,16}
DSS	<ul style="list-style-type: none"> • Αναπτύχθηκαν από τον Lewis Dahl, ο οποίος παρατήρησε τα οφέλη της χαμηλής σε άλας δίαιτας περί το 1950, μελετώντας ακολούθως την επίδραση διαφορετικών διατροφών σε άλας, στην ΑΠ σε SD αρουραίους¹⁷ • Η επιλεκτική αναπαραγωγή των αρουραίων με δίαιτα υψηλή σε άλας που ανέπτυξαν ΑΥ, οδήγησε στη δημιουργία των DSS, τα οποία συχνά χρησιμοποιούνται στη μελέτη των νεφρών, των αγγείων και σε μελέτες γενετικής στην ΑΥ¹⁷ • Η επιλεκτική αναπαραγωγή αρουραίων ανθεκτικών στην αλατο-ευαίσθητη ΑΥ οδήγησε στη δημιουργία των Dahl αλατο-ανθεκτικών αρουραίων
FHH	<ul style="list-style-type: none"> • Προέρχονται από τον αρουραίο fawn-hooded, ο οποίος χαρακτηρίζεται για την αιμορραγική του διαταραχή¹⁸ • Οι αρουραίοι αυτοί έχουν υψηλή μέση ΑΠ, σε σύγκριση με τους Wistar • Η χρήση τους αφορά στη μελέτη της γενετικής της ΑΥ και της χρόνιας νεφρικής νόσου
Milan	<ul style="list-style-type: none"> • Προέρχονται από τους Wistar, οι οποίοι εμφάνιζαν αυξημένη ΑΠ και χρησιμοποιούνται στη μελέτη της πρωτοπαθούς ΑΥ^{19,20} • Οι νορμοτασικοί αρουραίοι Milan χρησιμοποιούνται στη μελέτη των γενετικών μηχανισμών της διαταραγμένης μυογενούς απόκρισης, καθώς επίσης και στην επιρροή ανάπτυξης πρωτεΐνουρίας και νεφρικής βλάβης²¹
Lyon	<ul style="list-style-type: none"> • Απόγονοι των SD αρουραίων με βάση την υψηλή, φυσιολογική και χαμηλή ΑΠ^{22,23} • Παρουσιάζουν διαφορά στην ΑΠ ήδη από τις 5 εβδομάδες και χρησιμοποιούνται στη μελέτη μεταβολικών, νεφρικών, καρδιακών, γενετικών ερευνών και μελετών του αυτονόμου νευρικού συστήματος
Sabra	<ul style="list-style-type: none"> • Διασταύρωση με επιλογή για την υψηλή ΑΠ μετά από μονόπλευρη νεφρεκτομή, θεραπεία με DOCA και δίαιτα εμπλουτισμένη σε άλας²⁴ • Ένας δεύτερος γύρος αναπαραγωγής έδωσε γέννηση στη δημιουργία αλατο-ευαίσθητων και αλατο-ανθεκτικών στη θεραπεία με DOCA-άλας αγωγών²⁵ • Το είδος αυτό χρησιμοποιείται στις μελέτες γενετικής, με εξέταση των περιβαλλοντικών επιδράσεων στην ΑΠ

SHRs: spontaneously hypertensive rats, DSS: Dahl salt-sensitive rats, FHH: fawn-hooded hypertensive

φρό και τις νεφρικές αρτηρίες εντός του σύνθετου «χάρτη» της παθοφυσιολογίας της ΑΥ και ανέδειξαν τη στενή συσχέτιση μεταξύ του νεφρού και της ρύθμισης της ΑΠ, παρέχοντας έτσι ώθηση στην ανάπτυξη ποικίλων θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Πιο συγκεκριμένα, τα πειράματα του Goldblatt et al στα ζωικά μοντέλα one-clip two-kidney (2K1C) και one-clip one-kidney (1K1C) συνέβαλαν σημαντικά στη βαθύτερη γνώση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Στο μοντέλο 2K1C, η στένωση της μιας νεφρικής αρτηρίας μείωσε τη νεφρική άρδευση, ενώ

ο άλλος νεφρός παρέμεινε ανέπαφος. Στο 1K1C μοντέλο, ο ένας νεφρός αφαιρέθηκε και ο άλλος νεφρός υπέστη στένωση της νεφρικής αρτηρίας. Σε αμφότερα τα δυο αυτά μοντέλα λοιπόν, η πρόωμη φάση της ΑΥ χαρακτηριζόταν από την απότομη, ταχεία αύξηση της ρενίνης ως απάντηση στη χαμηλή πίεση άρδευσης του νεφρού και στην επακόλουθη αύξηση των επιπέδων AngII. Ωστόσο, οι μηχανισμοί στη χρόνια φάση της ΑΥ διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δυο μοντέλων. Στο μοντέλο 2K1C δηλαδή, η ΑΥ διατηρούνταν λόγω του συνεχώς ενεργοποι-

ημένου συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης, καθώς μέσω του φαινόμενου «πίεσης-νατριούρησης» ο αντίπλευρος-φυσιολογικός νεφρός παρεμπόδιζε την ανάπτυξη υπερογκαιμίας. Αντιθέτως, η κατακράτηση όγκου στο μοντέλο με τον έναν παθολογικό νεφρό (1K1C) κατέστειλε την έκκριση ρενίνης μέσω αρνητικής ανατροφοδότησης, αποτελώντας έτσι ένα μοντέλο υπο-ρενιναιμικής, ογκοεξαρτώμενης ΑΥ.

Οι χειρουργικές τεχνικές επαγωγής της υπέρτασης στοχεύουν στην ελάττωση της αιματικής ροής προς την υπερνεφρική χώρα της αορτής ή τις νεφρικές αρτηρίες, με ή χωρίς συνοδό απομάκρυνση νεφρικής μάζας. Ακόμη, η επαγόμενη συμπίεση του νεφρικού παρεγχύματος, η υφολική νεφρεκτομή και η απονεύρωση των τασεοϋποδοχέων των καρωτιδικών κόλπων, αποτελούν τεχνικές οι οποίες μπορούν να εφαρμοστούν σε αμφότερα τα μικρά και μεγάλα ζωικά μοντέλα, υπογραμμίζοντας έτσι τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της ΑΥ.

Ένα κοινό παθοφυσιολογικό χαρακτηριστικό που προέκυψε άλλωστε μέσω των μοντέλων νεφραγγειακής ΑΥ είναι η μείωση στην ιστική άρδευση των νεφρών, επιφέροντας ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του συστήματος RAAS και οδηγώντας έτσι σε αγγειοσύσπαση και σε κατακράτηση άλατος και ύδατος. Η συστηματική ΑΥ επάγει την προοδευτική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, την επίταση της τοιχωματικής πίεσης, τη βλάβη των οργάνων-στόχων, ενώ η μακροπρόθεσμη μείωση της αιματικής ροής προς τους νεφρούς οδηγεί στην ιστική ισχαιμία και στην απελευθέρωση των παραγόντων HIF (hypoxia-inducible factors), στο οξειδωτικό stress και στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της φλεγμονής. Όλα τα ανωτέρω επάγουν τη μικροαγγειακή αναδιαμόρφωση (remodeling), την ίνωση και την έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, επιτελώντας έτσι τη

διατήρηση της ΑΥ και τη βλάβη των τελικών οργάνων-στόχων.

Η ικανότητα επαγωγής νεφραγγειακής ΑΥ σε γενετικά τροποποιημένα τρωκτικά προσφέρει μοναδικές δυνατότητες ανίχνευσης των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών και κατανόησης των επιπτώσεων της ΑΥ. Τέλος, τα μικρά και μεγάλα ζωικά μοντέλα νεφραγγειακής ΑΥ επιτρέπουν τη μελέτη της επίδρασης των συν-νοσηροτήτων στη βλάβη των οργάνων-στόχων, μιμούμενα τον πληθυσμό των ηλικιωμένων ασθενών με ΑΥ και συνυπάρχοντες καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου³⁰⁻³².

ΑΥ ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗ-II

Το σύστημα RAAS είναι ενεργοποιημένο στην ανθρώπινη πρωτοπαθή ΑΥ και μάλιστα ο βαθμός αύξησης της ΑΠ που επιτυγχάνεται με τις συνήθεις δόσεις αγγειοτενσίνης II στα ποντίκια είναι αντίστοιχος αυτών που συναντάμε στην αρρυθμιστη σταδίου 2 ΑΥ. Μετά το πέρας 4 εβδομάδων από την έναρξη της συνεχούς έγχυσης στα τρωκτικά, οι βλάβες των τελικών οργάνων-στόχων είναι όμοιες με αυτές των ανθρώπων, συμπεριλαμβάνουν δηλαδή την υπερτροφία της καρδιάς, την αναδιαμόρφωση των αγγείων και τη χρόνια νεφρική νόσο³³⁻³⁶. Ωστόσο, λόγω του ότι η νεφρική αγγειοσύσπαση από την AngII μπορεί να επάγει την ισχαιμία, κυρίως σε αυξημένες δόσεις, το μοντέλο αυτό κυρίως αφορά τη νεφρική βλάβη σε έδαφος χρόνιας νεφρικής ισχαιμίας στην ανθρώπινη ΑΥ³⁶.

Τα άμεσα αποτελέσματα στα επίπεδα της ΑΠ μπορούν να εκτιμηθούν σε δευτερόλεπτα έως λεπτά⁴⁰, ενώ σε μακροχρόνια χορήγηση > 500 ng*kg⁻¹*min⁻¹ AngII, οι αυξήσεις στην ΑΠ εμφανίζονται μέσα στις

Πίνακας 2. Στελέχη ζωικών μοντέλων ποντικών και τα χαρακτηριστικά τους

Στελέχη ποντικών	Χαρακτηριστικά μοντέλων
C57LB/6	<ul style="list-style-type: none"> Περισσότερο ανθεκτικά στη νεφρική βλάβη και δεν θεωρούνται αλατοευαίσθητα, καθιστώντας το μοντέλο αυτό κατά αυτόν τον τρόπο, ιδανικό μοντέλο διερεύνησης της RAAS-εξαρτώμενης ΑΥ^{37,38}
129SVE	<ul style="list-style-type: none"> Είναι αλατοευαίσθητα, ευαίσθητα στη νεφρική βλάβη και παρουσιάζουν πιο υψηλές και απότομες αυξήσεις στην ΑΠ σε όμοιες δόσεις Ang II, σε σύγκριση με τα ποντίκια C57BL/6⁴³
FVB	<ul style="list-style-type: none"> Αναπτύσσουν αξιοσημείωτη βλάβη στους νεφρούς, ιδιαιτέρως όταν συνδυάζεται η έγχυση της αγγειοτενσίνης II με μονόπλευρη νεφρεκτομή³⁹

πρώτες 24 ώρες³³. Η αναδιαμόρφωση των αγγείων είναι ορατή εντός 2 εβδομάδων³⁴ και η υπερτροφία της καρδιάς δύναται να διαγνωστεί εντός 2-4 εβδομάδων^{33,41}. Τέλος, η νεφρική βλάβη μπορεί να αναπαραχθεί σε 4 εβδομάδες σε ευαίσθητα στελέχη^{35,42}, αλλά είναι πιο κυρίαρχη μετά τις 8 εβδομάδες³⁹. Η μονόπλευρη νεφρεκτομή, η δίαιτα υψηλή σε άλας καθώς και η εκτεταμένη περίοδος έγχυσης (περίπου διαρκείας 8 εβδομάδων), μπορούν να επισπεύσουν σημαντικά την εγκατάσταση της νεφρικής βλάβης.^{39,44}

ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΥ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΟ ΣΤΑ ΑΛΑΤΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΗ

Η χορήγηση αλατοκορτικοειδών από κοινού με μια δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε άλας, είναι ικανή να επάγει την ΑΥ σε μικρά και μεγάλα ζώα. Στα ζώα λοιπόν, η υψηλή πρόσληψη άλατος και η χορήγηση δεοξυκορτιοστερόνης (DOCA) είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη προσέγγιση της επαγόμενης μέσω των αλατοκορτικοειδών-άλατος ΑΥ. Αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει πως τα αποτελέσματα των αλατοκορτικοειδών όπως η DOCA είναι σημαντικά ενισχυμένα σε ζώα ευαίσθητοποιημένα στις δράσεις της DOCA από μία υψηλή πρόσληψη άλατος (τυπικά 0,6%-1% NaCl στο πόσιμο νερό) και μιας συνοδής μονόπλευρης νεφρεκτομής⁴⁴. Παρ' όλο που το ανωτέρω μοντέλο εφαρμόζεται σε αρουραίους, έχει επιτυχώς εφαρμοστεί και σε ποντίκια, σκύλους, πρόβατα και χοίρους. Το μοντέλο αυτό χαρακτηρίζεται από χαμηλή δραστηριότητα ρενίνης πλάσματος (και χαμηλά επίπεδα AngII), οπότε και προσομοιάζει έτσι μια κοινή μορφή ανθρώπινης πρωτοπαθούς ΑΥ, αυτή της υπορενιναιμικής ΑΥ.

Το μοντέλο DOCA-άλατος εμφανίζει ογκοεξαρτώμενες αγγειακές και νευρογενείς επιδράσεις. Ακόμη, τα ζώα υπό αγωγή με DOCA-άλας παρουσιάζουν υπερδραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, οδηγώντας σε αύξηση της αγγειοσυσπασίας των αρτηριολίων και του φλεβικού σκέλους της κυκλοφορίας. Η DOCA έχει διαπιστωθεί επιπλέον πως ευαίσθητοποιεί τον εγκέφαλο στο άλας και στην ωσμωτικότητα, οπότε και η αυξημένη ωσμωτικότητα που προκαλείται αποτελεί ρυθμιστή της δραστηριότητας του τόνου του συμπαθητικού νευρικού συστήματος⁴⁵. Τέλος, παρ' όλο που η ΑΥ από τη DOCA-άλας χαρακτηρίζεται από μειωμένη δραστηριότητα ρενίνης πλάσματος, τα επίπεδα αγγειοτενσίνης II στον εγκέφαλο μπορεί να αυξηθούν, υποδηλώνοντας την ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συ-

στήματος και την κατακράτηση νατρίου-ύδατος μέσω της δράσης των AT1 υποδοχέων στον εγκέφαλο⁴⁶. Σημειώνεται πάντως πως οι Guzik et al κατέδειξαν έναν ιδιαίτερο ρόλο των T λεμφοκυττάρων στο μοντέλο της DOCA-άλατος ΑΥ, που οδηγεί σε αύξηση της ΑΠ και στην παραγωγή υπεροξειδίου, καθιστώντας σαφές πως τα T λεμφοκύτταρα κατέχουν σημαντικό ρόλο στο μοντέλο αυτό³⁴.

ΜΟΝΤΕΛΟ ΝΕΦΡΟΓΕΝΟΥΣ ΑΥ

Ο επιπολασμός της υπέρτασης μεταξύ ασθενών με νεφρική νόσο υπογραμμίζει τη συσχέτιση των μοντέλων νεφρογενούς ΑΥ με την ανθρώπινη ΑΥ, καθώς > 90% των ασθενών με τελικού σταδίου νεφρική νόσο σχετίζεται με την ΑΥ. Μοντέλα με εναπομείναντες λειτουργούντες νεφρώνες αναπτύχθηκαν σε αρουραίους, προκειμένου να διερευνηθούν τα προσαρμοστικά αποτελέσματα της μείωσης της νεφρικής μάζας στους εναπομείναντες νεφρώνες⁴⁷. Η χρήση των μοντέλων αυτών λοιπόν αναδεικνύει τα αποτελέσματα της πειραματικής υπερδιήθησης και το όφελος της μείωσης της ενδοσπειραματικής πίεσης μέσω αναστολής του συστήματος RAAS. Αναγωγές από αυτά τα μοντέλα σε αρουραίους καθιερώνουν τη χρήση των αναστολέων του RAAS σε ασθενείς με νεφρική νόσο και ΑΥ. Η πρόκληση εμφράκτου στα 2/3 του ενός νεφρού ενός αρουραίου οδηγεί σε ΑΥ, ενώ η 2/3 νεφρεκτομή με την ολική αντίπλευρη νεφρεκτομή, το σύγχρονο δηλαδή μοντέλο της υφολικής νεφρεκτομής, προάγει την ΑΥ και τη νεφροσκληρυνση. Έτσι, ΑΥ διαπιστώθηκε πως αναπτύσσεται στους εναπομείναντες νεφρώνες αρουραίων.

Εν αντιθέσει, η υφολική νεφρεκτομή σε ποντίκια επάγει την ΑΥ στα αλατοευαίσθητα στελέχη 129SVE και όχι στα C57BL/6 ποντίκια, τα οποία χαρακτηρίζονται και ως μη αλατοευαίσθητα^{49,51,52}. Στο μέλλον διαφαίνεται λοιπόν πως η υφολική νεφρεκτομή θα παραμείνει ένα χρήσιμο εργαλείο της ΑΥ, που απαντά σε ασθενείς με προχωρημένη χρόνια νεφρική νόσο. Η αλατοευαίσθησία στους εναπομείναντες νεφρώνες των αρουραίων ή των 129SVE ποντικίων ενισχύει τη συσχέτισή τους και τον ισχυρό παραλληλισμό τους με ανθρώπινους υπο-πληθυσμούς — όπως εκείνον της μαύρης φυλής — οι οποίοι και θεωρούνται per se ευαίσθητοι στο άλας.

Μεταβολές στη μορφολογία του καρδιακού μυός και στη λειτουργία αυτού, όπως η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας (LVH) και η διαστολική δυσλειτουργία,

τουργία που συναντάμε στην υφολική νεφροκτομή, συνιστούν μοντέλα ανάπτυξης και μελέτης του καρδιονεφρικού συνδρόμου^{48,50}. Από την άλλη πλευρά, η νεφροσκλήρυνση που απαντά, ιδίως στους αρουραίους, μιμείται την εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση, η οποία εγκαθίσταται μάλιστα αρκετά χρόνια μετά ως επί εδάφους μη ελεγχόμενης ΑΥ.

ΜΟΝΤΕΛΑ ΑΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Η συμβολή των ζωικών μοντέλων στον ρόλο του μονοξειδίου του αζώτου (NO) είναι καθοριστικής σημασίας. Οι ερευνητές ξεκίνησαν να διερευνούν την πιθανότητα η αναστολή της συνθάσης του NO να προκαλεί ΑΥ σε μοντέλα ζώων. Το 1990 οι Gardiner et al⁵³ απέδειξαν πως η βραχεία θεραπεία των Brattleboro αρουραίων με L-NMMA (N^G-monomethyl-L-Arginine), ο οποίος είναι αναστολέας της συνθάσης του NO, προκαλεί αύξηση της ΑΠ. Οι Ribeiro et al⁵⁴ στις μελέτες τους κατέδειξαν πως η μακροχρόνια αγωγή των Wistar αρουραίων με τον αναστολέα L-NAME (N^o-nitro-L-arginine) επέφερε επίσης αυξήσεις της συστολικής ΑΠ κατά > 60 mmHg. L-NAME-θεραπευόμενοι αρουραίοι παρουσίασαν ακόμη αγγειοσύσπαση των νεφρών και ιστική υποάρδευση⁵⁴⁻⁵⁵. Μάλιστα καθώς η νόσος εξελίσσεται, χαρακτηρίζεται από νεφρική δυσλειτουργία, υπερτασική μικροαγγειοπάθεια των νεφρών, ίνωση της καρδιάς, των αγγείων και των νεφρών και εμφανίζονται χαρακτηριστικά κακοήθους ΑΥ. Αυτές οι μελέτες πρότειναν έτσι ένα νέο μοντέλο ΑΥ, επαγόμενο από τη μακροχρόνια αναστολή του NO και δόθηκε η δυνατότητα στην κοινότητα της ΑΥ να διαθέτει ένα μοντέλο σοβαρής / κακοήθους ΑΥ με ενδείξεις βλάβης οργάνων-στόχων.

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί της επαγόμενης από την L-NAME ΑΥ φαίνεται πως συμπεριλαμβάνουν διαδικασίες και μονοπάτια εκτός της αμγούς αναστολής του προερχόμενου από το ενδοθήλιο NO, καθώς η έγχυση L-Αργινίνης δεν αντιστρέφει τελείως την ανάπτυξη της ΑΥ. Πιθανότατα, η αναστολή του NO να επιφέρει επιδράσεις στους ρυθμιστικούς μηχανισμούς της ΑΠ μακροπρόθεσμα, πέραν δηλαδή των άμεσων επιδράσεων στην αγγειοδιαστολή και στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου. Πιο συγκεκριμένα, η εμμένουσα αναστολή της βιοσύνθεσης του NO με το L-NAME σχετίζεται με την αγγειοσύσπαση, την ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του συστήματος

RAAS, το οξειδωτικό stress, τη νεφρική βλάβη και τις δομικές μεταβολές του αγγειακού τοιχώματος. Μάλιστα, ακόμη και οι αναστολές του RAAS αποτυγχάνουν να μετριάσουν τις επιδράσεις του L-NAME, οπότε και διαφαίνεται πως περαιτέρω υποκείμενοι μηχανισμοί, όπως της ET-1, εμπλέκονται στην πρόκληση της ΑΥ⁵⁵.

ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ-ΣΤΟΧΩΝ

Τα μοντέλα αυτά κατέχουν επίσης περίοπτη θέση στη μελέτη των βλαβών των οργάνων-στόχων και στους μηχανισμούς εγκατάστασης των βλαβών αυτών. Η επίδραση της ΑΥ στην ανθρώπινη υγεία αφορά βλάβες σε όργανα-στόχους, όπως ο εγκέφαλος, η καρδιά, οι νεφροί και τα αγγεία. Τα μοντέλα των τρωκτικών προσφέρονται λοιπόν για τη μελέτη των υποκείμενων μηχανισμών, μέσω των οποίων η ΑΥ προκαλεί βλάβες σε επίπεδο ιστού και πιο συγκεκριμένα: α) στο αγγειακό remodeling, β) στην καρδιακή αναδιαμόρφωση, γ) στη νεφρική βλάβη και, τέλος, δ) στον εγκέφαλο.

Συμπερασματικά, η ΑΥ αποτελεί την πιο συχνή χρόνια νόσο σε παγκόσμια κλίμακα και ως εκ τούτου απαιτείται η ιατρική κοινότητα να εμβαθύνει περαιτέρω σε άγνωστες πτυχές της παθογένεσης, της πρόληψης και της θεραπευτικής της νόσου. Σε αυτό το πλαίσιο λοιπόν, η χρήση ζωικών μοντέλων συνεισφέρει σημαντικά στη μελέτη των υποκείμενων παθογενετικών μηχανισμών και στην ανεύρεση νέων θεραπευτικών επιλογών. Οι ερευνητές επομένως καλούμαστε με τη σειρά μας να λαμβάνουμε στοχευμένες αποφάσεις στην επιλογή του κατάλληλου πειραματικού ζωικού μοντέλου και μοντέλου ΑΥ, καθώς επίσης καλούμαστε να σχεδιάζουμε προσεκτικά και να διεξάγουμε τα ερευνητικά μας πρωτόκολλα, με παράλληλη προσεκτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων μας.

SUMMARY

Tatakis FP, Konstantinidis D, Makris Th, Tousoulis D, Tsioufis K

Animal models as tools to study the pathogenesis of hypertension and develop new treatment strategies

Arterial Hypertension 2020; 29: 176-183.

Animal models have been useful tools in mimicking and understanding the underlying pathogenesis, pre-

vention, treatment of hypertension and its comorbidities. The development of hypertensive models poses a challenge in the field of experimental hypertension mainly because of the multifactorial etiology of hypertension in humans. The choice of an appropriate animal model for research purposes is based on its properties, advantages and disadvantages, as the ideal animal model does not exist in the area of translational research. On the other hand, studies in animal models of hypertension have assessed crucial hypotheses concerning human hypertension and have supported numerous clinical studies, succeeding in the improvement of clinical management and outcomes.

Key-words: arterial hypertension, animal models, pathogenesis, treatment, clinical trials

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Reichlin TS, Vogt L, Würbel H. The researchers' view of scientific rigorsurvey on the conduct and reporting of in vivo research. *PLoS One*. 2016;11:e0165999. doi: 10.1371/journal.pone.0165999.
2. McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *BiochemPharmacol* 2014; 87: 162-171. doi: 10.1016/j.bcp.2013.08.006.
3. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 77-88.
4. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fishbein MC, Frohlich ED. Cardiac function and morphology with aging in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 1979; 237: H461-H468.
5. Hofstaetter JG, Blouin S, Friehs I, Klaushofer K, Roschger P. No effect of short-term hypertension on bone matrix mineralization in a surgical animal model in immature rabbits. *Clin Exp Hypertens* 2012; 34: 107-112. doi: 10.3109/10641963.2011.601382.
6. Fossum TW, Baltzer WI, Miller MW, et al. A novel aortic coarctation model for studying hypertension in the pig. *J Invest Surg* 2003; 16: 35-44.
7. Cody RJ Jr, Rodger RF, Hartley LH, Burton J, Herd JA. Acute hypertension in a nonhuman primate: humoral and hemodynamic mechanisms. *Hypertension* 1982; 4: 219-225.
8. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension, I: the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 1934; 59: 347-379.
9. Panek RL, Ryan MJ, Weishaar RE, Taylor DG Jr. Development of a high renin model of hypertension in the cynomolgus monkey. *Clin Exp Hypertens A* 1991; 13: 1395-1414.
10. Lerman LO, Schwartz RS, Grande JP, Sheedy PF, Romero JC. Noninvasive evaluation of a novel swine model of renal artery stenosis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1455-1465.
11. Rhoads MK, Goleva SB, Beierwaltes WH, Osborn JL. Renal vascular and glomerular pathologies associated with spontaneous hypertension in the nonhuman primate *Chlorocebus aethiops sabaicus*. *Am J PhysiolRegul Integr Comp Physiol* 2017; 313: R211-R218. doi: 10.1152/ajpregu.00026.2017.
12. Doggrel SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 89-105.
13. Padmanabhan S, Joe B. Towards precision medicine for hypertension: a review of genomic, epigenomic, and microbiomic effects on blood pressure in experimental rat models and humans. *Physiol Rev* 2017; 97: 1469-1528. doi: 10.1152/physrev.00035.2016.
14. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1963; 27: 282-293.
15. Okamoto K, Yamoci Y, Nagaoka A. Establishment of the stroke prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ Res* 1974; 34 (suppl I): I-143-I153.
16. Nabika T, Ohara H, Kato N, Isomura M. The stroke-prone spontaneously hypertensive rat: still a useful model for post-GWAS genetic studies? *Hypertens Res* 2012; 35: 477-484. doi: 10.1038/hr.2012.30.
17. Joe B. Dr Lewis Kitchener Dahl, the Dahl rats, and the "inconvenient truth" about the genetics of hypertension. *Hypertension* 2015; 65: 963-969. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04368.
18. Tschopp TB, Baumgartner HR. Defective platelet adhesion and aggregation on subendothelium exposed in vivo or in vitro to flowing blood of fawn hooded rats and storage pool disease. *ThrombHaemost* 1977; 38: 620-629.
19. Bianchi G, Fox U, Imbasciati E. The development of a new strain of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 1974; 14: 339-347.
20. Bianchi G, Fox U, Di Francesco GF, Giovanetti AM, Pagetti D. Blood pressure changes produced by kidney cross-transplantation between spontaneously hypertensive rats and normotensive rats. *Clin Sci Mol Med* 1974; 47: 435-448.
21. Ge Y, Fan F, Didion SP, Roman RJ. Impaired myogenic response of the afferent arteriole contributes to the increased susceptibility to renal disease in Milan normotensive rats. *Physiol Rep* 2017; 5: e13089. doi: 10.14814/phy2.13089.
22. Dupont J, Dupont JC, Froment A, Milon H, Vincent M. Selection of three strains of rats with spontaneously different levels of blood pressure. *Biomedicine* 1973; 19: 36-41.
23. Vincent M, Dupont J, Sassard J. Plasma renin activity as a function of age in two new strains of spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Clin Sci Mol Med* 1976; 50: 103-107.
24. Ben-Ishay D, Zamir N, Feurstein G, Kobrin I, Le Quan-Bui KH, Devynck MA. Distinguishing traits in the Sabra hypertension-prone (SBH) and hypertension-resistant (SBN) rats. *Clin Exp Hypertens* 1981; 3: 737-747.
25. Yagil C, Katni G, Rubattu S, et al. Development, genotype and phenotype of a new colony of the Sabra hypertension prone (SBH/y) and resistant (SBN/y) rat model of salt sensitivity and resistance. *J Hypertens* 1996; 14: 1175-1182.
26. Schlager G. Spontaneous hypertension in laboratory animals: a review of the genetic implications. *J Hered*.

- 1972; 63: 35-38.
27. Alexander N, Hinshaw LB, Drury DR. Further observations on development of a colony of spontaneously hypertensive rabbits. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 92: 249-253.
 28. Li D, Wang Q, Zhang Y, et al. A novel swine model of spontaneous hypertension with sympathetic hyperactivity responds well to renal denervation. *Am J Hypertens* 2016; 29: 63-72. doi: 10.1093/ajh/hpv066.
 29. Littman MP, Robertson JL, Bovée KC. Spontaneous systemic hypertension in dogs: five cases (1981-1983). *J Am Vet Med Assoc* 1988; 193: 486-494.
 30. Page IH. A method for producing persistent hypertension by cellophane. *Science* 1939; 89: 273-274.
 31. Hollander W, Prusty S, Kemper T, Rosene DL, Moss MB. The effects of hypertension on cerebral atherosclerosis in the cynomolgus monkey. *Stroke* 1993; 24: 1218-1226.
 32. Xu CP, Glagov S, Zatina MA, Zarins CK. Hypertension sustains plaque progression despite reduction of hypercholesterolemia. *Hypertension* 1991; 18: 123-129.
 33. Crowley SD, Gurley SB, Herrera MJ, et al. Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 17985-17990. doi: 10.1073/pnas.0605545103
 34. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med* 2007; 204: 2449-2460. doi: 10.1084/jem.20070657.
 35. Crowley SD, Frey CW, Gould SK, et al. Stimulation of lymphocyte responses by angiotensin II promotes kidney injury in hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F515-F524. doi: 10.1152/ajprenal.00527.2007.
 36. Crowley SD, Zhang J, Herrera M, Griffiths R, Ruiz P, Coffman TM. Role of AT₁ receptor-mediated salt retention in angiotensin II-dependent hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F1124-F1130. doi: 10.1152/ajprenal.00305.2011.
 37. Hartner A, Cordasic N, Klanke B, Veelken R, Hilgers KF. Strain differences in the development of hypertension and glomerular lesions induced by deoxycorticosterone acetate salt in mice. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1999-2004.
 38. Sparks MA, Stegbauer J, Chen D, et al. Vascular type 1A angiotensin II receptors control BP by regulating renal blood flow and urinary sodium excretion. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 2953-2962. doi: 10.1681/ASN.2014080816.
 39. Lautrette A, Li S, Alili R, et al. Angiotensin II and EGF receptor cross-talk in chronic kidney diseases: a new therapeutic approach. *Nat Med* 2005; 11: 867-874. doi: 10.1038/nm1275.
 40. Oliverio MI, Best CF, Kim HS, Arendshorst WJ, Smithies O, Coffman TM. Angiotensin II responses in AT1A receptor-deficient mice: a role for AT1B receptors in blood pressure regulation. *Am J Physiol* 1997; 272 (pt 2): F515-F520. doi: 10.1152/ajprenal.1997.272.4.F515.
 41. Zhang J, Rudemiller NP, Patel MB, et al. Interleukin-1 receptor activation potentiates salt reabsorption in angiotensin II-induced hypertension via the NKCC2 co-transporter in the nephron. *Cell Metab* 2016; 23: 360-368. doi: 10.1016/j.cmet.2015.11.013.
 42. Zhang JD, Patel MB, Song YS, et al. A novel role for type 1 angiotensin receptors on T lymphocytes to limit target organ damage in hypertension. *Circ Res* 2012; 110: 1604-1617. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.261768.
 43. Gurley SB, Riquier-Brison ADM, Schnermann J, et al. AT1A angiotensin receptors in the renal proximal tubule regulate blood pressure. *Cell Metab* 2011; 13: 469-475. doi: 10.1016/j.cmet.2011.03.001.
 44. Selye H. Production of hypertension and hyalinosis by desoxocortisone. *Br Med J* 1950; 1: 203-206.
 45. O'Donoghue TL, Qi Y, Brooks VL. Central action of increased osmolality to support blood pressure in deoxycorticosterone acetatesalt rats. *Hypertension* 2006; 48: 658-663. doi: 10.1161/01.HYP.0000238140.06251.7a.
 46. Grobe JL, Buehrer BA, Hilzendege AM, et al. Angiotensinergic signaling in the brain mediates metabolic effects of deoxycorticosterone (DOCA)-salt in C57 mice. *Hypertension* 2011; 57: 600-607. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.165829.
 47. Deen WM, Maddox DA, Robertson CR, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat, VII: response to reduced renal mass. *Am J Physiol* 1974; 227: 556-562. doi: 10.1152/ajplegacy.1974.227.3.556.
 48. Zhang Y, Kompa AR. A practical guide to subtotal nephrectomy in the rat with subsequent methodology for assessing renal and cardiac function. *Nephrology (Carlton)* 2014; 19: 552-561.
 49. Salzler HR, Griffiths R, Ruiz P, et al. Hypertension and albuminuria in chronic kidney disease mapped to a mouse chromosome 11 locus. *Kidney Int* 2007; 72: 1226-1232. doi: 10.1038/sj.ki.5002519.
 50. Kennedy DJ, Elkareh J, Shidyak A, et al. Partial nephrectomy as a model for uremic cardiomyopathy in the mouse. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: F450-F454. doi: 10.1152/ajprenal.00472.2007.
 51. Kren S, Hostetter TH. The course of the remnant kidney model in mice. *Kidney Int* 1999; 56: 333-337. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00527.x.
 52. Leelahavanichkul A, Yan Q, Hu X, et al. Angiotensin II overcomes strain-dependent resistance of rapid CKD progression in a new remnant kidney mouse model. *Kidney Int* 2010; 78: 1136-1153. doi: 10.1038/ki.2010.287.
 53. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 449-451.
 54. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992; 20: 298-303.
 55. Qiu C, Engels K, Baylis C. Angiotensin II and alpha 1-adrenergic tone in chronic nitric oxide blockade-induced hypertension. *Am J Physiol* 1994; 266(pt 2): R1470-R1476. doi: 10.1152/ajpregu.1994.266.5. R1470.