

ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΓΓΕΙΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ
Τεύχος 4, 2006 (100-109)

Βραβευμένη εργασία
στο 10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αγγειολογίας & Αγγειοχειρουργικής

Μορφολογική αναδιάταξη του αορτικού τοιχώματος μετά από χρόνια χορήγηση β-αδρενεργικού αναστολέα

Κ.Μ. Λαμπρόπουλος, Δ.Π. Σοκόλης, Β. Παπαλουκά, Κ.Α. Δημητρίου, Ε. Μπαλάφας, Σ. Βασδέκης, Χ. Μπουντούλας, Π.Ε. Καραγιαννάκος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Προηγούμενες μελέτες έχουν επικεντρώσει το ενδιαφέρον τους στην επίδραση του συμπαθητικού συστήματος, όχι όμως των β-υποδοχέων, στη δομή και τη λειτουργία της αορτής. Σκοπός του παρόντος ερευνητικού πρωτοκόλλου ήταν η μελέτη της εξελικτικής πορείας των μορφολογικών μεταβολών που επέρχονται στο αορτικό τοίχωμα μετά από χρόνια φαρμακευτική χορήγηση προπρανολόλης.

Υλικό και μέθοδος: Μελετήθηκαν 66 αρσενικοί επίμυες Wistar της αυτής ηλικίας, που χωρίστηκαν σε 4 ομάδες. Η ομάδα Α (ελέγχου) διαιρέθηκε σε 3 υποομάδες Α₁ (n=6), Α₂ (n=6) και Α₃ (n=6), και τα ζώα λάμβαναν με τη διατροφή τους μόνο νερό. Στις ομάδες Β (n=16), Γ (n=16) και Δ (n=16) χορηγήθηκε προπρανολόλη σε δόση 100mg/kg την ημέρα στο πόσιμο νερό τους. Τα ζώα των ομάδων Α₁ και Β, Α₂ και Γ, και Α₃ και Δ ευθανατώθηκαν μετά από 1, 2 και 3 μήνες αντίστοιχα. Αφαιρέθηκε η θωρακική αορτή και λήφθηκαν δακτύλιοι στο επίπεδο του 3ου ζεύγους των μεσοπλεύριων αρτηριών που μονιμοποιήθηκαν σε φορμαλδεΐδη και εμπεδώθηκαν σε παραφίνη. Οι τομές εξετάστηκαν σε φωτομικροσκόπιο και μετρήθηκε με σύστημα ανάλυσης εικόνας η εσωτερική και εξωτερική διάμετρος, το πάχος του μέσου χιτώνα και η επιφάνεια διατομής του. Η ποσοτικοποίηση της σύστασης του αορτικού τοιχώματος περιέλαβε τη μέτρηση της % περιεκτικότητας σε κολλαγόνο, ελασίνη και λεία μυϊκά κύτταρα, του πάχους των ελαστικών πετάλων, του αριθμού των πεταλειωδών μονάδων και του αριθμού των πυρήνων των λείων μυϊκών κυττάρων.

Αποτελέσματα: Οι τιμές των μορφομετρικών παραμέτρων δεν διέφεραν στις υποομάδες Α₁, Α₂ και Α₃ και παρουσιάζονται συνολικά ως ομάδα ελέγχου. Η εσωτερική διάμετρος του αγγείου μειωνόταν προοδευτικά από 2,406±0,054 mm στην ομάδα ελέγχου σε 2,136±0,073 mm (p <0,01) στην ομάδα Δ και η εξωτερική του διάμετρος από 2,742±0,072 mm σε 2,450±0,092 mm (p <0,05). Το πάχος του μέσου χιτώνα μειωνόταν από 168,473±10,085 μm στην ομάδα ελέγχου σε 130,257±6,664 μm (p <0,05) στην ομάδα Δ και η επιφάνεια διατομής του από

$1,235 \pm 0,102 \text{ mm}^2$ σε $0,866 \pm 0,081 \text{ mm}^2$ ($p < 0,05$). Η περιεκτικότητα του τοιχώματος σε λεία μυϊκά κύτταρα μειωνόταν προοδευτικά από $47,9 \pm 2,1\%$ στην ομάδα ελέγχου σε $39,9 \pm 1,5\%$ ($p < 0,05$) στην ομάδα Δ, ενώ η περιεκτικότητα σε κολλαγόνο αυξανόταν από $23,9 \pm 2,0\%$ σε $31,6 \pm 1,2\%$ ($p < 0,01$). Δεν σημειώθηκε μεταβολή στην περιεκτικότητα σε ελαστίνη, στον αριθμό των πεταλειωδών μονάδων και στον αριθμό των πυρήνων των λείων μυϊκών κυττάρων.

Συμπεράσματα: Ο αποκλεισμός των β-αδρενεργικών υποδοχέων επιφέρει μορφολογικές και δομικές μεταβολές στο τοίχωμα της θωρακικής αορτής από τον 1ο μήνα χορήγησης προπρανολόλης. Οι μέγιστες μεταβολές παρατηρούνται τον 3ο μήνα και εκφράζονται με μείωση των διαστάσεων του αγγείου και της περιεκτικότητάς του σε λεία μυϊκά κύτταρα και με αύξηση της περιεκτικότητάς του σε κολλαγόνο. Συμπεραίνεται ότι το συμπαθητικό σύστημα και οι β-υποδοχείς του παίζουν σημαντικό ρόλο στη μορφολογία και τη σύσταση του αγγείου και κατ' επέκταση στη λειτουργικότητά του και θα πρέπει, συνεπώς, να λαμβάνονται υπόψη στην κλινική πράξη.

Όροι ευρητηρίου: αορτή, β-υποδοχείς, ιστολογική δομή, μορφομετρία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αορτή υποδέχεται και μεταφέρει το αίμα που εξωθείται από την αριστερή κοιλία της καρδιάς στη συστηματική κυκλοφορία. Δεν αποτελεί όμως μόνο έναν απλό σωλήνα μεταφοράς του αίματος, αλλά και έναν ελαστικό αγωγό με ανομοιογενή δομή και πολύπλοκα μηχανικά χαρακτηριστικά που την καθιστούν όργανο με σημαντικό ρόλο για την ομοιοστασία του κυκλοφορικού συστήματος^{1,2}.

Οι αναστολείς των αδρενεργικών υποδοχέων είναι ουσίες που έχουν συγγένεια με τους υποδοχείς των τελικών αυτόνομων οργάνων του αδρενεργικού συστήματος και προσδένονται σε αυτούς ώστε οι κατεχολαμίνες ή άλλοι διεγέρτες, ενδογενείς ή εξωγενείς, να μην μπορούν να δράσουν σε αυτούς. Η δέσμευση των υποδοχέων από τους αναστολείς εμποδίζει την εμφάνιση της χαρακτηριστικής εκτελεστικής απάντησης των υποδοχέων. Συνεπώς, οι αναστολείς των β-υποδοχέων προκαλούν χημική συμπαθηκτομή, χρησιμοποιούνται δε σήμερα όλο και περισσότερο σε ποικίλης φύσεως παθήσεις και σε ασθενείς σχεδόν κάθε ηλικίας^{3,4}.

Η επίδραση των συμπαθητικών νευρών στη λειτουργία και τη δομή της αορτής έχουν εξεταστεί στο παρελθόν⁵⁻⁹, λιγότερη, όμως, προσοχή έχει δοθεί στο ρόλο των β-αδρενεργικών υποδοχέων και των αναστολέων τους. Αυτό είναι ένα σημαντικό ζήτημα από πλευράς καρδιαγγειακής παθοφυσιολογίας, δεδομένου ότι οι β-αναστολείς χρησιμοποιούνται ευρύτατα κλινικά για τη θεραπευτική αντιμετώπιση πολλών καρδιαγγειακών παθήσεων¹⁰, όπως για τη θεραπεία:

- α) διαφόρων μορφών αρρυθμιών, προκαλώντας μείωση του αυτοματισμού των έκτοπων εστιών
 - β) της στηθάγχης, αυξάνοντας την αντοχή στην προσπάθεια, μειώνοντας τις απαιτήσεις του μυοκαρδίου σε οξυγόνο και ελαττώνοντας το θωρακικό πόνο μετά από σωματική άσκηση¹¹
 - γ) της υπέρτασης, όπου ελαττώνουν την καρδιακή παροχή και παρεμποδίζουν την απελευθέρωση ρενίνης από τους νεφρούς, δηλαδή μειώνουν το μηχανισμό της αγγειοτενσίνης II και την έκκριση αλδοστερόνης^{12,13}
 - δ) της ημικρανίας, όπου έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης και σοβαρότητας των επεισοδίων, εμποδίζοντας την πρόκληση αγγειοδιαστολής των αγγείων του εγκεφάλου από τις κατεχολαμίνες¹⁴
 - ε) του υπερθυρεοειδισμού, αμβλύνοντας τη διάχυτη συμπαθητική διέγερση που συμβαίνει¹⁵
 - στ) του γλαυκώματος, όπου μειώνουν την ενδοφθάλμια πίεση μέσω μείωσης του υδατοειδούς υγρού από το ακτινωτό σώμα
 - ζ) του εμφράγματος του μυοκαρδίου, ασκώντας προστατευτική δράση στο μυοκάρδιο, ελαττώνοντας το μέγεθος του εμφράκτου και επιταχύνοντας την επούλωση της ισχαιμικής περιοχής, κ.ά.
- Επιπλέον, χορηγούνται στη Μαιευτική σε καρδιοπαθείς έγκυες γυναίκες, στην Παιδιατρική σε παιδιά με συγγενείς καρδιοπάθειες, σε παιδιά με υπερκινητικά σύνδρομο, κ.α.^{16,17} Τέλος, στο σύνδρομο Marfan έχει αναφερθεί ότι μειώνουν το ρυθμό διαστολικής διάτασης της αορτής και την εμφάνιση επιπλοκών από το αορτικό τοίχωμα^{18,19}.
- Παρά την ευρύτατη κλινική χρησιμοποίηση των β-αδρενεργικών αναστολέων, δεν έχουν μελετηθεί τα βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα αποτελέσματά τους στην ιστολογική δομή και τη λειτουργία της αορτής, παραμένοντας, επομένως, ένα σημαντικό θέμα προς διερεύνηση. Τρεις μελέτες²⁰⁻²² έχουν εξετάσει, μέχρι σήμερα, τη βραχυπρόθεσμη επίδραση των β-αναστολέων στη λειτουργικότητα της αορτής, με αντικρουόμενα όμως αποτελέσματα. Η συγκέντρωση αξιόπιστων δεδομένων

είναι σημαντική για την κατανόηση των συνεπειών στην καρδιαγγειακή κυκλοφορία της θεραπευτικής χρησιμοποίησης των β-αδρενεργικών αναστολέων. Σκοπός, επομένως, της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει και να αξιολογήσει την επίδραση της χρόνιας χορήγησης, σε ζωικό πρότυπο, β-αδρενεργικών αναστολέων στα ιστολογικά και μορφομετρικά χαρακτηριστικά του τοιχώματος της θωρακικής αορτής.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ

Ζωικά πρότυπα

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν 66 αρσενικοί επίμυες Wistar, ηλικίας 3 περίπου μηνών και σωματικού βάρους 250-300g. Τα ζώα αγοράστηκαν από το Εθνικό Κέντρο Ερευνών και Φυσικών Επιστημών (ΕΚΕΦΕ) και εγκλιματίστηκαν για 5 ημέρες πριν την έναρξη της μελέτης στον Οίκο Ζωικών Προτύπων του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Τα ζώα φιλοξενήθηκαν σε θαλάμους με σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας ($19 \pm 1^\circ\text{C}$), σχετικής υγρασίας ($55 \pm 5\%$), αερισμού (12 πλήρεις αλλαγές αέρα ανά ώρα), με χρόνο φωτός/σκότους (12/12 ώρες) και προσλάμβαναν τροφή και ύδωρ *ad libitum*. Οι ως άνω συνθήκες και οι κλωβοί των ζώων συμφωνούσαν με τις προδιαγραφές του ΠΔ 160/191, με το οποίο εναρμονίστηκε η Ελλάδα στην Κοινοτική Οδηγία 609/86. Τα ζώα ελέγχονταν κλινικά σε καθημερινή βάση, γινόταν έλεγχος του βάρους τους με ζυγό ακριβείας (Navigator Balance N1B110, Ohaus Corp, Pine Brook, NJ, USA) και έλεγχος της κατανάλωσης ύδατος από την αρχή της μελέτης μέχρι την ευθανάτωσή τους. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και από την αντίστοιχη Κτηνιατρική Υπηρεσία της Νομαρχίας Αθηνών (αριθμός άδειας Κ/317/23.01.03).

Τα ζωικά πρότυπα χωρίστηκαν σε 4 ομάδες. Η ομάδα Α (n=18), η οποία διαιρέθηκε σε 3 υποομάδες Α₁ (n=6), Α₂ (n=6) και Α₃ (n=6), αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου και τα ζώα λάμβαναν μόνο νερό με τη διατροφή τους. Στις ομάδες Β (n=16), Γ (n=16) και Δ (n=16), μέσα στο πόσιμο νερό τους, χορηγήθηκε προπρανολόλη σε ημερήσια δόση 100 mg/kg. Οι ομάδες Α₁ και Β, Α₂ και Γ, Α₃ και Δ ευθανατώθηκαν μετά από 1, 2 και 3 μήνες αντίστοιχα. Στην τελική αυτή φάση, χορηγήθηκε αναισθησία με κεταμίνη (90mg/kg) και ξυλαζίνη (5mg/kg) ενδοπεριτοναϊκά. Προκειμένου να ελεγχθεί η επάρκεια της δέσμμευσης των β-υποδοχέων, χορηγήθηκε ισοπροτερενόλη, ένας έμμεσος αγωνιστής που απελευθερώνει

ενδογενώς νορεπινεφρίνη από τα τελικά συμπαθητικά νεύρα. Η χορήγηση έγινε ενδοφλέβια με δόση 0,5μg/kg σε διάστημα ενός λεπτού και λήφθηκαν καταγραφές του ΗΚΓ με συσκευή Dash 2000 Pro (General Electric Healthcare, Bucks, UK). Οι μέγιστες μεταβολές στην καρδιακή συχνότητα, ως αποτέλεσμα της χορήγησης της ισοπροτερενόλης, εξετάστηκαν σε τυχαία δείγματα των ζωικών προτύπων των πειραματικών ομάδων και των ομάδων ελέγχου. Η ευθανασία των ζώων έγινε, στη συνέχεια, με την ενδοφλέβια χορήγηση μεγάλης δόσης νατριούχου πεντοβαρβιτάλης.

Με μέση τομή διανοίχτηκε η θωρακική κοιλότητα και παρασκευάστηκε η κατιούσα θωρακική αορτή από την αριστερή υποκλείδιο αρτηρία μέχρι το διάφραγμα, με τη βοήθεια μεγεθυντικών φακών (Heine HRP, Heine Optotechnik, Herrsching, Germany) για αποφυγή τραυματισμού του τοιχώματος του αγγείου. Έγινε επιμελής καθαρισμός από τους γύρω ιστούς και ακολούθησε διατομή ενός δακτυλίου μήκους 3mm, στο επίπεδο της 3ης μεσοπλεύριας αρτηρίας, που χρησιμοποιήθηκε για ιστολογική εξέταση και μορφομετρικό έλεγχο. Το υπόλοιπο αορτικό τμήμα χρησιμοποιήθηκε για τη μηχανική μελέτη, τα δεδομένα της οποίας είναι υπό επεξεργασία.

Ιστολογική εξέταση

Οι αορτικοί δακτύλιοι μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα ουδέτερης φορμαλδεΐδης 10% για 24 ώρες, αφυδατώθηκαν σε αιθανόλη, εμπεδώθηκαν σε παραφίνη και κόπηκαν σε διαδοχικές τομές των 5μm με μικροτόμο (Leica RM 2125, Leica, Nussloch, Germany). Η χρώση με αιματοξυλίνη-ηωσίνη έγινε για την ανάδειξη των πυρήνων, η χρώση με Verhoeff's elastica για την ανάδειξη της ελαστίνης και η χρώση με Sirius red για την ανάδειξη του κολλαγόνου. Η εξέταση των παρασκευασμάτων έγινε με χρήση μικροσκοπίου φωτός (Zeiss Axiolab, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany), στο οποίο ήταν προσαρμοσμένη βιντεοκάμερα (Sony-iris CCD, SSC-DC38P, Sony Corp, Japan).

Μορφομετρία της αορτής

Λήφθηκαν ηλεκτρονικές φωτογραφίες του αορτικού τοιχώματος, η επεξεργασία των οποίων υλοποιήθηκε με λογισμικό ανάλυσης εικόνας (Sigma Scan Pro 5, Aspire Software International, Leesburg, VA, USA), όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί από το εργαστήριό μας^{23,24}. Ακολούθησαν μετρήσεις ιστομορφομετρικών παραμέτρων της αορτής σε τομές που είχαν βαφτεί

με αιματοξυλίνη-πωσίνη, συμπεριλαμβανομένης της εσωτερικής και εξωτερικής διαμέτρου, του πάχους και της επιφάνειας διατομής του μέσου χιτώνα.

Η εσωτερική και εξωτερική διάμετρος της αορτής, καθώς και η επιφάνεια διατομής του μέσου χιτώνα της, υπολογίστηκαν αυτόματα από το λογισμικό μετά από σάρωση της εσωτερικής και εξωτερικής περιφέρειας του αορτικού τοιχώματος, όπως αυτές καθορίζονταν από την έσω και έξω πεταλειώδη μονάδα. Το πάχος του μέσου χιτώνα υπολογίστηκε από τη διαφορά της εσωτερικής και εξωτερικής διαμέτρου, καθώς επίσης και με μέτρηση της απόστασης μεταξύ της έσω και έξω πεταλειώδους μονάδας ανά 10° και με υπολογισμό του μέσου όρου αυτών των τιμών. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε απόλυτη συμφωνία μεταξύ των δύο μεθόδων μέτρησης. Στις τιμές των μορφομετρικών παραμέτρων λήφθηκε υπόψη η επίδραση της συρρίκνωσης, η οποία, όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί, ανήλθε κατά μέσο όρο σε ποσοστό 14% για τη μονιμοποίηση και 16% για την αφυδάτωση και εμπέδωση σε παραφίνη²⁵.

Σύσταση της αορτής

Το δίκτυο της ελαστίνης αναλύθηκε ως προς τη σχετική επιφανειακή πυκνότητα σε ελαστίνη, τον αριθμό των πεταλειωδών μονάδων και το πάχος των ελαστικών πετάλων. Το δίκτυο του κολλαγόνου αναλύθηκε ως προς τη σχετική επιφανειακή πυκνότητα σε κολλαγόνο, ενώ το δίκτυο των λείων μυϊκών κυττάρων ως προς τη σχετική επιφανειακή πυκνότητα σε λεία μυϊκά κύτταρα και τον αριθμό πυρήνων των λείων μυϊκών κυττάρων στο μέσο χιτώνα. Η σχετική επιφανειακή πυκνότητα σε λεία μυϊκά κύτταρα υπολογίστηκε βάση της αποδοχής ότι το σύνολο της επιφάνειας του μέσου χιτώνα καταλαμβάνεται από ελαστίνη, κολλαγόνο και λεία μυϊκά κύτταρα. Οι μετρήσεις έγιναν σε αντιπροσωπευτικά οπτικά πεδία ανά 10° στην περιφέρεια της αορτής σε ιστολογικές τομές που είχαν βαφεί όπως προαναφέρθηκε. Για τον υπολογισμό των μέσων τιμών χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε ζώο τρεις τομές.

Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή SPSS v11.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Οι διαφορές στις μέσες τιμές όλων των ιστομορφομετρικών παραμέτρων καθορίστηκαν με εφαρμογή της δοκιμασίας ανάλυσης της μεταβλητότητας (analysis of variance), η οποία ακολουθήθηκε από δοκιμασίες post-hoc για το συγκριτικό

έλεγχο των αποτελεσμάτων μεταξύ των ομάδων. Οι τιμές των μορφομετρικών παραμέτρων και των παραμέτρων σύστασης δεν διέφεραν στις υποομάδες A_1 , A_2 και A_3 , και παρουσιάζονται συνολικά ως ομάδα A (ελέγχου). Σε όλους τους υπολογισμούς, η τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Τα τελικά αποτελέσματα παρουσιάζονται ως η μέση τιμή με την προσθαφαίρεση ενός σταθερού σφάλματος.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

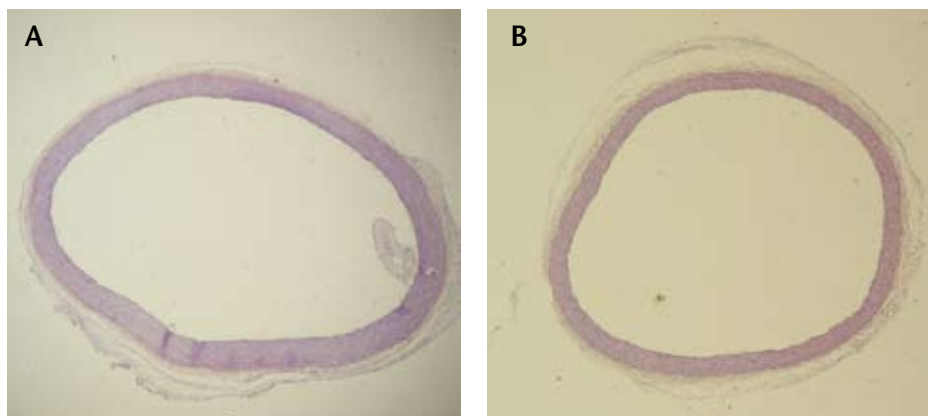
Καρδιακή συχνότητα

Σε όλα τα ζωικά πρότυπα των ομάδων Β, Γ και Δ παρατηρήθηκε επαρκής δέσμευση των β-υποδοχέων, δεδομένου ότι η καρδιακή συχνότητα δεν αυξήθηκε μετά την ενδοφλέβια χορήγηση ισοπροτερονόλης. Η δέσμευση των β-υποδοχέων ήταν ήδη επαρκής από τον 1ο μήνα χορήγησης της προπρανολόλης (ομάδα Β: μεταβολή καρδιακής συχνότητας από $219,4 \pm 6,4$ σε $228,4 \pm 5,2$ σφύξεις/λεπτό μετά τη χορήγηση της ισοπροτερονόλης, $p > 0,05$). Οι ίδιες μεταβολές παρατηρήθηκαν το 2ο (ομάδα Γ: από $226,4 \pm 6,4$ σε $232,4 \pm 5,2$ σφύξεις/λεπτό, $p > 0,05$) και τον 3ο μήνα (ομάδα Δ: από $223,4 \pm 5,3$ σε $230,4 \pm 8,6$ σφύξεις/λεπτό, $p > 0,05$).

Αντίθετα, στις ομάδες A_1 , A_2 και A_3 , οι οποίες αποτέλεσαν τις 3 υποομάδες ελέγχου, παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση της καρδιακής συχνότητας μετά τη χορήγηση ισοπροτερονόλης. Ειδικότερα, στην υποομάδα A_1 , τα ζώα της οποίας ευθανατώθηκαν 1 μήνα μετά την έναρξη της μελέτης, παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση της καρδιακής συχνότητας κατά 35%, από $246,3 \pm 5,3$ σε $333,3 \pm 8,6$ σφύξεις/λεπτό ($p < 0,05$). Στα ζώα της υποομάδας A_2 , τα οποία ευθανατώθηκαν 2 μήνες μετά την έναρξη της μελέτης, η καρδιακή συχνότητα αυξήθηκε κατά 39%, από $231,3 \pm 5,3$ σε $320,3 \pm 8,6$ σφύξεις/λεπτό ($p < 0,05$). Το ίδιο σημειώθηκε και στα ζώα της υποομάδας A_3 , που ευθανατώθηκαν 3 μήνες μετά την έναρξη της μελέτης, και στα οποία η καρδιακή συχνότητα αυξήθηκε κατά 36%, από $250,3 \pm 5,3$ σε $340,1 \pm 8,6$ σφύξεις/λεπτό ($p < 0,05$).

Σωματικά βάρη

Τα σωματικά βάρη των ζώων δεν διέφεραν στις διάφορες ομάδες κατά την έναρξη της μελέτης. Ακολούθως, σημειώθηκε προοδευτική αύξηση του βάρους τους, με το ρυθμό αύξησης όμως να είναι σημαντικά υψηλότερος στις ομάδες ελέγχου συγκριτικά με τις πειραματικές ομάδες. Συγκεκριμένα, τον 1ο μήνα της μελέτης, πα-



Εικόνα 1. Χαρακτηριστικές ιστολογικές τομές του τοιχώματος της θωρακικής αορτής από ένα ζώο της ομάδας ελέγχου (A) και ένα της ομάδας Γ (B). Παρατηρείται σημαντική μείωση της διαμέτρου, του πάχους και της επιφάνειας διατομής του αγγείου στο ζώο που χορηγήθηκε προπρανολόλη για τρεις μήνες σε σύγκριση με εκείνο της ομάδας ελέγχου.

ρατηρήθηκε αύξηση του σωματικού βάρους των ζώων κατά 32% από το αρχικό τους βάρος (από 288 ± 4 σε 380 ± 7 g, $p < 0,001$) στην ομάδα Α₁ (ομάδα ελέγχου), αύξηση σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με την ομάδα Β (από 279 ± 6 σε 330 ± 8 g, $p < 0,001$), στην οποία ανήλθε σε ποσοστό 18% του αρχικού τους βάρους. Στη συνέχεια, και ενώ το βάρος των ζώων αυξανόταν, η διαφορά ανάμεσα στις ομάδες ελέγχου και σε αυτές που λάμβαναν προπρανολόλη διευρυνόταν. Το 2ο μήνα της μελέτης, το σωματικό βάρος των ζώων της ομάδας Α₂ (ομάδα ελέγχου) αυξήθηκε κατά 49%, από 281 ± 8 σε 419 ± 6 g ($p < 0,001$), αύξηση σημαντικά μεγαλύτερη εκείνης (24%) που σημειώθηκε κατά το αυτό χρονικό διάστημα στα ζώα της ομάδας Γ (από 289 ± 6 σε 358 ± 4 g, $p < 0,001$). Τέλος, τον 3ο μήνα της μελέτης, στα ζώα της ομάδας ελέγχου παρατηρήθηκε αύξηση του σωματικού βάρους κατά 67% (από 299 ± 4 σε 498 ± 13 g, $p < 0,001$), σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με την ομάδα Δ (από 303 ± 8 σε 407 ± 13 g, $p < 0,001$), στην οποία η αύξηση ήταν σε ποσοστό 34% του αρχικού τους βάρους.

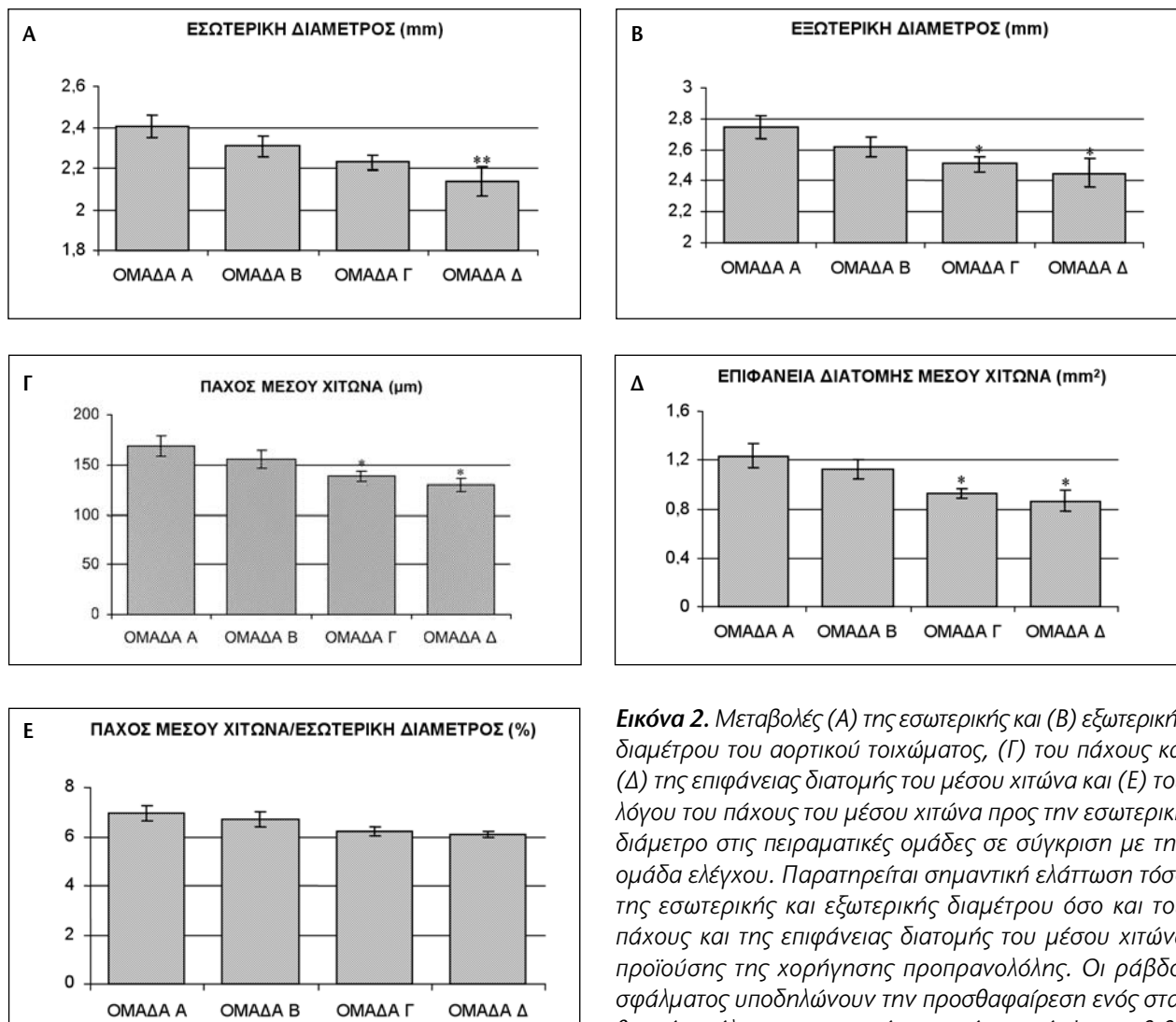
Ιστομορφομετρικές παράμετροι

Τυπικές ιστολογικές τομές του αορτικού τοιχώματος από ένα ζώο της ομάδας ελέγχου και ένα της ομάδας Γ παρουσιάζονται στην εικόνα 1. Παρατηρήθηκαν μορφολογικές μεταβολές στην ιστοδομή του τοιχώματος της θωρακικής αορτής που εκφράστηκαν με μείωση της διαμέτρου, του πάχους και της επιφάνειας διατομής του αγγείου, οι οποίες αποτυπώνονται αναλυτικά στην εικόνα 2. Η εσωτερική διάμετρος του αγγείου μειώθηκε προοδευτικά από $2,406 \pm 0,054$ mm στην ομάδα ελέγχου σε $2,308 \pm 0,052$ mm στην ομάδα Β, σε $2,229 \pm 0,037$ mm στην ομάδα Γ και σε $2,136 \pm 0,073$ mm ($p < 0,01$) στην ομάδα Δ. Η εξωτερική του διάμετρος μειώθηκε από

$2,742 \pm 0,072$ mm στην ομάδα ελέγχου σε $2,619 \pm 0,063$ mm στην ομάδα Β, σε $2,507 \pm 0,045$ mm ($p < 0,05$) στην ομάδα Γ και σε $2,450 \pm 0,092$ mm ($p < 0,05$) στην ομάδα Δ. Ομοίως, το πάχος του μέσου χιτώνα μειώθηκε προοδευτικά από $168,473 \pm 10,085$ μm στην ομάδα ελέγχου σε $155,400 \pm 8,537$ μm στην ομάδα Β, σε $138,738 \pm 5,327$ μm ($p < 0,05$) στην ομάδα Γ και σε $130,257 \pm 6,664$ μm ($p < 0,05$) στην ομάδα Δ. Η επιφάνεια διατομής του από $1,235 \pm 0,102$ mm² στην ομάδα ελέγχου μειώθηκε σε $1,123 \pm 0,083$ mm² στην ομάδα Β, σε $0,925 \pm 0,045$ mm² ($p < 0,05$) στην ομάδα Γ και σε $0,866 \pm 0,081$ mm² ($p < 0,05$) στην ομάδα Δ. Τέλος, ο λόγος του πάχους του μέσου χιτώνα προς την εσωτερική διάμετρο εμφάνισε προοδευτική αλλά μη-σημαντική ($p > 0,05$) μείωση, από $6,957 \pm 0,302\%$ στην ομάδα ελέγχου σε $6,725 \pm 0,321\%$ στην ομάδα Β, σε $6,214 \pm 0,192\%$ στην ομάδα Γ και σε $6,079 \pm 0,131\%$ στην ομάδα Δ.

Σύσταση του αορτικού τοιχώματος

Στην εικόνα 3 παρουσιάζεται η σύσταση του αορτικού τοιχώματος στις πειραματικές ομάδες και την ομάδα ελέγχου. Η περιεκτικότητα του αορτικού τοιχώματος σε λεία μυϊκά κύτταρα δεν μεταβλήθηκε στην ομάδα Β κατά τον 1ο μήνα χορήγησης της προπρανολόλης ($52,6 \pm 1,6\%$) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($47,9 \pm 2,1\%$, $p > 0,05$), για να παρατηρηθεί στη συνέχεια σημαντική μείωση κατά το 2ο ($40,0 \pm 2,3\%$) και 3ο μήνα ($39,9 \pm 1,5\%$) χορήγησης της προπρανολόλης. Αντίθετα, η περιεκτικότητα του τοιχώματος σε κολλαγόνο στην ομάδα Β δεν μεταβλήθηκε τον 1ο μήνα ($18,9 \pm 0,9\%$) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($23,9 \pm 2,0\%$, $p > 0,05$), προοδευτικά όμως παρουσίασε σημαντική αύξηση σε $30,9 \pm 1,7\%$ τον 2ο μήνα, για να φθάσει τη μέγιστη τιμή $31,6 \pm 1,2\%$ τον 3ο μήνα χορήγησης της προπρανολόλης.



Εικόνα 2. Μεταβολές (Α) της εσωτερικής και (Β) εξωτερικής διαμέτρου του αορτικού τοιχώματος, (Γ) του πάχους και (Δ) της επιφάνειας διατομής του μέσου χιτώνα και (Ε) του λόγου του πάχους του μέσου χιτώνα προς την εσωτερική διάμετρο στις πειραματικές ομάδες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Παρατηρείται σημαντική ελάττωση τόσο της εσωτερικής και εξωτερικής διαμέτρου όσο και του πάχους και της επιφάνειας διατομής του μέσου χιτώνα προϋούσης της χορήγησης προπρανολόλης. Οι ράβδοι σφάλματος υποδηλώνουν την προσθαφαίρεση ενός σταθερού σφάλματος στην εκάστοτε μέση τιμή. * = $p < 0,05$ και ** = $p < 0,01$ ως προς την ομάδα Α.

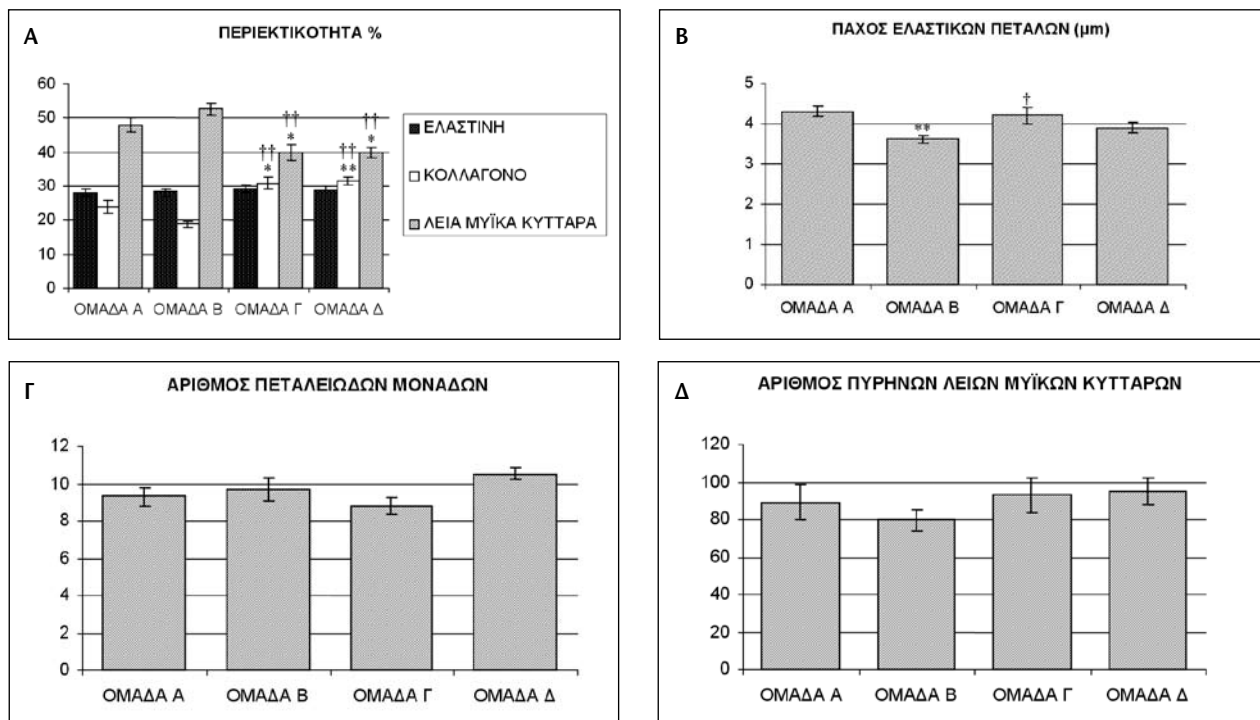
Δεν σημειώθηκε μεταβολή ($p > 0,05$) στην περιεκτικότητα του τοιχώματος σε ελαστίνη ($28,2 \pm 1,1\%$ στην ομάδα ελέγχου έναντι $28,3 \pm 1,0\%$ στην ομάδα Β, $29,1 \pm 1,4\%$ στην ομάδα Γ και $28,9 \pm 1,0\%$ στην ομάδα Δ) προϋούσης της χορήγησης της προπρανολόλης.

Το πάχος των ελαστικών πετάλων παρουσίασε σημαντική μείωση ($p < 0,01$) τον 1ο μήνα χορήγησης της προπρανολόλης, από $4,308 \pm 0,118$ μm στην ομάδα ελέγχου σε $3,616 \pm 0,100$ μm στην ομάδα Β. Σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε το 2ο μήνα (ομάδα Γ: $4,207 \pm 0,196$ μm, $p < 0,05$ έναντι της ομάδας Β), ενώ η μείωση τον 3ο μήνα (ομάδα Δ: $3,899 \pm 0,125$ μm) δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ο αριθμός των πεταλειωδών μονάδων δεν μεταβλήθηκε σημαντικά ($p > 0,05$), κυμαινόμενος από

$9,3 \pm 0,5$ στην ομάδα Α σε $9,7 \pm 0,6$, στην ομάδα Β, σε $8,8 \pm 0,4$ στην ομάδα Γ και σε $10,5 \pm 0,3$ στην ομάδα Δ. Επίσης, ο αριθμός των πυρήνων των λείων μυϊκών κυττάρων δεν παρουσίασε σημαντικές μεταβολές ($p > 0,05$), κυμαινόμενος από $89,3 \pm 9,6$ στην ομάδα Α, σε $79,6 \pm 6,1$ στην ομάδα Β, σε $92,9 \pm 9,4$ στην ομάδα Γ και σε $95,1 \pm 7,4$ στην ομάδα Δ.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα εκτιμάται σήμερα ότι διαδραματίζει ενεργό ρόλο στη λειτουργικότητα του αορτικού τοιχώματος τόσο μέσω της άμεσης επίδρασής του στα λεία μυϊκά κύτταρα όσο και μέσω της νευρο-



Εικόνα 3. Μεταβολές (Α) της % περιεκτικότητας του αορτικού τοιχώματος σε ελαστίνη, κολλαγόνο και λεία μυϊκά κύτταρα, (Β) του πάχους των ελαστικών πετάλων, (Γ) του αριθμού πεταλειωδών μονάδων, (Δ) του αριθμού πυρήνων λείων μυϊκών κυττάρων στις πειραματικές ομάδες ως προς την ομάδα ελέγχου. Παρατηρείται σημαντική αύξηση της περιεκτικότητας σε κολλαγόνο, με ταυτόχρονη μείωση της περιεκτικότητας σε λεία μυϊκά κύτταρα, προϋσής της χορήγησης προπρανολόλης. Οι ράβδοι σφάλματος υποδηλώνουν την προσθαφαίρεση ενός σταθερού σφάλματος στην εκάστοτε μέση τιμή. * = $p < 0,05$ και ** = $p < 0,01$ ως προς την ομάδα Α. † = $p < 0,05$ και †† = $p < 0,01$ ως προς την ομάδα Β.

ορμονικής ενεργοποίησης¹. Η άμεση ενεργοποίηση του συμπαθητικού συστήματος συνοδεύεται, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, από τη συστολή των λείων μυών, τη μείωση της διαμέτρου των αγγείων και την αύξηση της δυσκαμψίας του τοιχώματος σε δεδομένο επίπεδο αρτηριακής πίεσης⁵⁻⁷. Παράλληλα, έχει τεκμηριωθεί ότι οι μακροχρόνιες αλλαγές στη συμπαθητική δραστηριότητα του νευρικού συστήματος προκαλούν ανωμαλίες στη δομή και τη λειτουργία της αορτής^{8,9}.

Η επίδραση της συμπαθητικής νεύρωσης στην ιστολογική δομή και τη μηχανική απόδοση της αορτής είναι σημαντική, επειδή η αορτή δεν είναι ένας απλός αγωγός μεταφοράς αίματος, αλλά συμμετέχει στην καρδιαγγειακή ομοιοστάση μέσω της υποδοχής του αίματος και της μεταφοράς του με σταθερή ροή προς την περιφέρεια, συμβάλλοντας επίσης στη λειτουργία της αριστερής κοιλίας και στη ρύθμιση της στεφανιαίας αιματικής ροής^{1,2}. Ενώ όμως, κατά το παρελθόν, μελετήθηκε η επίδραση της συμπαθητικής νεύρωσης στη δομή και τη λειτουργία της αορτής⁵⁻⁹, λιγότερη προσοχή δόθηκε

στο ρόλο των β-αδρενεργικών υποδοχέων και των αναστολέων τους²⁰⁻²². Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της εξελικτικής πορείας των μορφολογικών και δομικών αναδιατάξεων που επέρχονται στο τοίχωμα της κατιούσας αορτής μετά από χρόνια φαρμακευτική χορήγηση προπρανολόλης.

Προκειμένου να διαπιστωθεί ο ικανοποιητικός αποκλεισμός των β-υποδοχέων μετά από τη μακροχρόνια χορήγηση της προπρανολόλης, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία της ισοπροτερενόλης²⁶. Η δόση της προπρανολόλης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι δέσμευσε ικανοποιητικά τους β-υποδοχείς του μυοκαρδίου σε όλα τα ζώα των πειραματικών ομάδων, καθώς η ενδοφλέβια χορήγηση υδροχλωρικής ισοπροτερενόλης προκάλεσε ασήμαντη αύξηση της καρδιακής συχνότητας. Το γεγονός αυτό συνιστά ένδειξη ικανοποιητικής δέσμευσης των υποδοχέων, δεδομένου ότι σε προγενέστερη μελέτη²⁷, οι δόσεις προπρανολόλης που χρησιμοποιήθηκαν και από τις οποίες συμπεραίνεται η πληρότητα του αποκλεισμού ήταν μικρότερες

(10mg/kg υποδόρια). Στην παρούσα μελέτη, ο συνολικός όγκος του διαλύματος υδροχλωρικής ισοπροτερενόλης, ο οποίος χορηγήθηκε ενδοφλέβια σε κάθε επίμυ, δεν υπερέβη τα 0,25cc. Κατ' αυτό το τρόπο, δεν επιβαρύνθηκε το κυκλοφορικό σύστημα των ζωικών προτύπων, καθόσον έχει αναφερθεί από άλλους ερευνητές ότι η ενδοφλέβια χορήγηση 0,4cc υδροχλωρικής ισοπροτερενόλης σε διάστημα ενός λεπτού δεν προκαλεί σημεία υπερφόρτωσης της κυκλοφορίας²⁷⁻³⁰.

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε ότι το σωματικό βάρος των ζώων μειώθηκε αισθητά στις ομάδες που λάμβαναν προπρανολόλη με το πόσιμο νερό τους, γεγονός που είναι σε απόλυτη αντιστοιχία με τα ευρήματα προηγούμενων μελετών, στις οποίες επίμυες είχαν υποβληθεί σε αποκλεισμό των β-αδρενεργικών υποδοχέων³¹ και χημική συμπαθηκτομή^{8,9}. Η μακροχρόνια χορήγηση προπρανολόλης επέφερε επίσης σημαντική ελάττωση της καρδιακής συχνότητας, η οποία βρίσκεται σε συμφωνία με μελέτες, στις οποίες μετρήθηκε μείωση σε ποσοστό 15% με καθημερινές δόσεις της τάξης των 20-100 mg/kg^{26,28,32-34}. Όπως έχει παρατηρηθεί³¹⁻³³ και επιβεβαιώθηκε με τη δοκιμασία της ισοπροτερενόλης, η δόση της προπρανολόλης που χορηγήθηκε προκάλεσε επαρκή αποκλεισμό των β-υποδοχέων, χωρίς την εμφάνιση τοξικών συμπτωμάτων³⁵.

Τα δομικά χαρακτηριστικά και η ιστολογική σύσταση της κατιούσας θωρακικής αορτής άλλαξαν σημαντικά μετά τη μακροχρόνια χορήγηση της προπρανολόλης. Το τοίχωμα του αγγείου παρουσίασε λέπτυνση που εκφράστηκε με μείωση της διαμέτρου, του πάχους και της επιφάνειας διατομής του. Η ιστομορφολογική αναδιαμόρφωση (remodeling) του αορτικού τοιχώματος συνοδεύτηκε από αύξηση της περιεκτικότητας σε κολλαγόνο και ελάττωση της περιεκτικότητας σε λεία μυϊκά κύτταρα, ενώ η περιεκτικότητα σε ελαστίνη δεν παρουσίασε αυξομειώσεις. Προκαταρκτικές μελέτες στο εργαστήριό μας έχουν δείξει ότι η προοδευτική αναδιαμόρφωση των δομικών χαρακτηριστικών, συναρτίζεται του χρονικού διαστήματος χορήγησης προπρανολόλης, επιφέρει σημαντικές μεταβολές και στα μηχανικά χαρακτηριστικά της αορτής.

Προηγούμενες εργασίες σχετικά με την επίδραση των αναστολέων των β-αδρενεργικών υποδοχέων κυρίως στις μηχανικές ιδιότητες του αορτικού τοιχώματος έχουν μελετήσει αποκλειστικά τη βραχυπρόθεσμη επίδρασή τους και τα αποτελέσματά τους είναι αντικρουόμενα. Οι Groenink και συν²² αναφέρουν σημαντική μείωση της αρτηριακής πίεσης υγιών ατόμων μετά τη χορήγηση προπρανολόλης, με τη διατασιμότητα όμως της αορτής και την ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος να

παραμένουν αμετάβλητες. Αντίθετα, σε άλλη μελέτη²¹ βρέθηκε ότι η διατασιμότητα του αορτικού τοιχώματος αυξάνεται και η δυσκαμψία του μειώνεται ως συνέπεια της ελάττωσης της αρτηριακής πίεσης.

Δεν υπάρχουν σημαντικές πληροφορίες διαθέσιμες σχετικά με τη μακροχρόνια επίδραση του αποκλεισμού των β-αδρενεργικών υποδοχέων στα μηχανικά και δομικά χαρακτηριστικά της αορτής. Οι Lacolley και συν.⁸ έχουν τεκμηριώσει ότι η μείωση της διατασιμότητας της κοιλιακής αορτής σε επίμυες μετά από τρίμηνη συμπαθητική απονεύρωση με γουανεθιδίνη οφείλεται σε μείωση της περιεκτικότητας του αορτικού τοιχώματος σε ελαστίνη. Δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην περιεκτικότητα σε κολλαγόνο και λεία μυϊκά κύτταρα, σε αντίθεση με τα παρόντα αποτελέσματα και εκείνα μιας άλλης μελέτης⁹ που ανέφερε ότι τα κουνέλια και οι επιμύες στους οποίους χορηγήθηκε 6-υδροξυτοπαμίνη για 8 εβδομάδες παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε κολλαγόνο αλλά και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λεία μυϊκά κύτταρα, μαζί με έντονες διαταραχές της υφής του ελαστικού ιστού τόσο στη θωρακική όσο και στην κοιλιακή αορτή.

Συμπερασματικά, αποδεικνύεται ότι η ιστολογική μικροδομή της κατιούσας θωρακικής αορτής μετά από μακροχρόνιο φαρμακευτικό αποκλεισμό των β-αδρενεργικών υποδοχέων μεταβάλλεται. Οι μορφολογικές και δομικές μεταβολές του τοιχώματος της θωρακικής αορτής καθίστανται εμφανείς ήδη από τον 1ο μήνα χορήγησης της προπρανολόλης.

Μέγιστες μεταβολές παρατηρούνται τον 3ο μήνα, οι οποίες χαρακτηρίζονται από μείωση της διαμέτρου, του πάχους και της επιφάνειας διατομής του αγγείου, αύξηση της περιεκτικότητας σε κολλαγόνο και μείωση αυτής σε λεία μυϊκά κύτταρα. Η μακροχρόνια, επομένως, χορήγηση αναστολέων των β-αδρενεργικών υποδοχέων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της δομικής μορφολογίας του αορτικού τοιχώματος και κατ' επέκταση στην αιμοδυναμική ομοιοστασία του οργανισμού και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην κλινική πράξη.

ABSTRACT

Morphological remodeling of the aortic wall after chronic administration of β-adrenergic blocker

Lampropoulos KM, Sokolis DP, Papalouka V, Dimitriou CA, Balafas E, Vasdekis S, Boudoulas H, Karayannacos PE

Center of Experimental Surgery, Foundation of Biomedical Research, Academy of Athens, Athens

Aim: Previous studies have focused their interest on the influence of sympathetic system, but not of β -receptors, on the structure and function of the aorta. The aim of the present research protocol was the study of the evolutionary course of morphological changes that occur in the aortic wall following chronic pharmaceutical administration of propranolol.

Material and Method: 66 male Wistar rats of the same age were studied that were separated into 4 groups. Group A (control) was divided in 3 subgroups A_1 ($n=6$), A_2 ($n=6$), and A_3 ($n=6$), and animals received only water with their diet. In groups B ($n=16$), C ($n=16$), and D ($n=16$) propranolol was administered in a dose of 100 mg/kg per day in their drinking water. Animals of groups A_1 and B, A_2 and C, and A_3 and D were sacrificed after 1, 2, and 3 months respectively. The thoracic aorta was removed and rings were obtained at the level of the 3rd pair of intercostal arteries that were fixed in formaldehyde and embedded in paraffin. The sections were examined on a light microscope, and the internal and external diameter, the thickness of tunica media and its cross-sectional surface were measured with an image analysis system. The quantification of composition of the aortic wall included measurement of % collagen, elastin, and smooth muscle cell content, elastic laminae thickness, number of lamellar units, and number of smooth muscle cell nuclei.

Results: The morphometrical parameter values did not differ in subgroups A_1 , A_2 , and A_3 and are presented collectively as control group. The internal diameter of the vessel was decreased progressively from 2.406 ± 0.054 mm in the control group to 2.136 ± 0.073 mm ($p < 0.01$) in group D and its external diameter from 2.742 ± 0.072 mm to 2.450 ± 0.092 mm ($p < 0.05$). The thickness of tunica media was decreased from 168.473 ± 10.085 μ m in the control group to 130.257 ± 6.664 μ m ($p < 0.05$) in group D and its cross-sectional surface from 1.235 ± 0.102 mm² to 0.866 ± 0.081 mm² ($p < 0.05$). The smooth muscle cell content of the wall was decreased progressively from $47.9 \pm 2.1\%$ in the control group to $39.9 \pm 1.5\%$ ($p < 0,05$) in group D, while collagen content was increased from $23.9 \pm 2.0\%$ to $31.6 \pm 1.2\%$ ($p < 0.01$). No change was noted in elastin content,

and in the number of lamellar units and of smooth muscle cell nuclei.

Conclusions: The blockade of β -adrenergic receptors induces morphological and structural changes in the thoracic aortic wall from the 1st month of propranolol administration. Maximum changes are observed in the 3rd month and are expressed by a reduction in vessel dimensions and smooth muscle cell content, and by an increase in collagen content. It is concluded that the sympathetic system and its β -receptors play an important role in the morphology and composition of the vessel and accordingly in its function, and should, therefore, be taken into consideration in clinical practice.

Key words: aorta, β -receptors, histologic structure, morphometry.

Διεύθυνση αλληλογραφίας

Κ.Μ. Λαμπρόπουλος
Δομοκού 4 και Κορίνθου, 166 74, Γλυφάδα, Αθήνα
e-mail: KLabropoulos@mycosmos.gr

Ευχαριστίες

Η μελέτη επιχορηγήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών. Οι συγγραφείς ευχαριστούν την τεχνικό κ. Α. Αγαπάκη για τη βοήθειά της στην ιστολογική επεξεργασία των δειγμάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Boudoulas H, Wooley CF. Aortic Function. In: Boudoulas H, Toutouzas PK, Wooley CF, editors. Functional Abnormalities of the Aorta. New York: Futura Publishing Company, Inc; 1996. p. 3-36.
2. Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's Blood Flow in Arteries. Theoretical, Experimental and Clinical Principles, 5th ed. New York: Oxford University Press; 2005.
3. Βαρώνος ΔΔ. Ιατρική Φαρμακολογία, 1987.
4. Βαρώνος ΔΔ, Μπατρίνος ΜΜ, Σφινκάκης Α. Ιατρική Φαρμακολογία, 1976.
5. Cox RH. Effects of norepinephrine on mechanics of arteries in vitro. Am J Physiol 1976; 231:420-5.
6. Dobrin PB, Rovick AA. Influence of vascular smooth muscle on contractile mechanics and elasticity of arteries. Am J Physiol 1969; 217:1644-51.
7. Boutouyrie P, Lacolley P, Girerd X, Beck L, Safar M, Laurent S. Sympathetic activation decreases medium-size artery compliance in humans. Am J Physiol 1994; 267:H1368-76.
8. Lacolley P, Glaser E, Challande P, Boutouyrie P, Mignot JP,

- Duriez M, Levy B, Safar M, Laurent S. Structural changes and in situ aortic pressure-diameter relationship in long-term chemical-sympathectomized rats. *Am J Physiol* 1995; 269:H407-16.
9. Fronck K, Bloor CM, Amiel D, Milos C. Effect of long-term sympathectomy on the arterial wall in rabbits and rats. *Exp Mol Pathol* 1978; 28:279-89.
 10. Zipes DP, Braunwald E. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. New York: Saunders WB, 2005.
 11. Prichard BN. Propranolol in the treatment of angina: a review. *Postgrad Med J* 1976; 52:35-41.
 12. Kaplan NM. *Textbook of Clinical Hypertension*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998.
 13. Dollery CT, Lewis PJ. Central hypotensive effect of propranolol. *Postgrad Med J* 1976; 52:116-20.
 14. Borgesen SE. Treatment of migraine with propranolol. *Postgrad Med J* 1976; 52:163-65.
 15. Das G, Krieger M. Treatment of thyrotoxic storm with intravenous administration of propranolol. *Ann Intern Med* 1969; 70:985-8.
 16. Opie LH, Gersh BJ. *Drugs for the Heart*. Philadelphia, PA: Saunders; 2001.
 17. Harvey RA, Champe PC, Mycek MJ. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*, Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
 18. Salim MA, Alpert BS, Ward JC, Pyeritz RE. Effect of beta-adrenergic blockade on aortic root rate of dilation in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol* 1994; 74:629-33.
 19. Shores J, Berger KR, Murphy DE, Pyeritz RE. Progression of aortic dilation and the benefit of long-term β -adrenergic blockade in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 1994; 330:1335-51.
 20. Yin FCP, Brian KP, Ting CT, Pyeritz RE. Arterial hemodynamic indexes in Marfan's syndrome. *Circulation* 1989; 79:854-62.
 21. Haouzi A, Berglund H, Pelikan PCD, Maurer G, Siegel RJ. Heterogeneous aortic response to acute β -adrenergic blockade in Marfan syndrome. *Am Heart J* 1997; 133:60-3.
 22. Groenink M, de Roos A, Mulder BJ, Spaan JA, van der Wall EE. Changes in aortic distensibility and pulse wave velocity assessed with magnetic resonance imaging following beta-blocker therapy in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol* 1998; 82:203-8.
 23. Sokolis DP, Zarbis N, Dosios Th, Papalouka V, Papadimitriou L, Boudoulas H, Karayannacos PE. Post-vagotomy mechanical characteristics and structure of the thoracic aortic wall. *Ann Biomed Eng* 2005; 33:1504-16.
 24. Sokolis DP, Boudoulas H, Kavantzias N, Kostomitsopoulos N, Boudoulas H, Skalkeas Gr, Karayannacos PE. A morphometric study of the structural characteristics of the aorta in pigs using an image analysis method. *Anat Histol Embryol* 2002;31:1-10.
 25. Wolinsky H, Glagov S. Structural basis for the static mechanical properties of the aortic media. *Circ Res* 1964; 14:400-13.
 26. Goulding A, McChesney R, Stewart RD. Effects of propranolol on changes in heart rate, heart weight, kidney weight, urinary hydroxyproline and weight gain induced by large doses of thyroxine in the rat. *J Endocrinol* 1976; 71:399-405.
 27. Barrett AM, Cullum VA. The biological properties of the optical isomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias. *Br J Pharmacol* 1968; 34:43-55.
 28. Nishiyama K, Nishiyama A, Pfeffer MA, Frohlich ED. Systemic and regional flow distribution in normotensive and spontaneously hypertensive young rats subjected to lifetime β -adrenergic receptor blockade. *Blood Vessels* 1978; 15:333-47.
 29. Brodeur P, Pantely G, Yung N, Metcalfe J. No change in heart weight of adult rats after 6 weeks of propranolol. *Clin Res* 1980; 28:2A.
 30. Barrett AM. The mobilization of free fatty acids in response to isoprenaline in the rat. *Brit J Pharmacol* 1965; 25:545-56.
 31. Donta I, Karayannacos PE, Boudoulas H, Kostakis A, Sechas M, Varonos D, Skalkeas G. Effect of beta-adrenergic blockade on physiologic growth in the wistar rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1982; 37:147-50.
 32. Vavra I, Tom H, Greselin E. Chronic propranolol treatment in young spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1973; 51:727-32.
 33. Weiss L, Lundgren Y, Folkow B. Effects of prolonged treatment with adrenergic beta-receptor antagonists on blood pressure, cardiovascular design and reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 1974; 91:447-57.
 34. Williams EM, Raine AE. Effect of prolonged beta-receptor blockade on dry weight and electrophysiological responses of rabbit hearts. *Lancet* 1974; 2:1048-9.
 35. Fitzgerald JD. Propranolol. In: Scriabine A, ed. *Pharmacology of Antihypertensive Drugs*. New York: Raven Press; 1980. p. 195-208.