

Coronary arteries remodelling following chronic stress in rats

Natagh S¹, Fereidoni M^{1*}, Mahdavi Shahri N¹

1- Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 28 June 2010 , Accepted: 16 Nov 2010

Abstract

Background: Research has shown that healthy individuals with no known cardiovascular risk factors who experience a stressful life are likely to develop cardiovascular diseases. Therefore, stress can be one of the most important risk factors involved in cardiovascular diseases. This study evaluated the possible effects of chronic stress induced by obligatory swimming and noise on coronary arteries histological changes.

Materials and Methods: In this experimental trial, male Wistar rats were exposed to two different types of chronic stresses, including physical obligatory swim stress and psychological noise stress. After the last stress session, the rats were examined in terms of the ratio of the vessel lumen diameter to outer diameter, ratio of media diameter to outer diameter, ratio of adventitia diameter to outer diameter, and ratio of wall thickness to outer diameter of vessels.

Results: Obligatory swimming stress and noise stress each significantly increased the ratio of media diameter to the outer diameter of vessels ($P < 0.001$) and decreased the ratio of vessels lumen diameter to the outer diameter ($P < 0.05$). Swimming stress and noise stress induced increases in the ratio of wall thickness to the outer diameter of vessels ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively). In addition, swimming stress significantly increased the ratio of adventitia diameter to the outer diameter of vessels ($P < 0.05$).

Conclusion: These findings suggest that chronic stress can induce coronary vessel remodelling which results in atherosclerosis and cardiovascular diseases.

Keyword: Cardiovascular Diseases, Coronary Vessels, Rat, Stress

*Corresponding author:

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Email: fereidoni@yahoo.com

بازآرایی عروق کرونری قلب در موش صحرائی به دنبال استرس مزمن تجربی

سهیلا نطق¹، مسعود فریدونی^{2*}، ناصر مهدوی شهری³

1- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

2- استادیار، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

3- استاد، دکترای بافت شناسی - سیتولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت 89/4/7، تاریخ پذیرش 89/8/25

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات نشان می‌دهد، برخی افرادی که زندگی پراسترسی دارند علیرغم دارا نبودن عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی، دچار این بیماری می‌شوند. بنابراین استرس، یکی از مهمترین عوامل در ایجاد این بیماری است. در مطالعه حاضر، اثر احتمالی استرس مزمن شنای اجباری و استرس صدا در القای تغییرات بافتی عروق قلب، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار استفاده شد. دو نوع متفاوت استرس مزمن، شامل استرس جسمانی شنای اجباری و استرس روانی صدا در نظر گرفته شد. در هر گروه پس از پایان دوره استرس، شاخص‌هایی همچون نسبت قطر لومن به قطر خارجی رگ، نسبت قطر مدیا به قطر خارجی رگ، نسبت قطر آدوانتیس به قطر خارجی رگ و نسبت ضخامت دیواره به قطر خارجی رگ مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: استرس شنای اجباری و استرس صدا هر یک به تنهایی سبب افزایش نسبت قطر مدیا به قطر خارجی رگ ($p < 0/001$) و کاهش قطر لومن به قطر خارجی رگ ($p < 0/05$) شدند. افزایش ضخامت دیواره به قطر خارجی رگ در گروه استرس شنای اجباری ($p < 0/01$) و گروه استرس صدا ($p < 0/05$) مشاهده شد. همچنین افزایش قطر آدوانتیس به قطر خارجی رگ در گروه استرس شنای اجباری ($p < 0/05$) مشاهده شد.

نتیجه گیری: این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که استرس مزمن می‌تواند عامل بروز تغییرات ساختاری رگ‌های کرونر بوده، که این امر زمینه را برای بروز آترواسکلروزیس و بیماری قلبی عروقی فراهم می‌آورد.

واژگان کلیدی: استرس، بیماری قلبی-عروقی، عروق قلب، موش صحرائی

*نویسنده مسئول: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

Email: fereidoni@yahoo.com

مقدمه

مطالعات نشان داده اند که برخی افراد که به طور طولانی مدت زندگی پر استرس دارند علی‌رغم عدم وجود عوامل خطرزا از جمله بالا بودن لیپوپروتئین با دانسیته پائین (LDL)، کلسترول و تری گلیسرید بالای خون، چاقی، کشیدن سیگار، سن بالا و بیماری قند به بیماری‌های قلبی عروقی و انسداد عروق مبتلا شده‌اند (1). بنابراین استرس یکی از مهمترین عوامل موثر در بروز بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود. شیوع بیماری‌های قلبی عروقی و مطالعات روی آن گسترده است، اما مطالعه بر تاثیر استرس در بروز این بیماری چشم‌گیر نبوده و بررسی بیشتر فرآیندهای همودینامیک و پاسخ‌های التهابی و نوراندوکرینی موثر بر عروق قلبی و تاثیر استرس بر آنها ضروری به نظر می‌رسد (2).

اخیراً مشخص شده است که نه تنها محصول نهایی محصور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (گلوکوکورتیکوئیدهایی مثل کورتیزول در انسان و کورتیکواستروئیدها در جوندگان) بلکه دیگر هورمون‌های این محور مثل فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین (Corticotropin Releasing Factor-CRF) نیز در تنظیم پاسخ التهابی نقش دارند. گیرنده‌های CRF2 در جوندگان در سلول‌های اندوتلیوم عروق شش، روده، پانکراس، کلیه، مثانه، بیضه، مغز و قلب وجود دارند. در انسان نیز گیرنده‌های CRF2 با همین پراکندگی حضور دارند و این اشاره به گستردگی گیرنده‌های CRF2 در سیستم قلبی عروقی جوندگان و انسان دارد (4).

CRF به صورت حاد سنتز پروستاگلاندین را از طریق اثر بر دو آنزیم فسفولیپاز A2 و سیکلواکسیژناز، مهار می‌کند ولی به صورت مزمن جریان کرونری را افزایش داده و یک عمل گشاد کننده‌گی طولانی مدت بر رگ‌ها اعمال می‌کند (4).

فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین تحت شرایط استرسی، از ریشه خلفی گانگلیون سمپاتیک آزاد شده و آزادسازی هیستامین را از ماست سل‌های قلب تسهیل کرده و هیستامین نیز به نوبه خود التهاب نوروژنیک را آغاز می‌کند. بنابراین اثرات دراز مدت تحریک محور هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال بر بروز تغییرات قلبی ناشی از بازآرایی عروقی کماکان مورد سؤال است (5).

گیرنده CRF2 در قلب جوندگان بیان می‌شود. ایزوفرم دیگری از این گیرنده به نام Insert Variation Messenger Corticotropin Releasing Factor 2 mRNA یا iv-mCRF2 در قلب موش وجود دارد که بیان آن در پاسخ به استرس مزمن افزایش می‌یابد و این گیرنده بر ایزوفرم دیگری به نام mCRF2 اثر مهاری داشته و اعمال حفاظتی آن را بر قلب کاهش می‌دهد. اثر منفی iv-mCRF2 و تنظیم افزایشی آن توسط استرس روانی شکلی جدید از تنظیم اثر حفاظتی mCRF2 بر قلب و نیز نقشی بالقوه برای این ایزوفرم در بیماری قلبی القا شونده توسط استرس ارائه می‌دهد (6).

کورتیکواسترون و کورتیزول از طریق گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بر سلول‌های اندوتلیال عروق عمل می‌کنند و با اثر بر بیان سیکلواکسیژناز 1 و نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی تشکیل وازودیلاتورهایی همچون پروستاگلین و نیتریک اکساید را متوقف می‌کنند (7).

کورتیزول سنتز و آزاد سازی نیتریک اکساید را از راه‌های مختلفی همچون کاهش بیان mRNA آنزیم نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS)، افزایش تجزیه mRNA eNOS و کاهش ثبات پروتئین eNOS، کاهش کلسیم درون سلولی وابسته به آگونیست کاهش می‌دهد.

حال، سوال اینست که آیا استرس خود سبب تغییراتی در رگ‌ها می‌شود که سرانجام به تغییر شکل یا انسداد عروق بیانجامد؟

در هر گروه پس از پایان دوره استرس، حیوانات پس از بیهوشی قربانی شده و قلب‌ها خارج شد و برای مطالعات بافت شناسی مورد استفاده قرار گرفت. بافت قلب پس از خارج شدن به داخل محلول فیکساتور بوئن به مدت 24 ساعت انتقال داده شد. در مراحل بعدی، آبگیری به کمک درجات صعودی اتانول و سپس بوتانول خالص با دو بار تعویض صورت گرفت. در مرحله بعد، نمونه‌های آبگیری شده به حمام پارافین مذاب به مدت 14 ساعت منتقل شده و پس از دو بار تعویض قالب گیری انجام شد. از قالب‌های پارافینی آماده شده به کمک دستگاه میکروتوم برش‌های عرضی به ضخامت 5-7 میکرون تهیه و بر روی اسلایدهای شیشه‌ای که قبلاً ژلاتینی شده بودند منتقل گردیدند و برای مشاهده در زیر میکروسکوپ با روش‌های مختلف، رنگ آمیزی شدند. روش‌های رنگ آمیزی شامل هماتوکسیلین - ائوزین و رنگ آمیزی اورسئین - هماتوکسیلین - پیگک ایندیگو بود.

در این پژوهش داده‌های مربوط به تاثیر استرس بر بازسازی عروق شریانی قلب به روش زیر استخراج گردید، در برش‌های عرضی که به صورت سریال و به ضخامت 5-7 میکرون تهیه شده بود، شریان‌هایی به ضخامت 100 تا 200 میکرون برای بررسی در نظر گرفته شد و سپس لایه‌های دیواره شریان به وسیله خط کش میکرومتری قرار گرفته بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ اندازه‌گیری شد و نسبت‌های زیر محاسبه گردید:

نسبت قطر مدیا به قطر کلی رگ (MD/OD)،
نسبت قطر آدوانتیس به قطر کلی رگ (AD/OD)، نسبت
ضخامت دیواره به قطر کلی رگ (WT/OD) و نسبت قطر
لومن به قطر کلی رگ (ID/OD).

تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون آماری تی انجام شد.

در این تحقیق، هدف بررسی تغییر در برخی شاخص‌های بافتی قلب و عروق با نگرش به ساختار دیواره رگ‌ها و عضلات صاف آن است. یافته‌های این پژوهش در صورت مثبت بودن، می‌تواند تاییدی بر اثرات قلبی عروقی استرس به ویژه در القای بازآرایی عروقی فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از 18 موش نر، نژاد ویستار با وزن تقریبی 200-250 گرم استفاده شد. حیوانات داخل قفس‌ها و در اتاق‌هایی نگهداری شدند که دارای چرخه نوری، 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی بودند. در تمام مدت حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حرارت آزمایشگاه 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد، در طول آزمایشات ثابت بود. آزمایشات با رعایت قوانین مربوط به اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (8، 9).

این بررسی شامل گروه‌های کنترل، دریافت کننده استرس شنای اجباری و دریافت کننده استرس صدا بود. تمامی گروه‌ها شامل 6 سر موش صحرائی بودند. در گروه کنترل، حیوانات فقط در فضای مربوط به استرس شنا و نیز استرس صدا اما بدون هرگونه استرسی قرار داشتند. در گروه آزمایشی استرس شنای اجباری هر حیوان به طور انفرادی در یک مخزن استوانه‌ای به ابعاد 50 سانتی‌متر ارتفاع و 35 سانتی‌متر قطر که حاوی 40 سانتی‌متر آب 16 درجه سلسیوس بود، برای 10 دقیقه روزانه در محدوده ساعت 10 تا 14 وادار به شنا شدند. در گروه آزمایشی استرس صدا نیز حیوانات در باکس‌های خود دو بار در معرض استرس صدا به میزان 90 دسی بل هر بار به مدت 2 ساعت، روزانه در محدوده ساعت 10 تا 14 قرار گرفتند (10). فایل صوتی جهت تولید صدای مورد استفاده در تحقیق، در مجموعه‌ای با دامنه فرکانسی وسیع که به طور تصادفی تکرار می‌شوند تهیه شد. طول دوره آزمایش در هر دو گروه یک ماه در نظر گرفته شد.

افزایش نسبت ضخامت دیواره به قطر خارجی رگ نمادی دیگر از کاهش قطر داخلی می‌باشد.

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار ارائه گردیدند و سطح $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

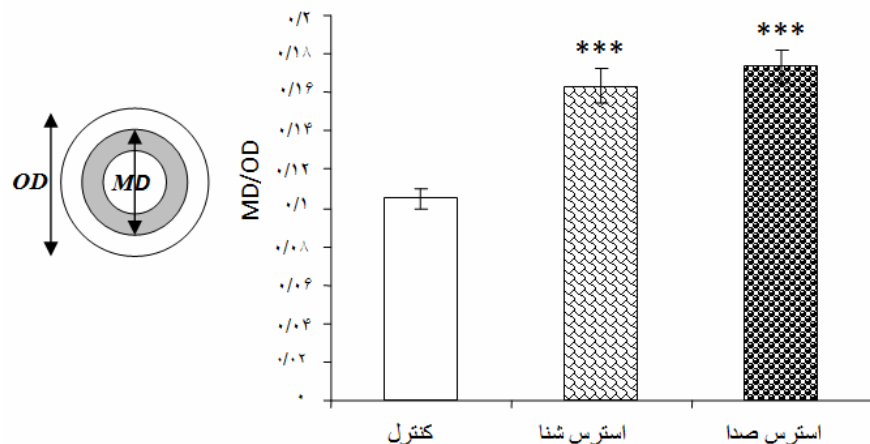
بحث

انقباض و انبساط رگ‌های کرونری و بازآرایی عروقی، فرآیند مهمی در بیماری عروق کرونر محسوب می‌شود (11). تجربیات مشاهده‌ای نشان می‌دهد که انبساط و انقباض شریانی می‌تواند نمادی از آترواسکلروزیس باشد (12). افزایش ضخامت اینتیمای - مدیا، می‌تواند یک پاسخ سازشی منجر به آترواسکلروزیس بوده و توضیح دهد که چرا شمار زیادی از فاکتورهای خطرزای بیماری قلبی - عروقی، با افزایش ضخامت اینتیمای - مدیا و قطر لومن مرتبط می‌باشد (13). استرس شنای اجباری و استرس صدا منجر به افزایش نسبت ضخامت لایه‌های مدیا و آدوانتیس به قطر خارجی رگ شدند. بنابراین استرس مزمن، شرایط عروقی را به گونه‌ای تغییر داده که انتظار می‌رود به سمت آترواسکلروزیس و بروز مشکلات عروقی قلب، پیش برود. مطالعاتی که روی شریان‌های کرونری صورت گرفته است ثابت می‌کند که در مراحل اولیه آترواسکلروزیس، قطر بیرونی شریان، برای ثابت نگه‌داشتن قطر لومن، افزایش می‌یابد (13).

یافته‌ها

با مقایسه بین داده‌های گروه کنترل و گروه استرس شنای اجباری به مدت یک ماه، افزایش معنی‌داری در نسبت ضخامت لایه مدیا به قطر کلی رگ (MD/OD) ($p < 0/001$) و نسبت ضخامت لایه آدوانتیس به قطر کلی رگ (AD/OD) ($p < 0/05$) و نسبت ضخامت دیواره به قطر کلی رگ (WT/OD) ($p = 0/01$) و کاهش معنی‌داری در نسبت قطر لومن به قطر کلی رگ (ID/OD) ($p < 0/05$) مشاهده شد. (شکل های 1-4).

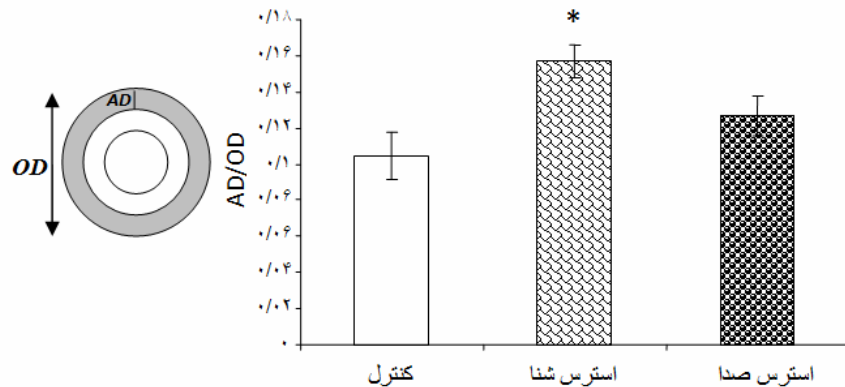
با مقایسه گروه کنترل و گروه تجربی که به مدت یک ماه تحت استرس صدا قرار داشتند نیز افزایش معنی‌داری در نسبت ضخامت لایه مدیا به قطر کلی رگ (MD/OD) ($p < 0/01$)، نسبت ضخامت دیواره به قطر کلی رگ (WT/OD) ($p < 0/05$) و کاهش معنی‌داری در نسبت قطر لومن به قطر کلی رگ (ID/OD) ($p < 0/05$) مشاهده شد. (شکل های 1-4). همان‌گونه که در شکل 3 مشاهده می‌شود،



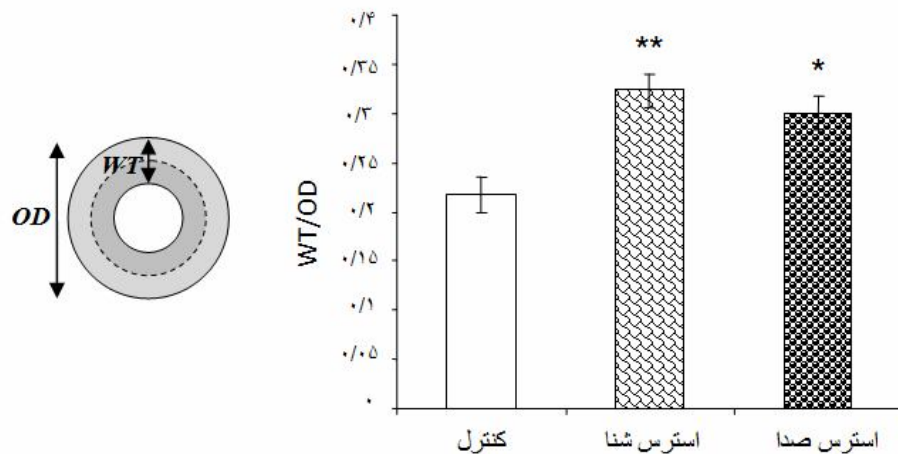
شکل 1. مقایسه نسبت ضخامت لایه مدیا به قطر کلی رگ (MD/OD) در گروههای کنترل، استرس شنای اجباری و استرس صدا

وازدیدلاتورهایی مانند نیتریک اکساید و پروستاگلین و افزایش سنتز تنگ کننده‌های رگی مانند ترومبوکسان و رمادلینگ شریان‌های کرونری شده است (7). همچنین از آنجایی که نیتریک اکساید، در شرایط نرمال سبب مهار کنندگی رشد سلول‌های عضلانی صاف و مهار تنگ کنندگی رگ می‌شود (15)، توقف آزاد سازی آن در طی استرس طولانی مدت سبب می‌شود که مهار رشد از روی سلول‌های عضلانی صاف برداشته شود و افزایش ضخامت لایه مدیا نسبت به قطر کلی رگ و نیز کاهش قطر لومن نسبت به قطر کلی رگ مشاهده گردد

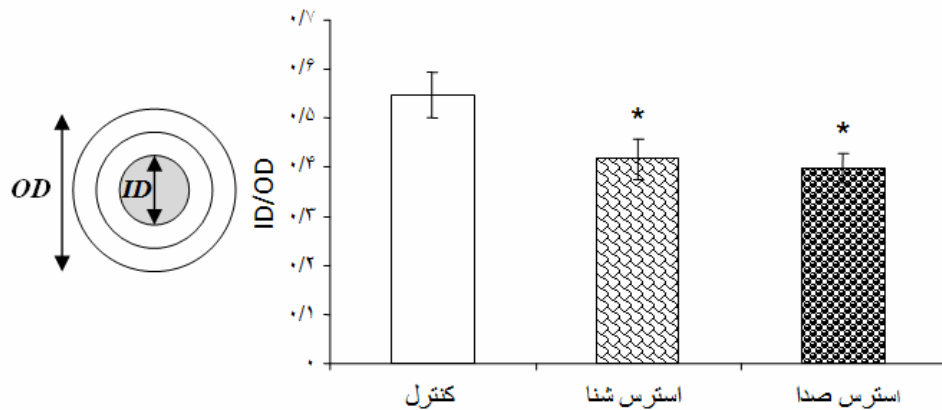
استرس مزمن سبب افزایش فشار خون می‌شود (14). از طرفی مشخص شده است که فشار خون به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق فعال شدن پپتیدهای وازواکتیو مثل آنژیوتانسین II و اندوتلین-1، سبب افزایش استرس اکسیداتیو شده، در نتیجه تنگی رگ، رشد سلول‌های ماهیچه صاف، آپوپتوز، درجات پایین التهاب و فیروز رگ را ایجاد می‌کند که این عوامل، فرآیندهای دینامیکی هستند که نهایتاً منجر به تغییر شکل رگ و حتی آترواسکلروزیس می‌شوند (15). از طرفی اختلال طولانی مدت در عملکرد اندوتلیوم از طریق تحریک گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی منجر به کاهش آزادسازی



شکل 2. مقایسه نسبت ضخامت لایه آدونتیس به قطر کلی رگ (AD/OD) در گروه‌های کنترل، استرس شنای اجباری و استرس صدا



شکل 3. مقایسه نسبت ضخامت دیواره به قطر کلی رگ (WT/OD) در گروه‌های کنترل، استرس شنای اجباری و استرس صدا



شکل 4. مقایسه نسبت قطر لومن به قطر کلی رگ (ID/OD) در گروههای کنترل، استرس شنای اجباری و استرس صدا

تنگی عروقی مزمن القا شده توسط استرس، سبب بازآرایی شریان و ضخیم شدن دیواره آن و پرولیفراسیون عضلات صاف در اثر به کارگیری می شود (15). از طرفی تنگی عروقی مزمن، سبب افزایش فشار خون شده و افزایش فشار خون نیز به نوبه خود باعث انقباض میوژنیک عضلات صاف (17) و پرولیفراسیون و هیپرتروفی مزمن سلولهای عضلانی صاف و در نتیجه افزایش سختی دیواره و کاهش جریان خون می گردد.

فعالیت فیروبلاستها در لایه آدوانتیس، به نظر می رسد که تاثیر زیادی بر تغییر شکل رگی داشته باشد. تحقیقات نشان داده اند که تغییر شکل لایه آدوانتیس در طی آرتریوژنز سازشی روی می دهد که این امر مستلزم فعالیت و تکثیر فیروبلاستها توسط بیان فاکتورهای رشد و تنظیم افزایشی سیستم پروتولیتیک است (19). احتمال می رود که فشار خون و اصطکاک تنجشی القا کننده های مهمی در فعالیت فیروبلاستها باشند (20) که هر دو در نتیجه استرس مزمن ایجاد می شوند و شاید این نیز سبب افزایش تکثیر سلولهای فیروبلاست و یا سنتز بیشتر کلاژن توسط این سلولها و در نتیجه افزایش ضخامت لایه آدوانتیس شده است.

افزایش فشار خون به نوبه خود سبب افزایش اصطکاک تنجشی (Stress Shear) می شود (16). در شرایط نرمال، سلولهای اندوتلیال در پاسخ به افزایش اصطکاک تنجشی، نیتریک اکساید و پروستاگلین را به منظور گشاد شدن رگ آزاد می کنند (16)، اما در این پژوهش، به علت اختلال در عملکرد اندوتلیوم ناشی از استرس مزمن و تحریک گیرنده های گلوکوکورتیکوئیدی، اتفاق مذکور رخ نداده و فشار خون افزایش می یابد.

افزایش فشار منجر به هیپرتروفی دیواره رگ می شود (17). پس، در پاسخ به فشار افزایش یافته، هیپرتروفی دیواره رگ و در نتیجه افزایش قطر دیواره نسبت به قطر لومن در اثر استرس دراز مدت مشاهده شده در این تحقیق قابل توضیح می گردد. بنابراین، احتمالاً استرس مزمن قادر به بروز تصلب شرایین و آتریواسکلروزیس و کاهش جریان خون دیواره قلبی می شود. افزایش سختی رگ نیز به نوبه خود سبب افزایش فشار خون و اصطکاک تنجشی بیشتر می گردد. در این پژوهش، علیرغم این که تجمع پلاک و حضور سلولهای التهابی در دیواره شریان مشهود نبود، افزایش در ضخامت دیواره شریان و کاهش قطر لومن و در نتیجه سختی شریان اتفاق افتاده که می تواند به آتریواسکلروزیس نیز منجر شود (18).

نتیجه گیری

یافته ها نشان می دهند که استرس مزمن خود می تواند احتمالاً عامل ایجاد تغییرات ساختاری و بروز بازآرایی در رگ های کرونری شود که این خود زمینه را برای بروز آترواسکلروزیس و بیماری قلبی عروقی فراهم می آورد. به نظر می رسد این اثر مربوط به اثر فرآورده های حاصل از فعال شدن محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال، من جمله کورتیکوسترون بر عروق کرونری باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی تحت عنوان "تاثیر استرس بر تغییرات ساختاری عروق قلب در موش صحرائی" می باشد. نویسندگان مقاله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تقدیر و تشکر می نمایند.

منابع

1. Black PH, Garbutt LD. Stress, inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Psychosomatic Research*. 2002; 52(1): 1-23.
2. Ellins E, Halcox J, Donald A, Field B, Brydon L, Deanfield J, et al. Arterial stiffness and inflammatory response to psychophysiological stress. *Brain, behavior, and immunity*. 2008; 22(6): 941-8.
3. Kawashima S, Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004; 24(6): 998-1005.
4. Rich EL, Romero LM. Exposure to chronic stress downregulates corticosterone responses to acute stressors. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005; 288(6): R1628-36.
5. Pang X, Alexacos N, Letourneau R, Seretakis D, Gao W, Boucher W, et al. A neurotensin receptor antagonist inhibits acute immobilization stress-induced cardiac mast cell degranulation, a corticotropin-releasing hormone-dependent process. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998; 287(1): 307-314.
6. Sztainberg Y, Kuperman Y, Issler O, Gil S, Vaughan J, Rivier J, et al. A novel corticotropin-releasing factor receptor splice variant exhibits dominant negative activity: a putative link to stress-induced heart disease. *The FASEB Journal*. 2009; 23(7): 2186-96.
7. Rogers KM, Bonar CA, Estrella JL, Yang S. Inhibitory effect of glucocorticoid on coronary artery endothelial function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2002; 283(5): H1922-28.
8. Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum*. 1986; 554: 221-233.
9. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983; 16(2): 109-10.
10. Zhao M, Chen J, Wang W, Wang L, Ma L, Shen H, et al. Psychological stress induces hypoferremia through the IL-6-hepcidin axis in rats. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008; 373(1): 90-3.
11. Humphrey JD. Mechanisms of arterial remodeling in hypertension: coupled roles of wall shear and intramural stress. *Hypertension*. 2008; 52(2): 195-200.
12. Schoenhagen P, Ziada KM, Vince DG, Nissen SE, Tuzcu EM. Arterial remodeling and coronary artery disease: the concept of. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001; 38(2): 297-306.
13. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Increased common carotid intima-media thickness: adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. *Stroke*. 1997; 28(12): 2442-47.
14. Henry JP, Liu YY, Nadra WE, Qian CG, Mormede P, Lemaire V, et al. Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats. *Hypertension*. 1993; 21(5): 714-723.
15. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis,

- inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001; 38(3): 581-587.
16. Helderma F, Segers D, de Crom R, Hierck BP, Poelmann RE, Evans PC, et al. Effect of shear stress on vascular inflammation and plaque development. *Current opinion in lipidology*. 2007;18(5):527-533.
17. Guyton A, Hall J. *Textbook of medical physiology* 11th ed. Philadelphia, Perm: Elsevier Saunders. 2006.
18. Wentzel JJ, Janssen E, Vos J, Schuurbiens JCH, Krams R, Serruys PW, et al. Extension of increased atherosclerotic wall thickness into high shear stress regions is associated with loss of compensatory remodeling. *Circulation*. 2003; 108(1): 17-23.
19. Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, Franch R, Puato M, Ausoni S, et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circulation research*. 2001; 89(12): 1111-21.
20. Cai WJ, Koltai S, Kocsis E, Scholz D, Kostin S, Luo X, et al. Remodeling of the adventitia during coronary arteriogenesis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2003; 284(1): H31-40.