The Journal of Qazvin Univ. of Med. Sc.
مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی قزوین
No. 12 , Winter 2000
شماره ۱۲ - زمستان ۱۳۷۸

اثر سن در پاسخ‌دهی سیستم کلی‌نرژیک ایلئوم رت

دکتر سید رضا مرتضوی* فریبا درخشان**

Effects of Aging on cholinergic system of rat isolated ileum

S.R. Mortazavi F. Derakhshan

Abstract

Background : *Aging is associated with changes in gastrointestinal functions.*

Objective : *To determine the effects of aging on the cholinergic system of rat isolated ileum.*

Methods : *In this research , isolated ileum from 9 to 11 days , 2 months , 6 months , and one year old male albino rats ($n \geq 6$) were prepared and their contraction responses were characterized by determining the ED_{50} of acetylcholine.*

Findings : *According to results , the sensitivity of m-$AchR_s$ were decreased in relation to age (the ED_{50} of Acetylcholine in 9-11 days, 2 months, 6 months and 1 year old rats were 3.46×10^{-5}, 6.58×10^{-5} , 1.34×10^{-5} and 1.018×10^{-4} respectively). The maximum response was observed in 6 months old rats.*

Conclusion : *The decline of responsiveness appears to be the result of age-related changes in cholinergic neuromuscular transmission.*

Keywords : *Aging , Cholinergic , Rat , Ileum*

چکیده

زمینه : در دو دههٔ اخیر رابطهٔ بین سن و تغییرات فیزیولوژیک بدن مورد توجه محققین قرار گرفته است.

هدف : این پژوهش به منظور تعیین اثر سن بر روی سیستم کلی‌نرژیک ایلئوم مجزای رت انجام شد.

مواد و روش‌ها : در این مطالعه ایلئوم جدا شدهٔ رت‌های ۹ تا ۱۱ روزه ، ۲ ماهه ، ۶ ماهه و ۱ سالهٔ نر از نژاد اسپراگ داولی نوع آلبینو به تعداد هر گروه حداقل شش رأس به طور تصادفی انتخاب و پاسخ‌های انقباضی آنها با تعیین ED_{50} استیل کولین اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها : حساسیت و پاسخ‌دهی گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین با افزایش سن کاهش یافت. ED_{50} استیل کولین در رت‌های ۹ تا ۱۱ روزه ، ۲ ماهه ، ۶ ماهه و ۱ ساله به ترتیب برابر با $3/46\times10^{-5}$ ، $6/58\times10^{-5}$ ، $1/34\times10^{-5}$ و $1/018\times10^{-4}$ بود. حداکثر پاسخ‌دهی در رت‌های ۶ ماهه مشاهده شد.

نتیجه‌گیری : به نظر می‌رسد کاهش پاسخ‌دهی ، مربوط به تغییرات انتقال پیام عصبی - عضلانی کولینرژیک در اثر سن باشد.

کلید واژه‌ها : سن (پیری) - کولینرژیک - رت - ایلئوم

* استادیار دانشگاه علوم پزشکی قزوین
** کارشناس آزمایشگاه

مقدمه :

اثر سن و رشد برموجودات زنده و عملکرد اندام‌ها، پدیده‌ای است که سؤالات زیادی را به دنبال دارد. (۱۳) سیستم کلی‌نرژیک یکی از سیستم‌های عصبی مهم بدن است که در بسیاری از اعمال حیاتی محیطی و مرکزی از جمله اعمال مغز، خلق، ادراک، یادگیری، حافظه، کنترل و هماهنگی حرکات و اعمال قلب و عروق، گوارش، تنفس، سیستم اداری تناسلی و جنسی، غدد، متابولیسم و غیره نقش مهمی دارد. (۱۲)

بافت‌ها و اعضای جدا شدهٔ حیوانات یکی از مدل‌های مهم در بررسی سیستم‌های مختلف است. ایلئوم با داشتن شبکهٔ میانتریک به خاطر وجود نورون‌های محیطی و عصب‌دهی مرکزی و بسیاری از نوروترانسمیترها از جمله استیل کولین، نوراپی‌نفرین، سروتونین، دوپامین، گاماآمینوبوتیریک اسید، نوروپپتید Y، نیتریک اکساید و مادهٔ P، نمونه‌ای غنی، قابل دسترس و حساس است که برای بررسی سیستم عصبی به طور مستقل یا در ارتباط با هم مورد استفادهٔ محققین قرار می‌گیرد. (۲ و ۱۲) بنابر یافته‌های تسایی و همکاران، حساسیت گیرنده‌های کلی‌نرژیک با افزایش سن در عضلهٔ ایلئوم خوکچهٔ هندی افزایش و در عضلهٔ گردنی جوجه کاهش می‌یابد. (۱۸ و ۱۹) اوچیلو و همکاران اعلام کرده‌اند پاسخ گیرنده‌های کلی‌نرژیک ایلئوم مجزای موش در سنین ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ماهه کاهش می‌یابد. (۱۴)

اکنون مطالعهٔ تغییرات بدن در اثر افزایش سن از دیدگاه جمعیتی نیز اهمیت یافته است، زیرا تعداد افراد مسن جوامع روز به روز افزایش می‌یابد و در آیندهٔ نزدیک احتمالاً به ۲۰ درصد جمعیت دنیا خواهد رسید. لذا بر انجام پژوهش در مورد سن بارها تأکید شده است. (۱۵)

استیل کولین در سطح غشاء سلول‌های بدن دو نوع گیرنده دارد که موسوم به گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی هستند. علت نامگذاری این گیرنده‌ها به موسکارینی و نیکوتینی پاسخ آنها به اثر تحریکی این مواد است. گیرنده‌های موسکارینی M_1، M_2، M_3، M_4، M_5 از خانوادهٔ گیرنده‌های آلفا هلیکس متصل به G پروتئین هستند.

از مدت‌ها پیش عقیده براین بود که بیماران مسن به داروها حساس‌تر هستند، چون تداخل فارماکودینامیک داروها با رسپتورها تغییر می‌کند. ولی اکنون مشخص شده است که بیشتر این تغییرات مربوط به تغییرات فارماکوکینتیک است، زیرا متابولیسم، دفع و تغییراتی که در بدن بر روی دارو انجام می‌شود کاهش می‌یابد و در نتیجه اثر داروهایی مثل خواب‌آورها و ضد دردها تشدید می‌گردد. (۳ و ۴ و ۱۷)

در مورد اثر واقعی و خاص سن بر روی بعضی رسپتورها اطلاعات بسیار کمی در دسترس است. تحقیقات نشان داده‌اند که گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک و نیکوتینی استیل کولین در عضلات مخطط و عصب در اثر افزایش سن دچار کاهش حساسیت و پاسخ‌دهی به استیل کولین می‌شوند. (۱۲ و ۱۷) اما در مورد گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیک نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق‌های مختلف، متناقض است. (۵ و ۶ و ۸ و ۱۱ و ۱۶ و ۲۰)

لذا پژوهش حاضر به منظور تعیین اثر سن بر روی پاسخ‌دهی سیستم کلی‌نرژیک (موسکارینی) در ایلئوم رت انجام شد. همچنین اثر سن روی پاسخ‌دهی ایلئوم در موارد زیر نیز با هم مقایسه شد:

ایلئوم رت‌های ۱۰ روزه با ۲ ماهه؛ ایلئوم رت‌های ۱۰

روزه با ۶ ماهه ؛ ایلئوم رت‌های ۱۰ روزه با ۱ ساله ؛ ایلئوم رت‌های ۲ ماهه با ۶ ماهه ؛ ایلئوم رت‌های ۲ ماهه با ۱ ساله و ایلئوم رت‌های ۶ ماهه با ۱ ساله.

▣ مواد و روش‌ها :

نمونه‌گیری به صورت تصادفی ساده انجام شد و ۲۵ رت نر از نژاد اسپراگ‌داولی در چهار گروه سنی مختلف ۹ تا ۱۱ روزه ، ۲ ماهه ، ۶ ماهه و بالای یکسال مورد آزمایش قرار گرفتند (در گروه سنی یک ساله ۷ حیوان و در بقیه گروه‌های سنی ۶ حیوان). همهٔ حیوانات از نظر رطوبت ، دما ، ساعات روشنایی و تاریکی در شرایط یکسان قرار داشتند. آب و غذا به حد کافی در اختیار آنها قرار داده می‌شد. غذای آنها همیشه یکنواخت بود و با غذای آماده و خشک تهیه شده در شرکت تولید خوراک دام و طیور پارس تغذیه می‌شدند. بالغین از رژیم سبزی‌های تازه هم استفاده می‌کردند. سعی شد که موش‌های ۶ ماهه و بالای ۱ سال یک روز قبل از آزمایش از بقیهٔ موش‌ها جدا نگهداری شوند و از غذا و آب محروم باشند تا بدین وسیله محتویات روده خالی گردد. در غیر این صورت به هنگام تشریح قبل از بستن عضو به الکترود توسط سرنگی که به سوزن آن لولهٔ لاستیکی نازکی متصل شده بود محتویات روده خالی می‌شد. داروی مورد مصرف در این بررسی استیل کولین کلراید با وزن مولکولی ۱۸۱/۷ ساخت کارخانهٔ رش بود که به صورت پودر لیوفیلیزه و محلول در آب است. برای ثبت حرکات از دستگاه اسیلوگراف شرکت هاروارد مدل ۹۳۰۷ - ۵۰ و دستگاه مبدل یا ترانسدیوسر ایزوتونیک و الکترود پلاتینی و حمام نسج ۲۰ میلی‌لیتر و بن ماری تنظیم شده در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و کپسول اکسیژن استفاده شد. محلول فیزیولوژیک به‌کار رفته محلول تیرود بود. املاح مورد مصرف و مقدار وزنی آنها که در آب مقطر دیونیزه تا حجم یک لیتر حل شدند عبارت بودند از :

سدیم بیکربنات ۱ گرم در لیتر ، سدیم دی‌هیدروژن فسفات هیدراته ۰/۰۶۵ گرم در لیتر ، کلرید کلسیم هیدراته ۰/۲۵ گرم در لیتر ، کلرید سدیم ۸ گرم در لیتر، کلرید پتاسیم ۰/۲ گرم در لیتر ، گلوکز ۱ گرم در لیتر و سولفات منیزیم هیدراته ۰/۲۶ گرم در لیتر.

در اکثر آزمایشات ، حساسیت دستگاه ۳ و سرعت کاغذ ۰/۲۵ میلی‌متر در ثانیه تنظیم گردید. با توجه به گروه سنی مورد آزمایش به دستگاه ترانسدیوسر کشش مورد نیاز داده شد که مقدار کشش به ترتیب زیر تعیین گردید :گروه سنی ۹ تا ۱۱ روزه ۰/۲ گرم ،گروه سنی ۲ ماهه ۰/۵ گرم ،گروه سنی ۶ ماهه ۱ گرم و گروه سنی بالای یک سال ۱ گرم.

پس از بیهوش کردن حیوان با کلروفرم ، شکم هر حیوان باز و قسمت ابتدای ایلئوم را مشخص نمودیم. ۳ تا ۴ سانتی‌متر از ایلئوم را بدون ایجاد کشش یا هرگونه آسیب از ۱۲ سانتی‌متر مانده به سکوم جدا کرده و بلافاصله داخل تشتک پتری حاوی تیرود اکسیژنه قرار دادیم. حدود ۱ سانتی‌متر از ایلئوم را جهت آزمایش و بقیه را به عنوان ذخیره در شیشهٔ ویال حاوی تیرود اکسیژنه در یخچال نگهداری کردیم. به علت آن که عضلهٔ متصل به الکترود باید در جهت دهانی - مقعدی قرار بگیرد (همانند جهت قرارگرفتن نسج در بدن) ، با استفاده از سوزن ظریف نخ را از قسمت دهانی عضله رد کرده و پس از گره زدن و باقی گذاشتن حدود ۱۵ سانتی‌متر از سر نخ مابقی را قطع کردیم. در قسمت انتهای عضله نیز نخ را به لبهٔ مخالف قسمت دهانی گره زده و پس از جدا کردن بافت همبند

و مزانتر از عضله ، نخ قسمت انتهایی را به قلاب الکترود گره زده و با قیچی کردن اضافات نخ ، الکترود را در لولهٔ ۲۰ میلی‌لیتر حمام عضو که حاوی تیرود اکسیژنه ۳۷ درجه سانتی‌گراد بود وارد کردیم. پس از ثابت کردن الکترود و بستن انتهای نخ بلند قسمت فوقانی ایلئوم به یک سر اهرم ترانسدیوسر ایزوتونیک ، کشش مورد نظر را به عضله وارد کردیم. در تمام مراحل از کشیدن شدن نسج ، قرار گرفتن آن در خارج از محلول مغذی و تماس با هوا جلوگیری شد. در این وضعیت عضلهٔ طولی ایلئوم به اندازهٔ لازم کشیده می‌شود و خاصیت ارتجاعی خود را از دست نمی‌دهد. جهت اطمینان از صحت تنظیم کشش از مقایسهٔ جابجایی قلم دستگاه ثبات در اثر وارد کردن کشش مورد نظر به اهرم استفاده شد.

حباب‌های اکسیژن باید طوری تنظیم نگردد که باعث لرزش عضو و یا نخ رابط بین عضو و اهرم ترانسدیوسر نگردد. به علت فشارهایی که تا این مرحله از آزمایش به نسج وارد شده ، نسج باید خود را با محیط جدید سازگار نماید. به همین دلیل آن را به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه به حالت خود قرار دادیم تا به حال تعادل در آید و نوسانات قلم که حرکات خود به خودی عضله را ثبت می‌نماید یکنواخت شود. در طی این مدت به فاصلهٔ هر ۱۵ دقیقه یک بار محلول محتوی حمام عضو را عوض کردیم تا مواد سمی و متابولیت‌هایی که توسط نسج به محیط وارد گردیده تخلیه شود. غلظت‌های نهایی استیل کولین به کار رفته (برحسب مولار) در تماس با عضو به ترتیب عبارت بودند از :

$1\times10^{-6} - 1\times10^{-7} - 3\times10^{-7} - 1\times10^{-8} - 3\times10^{-8} - 1\times10^{-8}$

$3\times10^{-6} - 1\times10^{-5} - 3\times10^{-5} - 1\times10^{-4} - 3\times10^{-4}$

$1\times10^{-3} - 3\times10^{-3} - 1\times10^{-2} - 3\times10^{-2}$.

اضافه کردن غلظت‌های فوق به صورت تجمعی و فزاینده و با حجم ۰/۱ میلی‌لیتر و ۰/۳ میلی‌لیتر از هر نمونه محلول تازه تهیه شده صورت گرفت. پس از افزودن یک دوز کامل با این شیوه عضو را شستشو داده و این عمل هر ۱۵ دقیقه تکرار شد.

در مقابل آزمایش‌هایی که برای هر حیوان انجام شد ، بهترین نمودار انتخاب و در جدولی تنظیم گردید. در این جدول در ستون اول غلظت دارو ، در ستون دوم تغییر قلم اسیلوگراف جهت رسم منحنی نسبت به خط پایه برحسب سانتی‌متر و در ستون سوم درصد پاسخ‌دهی محاسبه شد. اطلاعات به دست آمده در جدول مادر برای هر گروه سنی وارد و میانگین و انحراف استانداردها محاسبه شد. کلیهٔ اطلاعات تحت آزمون‌های آماری t ، آنالیز واریانس و رگرسیون خطی قرار گرفت.

▣ یافته‌ها :

اثر استیل کولین روی تونوس عضلهٔ مجزای ایلئوم رت در سنین مختلف در محیط تیرود به شرح ذیل بود :

در رت ۹ تا ۱۱ روزه ، استیل کولین با غلظت‌های معین تجمعی باعث افزایش تونوس عضله گردید. در این گروه پاسخ از غلظت 3×10^{-7} مولار آغاز و در غلظت 1×10^{-2} مولار به حداکثر اثر رسید. این پاسخ به سرعت برگشت‌پذیر بود که احتمالاً ناشی از هیدرولیز سریع استیل کولین در محل اثر می‌باشد. با استفاده از نتایج منحنی نیمه لگاریتمی مقدار پاسخ رسم گردید. ED_{50} به دست آمده از منحنی در این گروه سنی برابر $3/46\times10^{-5}$ مولار بود (شکل شماره ۱).

در رت ۲ ماهه نیز غلظت‌های فزاینده استیل کولین

موجب افزایش تونوس وابسته به مقدار دارو گردید. این پاسخ از غلظت ۳×۱۰^{-۸} مولار شروع شد و در غلظت ۱×۱۰^{-۲} مولار به حداکثر رسید. مقدار پاسخ ED_{50} محاسبه شده از منحنی معادل $۶/۵۸\times۱۰^{-۵}$ مولار بود.

در رت ۶ ماهه نیز افزایش غلظت استیل کولین به صورت تجمعی باعث افزایش تونوس عضله گردید. شروع پاسخ‌دهی از غلظت ۱×۱۰^{-۸} مولار و حداکثر پاسخ‌دهی ۳×۱۰^{-۲} مولار و مقدار پاسخ ED_{50} محاسبه شده ازمنحنی معادل $۱/۳۴\times۱۰^{-۵}$ مولار بود.

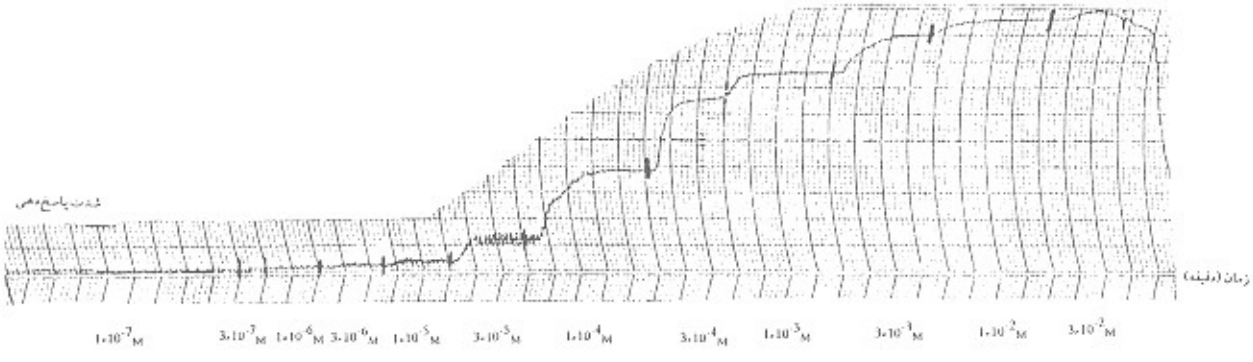
در رت بالای یک سال ، استیل کولین با غلظت‌های فزاینده باعث افزایش تونوس عضله شد. شروع پاسخ‌دهی از غلظت ۳×۱۰^{-۸} مولار و حداکثر پاسخ‌دهی ۳×۱۰^{-۲} مولار بود. مقدار پاسخ ED_{50} محاسبه شده از منحنی معادل $۱/۰۱۸\times۱۰^{-۴}$ مولار بود.

مقایسهٔ منحنی مقدار پاسخ در حیوانات ۱۰ روزه با حیوانات ۲ ماهه کاهش پاسخ‌دهی را نشان داد ($P<۰/۰۱$). ED_{50} آن‌ها به ترتیب برابر $۳/۴۶\times۱۰^{-۵}$ و $۶/۵۸\times۱۰^{-۵}$ مولار بود (نمودار شماره ۱).

درگروه سنی ۶ ماهه ED_{50} کاهش یافت و به حدود $۱/۳۴\times۱۰^{-۵}$ رسید ، یعنی پاسخ‌دهی افزایش یافت. بررسی آماری دقیق‌تر با استفاده از روش آزمون آنالیز واریانس‌ها و تعیین شیب همبستگی نشان داد که بین داده‌های به دست آمده درگروه ۱۰ روزه وگروه حیوانات ۶ ماهه تفاوت معنی‌دار نیست و همبستگی مقدارپاسخ و سن وجود ندارد(نمودارهای شماره ۲و۴).

در نهایت درگروه ۱ ساله پاسخ‌دهی نسبت به‌گروه ۱۰ روزه مجدداً کاهش یافت ($P<۰/۰۰۱$) و ED_{50} برابر $۱/۰۱۸\times۱۰^{-۴}$ مولارگردید (نمودار شماره ۳).

اختلاف پاسخ‌دهی نسبت به سن ، بین گروه‌های ۱۰ روزه ، ۲ ماهه و ۱ ساله معنی‌دار بود ، یعنی افزایش ED_{50} نشان‌دهندهٔ کاهش پاسخ‌دهی نسبت به مقادیر تجمعی استیل کولین در اثر سن بود (نمودارهای شماره ۱ و ۵). ضمناً بین گروه ۶ ماهه و ۱ ساله نیز کاهش پاسخ‌دهی در اثر افزایش سن مشاهده گردید (نمودار شماره ۶).

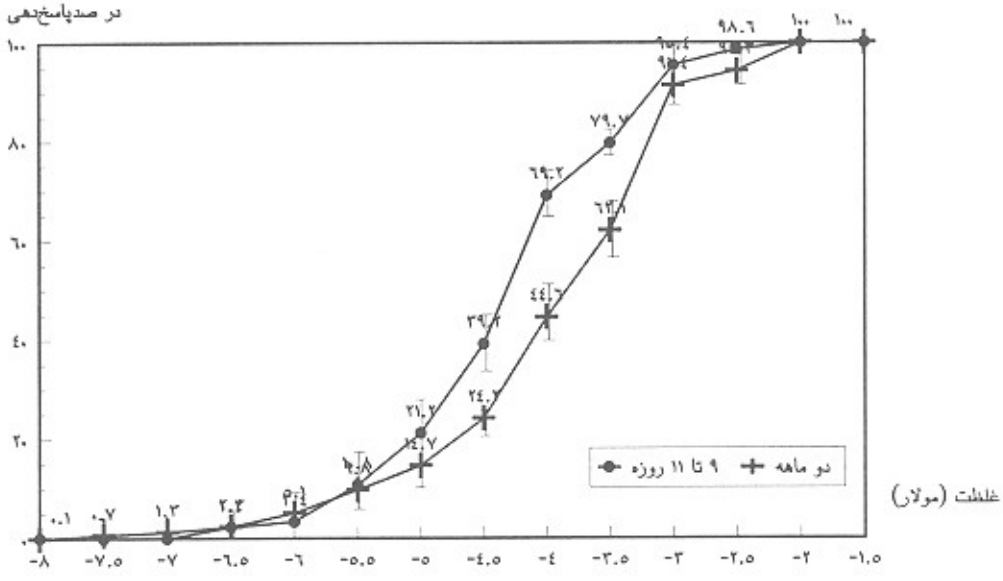


شکل ۱ :

اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی کشش عضلهٔ صاف ایلئوم جدا شدهٔ رت ۹ تا ۱۱ روزه

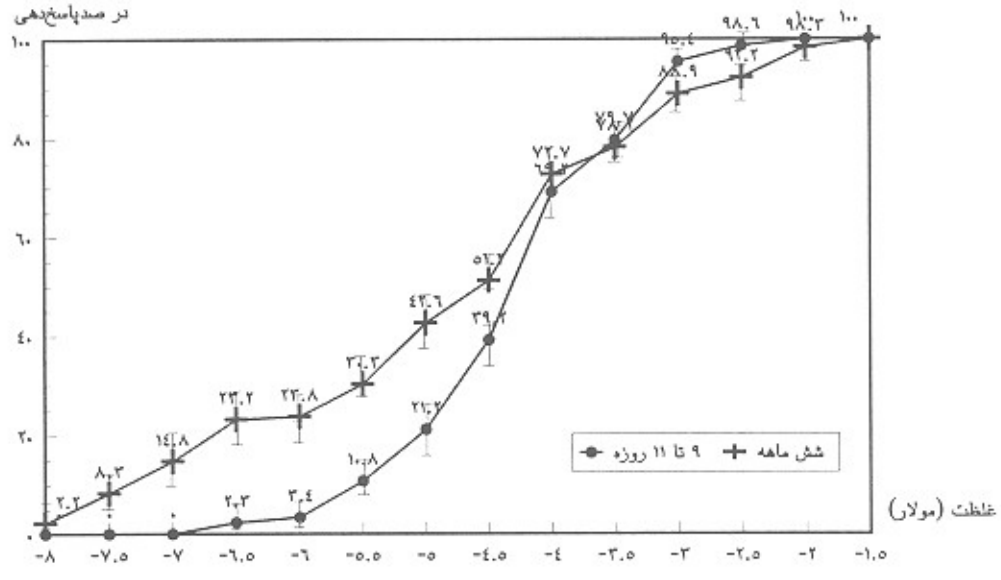
نمودار ۱ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۹ تا ۱۱ روزه با ۲ ماهه



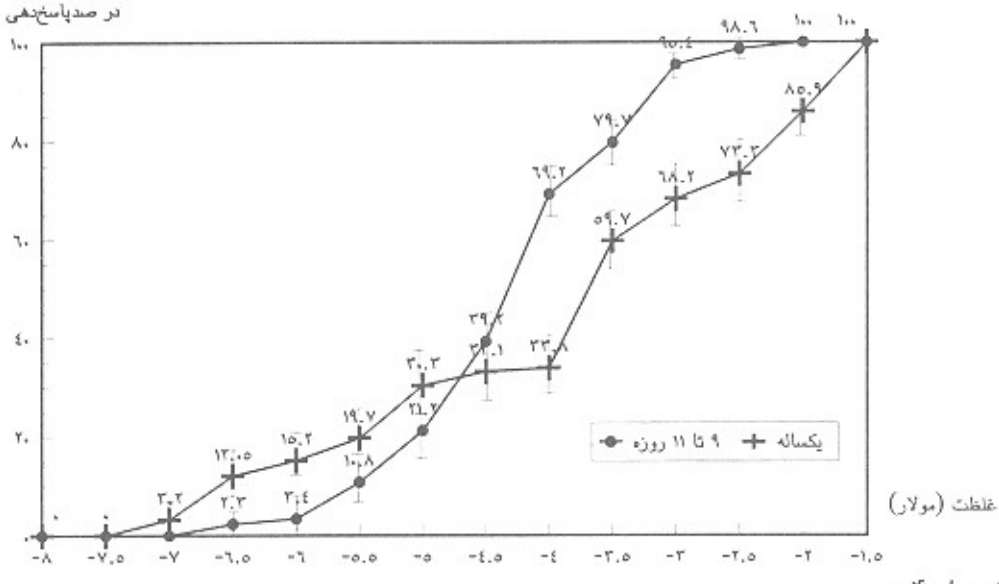
نمودار ۲ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۹ تا ۱۱ روزه با ۶ ماهه



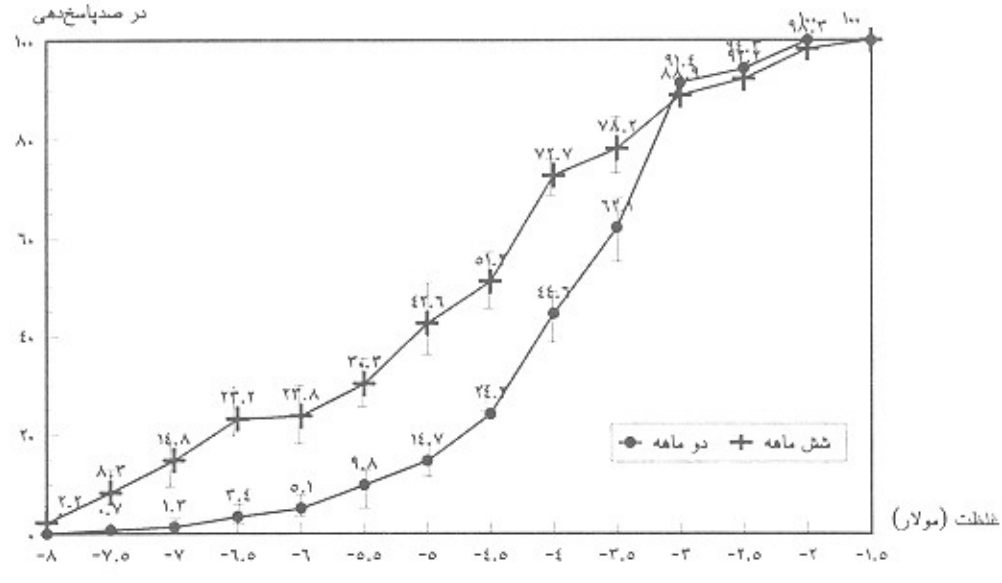
نمودار ۳ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۹ تا ۱۱ روزه با ۱ ساله



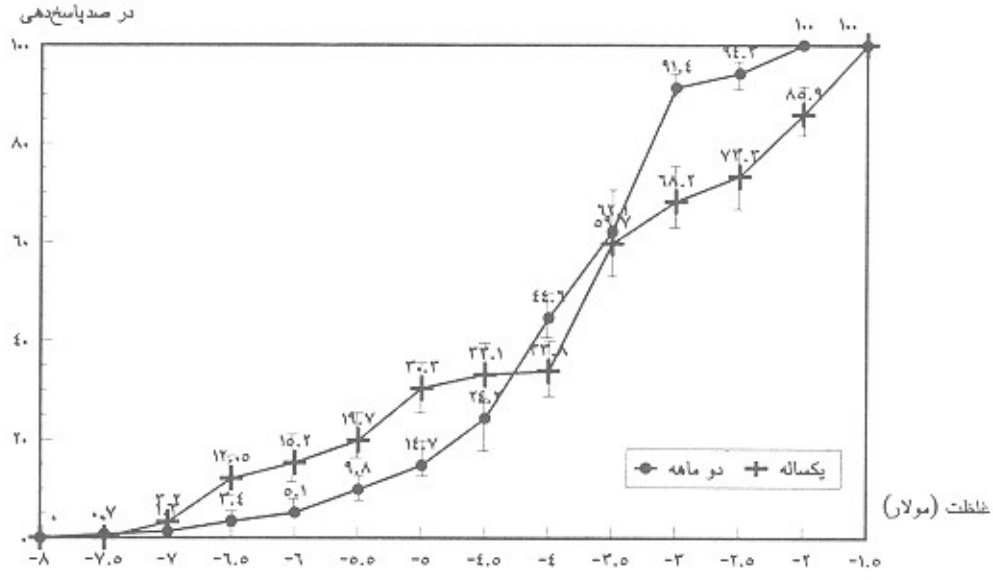
نمودار ۴ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۲ ماهه با ۶ ماهه



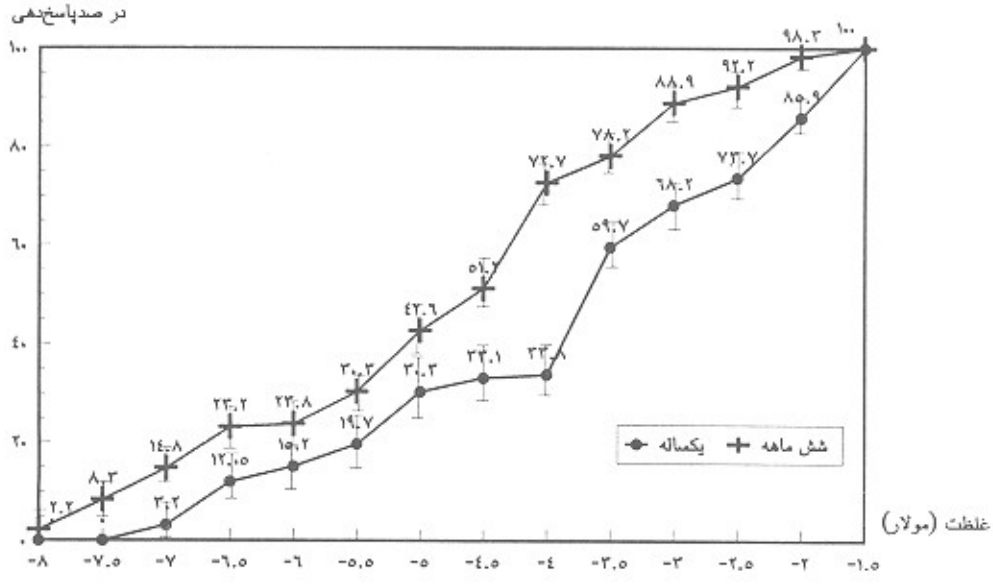
نمودار ۵ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۲ ماهه با ۱ ساله



نمودار ۶ :

مقایسه منحنی‌های مقدار پاسخ اثر غلظت‌های تجمعی استیل کولین بر روی میزان کشش عضلهٔ صاف جدا شدهٔ ایلئوم رت‌های گروه سنی ۶ ماهه با ۱ ساله



▣ بحث و نتیجه‌گیری :

مطالعهٔ حاضر به منظور بررسی تغییرات پاسخ‌دهی عصبی - عضلانی ایلئوم جدا شدهٔ رت طراحی گردید. اثر سن روی ایلئوم مجزای خوکچهٔ هندی نوزاد و بالغ قبلاً انجام و ED_{50} به دست آمده به ترتیب برابر $۷/۶۶۳\times۱۰^{-۹}$ و $۲/۱\times۱۰^{-۱۲}$ گزارش شده بود که با یافتهٔ مطالعه حاضر متفاوت است. [۱] یافته‌های اوچیلو و همکاران تقریباً با این مطالعه مطابقت دارد. البته در تجربهٔ مذکور فقط عضلهٔ طولی جدا شدهٔ ایلئوم خوکچه هندی مورد بررسی قرار گرفته بود که پاسخ‌دهی به استیل کولین تا سن ۶ ماهگی کاهش و بعد از این سن افزایش یافته بود. [۱۴]

در بررسی فورتونا و همکاران اعلام شد که با افزایش سن تعداد رسپتورهای موسکارینی استیل کولین در ایلئوم جدا شدهٔ رت کاهش می‌یابد. [۱۰]

به نظر می‌رسد تمایل گیرنده‌های موسکارینی به آگونیست‌ها و یا وقایع بعد رسپتوری از جمله فعالیت تنظیمی G پروتئین‌ها ، فعالیت آنزیم‌های آدنیلیل سیکلاز یا فسفولیپاز C در تولید پیام‌رسان‌های ثانویه و یا مکانیسم‌های فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون داخل سلولی و یا عملکرد نورون‌های کولینرژیک و یا تعداد رسپتورهای استیل کولین در اثر سن تغییر می‌کند. [۷ و ۹] اما هنوز این فرضیه‌ها نیاز به تحقیق بیشتر و استفاده از تکنیک‌های دقیق‌تر و مدارک مستدل دارد.

▣ مراجع :

۱- دهپور احمدرضا ، مرتضوی سید رضا. اثر سن روی پاسخ‌دهی سیستم کلی‌نرژیک در ایلئوم خوکچه هندی و عضلهٔ دوبطنی گردنی جوجه. پایان نامه برای دریافت درجه دکترای تخصصی فارماکولوژی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، ۱۳۷۱ ، صص ۴۶-۴۰ و ۱۰۰- ۹۵

2. Belai A etal. Effect of age on NADPH-diaphorase-containing myenteric neurones of rat ileum and proximal colon. Cell Tissue Res 1995 Feb ; 279 (2) : 379-8

3. Biancani P etal. Age-related changes in force , stress , and pressure of lower esophageal sphincter of the rat. Am J Physiol 1997 ; 233 (5) : 3407-15

4. Bonner TI. Domains of muscarinic acetylcholine receptors that confer specificity of G-Protein coupling. Trends pharmacol Sci 1992 ; 12 : 34-40

5. Cato A etal. Age-dependent intestinal absorption of valproic acid in the rat. Pharmacol Res 1995 Feb ; 12 (2) : 284-90

6. Chakraborty C etal. Age-related changes in peptide-23 (pancreatitis-associated protein and pancreatic stone protein) reggen expression in the ratand regulation by growth hormone-releasing hormone. Endocrinology 1995 May ; 136 (5) : 1843-9

7. Cooper JD etal. Increased vulnerability of septal cholinergic neurons to partial loss of target neurons in aged rats. Neuroscience 1996

Nov ; 75 (1) : 29-35

8. Cusack BJ etal. Aging alters the force-frequency relationship and toxicity of oxidative stress in rabbit heart. Life Sci 1991 ; 48 : 1769-77

9. Ford GA etal. Age-related changes in adenosine and beta-adrenoceptor responsivness of vacular smooth muscle in man. Br J Pharmacol 1992 ; 33 : 83-7

10. Furtuna S etal. Adaptive processes of the central and autonomic cholinergic neuro-transmitter system : age-related differences. Life Sci 1991 ; 48 (8) : 831-42

11. Gomez G etal. Intestinal peptide YY : ontogeny of gene expression in rat bowel and trophic actions on rat and mouse bowel. Am J Physiol 1995 Jan ; 268 (1 pt 1) : G71-81

12. Katzung BG etal.Introduction to autonomic pharmacology. In: Basic and clinical pharmacology USA , Appelton and lange , 7th ed , 1998 , PP : 73-100 and 913-31

13. Lonergan ET etal. Anational agenda for research on aging. N Eng J Med 1991 ; 324 (25) : 1825-28

14. Ochillo RF etal. A comparative study of the effects of aging on the responsiveness of the cholinergic receptor of the isolated ileum of mouse and rat. Res Common Chem Pathol Pharmacol 1988 ; 60 (2) : 261-4

15. Olshansky SJ etal. In search of methuselah: Estimating the upper limits to humman longevity. Science 1990 ; 250 : 634-9

16. Poller U etal. Influence of atropine on the cardio vascular effects of noradrenaline and tyramine in elder volunteens. Nauyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1997 Jul ; 356 (1) : 100-6

17. Taylor P etal. Molecular basis of drug action. In , principles of drug action : the basis of Pharmacology 3rd ed , New York , Churchill livingstone , 1996 , PP 103-200

18. Tsai CS etal. The effects of aging on the responsiveness of the cholinergic receptor of the longitudinal muscle of guinea-pig isolated ileum. Pharmacol 1987 ; 55 (2) : 275-8

19. Tsai MH etal. Effects of aging on the cholinergic receptor of the logitudinal muscle of the guinea-pig isolated ileum. Fed Proc 1982 ; 41 (4) : 6150

20. Vannucchi MG etal. Selective muscarinic antagonists differentially affect in vivo acetylcholine release and memory performances of young and aged rats. Neuroscience 1997 Aug; 79 (3) : 837-46