

اثر سن بر پاسخ دهی سیستم موسکاربینی کولینرژیک و آدرنرژیک دهلیز مجزای قلب رت

دکتر سید رضا مرتضوی* حسین جعفری** اسماعیل عباسی*** فریبا درخشان***

Effects of aging on cholinergic and adrenergic systems responsiveness of rat isolated atrium

S.R. Mortazavi H. Jafari E. Abbasi F. Derakhshan

Abstract :

Background : Aging is associated with changes in drugs responsiveness.

Objective: To determine the effects of aging on cholinergic and adrenergic systems of rat isolated atrium.

Methods: In this study isolated atrium of male albino rats were prepared. The rats were randomly selected & divided into 3 groups of 10-20 days (A), 2 months (B) & over 6 months old (C) ($6 < n \leq 10$). Determining the ED_{50} of acetylcholine, epinephrine, atropin & propranolol, their contraction responses were measured.

Finding: The sensitivity of muscarinic acetylcholine receptors ($m\text{-AdR}_s$) decreased and that of Beta-Adrenergic receptors ($\beta\text{-AdR}_s$) increased in relation to age. ED_{50} of Acetylcholine of the were 9.8×10^{-8} , 1.7×10^{-4} and 1.5×10^{-4} respectively, while the ED_{50} of Adrenaline in the same groups of rats were 1.2×10^{-6} , 1.69×10^{-7} and 2.99×10^{-6} respectively. The maximum responses for m-AchRs and $\beta\text{-AdR}_s$ were observed in 2-6 & 6-12 months old rats.

Conclusion : The changes of responsiveness (decrease in cholinergic system & increase in adrenergic system) appear to be the result of age-related changes in cholinergic and adrenergic neuromuscular transmission.

Key words : Aging, Cholinergic, Adrenergic, Atrium, Rat

چکیده :

زمینه : تحقیقات نشان داده است که سن در تغییر پاسخ دهی به داروها نقش مهمی دارد.

هدف : مطالعه به منظور تعیین اثر سن بر سیستم کولینرژیک و آدرنرژیک دهلیز مجزای رت انجام شد.

مواد و روش ها : در این مطالعه تجربی دهلیز جدا شده رت های ۱۰ تا ۲۰ روزه (گروه اول)، ۲ ماهه (گروه دوم) و بالای شش ماه (گروه سوم) از نژاد اسپیراگ داوولی نوع آلبینو به تعداد هر گروه ۶ تا ۱۰ رأس به طور تصادفی انتخاب و پاسخ های انقباضی آنها با تعیین ED_{50} برای استیل کولین، اپی نفرین، آتروپین و پروپرانولول اندازه گیری شد.

یافته ها : حساسیت و پاسخ دهی گیرنده های موسکاربینی استیل کولین و گیرنده های بتا آدرنرژیک با افزایش سن تغییر نمود به طوری که ED_{50} استیل کولین در سه گروه سنی فوق به ترتیب 9.8×10^{-8} ، 1.7×10^{-4} ، 1.5×10^{-4} و ED_{50} اپی نفرین در همان گروه ها به ترتیب 1.2×10^{-6} ، 1.69×10^{-7} و 2.99×10^{-6} بود. حداکثر پاسخ دهی برای استیل کولین در موش های ۲ تا ۶ ماهه و برای اپی نفرین در موش های ۶ تا ۱۲ ماهه بود.

نتیجه گیری : افزایش سن باعث کاهش پاسخ دهی سیستم کولینرژیک و افزایش پاسخ دهی سیستم آدرنرژیک در دهلیز جدا شده رت می شود و به نظر می رسد علت آن تغییر انتقال پیام توسط گیرنده های پایانه عصبی - عضلانی باشد.

کلیدواژه ها : سن (پیری)، کولینرژیک، آدرنرژیک، دهلیز، رت

* استادیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

** مربی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

*** کارشناس

۱- مقدمه :

پاسخ دهی گیرنده ها در اثر افزایش سن یکی از مسائل مورد توجه محققین در سراسر دنیاست که هنوز سؤال های زیادی را به دنبال دارد. یکی از دستگاه های بدن که تغییرات آن در اثر افزایش سن مورد بررسی قرار گرفته، سیستم عصبی خودکار است.

سیستم آدرنرژیک با داشتن گیرنده هایی در سراسر بدن از جمله گیرنده های بتا ۱ در دهلیز و بطن، نقش بسیار مهمی را در کنترل غیرارادی عملکرد قلب ایفا می کند.

سیستم کولینرژیک از طریق گیرنده های موسکارینی نوع M_2 نقش اساسی را در کنترل ضربان و تونوس دهلیز عهده دار است.^(۷) هر دو نوع گیرنده های M_2 و بتا یک از نوع گیرنده های غشایی آلفا هلیکس متصل به جی پروتئین هستند و تحریک آنها موجب تعدیل پیام رسان های ثانویه به خصوص آدنوزین منوفسفات حلقوی می شود.^(۵ و ۷)

در سال ۱۳۷۱، تغییر پاسخ دهی سیستم کولینرژیک در ایلئوم خوکچه هندی و عضله گردنی جوجه توسط یکی از نویسندگان این مقاله و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داد که با افزایش سن حساسیت گیرنده های کولینرژیک در عضله گردنی جوجه و ایلئوم خوکچه هندی کاهش می یابد.^(۱) همچنین مطالعه ای دیگر در سال ۱۳۸۰ بر روی ایلئوم رت نشان داد که پاسخ دهی گیرنده های موسکارینی در موش های ۱۰ روزه تا ۲ ماهه کاهش، بین دو تا شش ماهگی افزایش و بین شش ماهگی تا یک سالگی کاهش می یابد.^(۲)

بررسی پیوند پاراتیون و متیل پاراتیون به گیرنده های موسکارینی در موش های نوزاد و بالغ، کاهش حساسیت وابسته به سن در این گروه ها را نشان داده است.^(۴)

در یک مطالعه، اثر وقفه ای آنزیم مبدل (Converting Enzyme) آنژیوتانسین بر آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) در سنین مختلف در موش ها مورد بررسی قرار گرفت.^(۴) مطالعه ای دیگر نشان داد که وقفه

آنزیم مبدل که آنژیوتانسین یک را به آنژیوتانسین دو تبدیل می کند، سبب طبیعی شدن فاصله QT در نوار قلبی سالمندان شود.^(۸) در یک پژوهش اثرات کاپتوپریل که یک داروی وقفه دهنده آنزیم فوق است بر روی سیستم شریانی موش های جوان و پیر بررسی شد و نتایج نشان داد که با افزایش سن اثر بخشی دارو افزایش می یابد.^(۳) این مطالعه به منظور تعیین اثر سن بر پاسخ دهی سیستم آتونوم در عضله دهلیز مجزای رت انجام شد.

۱- مواد و روش ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۱ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. نمونه گیری به طور تصادفی ساده بود و ۱۲۰ رأس رت نر نژاد اسپیراگ داوولی نوع آلبینو در سه گروه سنی ۱۰ تا ۶۰ روزه، ۲ تا ۶ ماهه و ۶ تا ۱۲ ماهه انتخاب شدند. همه حیوان ها از نظر رطوبت، دمای محیط، ساعت روشنایی و تاریکی، غذا و محل نگه داری در شرایط یکسان قرار داشتند. غذای موش ها همیشه یکنواخت، از نوع خشک و تهیه شده از شرکت تولید خوراک دام و طیور پارس بود.

داروهای مورد مصرف، استیل کولین کلراید آگونیست مستقیم کولینرژیک، آتروپین سولفات آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی، اپی نفرین تارتارات آگونیست مستقیم آدرنرژیک و پروپرانولول کلراید آنتاگونیست گیرنده های بتا آدرنرژیک به صورت پودر خالص ساخت کارخانه سیگما بود. داروها قبل از مصرف به صورت تازه در آب دیونیزه به مقدار لازم حل و مورد استفاده قرار می گرفتند.

بعد از کشتن سریع حیوان توسط گیوتین و شکاف سینه، قلب خارج می شد و سپس در ظرف حاوی تیروید اکسیژنه قرار می گرفت. دهلیز جدا شده به داخل ارگان بس دستگاه فیزیوگراف منتقل می شد. دمای ارگان بس ۳۲ درجه سانتی گراد بود و نسج در تمام مدت در محلول غنی

یافته ها :

استیل کولین با غلظت های تجمعی از 10^{-9} تا 3×10^{-2} مولار باعث کاهش دامنه و تعداد انقباض های خود به خودی دهلیز شد. میزان ED_{50} (متوسط دوز موثر) استیل کولین در گروه های سنی اول و دوم و سوم به ترتیب برابر $9/8 \times 10^{-8}$ و $1/7 \times 10^{-7}$ و $1/5 \times 10^{-7}$ بود که در حضور آتروپین با غلظت 10^{-5} مولار مقادیر ED_{50} استیل کولین در همان حیوان ها به ترتیب برابر $6/2 \times 10^{-7}$ و $2/02 \times 10^{-7}$ و $1/22 \times 10^{-7}$ شد، این کاهش در گروه اول نسبت به گروه های دوم و سوم معنی دار بود ($P < 0/001$)، ولی در گروه دوم نسبت به گروه سوم اختلاف معنی دار نداشت. (جدول و نمودار شماره ۱)

همچنین اپی نفرین با غلظت های فزاینده از 10^{-6} تا 3×10^{-2} شدت انقباض ها و تعداد ضربان دهلیزها را در تمام گروه های سنی فوق افزایش داد. میزان ED_{50} اپی نفرین در گروه های سنی فوق به ترتیب برابر $1/28 \times 10^{-6}$ و $1/69 \times 10^{-7}$ و $2/99 \times 10^{-6}$ مولار بود که در حضور پروپرانولول با غلظت 10^{-5} مولار مقادیر ED_{50} اپی نفرین در همان حیوان ها به ترتیب برابر $1/69 \times 10^{-9}$ و $1/09 \times 10^{-6}$ و $2/26 \times 10^{-5}$ شد. این افزایش در گروه سنی اول نسبت به گروه سنی دوم معنی دار بود ($P < 0/001$)، ولی نسبت به گروه های سنی سوم تفاوت چندانی را نشان نداد. گروه دوم بیشترین پاسخ را به دوزهای فزاینده اپی نفرین نشان داد. (جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۲)

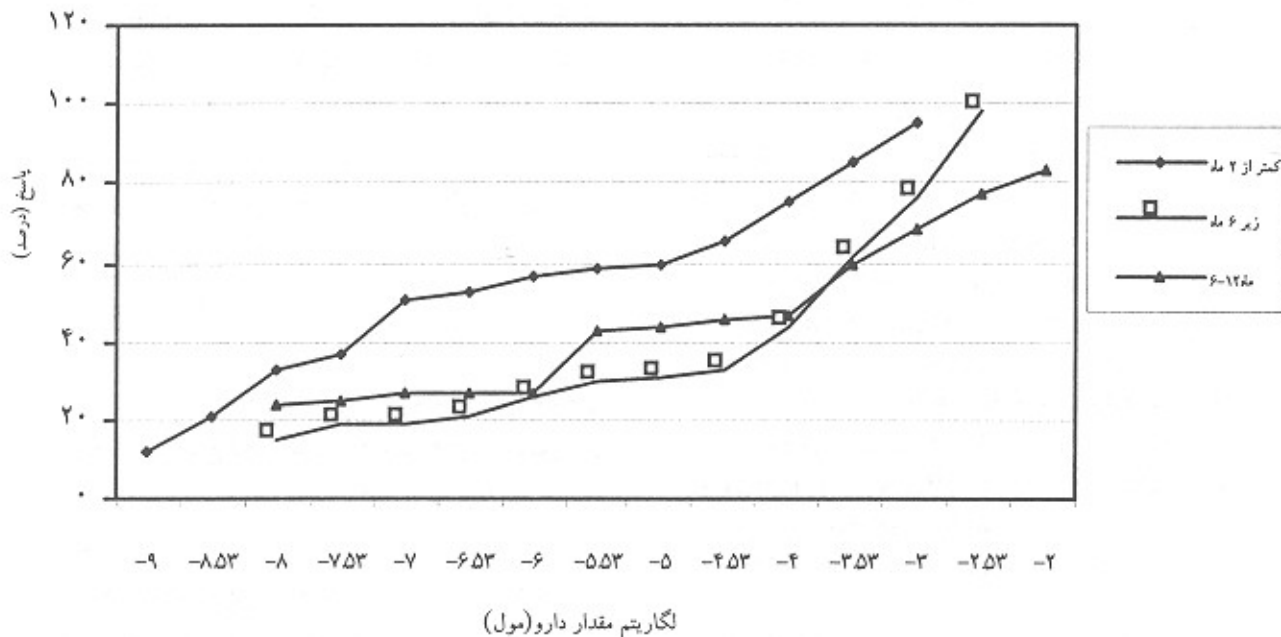
غنی از اکسیژن قرار داشت. حرکت های دهلیز از طریق میدل به دستگاه فیزیوگراف ساخت شرکت هاروارد مدل ۵۰-۹۳۰۷ منتقل می شد و فیزیوگراف در حالت ایزوتونیک نمودار مربوط به حرکات قلب را در تمام حالت ها ثبت می نمود. در هر مورد نیروی کشش نخ متصل به دهلیز با آویختن وزنه هایی به مقدار $0/5$ تا $1/25$ گرم تنظیم می شد. پس از سازگاری دهلیز، داروها با غلظت های تجمعی به محلول تیروید اطراف بافت اضافه و حرکت نسج ثبت می شد. در هر گروه پس از به دست آوردن پاسخ لازم، محلول تعویض و نسج به طور مجدد به انقباض های خودکار خود ادامه می داد. (۳)

پس از ثبت پاسخ دهلیز به داروها، طول دامنه انقباض ها یعنی شدت پاسخ اندازه گیری شد. بیشترین پاسخ برابر ۱۰۰ درصد تعیین و سایر پاسخ ها به غلظت های مختلف داروها به نسبت تعیین و در جداول مخصوص ثبت و نمودار «مقدار - پاسخ» رسم شد. به طوری که در محور افقی لگاریتم مقدار دارو (غلظت دارو در محلول) و در محور عمودی درصد پاسخ های به دست آمده یعنی میانگین پاسخ ها مشخص گردید. برای هر غلظت مشخص در هر گروه سنی، میانگین و انحراف استاندارد محاسبه و مختصات آن روی نمودارها تعیین شد. در نمودارهای مقایسه پاسخ دهی عضو گروه های سنی، داده ها با آزمون های آماری t و ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

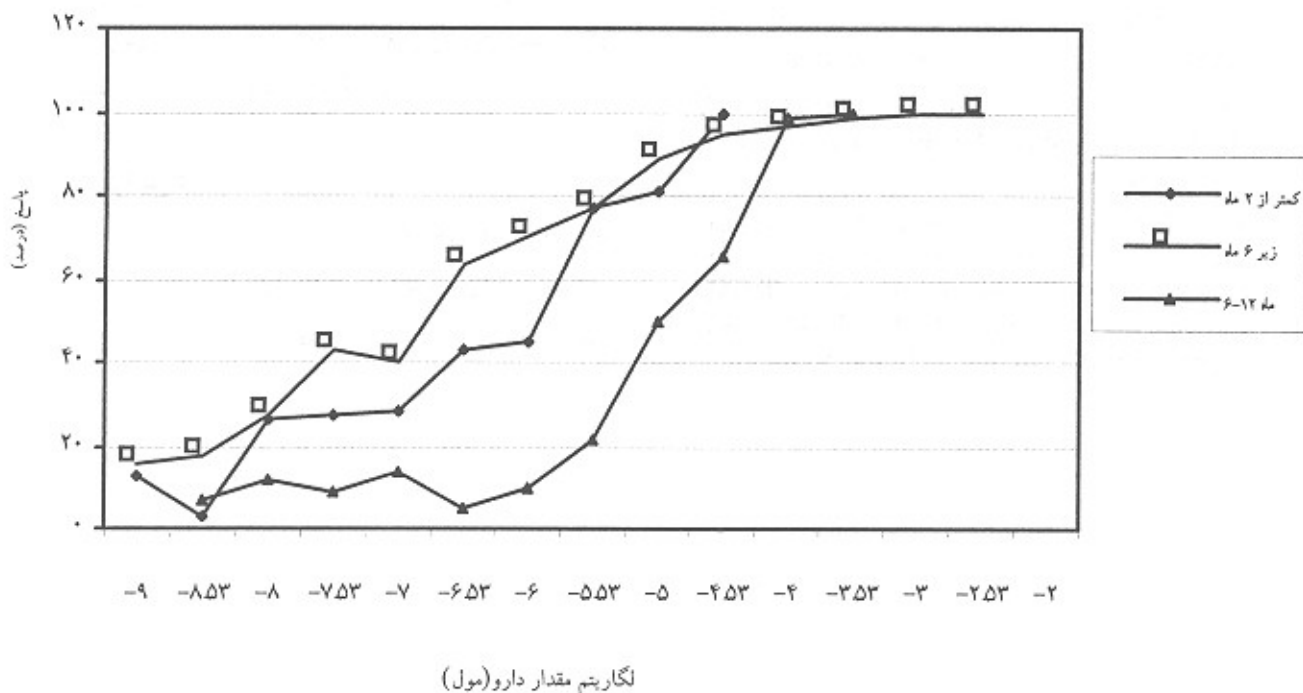
جدول ۱- مقایسه ED_{50} داروهای مختلف در دهلیز ایزوله قلب رت در گروه های سنی مختلف

دارو / گروه سنی	استیل کولین	استیل کولین + آتروپین	آتروپین	اپی نفرین	اپی نفرین + پروپرانولول	پروپرانولول
۱۰-۶۰ روز	$9/8 \times 10^{-8}$	$6/2 \times 10^{-7}$	$1/9 \times 10^{-6}$	$1/28 \times 10^{-6}$	$1/69 \times 10^{-7}$	$7/2 \times 10^{-9}$
۲-۶ ماه	$1/7 \times 10^{-7}$	$2/02 \times 10^{-7}$	$2/8 \times 10^{-6}$	$1/69 \times 10^{-7}$	$1/09 \times 10^{-6}$	$2/68 \times 10^{-6}$
۶-۱۲ ماه	$1/5 \times 10^{-7}$	$1/22 \times 10^{-7}$	$0/4 \times 10^{-6}$	$2/99 \times 10^{-6}$	$2/26 \times 10^{-5}$	$70/6 \times 10^{-6}$

نمودار ۱- منحنی میزان پاسخ دهی دهلیز جداشده قلب رت در گروه های سنی مختلف به استیل کولین



نمودار ۲- مقایسه پاسخ دهی دهلیز جداشده قلب رت در گروه های سنی مختلف به اپی نفرین



○ بحث و نتیجه گیری :

این مطالعه نشان داد که پاسخ دهی گیرنده های موسکارینی در عضله دهلیز جدا شده رت به صورت وابسته به سن کاهش می یابد.

مقایسه مقادیر ED₅₀ ایی نفرین در گروه های سنی مختلف نشان داد که پاسخ دهی گیرنده های آدرنرژیک در عضله دهلیز جدا شده رت به صورت وابسته به سن افزایش می یابد.

یافته ها حاکی از آن است که در گروه سنی اول (جوان ترین گروه)، سیستم پاراسمپاتیک دارای بیشترین حساسیت و پاسخ دهی است که با افزایش سن کم می شود و سیستم سمپاتیک دارای کمترین حساسیت است.

آنچه که می توان به روشنی بیان کرد این مسأله است که افزایش سن تغییرات مهمی در عملکرد اندام ها ایجاد می کند و شناخت علل فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک آن بر روش های درمانی و شناخت علل بیماری ها تأثیر بسیار مهمی دارد. در این تحقیق تغییر پاسخ دهی در دو سیستم در جهت عکس یکدیگر بود.

○ مراجع :

۱- مرتضوی سیدرضا ، دهپور احمدرضا. اثر سن روی پاسخ دهی سیستم کولینرژیک در ایلئوم خوکیچه هندی و عضله بطنی گردنی جوجه . پایان نامه دوره تخصصی

فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی

تهران، ۱۳۷۱، ۴۶ و ۹۵-۱۰۰

۲- مرتضوی سیدرضا ، درخشان فریبا. اثرات سن در پاسخ دهی سیستم کولینرژیک ایلئوم رت. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین، شماره

۱۲ ، زمستان ۷۸، ۳۵

3. Azizi F. Diabetes melitus in the Islamic Republic of Iran. *IDF Bull* 1996;41(4):38-9

4. Bertani T et al. Diagnosis and management of nephropathy in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1996 Jun ; 19 (1)

5. Chang KC, Peng YI, Tsai YF , Tseng YZ, Chen HI. Hypotensive effects of captopril on physical properties of the arterial system in young and adult rats. *Biogerontology* 2001 ; 2 (1): 45-54

6. Chowdhury TA. Pathogenesis of diabetic nephropathy. *Trends Endocrinol Metab* 1996; 7: 320 – 3

7. Goodman L, Hazmi MAF , Wary AS , Barimah NA et al. The prevalence of diabetes melitus and IGT in the population of AL-Baha, Saudia Arabia. *Saudi Med J* 1996;17(5):591-6

8. Webb Dy et al. The use of the micral test strip to identify the presence of microalbuminuria in people with IDDM participating in the EUCLID study. *Diabetes Res Clin Pract* 1996 Mar ; 31(1-3): 93-102