

چکیده:

زوال عقل (dementia) عبارتست از کاهش پیش رونده در توانایی‌های درکی و شناختی که ممکن است به علت بیماری یا صدمه به مغز ایجاد شود. علائم اولیه زوال عقل شامل تغییر در شخصیت، رفتار، تاثیر بر حافظه کوتاه مدت، قدرت فهم و تکلم می باشد. زوال عقل انواع مختلفی دارد که شایع‌ترین آن بیماری آلزایمر می باشد. در بیماری آلزایمر کاهش حافظه، رفتار غیر معمول، کاهش توانایی تفسیر و تغییر شخصیت دیده می شود. شیوع این بیماری بعد از سن ۶۵ سالگی ۱-۵ درصد و در سنین ۸۵-۱۰۰ سالگی بین ۲۰-۴۰ درصد است.

روش های درمانی مشخص و قطعی برای این بیماری وجود ندارد. با روش های مختلف می توان آنتی اکسیدان ها و مهار کننده های استیل کولین استراز که مهمترین آنها فیزوستیگمین می باشد و داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی که مانع از پیشگیری بیماری می شود را نام برد. مهم ترین عارضه بیماری آلزایمر کاهش حافظه است، یکی از فرآورده های مهمی که در طب سنتی ایران برای تقویت حافظه به کار می رود کندور می باشد که فرآورده اولئوگام رزینی گیاه *Boswellia cartei* است. در این تحقیق برای اولین بار به بررسی قدرت مهاری عصاره اتانولی اولئوگام رزین کندور بر روی آنزیم استیل کولین استراز بعنوان آنزیم کلیدی در بیماری آلزایمر در مقایسه با داروی فیزوستیگمین به عنوان مهار کننده شیمیایی پرداخته شد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که عملکرد عصاره کندور مانند فیزوستیگمین از طریق مهار رقابتی آنزیم استیل کولین استراز می باشد. همچنین مشخص شد که قدرت مهار کنندگی عصاره کندور ۸ برابر بیشتر از قدرت مهار کنندگی داروی فیزوستیگمین بر روی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز می باشد.

فهرست مطالب

صفحه عنوان

فصل - اول مقدمه و کلیات

- ۱- مقدمه ۲
- ۱-۱- استیل کولین ۲
- ۱-۱-۱- دستگاه عصبی و اعمال آن ۳
- ۱-۱-۲- رشته‌های آدرنرژیک (Adernergic) و کولینرژیک (Cholinergic) ۴
- ۱-۱-۳- ساختمان شیمیایی و بیوسنتز استیل کولین ۴
- ۱-۱-۴- آزادسازی استیل کولین ۷
- ۱-۱-۵- متابولیسم استیل کولین ۸
- ۱-۱-۶- انواع گیرنده‌های استیل کولین ۹
- ۱-۱-۷- اثرات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی استیل کولین در بدن ۱۰
- ۱-۲- آنزیم استیل کولین استراز ۱۱
- ۱-۲-۱- انواع استرازاها ۱۱
- ۱-۲-۲- کلیاتی در مورد انواع کولین استراز ۱۱
- ۱-۲-۳- ساختمان آنزیم کولین استراز و نقش آن در هیدرولیز استیل کولین ۱۴
- ۱-۳-۲-۱- جایگاه فعال آنزیم ۱۴
- ۱-۳-۲-۲- مکانیسم هیدرولیز استیل کولین توسط آنزیم ۱۴
- ۱-۳-۲-۴- تغییرات ژنتیکی آنزیم کولین استراز ۱۶
- ۱-۳-۲-۵- علل تغییرات سطح آنزیم کولین استراز ۱۷
- ۱-۳-۲-۵-۱- علل طبیعی ۱۷
- ۱-۳-۲-۵-۲- علل غیر طبیعی ۱۷
- ۱-۳-۳- ترکیبات مهار کننده آنزیم کولین استراز ۱۸
- ۱-۳-۳-۱- انواع آنتی کولین استرازاها برگشت پذیر ۱۸
- ۱-۳-۳-۱-۱- داروهای کوتاه اثر ۱۸
- ۱-۳-۳-۱-۲- داروهای متوسط الاثر ۱۸
- ۱-۳-۳-۱-۳- فیزوستیگمین (اسرین) ۲۰
- ۱-۳-۳-۲- انواع آنتی کولین استرازاها برگشت ناپذیر ۲۱
- ۱-۳-۳-۴- اثرات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی آنتی کولین استرازاها ۲۲

- ۲۳ ۵-۱- سینتیک مهار آنزیمی
- ۲۳ ۱-۵-۱- مهار کنندگی رقابتی
- ۲۵ ۲-۵-۱- مهار کنندگی غیر رقابتی
- ۲۶ ۳-۵-۱- مهار کنندگی ضد رقابتی
- ۲۷ ۴-۵-۱- مهار کنندگی مختلط خطی
- ۲۹ ۶-۱- آلزایمر
- ۳۱ ۷-۱- کندور (Frankincense)
- ۳۲ ۱-۷-۱- راسته سداب (Rutales)
- ۳۲ ۲-۷-۱- اختصاصات ریخت شناسی تیره کندور
- ۳۳ ۳-۷-۱- اختصاصات تشریحی تیره کندور
- ۳۳ ۸-۱- جنس بوسولیا
- ۳۳ ۱-۸-۱- مشخصات گیاه‌شناسی جنس بوسولیا
- ۳۴ ۹-۱- مشخصات گیاه مولد کندور
- ۳۴ ۱-۹-۱- ترکیب شیمیایی گام رزین کندر
- ۳۵ ۲-۹-۱- ترکیب شیمیایی گام (صمغ) کندور
- ۳۵ ۳-۹-۱- ترکیب شیمیایی رزین کندر
- ۳۶ ۴-۹-۱- جداسازی اسانس، گام و رزین کندور
- ۳۶ ۵-۹-۱- فرآورده‌های دارویی کندر
- ۳۶ ۱۰-۱- انواع عصاره‌های گیاهی
- ۳۶ ۱-۱۰-۱- عصاره‌های آبی
- ۳۷ ۲-۱۰-۱- دم کرده
- ۳۷ ۳-۱۰-۱- انفور
- ۳۷ ۴-۱۰-۱- خیسانده
- ۳۸ ۵-۱۰-۱- تنتورها
- ۳۸ ۶-۱۰-۱- عصاره‌های مایع
- ۳۸ ۷-۱۰-۱- عصاره‌های خشک
- ۳۹ ۱۱-۱- روش تهیه عصاره‌های گیاهی
- ۳۹ ۱-۱۱-۱- روش ماسراسیون

فصل دوم - مروری بر سایر مطالعات

- مطالعات داخل کشور..... ۴۱
- مطالعات خارج از کشور..... ۴۴

فصل سوم - مواد و روش اجرای تحقیق

- ۳-۱- مواد..... ۴۸
- ۲-۳ وسایل..... ۴۸
- ۳-۳ روش کار..... ۵۰
- ۱-۳-۳ نحوه اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز به روش المن..... ۵۰
- ۲-۳-۳ بررسی سینتیکی..... ۵۰
- ۳-۳-۳ تعیین میزان فعالیت آنزیم با استفاده از غلظت 0.5 mgr/ml آنزیم..... ۵۱
- ۴-۳-۳ تعیین K_m و v_{max} آنزیم با استفاده از غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ میلی مولار سوبسترا..... ۵۲
- ۵-۳-۳ بررسی تأثیر غلظتهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ml فیزوستگمین بر غلظت 20 mM سوبسترا..... ۵۴
- ۶-۳-۳ بررسی تأثیر غلظتهای ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر ۱۰۰ml فیزوستگمین بر غلظت 20 mM سوبسترا..... ۵۴
- ۷-۳-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظت $1 \frac{\text{mgr}}{100\text{ml}}$ فیزوستگمین روی غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا..... ۵۵
- ۸-۳-۳ بررسی و مقایسه میزان V_{max} و k_m سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار در حضور و عدم حضور فیزوستگمین $1 \frac{\text{mgr}}{100\text{ml}}$ ۵۶
- ۹-۳-۳ روش تهیه عصاره اتانولی کندر..... ۵۷
- ۱۰-۳-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظتهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر کندر بر روی سوبسترای ۲۰ میلی مولار..... ۵۹
- ۱۱-۳-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظتهای ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر ml کندر با غلظت 20 mM سوبسترا..... ۶۰
- ۱۲-۳-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظتهای $1 \frac{\text{mgr}}{100\text{ml}}$ ، $1 \frac{\text{mgr}}{10\text{ml}}$ ، $1 \frac{\text{mgr}}{\text{ml}}$ کندر بر روی سوبسترای 20 mM ۶۱
- ۱۳-۳-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظتهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ml کندر روی سوبسترا 20 mM ۶۱

- ۳-۳-۱۴ بررسی تأثیر مهارکنندگی غلظتهای ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵ و ۰/۴ میلی گرم بر ۱۰۰ml کندر روی سوبسترای ۲۰mM ۶۲
- ۳-۳-۱۵ تعیین V_{max} و K_m آنزیم با استفاده از سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار در حضور و عدم حضور غلظت $\frac{mgr}{100ml}$ ۰/۲ کندر ۶۳
- ۳-۳-۱۶ مقایسه V_{max} و K_m آنزیم در حضور سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار با حضور فیزوستگمین $\frac{mgr}{100ml}$ ۱ و نیز کندر $\frac{mgr}{100ml}$ ۰/۲ و عدم حضور مهار کننده ها ۶۴
- ۳-۴ کروماتوگرافی ۶۵
- ۳-۴-۱ کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) ۶۵
- ۳-۴-۲ TLC عصاره کندر ۶۶

فصل چهارم - نتایج و یافته‌ها

- ۴-۱ V_{max} و K_m آنزیم با استفاده از غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا ۷۰
- ۴-۲ بررسی تأثیر مهارکنندگی غلظتهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم بر ۱۰۰ml فیزوستگمین با غلظت ۲۰mM سوبسترا ۷۱
- ۴-۳ بررسی تأثیر مهار کنندگی غلظت $\frac{mg}{100ml}$ ۱ فیزوستگمین روی غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا ۷۳
- ۴-۴ مقایسه V_{max} و K_m سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا در حضور و عدم حضور فیزوستگمین $\frac{mg}{100ml}$ ۱ ۷۵
- ۴-۵ تأثیر مهار کنندگی غلظتهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر کندر روی سوبسترای ۲۰ میلی مولار ۷۷
- ۴-۶ تأثیر مهار کنندگی غلظتهای ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر کندر روی سوبسترای ۲۰mM ۷۸
- ۴-۷ غلظتهای $\frac{mg}{100ml}$ ۱، $\frac{mg}{10ml}$ ۱ و $\frac{mg}{1ml}$ ۱ کندر بر روی سوبسترای ۲۰ میلی مولار ۷۸
- ۴-۸ تأثیر مهارکنندگی غلظتهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر کندر روی سوبسترای ۲۰ میلی مولار ۷۹
- ۴-۹ تأثیر مهارکنندگی غلظتهای ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵ و ۰/۴ میلی گرم بر ۱۰۰ml کندر روی سوبسترای ۲۰ میلی مولار ۸۰

- ۴-۱۰ V_{max} و K_m آنزیم با سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا در حضور و عدم حضور غلظت $\frac{mg}{100ml}$ ۰/۲ کندر ۸۲
- ۴-۱۱ مقایسه V_{max} و K_m آنزیم با سوبستراهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی مولار سوبسترا در حضور فیزوستگمین $\frac{mg}{100ml}$ ۱ و در حضور کندر $\frac{gr}{100ml}$ ۰/۲ و بدون مهارکننده ها ۸۴
- ۴-۱۲ بررسی تطبیقی الگوی کروماتوگرام عصاره کندر ۸۶

فصل پنجم - بحث و نتیجه گیری

- بحث و نتیجه گیری ۸۸
- پیشنهادات ۹۳
- منابع ۹۴

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱: ساختمان شیمیایی استیل کولین و کولین ۳
- شکل ۲-۱ واکنش تشکیل استیل کولین ۵
- شکل ۳-۱ شمایی از تشکیل استیل کولین با ترکیب شدن کولین و استات ۵
- شکل ۴-۱ نمای سه بعدی از آنزیم استیل کولین استراز ۶
- شکل ۵-۱ نمای سه بعدی از مولکول کوچک استیل کولین و مولکول بزرگ استیل کولین استراز ۶
- شکل ۶-۱ شمایی از چگونگی سنتز و آزادسازی استیل کولین در انتهای عصب ۸
- شکل ۷-۱ مکانیسم هیدرولیز استیل کولین توسط استیل کولین استراز ۱۵
- شکل ۸-۱ شمایی سه بعدی هیدرولیز استیل کولین ۱۶
- شکل ۹-۱ مهارکننده‌های کولین استراز ۱۹
- شکل ۱۰-۱ ساختمان چند مهار کننده ارگانو فسفات‌های کولین استراز ۱۹
- شکل ۱۱-۱ ساختمان شیمیایی فیزوستیگمین ۲۰
- شکل ۱۲-۱ گیاه کندر ۳۱
- شکل ۳-۱ PH متر (HANNA PH211) ۴۹
- شکل ۳-۲ دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instrument) ۴۹
- شکل ۳-۳ شمایی از داخل دستگاه اسپکتروفتومتر ۵۰
- شکل ۴-۳ تهیه عصاره اتانولی کندر ۵۷
- شکل ۵-۳ صاف نمودن کندر ۵۸
- شکل ۶-۳ پلیت حاوی عصاره کندر ۵۸
- شکل ۷-۳ عصاره کندر ۵۹
- شکل ۸-۳ بسته بندی و نگه داری عصاره گیاه ۵۹
- شکل ۱-۴ بررسی تطبیقی الگوی کروماتوگرام عصاره اتانولی گام رزین کندر ۸۶

فهرست نمودارها

- نمودار ۱-۱ نمودار لاینویور-برک در حضور غلظت‌های مختلف مهار کننده رقابتی ۲۴
- نمودار ۲-۱ نمودارهای مجدد براساس داده‌های نمودار معکوس، (a) شیب برحسب [I] و (b) ۲۴
- نمودار ۳-۱ نمودار معکوس در حضور غلظت‌های مختلف مهار کننده غیررقابتی ۲۶
- نمودار ۴-۱ نمودار لاینویور-برک در حضور غلظت‌های مختلف مهار کننده ضد رقابتی ۲۷
- نمودار ۵-۱ نمودار معکوس در غلظت‌های مختلف از یک مهار کننده مختلط خطی (a) ۲۹
- نمودار ۶-۱ جایگاه جنس بوسولیا در طبقه بندی گیاهی ۳۰
- نمودار ۱-۴ محاسبه میزان V_{max} و K_m آنزیم استیل کولین استراز بدون حضور مهارکننده ۷۰
- نمودار ۲-۴ درصد فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در حضور غلظت‌های
 $1.50\text{mgr}/100\text{ml}$, $1.00\text{mgr}/100\text{ml}$, $0.75\text{mgr}/100\text{ml}$, $0.50\text{mgr}/100\text{ml}$, $0.25\text{mgr}/100\text{ml}$
 - ۷۲
- فیزوستیگمین براساس نمودار درصد فعالیت ۷۲
- نمودار ۳-۴ محاسبه میزان V_{max} و K_m آنزیم استیل کولین استراز در حضور غلظت $1\text{mgr}/100\text{ml}$
 فیزوستیگمین (منحنی لینور برگ) ۷۴
- نمودار ۴-۴ محاسبه میزان V_{max} و K_m آنزیم استیل کولین استراز در غیاب مهارکننده (N) و در
 حضور غلظت $1\text{mgr}/100\text{ml}$ فیزوستیگمین (P) (منحنی لینور برگ) ۷۶
- نمودار ۵-۴ درصد فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در حضور غلظت های $0.1\text{mgr}/100\text{ml}$,
 $0.35\text{mgr}/100\text{ml}$ ، $0.30\text{mgr}/100\text{ml}$ ، $0.25\text{mgr}/100\text{ml}$ ، $0.20\text{mgr}/100\text{ml}$ ، $0.15\text{mgr}/100\text{ml}$
 $0.40\text{mgr}/100\text{ml}$ ، کندر بر اساس نمودار درصد فعالیت ۸۱
- نمودار ۶-۴ محاسبه ی میزان V_{max} و K_m آنزیم استیل کولین استراز در غیاب مهار کننده (N) و در
 حضور غلظت $0.2\text{mgr}/100\text{ml}$ کندر (B) (منحنی لینور برگ) ۸۳
- نمودار ۷-۴ محاسبه ی میزان V_{max} و K_m آنزیم استیل کولین استراز در غیاب مهار کننده (N) و در
 حضور غلظت $0.2\text{mgr}/100\text{ml}$ کندر (B) و در حضور غلظت $1.00\text{mgr}/100\text{ml}$ فیزوستیگمین (P)
 (منحنی لینور برگ) ۸۵

فهرست جداول

- جدول ۱-۱ مشخصات گیاه شناسی جنس بوسولیا ۳۳
- جدول ۲-۱ مشخصات تری ترین ها و دی ترین های عمده جدا شده از رزین کندور ۳۵
- جدول ۱-۳ تعیین میزان فعالیت آنزیم با استفاده از غلظت $\frac{mgr}{ml}$ ۰/۵ آنزیم ۵۱
- جدول ۱-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{S}$ برای هریک از غلظتهای سوبسترا ۶۹
- جدول ۲-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{I}$ و درصد فعالیت آنزیم در غلظت های مختلف فیزوستیگمین ۷۱
- جدول ۳-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{S}$ هر یک از غلظتهای سوبسترا در حضور غلظت $\frac{1}{100ml}$ mg فیزوستیگمین ۷۳
- جدول ۴-۴ مقادیر $\frac{1}{S}$ ، $\frac{1}{V}$ در حضور و عدم حضور فیزوستیگمین $\frac{1}{100ml}$ mg ۷۵
- جدول ۵-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{I}$ ، ACT% در حضور غلظت های ۰/، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر کندر ۷۷
- جدول ۶-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{I}$ ، ACT% در حضور غلظت های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر کندر ۷۸
- جدول ۷-۴ مقادیر V آنزیم در حضور $\frac{1}{100ml}$ mg ، $\frac{1}{10ml}$ mg و $\frac{1}{1ml}$ mg کندر ۷۸
- جدول ۸-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{I}$ ، ACT% غلظتهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر کندر ۷۹
- جدول ۹-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{I}$ ، ACT% ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵ و ۰/۴ میلی گرم بر ۱۰۰ ml ۸۰
- جدول ۱۰-۴ مقادیر $\frac{1}{S}$ ، $\frac{1}{V}$ غلظتهای مختلف سوبسترا در حضور و عدم حضور غلظت $\frac{1}{100ml}$ mg ۰/۲ ۸۲
- جدول ۱۱-۴ مقادیر V ، $\frac{1}{V}$ ، $\frac{1}{S}$ سوبستراها در حضور فیزوستیگمین $\frac{1}{100ml}$ mg و در حضور کندر ۸۲
- جدول ۱۲-۴ بدون مهارکننده ها ۸۴ $\frac{gr}{100ml}$ ۰/۲

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه:

آنزیم استیل کولین استراز (AChE, EC 3,1.1.7) اولین بار در سال ۱۹۳۸ توسط David Nachmanson کشف و از بافت الکتریکی Torpedo marmorate استخراج گردید. اولین خالص‌سازی کامل آنزیم توسط لوزینگر (Leuzinger) در سال ۱۹۶۷ از بافت الکتریکی eel (Electrophorus Electricus) انجام گرفت. (۱) کولین استرازها دسته کلی B استرازها می‌باشند که بدو صورت کولین استراز سرمی (ChE) و کولین استراز موجود در غشاء RBC و نیز در سلولهای عصبی در قسمت سیناپس‌ها وجود دارد. آنزیم‌های مختلف از جمله B استرازها توسط ترکیبات ارگانوفسفره و گروهی از داروها مهار می‌شوند. استیل کولین استراز یک آنزیم ضروری در سیستم اعصاب می‌باشد که باعث هیدرولیز سریع میانجی استیل کولین می‌شود و در مغز پستانداران وجود دارد و بیش از ۸۰ درصد آن بصورت محلول دترجنت می‌باشد.

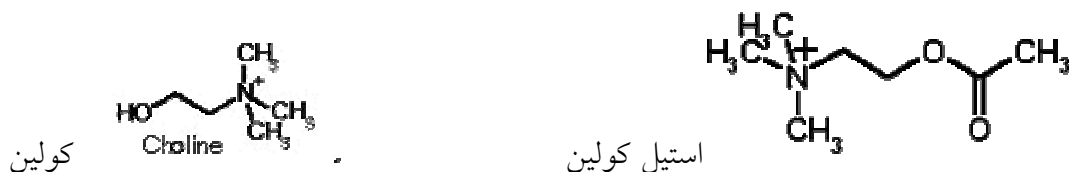
استیل کولین استراز از نظر فیزیولوژی و مکانیسم عملکرد دارای اهمیت است. می‌تواند به عنوان شاخص برای مطالعه فرآیند سیناپتوزن و میان کنش عصبی-عضلانی مورد بررسی قرار می‌گیرد. استیل کولین استراز عصبی و عضلانی از تعدادی آنزیم‌های هم خانواده تشکیل شده است که بصورت مونومر، دی مروترامر و کمپلکس‌های غیر متقارن می‌باشند که شبیه مولکول کلاژن کمپلکسی از ساختمانهای دیگر را نیز تشکیل داده‌اند (۲). اغلب اطلاعات در مورد استیل کولین استرازهای بدست آمده از مارماهی الکتریکی و یا موش و خرگوش و مرغ در دست است. استیل کولین استرازهای عصبی و عضلانی به دو صورت متصل به غشاء و آزاد وجود دارند (۳). عمل استیل کولین استراز که باعث تجزیه استیل کولین در مواضع سیناپسی می‌گردد توسط داروهای آنتی‌کولینرژیک مهار می‌شود.

کلیات:

۱-۱- استیل کولین:

استیل کولین، استری با اهمیت فیزیولوژیک بسیار مهم است که برای اولین بار در سال ۱۸۶۷ توسط Bayer سنتز شد (۴). عمل فارما کولوژیک آن نیز در سال ۱۹۰۶ توسط Reid Hunt و Taveav کشف گردید. با کشف استیل کولین بسیاری از دانشمندان فارماکولوژیست و فیزیولوژیست بیان داشتند که این ترکیب یک میانجی عصبی است که عمل آن برای ایجاد جریان الکتریکی که موج عصبی را از عصب به فیبرهای عضلانی منتقل می‌کند ضروری است (۵).

استیل کولین نقش بسیار مهمی را به عنوان یک ماده هدایت کننده جریان عصبی در اعصاب کنترل کننده عضلات منخطط و صاف (عضلات صاف عروق و احشایی) عضله قلب و غده‌ها بازی می‌کند. استیل کولین استراسید استیک و کولین می‌باشد. ساختمان شیمیایی استیل کولین در زیر نشان داده شده است (۶).



شکل ۱-۱: ساختمان شیمیایی استیل کولین و کولین

زمانی که یک پتانسیل عمل به انتهای عصب حرکتی می‌رسد همزمان تعداد ۱۰۰ عدد یا بیشتر از بسته‌های یاد شده (وزیکول‌های) Ach (Katz and Miledi 1965) آزاد می‌شوند و در اصل دیپلاریزاسیون انتهایی منجر به جریان یافتن یون کلسیم از میان دریچه ولتاژی می‌شوند و این جریان از بسیاری جهات سبب اتصال آکسونی و غشای وزیکولی در ناحیه مورد بحث و باز شدن وزیکول‌ها می‌گردد.

تقریباً تعداد مولکولهای استیل کولین در وزیکول‌های سیناپسی ۵۰۰۰۰-۱۰۰۰ عدد و تعداد وزیکول‌های موجود در یک انتهای عصب حرکتی، ۳۰۰۰۰۰ یا بیشتر تخمین زده شده است. استیل کولین برای ایجاد جریان عصبی نفوذپذیری رشته‌های عصبی را به یون سدیم تغییر می‌دهد، بدین ترتیب پتانسیل الکتروشیمیایی لازم برای ایجاد جریان فراهم می‌شود.

۱-۱-۱ دستگاه عصبی و اعمال آن:

دستگاه عصبی انسان شامل دو بخش عمده (۱) سیستم عصبی مرکزی (Central Nervous System) شامل مغز، نخاع و شامل اعصاب حسی است که پیام‌های عصبی را از مرکز به محیط و بالعکس منتقل می‌کند. سیستم و ابران محیطی (Peripheral efferent System) نیز شامل دو بخش: ۱- اتونوم یا خودمختار و ۲- سوماتیک می‌باشد. سلول‌هایی که از سیستم عصبی سوماتیک عصب می‌گیرند تحت عنوان سلول‌های اسکلتی-عضلانی نامیده می‌شوند، سیستم عصبی اتونوم نیز بر سه نوع سلول مختلف از جمله (۱) ماهیچه‌های صاف (۲) ماهیچه قلب و (۳) غدد برون ریز، عصب می‌دهد. بطور کل

عمل سیستم عصبی اتونوم، نگهداری ثبات محیط داخل بدن می‌باشد و از جمله آنها تنظیم سیستم قلبی و عروقی، گوارشی و هضم، تنظیم حرارت بدن، متابولیسم و تنظیم ترشح غدد برون ریز می‌باشد. دستگاه عصبی خودمختار شامل رشته‌های آدرنرژیک و کولینرژیک است که با هم ثبات محیط داخلی بدن را تامین می‌کنند و استیل کولین ماده میانجی سیناپسهای کولینرژیک می‌باشد.

۱-۱-۲ رشته‌های آدرنرژیک (Adernergic) و کولینرژیک (Cholinergic):

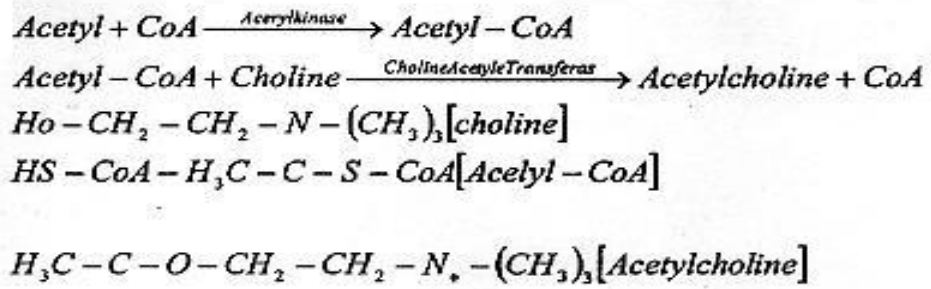
دیل (Dil) و فلدربرگ (Feldberg) در سال ۱۹۳۴ در مورد عصب‌رسانی غده‌های عرق تحقیقاتی انجام دادند. دیل بیان نمود که: آن دسته از رشته‌های عصبی که اپی‌نفرین (آدرنالین) از خود ترشح می‌کنند رشته‌های آدرنرژیک (Adernergic) و آن دسته از رشته‌های عصبی که استیل کولین ترشح می‌کنند رشته‌های کولینرژیک (Cholinergic) نامید.

گیرنده‌های عصبی را که در نرون‌های پس ارتباطی با غشاهای اندام‌های موثر قرار گرفته، گیرنده‌های کولینرژیک می‌نامند. داروهایی که اثرشان شبیه به استیل کولین بوده و نیز روی این گیرنده‌های عصبی اثر می‌کند بنام داروهای کولی‌نرژیک (مواد کولی‌نرژیک) و داروهایی که باعث وقفه گیرنده‌های عصبی فوق می‌شوند یا در تهیه، تخلیه و از بین بردن استیل کولین بکار می‌روند مواد آنتی‌کولی‌نرژیک نامیده می‌شود. داروهای مهار کننده برای رشته‌ها یا گیرنده‌های آدرنرژیک را بنام مواد آنتی‌آدرنرژیک (Anti Adernergic) می‌گویند (V).

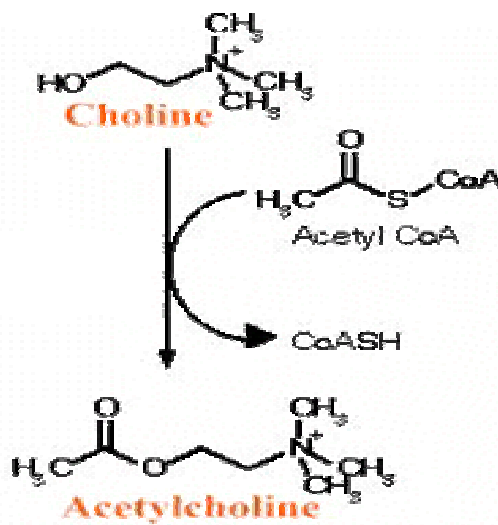
۱-۱-۳ ساختمان شیمیایی و بیوسنتز استیل کولین:

همانطوری که گفته شد استیل کولین استراسید استیک و کولین می‌باشد. کولین به طور طبیعی، یکی از اجزای تشکیل دهنده بافت‌های بیولوژیکی بوده و به همین دلیل است که حیوانات به جیره غذایی محتوی کولین نیازمندند. (نام شیمیایی کولین (ch)، بتاهیدروکسی اتیل‌تری‌متیل‌آمونیم هیدروکساید می‌باشد).

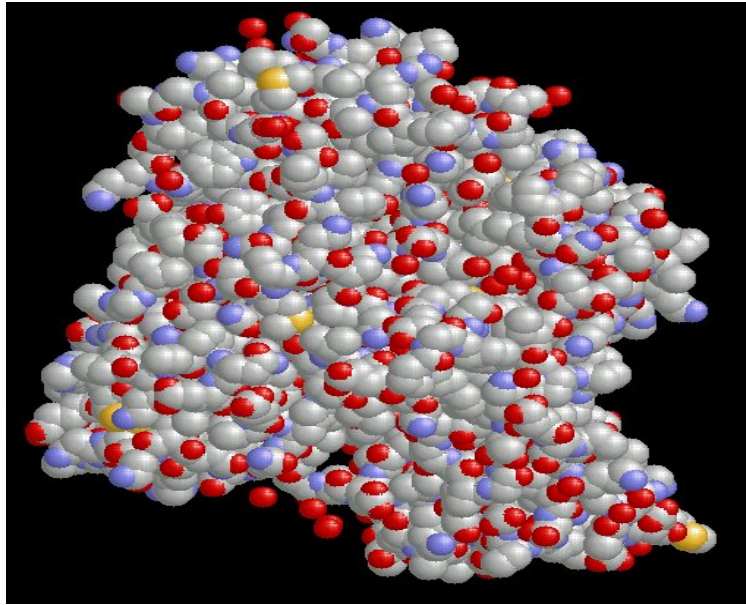
لازم به ذکر است Ach استیل کولین در پلاسما از ترکیب دو ماده، استیل کوآنزیم A و کولین، ساخته می‌شود. کولین از مایع خارج سلولی توسط حامل‌های وابسته به سدیم به داخل سلول‌های عصبی منتقل می‌شود و گروه استیل مورد نیاز هم توسط استیل موجود در ساختمان استیل کوآنزیم A که در میتوکندری‌ها سنتز و به مقدار زیاد در انتهای سلول‌های عصبی موجود می‌باشد تامین می‌گردد. کولین با استیل کوآنزیم A ترکیب شده و نهایتاً کولین استریفیه و استیل کولین تولید می‌شود در این واکنش آنزیم کولین استیل ترانسفراز (کولین استیلاز) دخالت دارد و وجود یون سدیم در این روند ضروری است.



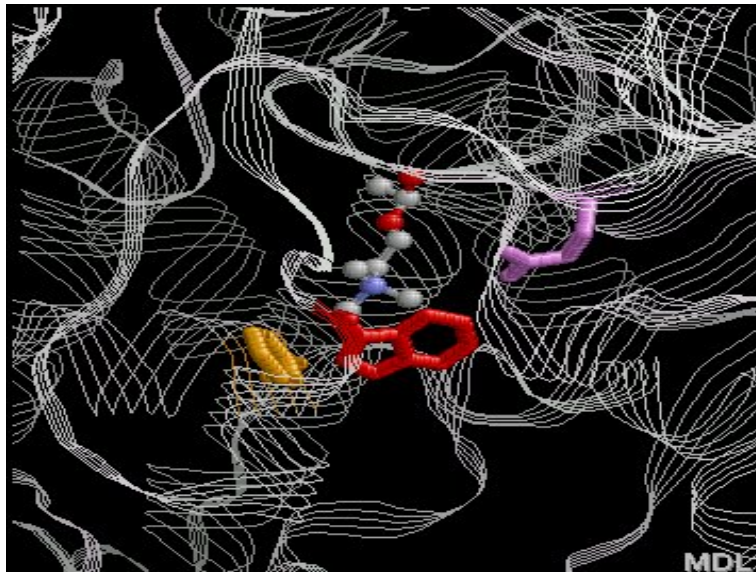
شکل ۲-۱ واکنش تشکیل استیل کولین



شکل ۳-۱ شمایی از تشکیل استیل کولین با ترکیب شدن کولین و استات



شکل ۱-۴ نمای سه بعدی از آنزیم استیل کولین استراز



شکل ۱-۵ نمای سه بعدی از مولکول کوچک استیل کولین و مولکول بزرگ استیل کولین استراز

به دلیل اینکه Ach در انتهای رشته‌های کولینرژیک ساخته می‌شود (در آگزوپلاسم، خارج از وزیکول‌ها) آنزیم کولین استیلاز در جسم سلولی نرون تشکیل می‌شود و از طریق آکسون به سمت قسمت انتهایی سلول عصبی حرکت می‌کند.

وقتی غشاء آکسون یک سیناپس کولینرژیک دپلاریزه می‌شود کانالهای کلسیم Ca^{2+} دریچه‌دار وابسته به ولتاژ به وسیله یک فرآیند مشابه با باز شدن کانالهای Na^+ دریچه‌دار وابسته به ولتاژ باز می‌شود.

۱-۱-۴ آزادسازی استیل کولین:

آزاد سازی Ach دارای مراحل متعددی می‌باشد که در زیر به آنها اشاره می‌گردد:

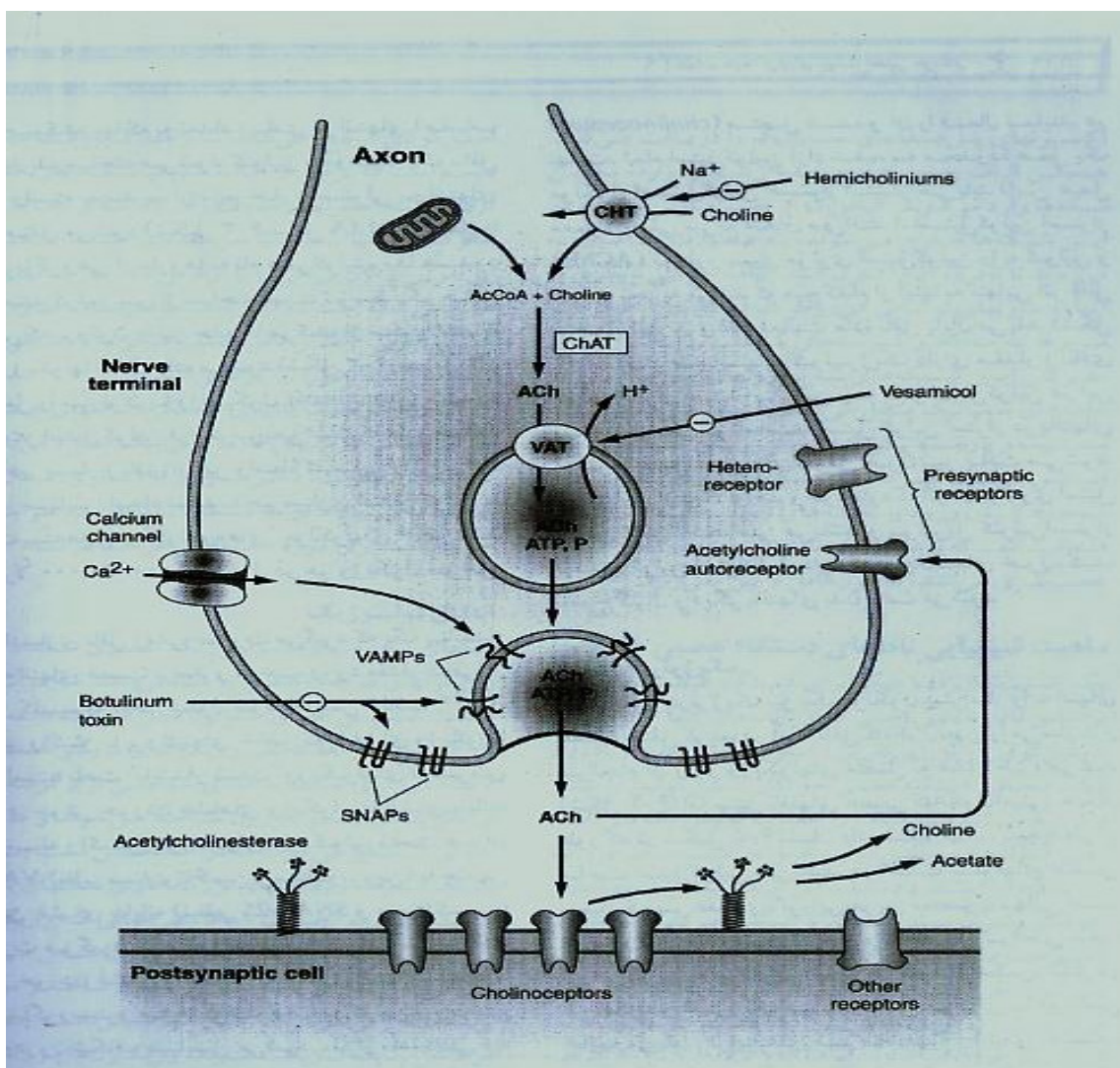
(۱) در بخش انتهایی نرون‌های کولینرژیک، تعداد زیادی وزیکول‌های کوچک که توسط دستگاه گلژی در جسم سلولی نرون‌ها ساخته شده است به وسیله جریان آگروپلاسم به بخش انتهایی نرون منتقل می‌شود.

(۲) در سیتوپلاسم فیبرهای عصبی انتهایی تولید می‌شود و سپس از طریق غشای وزیکول‌ها به داخل آنها انتقال می‌یابد و در آنجا به صورت متراکم (۵۰۰۰۰-۱۰۰۰۰) مولکول در هر وزیکول ذخیره می‌شود.

(۳) به محض رسیدن یک پتانسیل عمل انتهایی عصب، کانالهای کلسیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ که در محل وجود دارند باز می‌شوند و سبب انتشار یون Ca^{2+} به ناحیه انتهای عصب می‌گردند. یون‌های Ca^{2+} هم به نوبه خود یک اثر جاذبه روی وزیکول‌ها حاوی Ach اعمال می‌نمایند. آنها را به سوی غشای عصبی می‌کشند. پاره‌ای از وزیکول‌ها با غشای عصبی جوش می‌خورند استیل کولین را توسط روند آگروسیتوز به داخل شکاف سیناپسی آزاد می‌نمایند همراه آزادسازی Ach تعدادی از مولکول‌ها (مانند پپتیدها) به عنوان کوترانسمیتر از وزیکول‌ها آزاد می‌شوند. محرک آزاد شدن Ach از وزیکول‌ها یونهای Ca^{2+} است. با هر پتانسیل عمل تعداد ۲۰۰-۳۰۰ وزیکول پاره می‌شود.

(۴) پس از آزاد شدن Ach از وزیکول‌ها، غشای آن به صورت بخشی از غشاء سلول در می‌آید. پس از آزاد شدن Ach در فضای سیناپسی، در حدود ۷۵۰۰-۱۲۰ آنگستروم مسیر را طی می‌کند تا با گیرنده‌های عصبی خود تماس برقرار نمایند.

(۵) نهایتاً پس از اینکه Ach به عنوان یک نوروترانسمیتر وظیفه خود را اعمال کرد، آنزیم استیل کولین استراز (AChE)، سبب هیدرولیز Ach موجود در فضای سیناپسی شده و به عملکرد تحریکی Ach خاتمه می‌دهد (۸).



شکل ۱-۶: شمایی از چگونگی سنتز و آزادسازی استیل کولین در انتهای عصب

۱-۱-۵ متابولیسم استیل کولین:

به طور تقریبی در حدود ۱۵ میکروثانیه طول می کشد تا یک مولکول ACh توسط آنزیم هیدرولیز شود. مقدار $1/6 \times 10^9$ مولکول استیل کولین در هر هزارم ثانیه هیدرولیز می گردد. در حدود $2/4 \times 10^7$ مرکز فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در محل ارتباط عصبی - عضلانی وجود دارد که فقط ۲۰-۲۵ درصد این مرکز برای هر مرتبه ضروری است.

کولین و استات ناشی از تجزیه وارد سلول عصبی پیش سیناپسی شده و مسیر تولید مجدد استیل کولین را طی خواهد کرد (۹).

۱-۱-۶ انواع گیرنده‌های استیل کولین:

نوروترانسمیتر آزاد شده Ach، گیرنده‌های کولینرژیک را در سطح تحریک کرده و سبب بروز پاسخ عصبی می‌شود. بدیهی است برای اینکه یک ماده میانجی موثر باشد، باید نرون سیناپسی نسبت به آن ماده پذیرش شیمیایی داشته باشد و پذیرش شیمیایی برحضور گیرنده‌های ویژه ماده میانجی، در غشای نرون پس سیناپسی متکی است.

گیرنده‌های کولینرژیک، براساس واکنش‌ها و تداخلات فارماکولوژیکی به دو دسته نیکوتینی و موسکارینی تقسیم شده‌اند. در اصل، این تقسیم‌بندی براساس پاسخ این گیرنده‌ها به آکالوئیدهای گیاهی مختلف صورت گرفته است.

با شناخت ژنهای مختلفی که گیرنده‌های عصبی را کد می‌کنند و با عمل کدبرداری به روش *in vitro* از DNA مشخص گردید که گیرنده‌هایی که بدین ترتیب تشکیل می‌شوند، دارای عملکرد مختلفی می‌باشند و در نتیجه سطح سوم طبق‌بندی گیرنده‌های عصبی آشکار شد.

گیرنده‌ها موسکارینی، متصل به G پروتئین هستند و تنها وجه اشتراکی که با گیرنده‌های نیکوتینی دارند، آن است که دو به Ach پاسخ می‌دهند و غیر از این، هیچ گونه ارتباط دیگری بین آنها وجود ندارد.

گیرنده‌های نیکوتینی، وابسته به ولتاژند. بدین معنی که ولتاژ، هم می‌تواند مدت زمان باز بودن کانال و هم احتمال باز شدن در حضور یک آگونیست را تغییر دهد. ادامه یافتن تماس آگونیست با گیرنده نیکوتینی، به رغم عدم تغییر غلظت آگونیست، منجر به کاهش پاسخ گیرنده نسبت به آن می‌شود. این عدم پاسخ دهی به *desensitization* معروف است.

گیرنده‌های نیکوتینی در عضله شامل ۴ زیر واحد است که دارای توالی آمینواسیدی مشابهی هستند و گیرنده شامل یک پپتامر است که حول، محور فرضی تقارن، مرتب شده‌اند و یک حفره مرکزی را می‌سازند که در اصل یک کانال یونی می‌باشد (۱۰). گیرنده‌های نیکوتینی در محل اتصال عصب و عضله صاف قلب و در سیستم ترشحی برون ریز وجود داشته و به دو رشته N_M (در محل اتصال عصب-عضله) و N_G (گانگلیونهای سیستم عصبی) دیده می‌شوند.

از انواع گیرنده موسکارینی می‌توان به عناوین زیر اشاره کرد: گیرنده‌های M_1 که به طور انتخابی Pirenzepione مسدود می‌شوند و دارای یک زیر گروه $M_1(M_{1a})$ در هیپوکامپ و دیگری (M_{1b}) در غده‌های خودکار می‌باشد. قلب حاوی گیرنده‌های $M_2(M_{2a})$ است ولی گیرنده‌های $M_3(M_{2b})$ در

عضلات صاف، غدد برون ریز و ناحیه پیش سیناپسی نورون‌های کولینرژیک جای دارند. گیرنده‌های موسکارینی در CNS شامل M₄ و M₅ می‌باشد.

۱-۱-۷ اثرات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی استیل کولین در بدن:

استیل کولین، منشا اثراتی به شرح زیر، در نقاط مختلف بدن است:

(۱) دستگاه گردش خود: Ach در عروق کوچک با آزاد کردن (Endothelium-derived EDRF relaxing factor) سبب اتساع شریانها و شریانه‌ها و کاهش فشار خون و مقاومت محیطی می‌شوند، ولی اثری بر وریدها و عروق بزرگ ندارد. برادیکاری ناشی از دوزهای بالای Ach به سبب کاهش سرعت انتقال گره AV می‌باشد. به دلیل عصب‌گیری کمتری پاراسمپاتیک در بطنها نسبت به دهلیزها، تحریک گیرنده‌های موسکارینی در دهلیز، سبب کاهش قدرت انقباضی (اینوتروپ منفی) و کاهش دوره تحریک ناپذیری (Refractory period) می‌شود.

(۲) عضلات صاف: Ach به جز عضلات صاف عروق، در بقیه عضلات مانند گوارش و مثانه، سبب انقباض می‌گردد.

(۳) در چشم Ach با انقباض عضلات صاف عنبیه، منجر به تنگ شدن مردمک (میوزیس) و با انقباض عضلات مژگانی سبب عمل تطابق، جهت دید نزدیک می‌گردد.

(۴) اثر Ach بر غدد ترشحاتی (اشکی - بزاقی - بینی و عرق) به صورت افزایش ترشح ظاهر می‌شود.
(۵) همچنین در سیستم تنفسی، انقباض عضلات صاف برونش و افزایش ترشحات مخاطی از اثرات تحریکی Ach می‌باشد.

(۶) در دستگاه گوارش مصرف آگونیست‌های گیرنده موسکارینی، موجب افزایش حرکات پرستالتیک مجاری گوارشی و همچنین افزایش ترشح غدد بزاقی، معدی و روده‌ای می‌شود و دریچه‌های موجود در این مجاری از حالت انقباض خارج می‌شوند.

(۷) تحریک گیرنده‌های موسکارینی توسط Ach سبب انقباض عضله ترسور و انبساط عضلات تریگون و دریچه‌ای مثانه می‌شود. به دنبال آن افزایش دفع ادرار ظاهر خواهد شد.

(۸) سیستم اعصاب مرکزی: تعداد گیرنده‌های موسکارینی در مغز و تعداد گیرنده‌های نیکوتینی در نخاع بیشتر است و از آثار تحریک گیرنده‌های نیکوتینی، در ساقه مغز و کورتکس افزایش هوشیاری فرد است. ولی با افزایش میزان مصرف نیکوتین، عوارضی مانند لرزش، تهوع و تحریک مرکز تنفسی بروز خواهد کرد.

(۹) سیستم اعصاب محیطی: گانگلیون‌های سیستم اتونوم مهمترین جایگاه اثرات نیکوتینی هستند. تمام محرکهای گیرنده‌های نیکوتینی سبب تحریک این گیرنده‌ها و ایجاد پتانسیل عمل در نرونها پس

گانگلیونی می‌شود. این تحریک موجب فعالیت همزمان نرون‌های سمپاتیک و پاراسمپاتیک بعد از گانگلیون خواهد شد.

۱۰) محل اتصال عصب عضله: هنگامی که یک آگونیست نیکوتینی مستقیماً بکار می‌رود دیپلاریزاسیون صفحه محرک صورت می‌گیرد همزمان با تحریک عضله پاسخ‌هایی از قبیل انقباض کل عضله دیده می‌شود (۱۱).

۱-۲ آنزیم استیل کولین استراز:

۱-۲-۱ انواع استرازاها:

استرازاها در اصل گروهی از دسته هیدرولازها می‌باشند. هیدرولازها سبب تسهیل عمل هیدرولیز اتصالات گوناگون می‌شوند. استرازاها خود به سه دسته A, B, و C تقسیم شده‌اند و در این بررسی ما به اطلاعات درباره دو آنزیم استیل کولین استراز (EC3.1.1.7) و بوتیریل کولین استراز یا سودکولین استراز (EC3.1.1.8) ارائه می‌گردد (۱۲).

A استرازاها، آنزیم‌هایی هستند که سبب هیدرولیز ترکیبات ارگانوفسفره شده (OP) ولی خودشان توسط ترکیبات OP مهار نمی‌شوند. مانند DFPase که مهار ارگانوفسفره DFP را بر عهده دارد و یا Tabunase (فسفریل فسفاتاز) که سبب مهار تابون می‌شود. این آنزیم در پلاسما و بافت‌های مختلف وجود دارد و سوبسترای طبیعی آن عامل عصبی تابون است. Larsson نشان داد که کاهش سمیت تابون در طول هیدرولیز سوسپانسیون آن، موازی با کاهش فعالیت مهار شونده AChE است و ۱۵ درصد از خاصیت مهار کننده عامل تابون بر روی آنزیم توسط آنزیم تابوناز در سرم خنثی می‌شود (۱۳).

B استرازاها، دسته‌ای از آنزیم‌هایی هستند که ترکیبات OP آنها مهار می‌کنند و خود قادر به مهار OP نمی‌باشند. مانند (کولین استرازاها).

C استرازاها هیچگونه اثری بر روی ارگانوفسفرها نداشته و خود نیز توسط ترکیبات OP مهار نمی‌شوند.

۱-۲-۲-۱ کلیاتی در مورد انواع کولین استراز:

دو آنزیم زیرتوانایی هیدرولیز استیل کولین را دارا می‌باشند:

الف) کولین استراز حقیقی (trueChE) یا Specific Enzyme و یا استیل کولین استراز که نام دیگر آن براساس منشا آن، کولین استراز موجود در گلبول قرمز نامیده می‌شود. این آنزیم توسط کمیسیون