شماره پایان نامه ۲۲۹۵

دانشگاه تهران

دانشکده داروسازی

پایان نامه

برای دریافت درجه دکتری از دانشگاه تهران

موضوع:

اثر آمیلورایددرآزادشدن نورآدرنالین از اعصاب سمپاتیک وازدفران موش صحرایی

براهنمائی:

استاد ارجمندجناب آقای دکتر محمدخوبی

نگارش

عفت رضایی

سال تحصیلی ۶۲-۶۱

۱۰۳۷۵

با تشکر از

استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمدخوئی

وبا تشکرا ز

دوست عزیـــزم فرزا نه اخترخا وری

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱ـ علت انتخاب این پروژه	۱
۲ـ خلاصه پایان نامه	۲
۳ـ سیستم عصبی خودمختار	۴
۴ـ بیوسنتز کاتکول آمین ها	۷
۵ـ کاتابولیسم نورآدرنالین (NA)	۱۳
۶ ـ مکانیسم آزادشدن (Release) نورآدرنالین از انتهای اعصاب نورآدرنرژیک	۱۵
۷ـ جذب مجدد (Uptake) نورآدرنالین	۱۹
۸ ـ تاثیر یونهای مختلف درسیستم سمپاتیک	۲۳
۹ ـ گیرنده‌های پیش سیناپسی (Presynaptic receptors)	۲۶
۱۰ـ اختصاصات بافت شناسی وازدفران (Vas deferens)	۳۸
۱۱ـ اثرات فارماکولوژیک داروهایی که برای انجام کارهای تجربی مورد استفاده قرار گرفته است	۴۲
آمیلورایدAmiloride	۴۲
تیرامینTyramine	۴۶
نیکوتینNicotine	۵۲
۱۲ـ روش کار تجربیات	۵۵
محلولها	۵۹
داروها	۶۰
شمارش	۶۱
طرز محاسبه	۶۳

۱۳- نتایج ۶۵
۱۴- بحث ۷۸
۱۵- منابع و مآخذ ۸۴

بنام خدا

علت انتخاب این پروژه ،

آمیلورایدبا داروهای ضدفشارخون توام "مصرف میشودودارو های ضدفشارخونا غلب درروی اعصاب سمپاتیک اثرمی کند .تداخل داروها با یکدیگروعوارض نادروخطرناک آنها پس ازمدتها مصرف پیداوکشف می شود .ازآنجاکه آمیلورایددارای ریشه‌گوانیدین است ،امکان اثری مشابه‌بادا روهای دیگرمثل گوانتیدین (که برای معالجه افزایش فشارخون مصرف میشود)وپرازوسین وغیره وجوددارد .

چون تابحال اثرآمیلورایدروی اعصاب سمپاتیک مطالعه نشده است مطالعه اثرات این‌دارو درروی اعصاب سمپاتیک وآزادشدن نورآدرنالین برای پی بردن به‌تضادیا سینرژیسم بادا روهای ضدفشارخون بسیارضروری است .

***

خلاصه پایان نامه

"اثر آمیلورایددرآزادشدن نورآدرنالین ازاعصاب سمپاتیک و ازدفران موش صحرائی "

آمیلورایدیک داروی مدرباخاصیت جلوگیری ازدفع پتاسیم میباشد.درعده‌ای ازسلولها نشان داده‌شده‌که‌این داروازورودسدیم درسلول جلوگیری می کند.منظوراز آزمایشات زیرمطالعه، اثراین دارودرروی‌اعصاب سمپاتیک بوده‌است.

آمیلورایداثری درروی‌تونوس عضلانی وحداکثرقدرت انقباضی عضله‌وازدفران ناشی ازنورآدرنالین‌نداشت.لذامی توان نتیجه گرفت‌که درروی خودعضله مؤثرنیست. اثرآمیلورایدبوسیله فنتول آمین، پروپرانولول، آتروپین ویااندومتاسین قابل جلوگیری نبود. آمیلورایدخروج خودبخودی نورآدرنالین رادیواکتیو راازوازدفران تغییرنمادولی آزادشدن نورآدرنالین ناشی از تحریک الکتریکی‌ویانیکوتین راکاهش داد. آمیلورایددرآزادشدن نورآدرنالین بوسیله کلرورپتاسیم یاتیرامین تغییری نداد.

ازآنجاکه‌تحریک بوسیله نیکوتین ویاالکتریسیته باورود سدیم درعصب دپلاریزاسیون راانجام می‌دهدودرتعقیب آن کانال کلسیم بازشده‌یون کلسیم نیز واردسلول گردیده‌ومنجربه‌آزادشدن نورآدرنالین می گردد.جلوگیری ازآزادشدن نورآدرنالین توسط آمیلورایدمی تواندیابه علت بسته شدن کانال سدیم ویاکانال کلسیم باشد. درآزمایش باکلرورپتاسیم (۶۰ mM) دپلاریزاسیون

به ورود سدیم در سلول احتیاج ندارد و فقط در تعقیب این نوع دپلاریزاسیون کانال کلسیم باز شده و یونهای کلسیم وارد سلول گردیده و سبب آزاد شدن نورآدرنالین می گردند. چون آمیلورایـد از آزاد شدن نورآدرنالین ناشی از این نوع دپلاریزاسیون جلوگیری نمینماید. با ید نتیجه گرفت که آمیلورایـد روی کانال کلسیم اثری ندارد و شاید فقط با بستن کانال سدیم از تحریک الکتریکی و نیکوتینی جلوگیری می کند.

سیستم عصبی خودمختار

تمام آکسونهای وابران که از CNS خارج می شوند به جز آنهایی که به عضلات اسکلتی می رسند متعلق به سیستم عصبی خودمختار ند. آکسونهای سیستم خودمختار از CNS خارج شده و با نرونهای محیطی سیناپس تشکیل می دهند. محل سیناپس آکسون نرونهایی که از CNS می آیند وجسم سلولی نرونهای محیطی که به اندام ها می روند را گانگلیون مینامند وآکسون نرونهایی که با سلولهای گانگلیونی سیناپس تشکیل می دهند، رشته های پیش عقده ای سیستم خودمختار و آکسون نرونهای محیطی که به اعضاء واندامها می روند را رشته های پس عقده ای این سیستم مینامند.

قسمت وابران سیستم عصبی خودمختار به دو سیستم عصبی سمپاتیک وپارا سمپاتیک تقسیم میشود که موضوع بحث ما سیستم عصبی سمپاتیک است.

سیستم سمپاتیک :

جسم سلولی آکسونهای پیش عقده ای سیستم سمپاتیک در نخاع شوکی بین قطعه اول پشتی تا قطعه دوم کمری قرار دارد. قطر این سلولها در حدود ۱۲ تا ۶۰ میکرومتر می باشد ودر شاخ وسطی جانبی نخاع قرار دارد و تعداد آنها در حدود ۱۵۰۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ تخمین زده میشود. آکسون این سلولها همراه با سایر الیاف حرکتی از طریق ریشه قدامی نخاع وارد یک عصب نخاعی میشود و سپس این فیبرهای پیش عقده ای از الیاف حرکتی جدا و بلافاصله

از عصب نخاعی خارج شده و از طریق رابط سفید به یکی از عقده‌های تنه سمپاتیک (دو زنجیر عقده‌ای که در دو طرف ستون مهره‌ها از گردن تا استخوان دنبالچه کشیده شده است) می رود و در آنجا با جسم سلولی نرون پس عقده‌ای سیناپس می دهد . البته تمام الیاف شاخه‌های ارتباطی سفید به عقده‌های نزدیک به خود نرفته و در عقده‌های دورتر از محل خروج خود نیز با اکسون نرونهای پس عقده‌ای سیناپس تشکیل داده ، سپس این آکسون ها به سوی یکی از اعضاء رفته و با سلولهای آن سیناپس درست می کنند .

فیبرهای سمپاتیکی که منشاء آنها نخاع می باشد وقتی که از گانگلیون خارج می شوند فقط در یک قسمت کوچک منتشر نمی شوند بلکه این فیبرها به ترتیب منشعب شدن از قطعات مختلف نخاع می توانند قسمتهای مختلفی را عصب دهند .

فیبرهای منشعب از قطعه اول پشتی زنجیر سمپاتیک به طرف بالا می روند ، فیبرهای قطعه دوم پشتی وارد گردن و قطعه سوم ، چهارم ، پنجم و ششم وارد سینه می‌گردند . فیبرهای قطعات هفتم ، هشتم ، نهم ، دهم و یازدهم پشتی وارد شکم و فیبرهای قطعه دوازدهم و اول و دوم کمری وارد پاها می شوند . توزیع فیبرها بدین ترتیب تقریبی می باشد و تداخل زیادی بین این فیبرها وجود دارد .

فیبرهای پیش عقده‌ای سیستم خودمختار ، میلین دار و در حدود ۲ تا ۴ میکرومتر قطر دارند و از نوع فیبرهای گروه B می باشند . فیبرهای پس عقده ای از نوع بدون میلین و قطر آنها در حدود ۱/۵ تا ۰/۵ میکرومتر

وازگروه فیبرهای C بوده‌وبه‌آن شاخه های ارتباطی خاکستری ـ می گویند. به‌طورکلی فیبرهای پیش عقده‌ای سمپاتیک کوتاه و فیبرهای پس عقده‌ای نسبتاً بلندمی باشند .

بیوسنتزکاتکول‌آمینها :

به‌طورکلی بیوسنتزکاتکل آمینها درتمام طول آکسون امکان پذیراست ولی‌مهمترین محل سنتز این واسطه‌های شیمیائی انتهای آکسون نرون می باشد . دواسیدآمینه ضروری فنیل آلانین وتیروزین که‌ازراه‌رژیمهای غذائی پروتئینی به‌بدن انسان می رسند منشا سنتزکاتکل‌آمینها دربدن میباشند .

سنتز آدرنالین ازفنیل آلانین وتیروزین برای اولین بار درسال ۱۹۴۷ توسط Gurin وهمکاران پیشنهادشد (17) تیروزین حاصله‌ازموادغذائی ازمقدارلازم برای سنتزاین موادبسیار بیشتراست ولی بدن علاوه برآن ، فنیل آلانین رانیزبوسیله آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز که درمایعات بدن وجوددارد تبدیل به‌تیروزین می نماید. تیروزین وارداکسون نرونهای سیستم آدرنرژیک میشودودرآنجا تحت تأثیرآنزیم تیروزین هیدروکسیلاز حلقه فنلی اش تبدیل به‌کاتکول‌می گرددوجسمی بنام Dopa حاصل میشود .این مرحله ازواکنش بآهستگی‌انجام می پذیردزیرا فعالیت وسنتز آنزیم کاتالیز کننده‌این واکنش تحت تاثیرعوامل مختلف قرارمی گیرد. ازآنجمله چنانچه فعالیت نرونی افزایش یابد سنتزآنزیم نیزافزایش ودرصورت کاهش فعالیت نرونی ، درسنتز آنزیم نیز کاهش ملاحظه میشود .

ازعوامل‌مؤثردیگرمی توان مقادیرفنیل آلانین ، Dopa ونورآدرنالین راکه با مکانیسم فیدبک منفی فعالیت‌آنزیم راکنترل

می‌نمایند، نام برد. با تغییر در سنتز و فعالیت آنزیم مستقیما "سنتز محصول نهایی (End product) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. پس این مرحله را می توان مرحله تعیین‌کننده سرعت واکنش (Rate limiting) به‌شمار آورد. پس از تشکیل، Dopa درسیتوپلاسم تجمع نمی یابد وفورا "به‌وسیله آنزیم دوپا دکربوکسیلاز به‌دوپامین تبدیل میگردد ـ (که یکی از کاتکل آمینهای سنتزشده می باشد).

دوپامین موجوددرسیتوپلاسم سلولی بوسینه‌گرانولهای ذخیره کننده، جذب ودرآنجا توسط آنزیم دوپامین بتا هیدروکسیلاز (DBH) تبدیل به‌نورآدرنالین میشود.

درنرونهایی‌که‌واسطه شیمیائی آنها نورآدرنالین‌است مراحل سنتزبه‌همین جاختم می شودولی درسلولهای کرومافین که آدرنالین آزادمی کنند نورآدرنالین واردسیتوپلاسم شده‌وآنزیم دیگری به‌اسم Phenyl ethanolamine N-methyl transferase درسیتوپلاسم وجوددارد‌که‌با انتقال یک گروه متیل از Adenosyl-methionine به‌نورآدرنالین، آنرا تبدیل به‌آدرنالین‌میکند. سنتزاین آنزیم غیراختصاصی بوسیله‌هورمونهای استروئیدی آدرنو ـ کورتیکال تحریک می شود (آدرنالین ساخته شده‌درگرانولهای نوع دیگری ذخیره میشوند).

آنزیمهای کاتالیزکننده‌مراحل مختلف واکنش‌های بالادرجسم سلولی نرونها سنتزشده‌وبوسیله شبکه‌های رتیکولوآندوپلاسمیک به‌انتهای آکسون آورده‌میشوند. مهمترین‌آنزیم این سیستم

L-Tyrosin Hydroxylase استکه‌دارای دوکوفاکتور Fe^{+2} وتترا هیدروپتریدین می‌باشدوتنها برروی ایزومرهای نوع L اثردارد.این آنزیم اختصاصی ، علاوه‌بر L-Tyrosine برروی تعدادی‌ازآنالوگهای آنهم مؤثرمی باشد(مانند α متیل تیروزین ، این آنالوگ از- طریق رقابت‌با تیروزین برسرجایگاه فعال آنزیم باعث مهارآن‌میگردد). ضمنا " کاتکل آمینها مانند نورآدرنالین نیزازطریق رقابت برسر کوفاکتور، این آنزیم رامهارمی نمایند.

آنزیم دیگراین سیستم دوپادکربوکسیلازاستکه یک آنزیم غیراختصاصی وقادربه دکربوکسیله‌کردن سایر آمینواسیدها نیزمیباشد. کوفاکتورآن پیریدوکسال فسفات استودرسایر مواقع ازآن به‌عنوان L-aromatic-amino acid decarboxylase نیزیاد میشود.

دوپامین بتاهیدروکسیلاز (DBH) آنزیم موجوددر - گرانول استکه قسمتی ازآن به صورت‌باندشده‌وقسمتی به صورت‌آزاد است. یک آنزیم غیراختصاصی استکه‌کوفاکتورآن اسیداسکوربیک ونام دیگرآن Phenyl ethanolamino β hydroxylase میباشد .

نورآدرنالین پس‌ازسنتزدرگرانول ، به صورت‌ذخیره‌تجمع می یابد ذخیره‌وتجمع‌نورآدرنالین در (Particles) انتهای اعصاب سمپاتیک محیطی اولین‌باردرسال ۱۹۵۶ درهموژنیزاسیون اعصاب آدرنرژیک طحال گاو ثابت شد(12) و پس‌ازآن مطالعات زیادی انجام شدواکنون پیشنهادمی شودکه نورآدرنالین بطور

کلی درآکسون نرونها به سه صورت که با یکدیگر درحال تعادلند وجود دارد.

نورآدرنالین باندشده دروزیکول ⟷ نورآدرنالین آزاددروزیکول ⟷ نورآدرنالین آزاد درسیتوپلاسم

این تعادل به طور عادی بیشتر به سمت نورآدرنالین باند شده دروزیکول پیش می رود. ذخیره و باندشدن کاتکل آمینها درگرانول یکی از مراحل بسیار مهم بشمار می آید زیرا در اثر باینداینگ مولکولهای ذخیره نورآدرنالین در برابر کاتابولیسم آنزیمی حفاظت می شوند. درذخایر گرانولی همیشه ATP به نسبت ۱ به ۴ با نورآدرنالین همراه است. علاوه بر این پروتئین اسیدی محلول درآب به اسم کروموگرانین نیز درگرانول وجوددارد. این پروتئین از اجزای مختلفی مثل کروموگرانین A که وزن مولکولی برابر با ۷۵۰۰۰ دارد (۴۰% - وزن کل را تشکیل می‌دهد) وآنزیم DBH تشکیل شده است. بنظر میرسدکه مجموعه ATP به علاوه کرومو گرانین ویون دوظرفیتی Ca^{+2} ویا Mg^{+2} قسمتی ازکمپلکس Binder یا چسباننده نورآدرنالین به وزیکول را تشکیل می دهند. سولفوموکوپلی ساکاریدی شبیه به Chondroitin سولفات همراه با یک پروتئین خاص به صورت یک کمپلکس درآمده ودربعضی از نرونها که میزان کاتکل آمینهای ذخیره آن بالاست نقش یک خازن را ایفاء