

เนื้อหางานวิจัย

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

จากสถิติของ Alzheimer's Disease International พบว่าในปี ค.ศ. 2005 มีประมาณ 30 ล้านคนที่เป็น dementia ทั่วโลก และจะมีผู้ป่วยรายใหม่เพิ่มมาอีก 4.6 ล้านคนต่อปี และน่าจะมีคนเป็นโรคนี้มากกว่า 100 ล้านคนในปี 2050 ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างในการเกิดโรคระหว่างประชากรเพศหญิงและเพศชาย โดยพบว่าประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไป อุบัติการณ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าทุก 5 ปี และมีเพียง 2% เท่านั้นที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 65 ปี (1) สำหรับประเทศไทยนั้น ที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาที่ได้สำรวจความชุกของโรคสมองเสื่อมในระดับประเทศ อย่างไรก็ตามในขณะนี้สถาบันผู้สูงอายุ กระทรวงสาธารณสุขได้กำลังร่วมมือกับนักวิชาการที่เกี่ยวข้องในหลายสาขาวิชาชีพจากหลายสถาบัน ทำการเตรียมการศึกษาในระดับประเทศเกี่ยวกับระบาดวิทยาของความชุกของโรคสมองเสื่อมในประเทศไทย (2)

ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ พบว่ามีการสูญเสียเซลล์ประสาท cholinergic ในสมองส่วน basal forebrain nuclei หรือ nuclear basalis of Meynert และ medial septal nucleus กับ diagonal band of Broca ซึ่งเป็นต้นกำเนิดของ cholinergic pathway ที่จะส่งกระแสประสาทไปยังสมองส่วนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการเรียนรู้และความจำ ส่งผลให้ความสามารถในการเรียนรู้ สติปัญญา และความจำของผู้ป่วยลดลงจนไม่สามารถปฏิบัติภารกิจประจำวันได้ รวมทั้งยังส่งผลต่ออารมณ์และพฤติกรรมของผู้ป่วยอีกด้วย เช่น ซึมเศร้า หลงผิด หวาดระแวง ประสาทหลอน ฯลฯ (3)

เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) สามารถพบได้ที่สมอง กล้ามเนื้อ โดยหน้าที่หลักของเอนไซม์นี้ คือ การ hydrolyze acetylcholine ได้อย่างรวดเร็วที่ปลายประสาท cholinergic ซึ่งพบว่าสามารถ hydrolyze acetylcholine ได้เร็วกว่าสารสื่อประสาทชนิดอื่นๆ ส่วนเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) เราจะพบในส่วนของพลาสมา และยังสามารถพบได้ตามอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ ลำไส้ หัวใจ และปอด เป็นต้น จัดเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่สำคัญในการ hydrolyze acetylcholine ด้วย หากร่างกายขาดเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) ไปก็จะไม่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของการทำหน้าที่ใดๆในร่างกาย

ในสมองคนปกติอัตราส่วนการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) ต่อเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) เป็น 99:1 แต่ในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์พบว่ามีระดับและการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) ลดลง ในขณะที่ระดับและการทำงานของเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) เพิ่มขึ้น ทำให้อัตราส่วนการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) ต่อเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) เป็น 65:35 หรือ 2:1 เนื่องจาก amyloid plaques และ neurofibrillary tangles รวมทั้ง glial cells ซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการอักเสบ สามารถ (Acetylcholinesterase) ในการทำลาย acetylcholine ดังนั้นยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyrylcholinesterase) จึงน่าจะให้ผลในการรักษาอาการของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ได้ดีกว่าที่ยับยั้งเพียงเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) เพียงอย่างเดียว (4)

ในปัจจุบันคณะกรรมการอาหารและยา (food and drug administration) ของอเมริกาได้อนุมัติให้มีการนำยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ได้แก่ tacrine, donepezil, rivastigmine

โคลีนเอสเตอเรสสายพันธุ์มนุษย์ของสารอนุพันธุ์คูมาริน

และ galantamine มาใช้รักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า tacrine ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด ดังนั้นในปัจจุบันนี้การพัฒนาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส จึงยังคงเป็นที่สนใจ

การศึกษาเบื้องต้นพบว่าอนุพันธุ์คูมารินมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสสายพันธุ์ปลาไหลไฟฟ้า (*Torpedo Californica*) โดยสามารถยับยั้งฤทธิ์การทำงานของเอนไซม์ที่ 50% (IC_{50}) ที่ความเข้มข้นระดับไมโครโมลาร์ แม้ว่ามีรายงานการศึกษาว่าสารหลายชนิดที่มีคูมารินเป็นองค์ประกอบหลักมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส แต่โครงสร้างเคมีของอนุพันธุ์กลุ่มที่ศึกษามีเอกลักษณ์ และแตกต่างจากกลุ่มที่มีรายงานมาก่อน เพื่อให้สารที่มีฤทธิ์สูงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และมีความปลอดภัยในการพัฒนาต่อไปเพื่อนำมาใช้ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ แผนงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาอนุพันธุ์คูมารินกลุ่มใหม่นี้ต่อไป โดยใช้ความรู้ทางเคมียา การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส และบิวโทรลโคลีนเอสเตอเรสของมนุษย์ โดยจะทำการทดสอบฤทธิ์และพิษในเซลล์สมองเพาะเลี้ยง (primary neuronal cultures) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ก่อนที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ในระดับสูงขึ้นต่อไป

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) (3)

Alzheimer's disease (AD) เป็นโรคที่เกิดจากการทำลายของเซลล์สมอง โดยจะมีการแสดงออกทางการเรียนรู้ สติปัญญา การตัดสินใจ และความจำที่แย่ลง ไม่สามารถทำกิจวัตรประจำวันต่างๆ ได้ ร่วมกับมีอาการทางจิตและมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไป

ความชุกในการเกิด AD ใน ปี 2000 ของสหรัฐอเมริกามีจำนวน 4.5 ล้านคน ซึ่งอัตราการเกิดของผู้ป่วย AD จะมีการเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่ออายุเพิ่มขึ้นอีก 5 ปี คือในผู้ป่วย AD อายุ 60 ปีมีอัตราการเกิด AD 1 % แต่ในผู้ป่วยอายุ 85 ปีมีผู้ป่วย AD 30% ถ้ายังไม่มียาในการรักษา AD อาจจะทำให้มีผู้ป่วย AD เพิ่มขึ้นเป็น 13.2 ล้านคน ในสหรัฐอเมริกาในปี 2050 ซึ่งค่าใช้จ่ายในการรักษา AD เป็น 83.9 พันล้านดอลลาร์ ต่อปี

พยาธิกำเนิดของ AD (16,17,18)

ผู้ป่วย AD จะมีการลดลงของเนื้อสมอง และมีการสูญเสียเซลล์ประสาท สารสื่อประสาทที่พบว่า ลดลงอย่างมากคือ Acetylcholine โดยเฉพาะสมองส่วน hippocampus และ basal forebrain ซึ่งเป็นสมองที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ สิ่งสำคัญที่บ่งบอกถึงพยาธิสภาพของโรค ได้แก่ amyloid plaques และ neurofibrillary tangles โดย amyloid plaques เกิดจากการสะสมของ β -amyloid peptide ภายนอกเซลล์ประสาท ส่วน neurofibrillary tangles เป็นการรวมตัวกันของ phosphorylated form ของ tau protein ภายในเซลล์ประสาทซึ่ง tau protein เป็นโปรตีนช่วยในการทำงานของ microtubule ซึ่งทั้ง amyloid plaques และ neurofibrillary tangles สามารถพบได้ในสมองของคนปกติในปริมาณที่ไม่สูงมากนัก แต่หากมีการสะสมของ amyloid plaques และ neurofibrillary tangles ในปริมาณสูงจะแสดงให้เห็นถึงการพัฒนาไปเป็น AD

กระบวนการสังเคราะห์และการหลั่ง ACh (19)

การสังเคราะห์ ACh โดยอาศัยสารเริ่มต้นคือ choline ถูกนำเข้าสู่ปลายประสาทโดย active transport และ acetyl CoA ที่ได้จาก mitochondria อาศัยเอนไซม์ choline acetyltransferase (ChAT) ในการสังเคราะห์ ภายหลังการสังเคราะห์ ACh จะถูกเก็บไว้ใน vesicles สำหรับ rate-limiting step ของการสังเคราะห์ ACh คือ ขั้นตอนการนำสาร choline เข้าสู่ปลายประสาท ซึ่งถูกควบคุมจากจำนวน ACh ที่หลั่งออกมา การหลั่ง ACh ออกจากปลายประสาท ไม่ว่าจะเป็นการหลั่งเองแบบต่อเนื่อง (การหลั่งแบบนี้มีจำนวนไม่มาก) หรือการหลั่งที่เกิดจาก action potential เกิดขึ้นโดยกระบวนการ exocytosis ที่จำเป็นต้องอาศัยแคลเซียม

กระบวนการทำลาย ACh

ฤทธิ์ของ ACh จะหมดลงโดยการถูกทำลายด้วยเอนไซม์ cholinesterase ซึ่งแบ่งออกได้ 2 ชนิด ดังนี้

- Acetylcholinesterase (true cholinesterase; AChE) เป็นเอนไซม์ที่จับอยู่บนบริเวณผิวของบริเวณรอยต่อ (synaptic cleft) ของ cholinergic synapse และทำหน้าที่ทำลาย ACh ที่หลั่งออกจากปลายประสาท นอกจากนี้ยังพบได้ใน erythrocytes
- Butyrylcholinesterase (pseudocholin-esterase, BChE) เป็นเอนไซม์ที่พบได้ทั่วไปในร่างกาย เช่น ตับ สมอง ผิวหนัง กล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหาร และพลาสมา เป็นต้นหน้าที่สำคัญ คือ การทำลาย ACh และ esters อื่นๆ เช่น benzoylcholine, procaine, succinylcholine และ propanidid เป็นต้น ลักษณะ

ของโครงสร้างเอนไซม์ ประกอบด้วย active site สองแห่ง คือ anionic site (ซึ่งเป็นส่วนของ glutamate residue) และ esteratic site (serine-OH group) ขั้นตอนการ hydrolyze ACh คือ หลังจากการจับระหว่าง ACh และ ChE ที่ active sites ทั้งสองแห่งแล้วได้เป็น complex การ hydrolysis ในขั้นแรกจะเกิดการแยกส่วน choline ออกจาก complex และส่วนที่เหลือคือ acetyl group ของ ACh ที่ยังคงจับกับ esteratic site ของเอนไซม์ complex ส่วนที่เหลือนี้เรียกว่า acetylated enzyme ซึ่งจะถูกระดม hydrolyze ค่อยอย่างรวดเร็วได้เป็น acetate และ ChE ที่สามารถกลับทำหน้าที่ใหม่ได้อีกครั้ง ส่วน choline ที่ได้ จะถูกนำกลับเข้าสู่ปลายประสาทเพื่อกลับไปสังเคราะห์ ACh ใหม่

Cholinergic receptors

จำแนกชนิดของ cholinergic receptor ออกได้ 2 ชนิดใหญ่ คือ

1. Nicotinic receptor เป็น receptor ที่ทำงานสัมพันธ์กับการเปิดปิดของ ion channel จำแนกเป็น 2 ชนิด ตามลักษณะการถูกปิดกั้นโดย antagonists คือ
 - NN subtype ได้แก่ receptor ที่ autonomic ganglia, adrenal medulla ซึ่งถูกปิดกั้นได้ด้วย mecamylamine
 - NM subtype ได้แก่ receptor ที่ neuromuscular junction ซึ่งถูกปิดกั้นได้ด้วย 2-bungarotoxin การตอบสนองต่อการกระตุ้น NN และ NM จะเป็นในรูป excitation และถ้าหากถูกกระตุ้นติดต่อกันนานๆ จะตามด้วยการยับยั้งหรือการปิดกั้น receptor แบบ depolarization blockade
2. Muscarinic receptor เป็น receptor ที่พบได้ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ของระบบประสาทอัตโนมัติ เช่น หัวใจ กล้ามเนื้อเรียบทั่วไป คอมีท่อต่างๆ เป็นต้น การทำงานของ receptor สัมพันธ์กับ G-protein กระตุ้น phospholipase C ทำให้เกิดการสังเคราะห์ IP₃ และ DAG ซึ่งทำหน้าที่เป็น second messenger ยับยั้งเอนไซม์ adenylyl cyclase กระตุ้น K⁺-channel หรือ inhibit Ca²⁺-channel

เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (The Cholinesterase) (20)

Cholinesterase (ChE) เป็นเอนไซม์ที่พบในระบบประสาทส่วนกลาง มี 2 ชนิด ได้แก่ Acetylcholinesterase (AChE) และ Butyrylcholinesterase (BuChE) โดย AChE อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 ส่วน BuChE อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสามารถทำลาย Acetylcholine (ACh) ในอัตราเร็วที่มากกว่า 10,000 โมเลกุลต่อวินาที ก่อนหน้านี้นับบทบาทของ BuChE ในการควบคุมระดับของ ACh ยังไม่เป็นที่สนใจ อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีหลักฐานต่างๆ มากมายที่สนับสนุนเกี่ยวกับบทบาทของ AChE และ BuChE ในการควบคุมระดับของ ACh และเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีความสำคัญในการพัฒนาและการดำเนินไปของ AD Cholinesterase ในสมองของคนปกติ

ในสมองของคนปกติ AChE จะมีความสามารถในการทำงานประมาณ 80 % ของ ChE ในขณะที่ BuChE มีความสามารถในการทำงานเพียง 20 % AChE พบมากใน neuron ส่วน BuChE จะพบมากที่ glial cell จากการศึกษาด้าน x-ray crystallography พบว่าตำแหน่งสำคัญในการจับกับ ACh คือ catalytic และ choline binding site โดย AChE จะมีความเฉพาะเจาะจงในการทำลาย ACh มากกว่า BuChE เนื่องจาก AChE ประกอบด้วย Phenylalanine 2 ตัวซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญในการจับกับ ACh ในขณะที่ BuChE ประกอบด้วยกรดอะมิโนโมเลกุลเล็ก ซึ่งได้แก่ valine และ leucine

ลักษณะทาง kinetic ของ BuChE ที่จำแนกความแตกต่างระหว่าง AChE และ BuChE คือ AChE จะมีประสิทธิภาพในการจับกับ ACh ที่ความเข้มข้นต่ำ และจะถูกยับยั้งการทำงานเมื่อมีความเข้มข้นของ ACh ที่มากเกินไป ในทางตรงข้าม BuChE จะมีประสิทธิภาพน้อยเมื่อ ACh มีความเข้มข้นน้อย แต่จะมีประสิทธิภาพในการทำลาย ACh แทน AChE เมื่อ ACh มีปริมาณมากขึ้นและ AChE ถูกยับยั้งการทำงานไปแล้ว

การวินิจฉัย AD (3)

AD เป็นโรคสมองเสื่อมที่พบมากที่สุดและผู้สูงอายุ ภาวะสมองเสื่อมจะแบ่งโดยใช้เกณฑ์ของ DSM-IV การวินิจฉัย AD โดยใช้เกณฑ์ของ NINCDS-ADRDA แยกได้เป็น definite, probable และ possible โดยมีความไวและความจำเพาะเจาะจงของเครื่องมือเป็น 0.65 และ 0.75 ตามลำดับ

การแสดงของ AD จะแสดงภาวะความจำเสื่อม พุดไม่รู้เรื่อง การทำงานของประสาทรับและส่งความรู้สึกลึกซึ้งผิดปกติทางการเดินที่เปลี่ยนแปลงไป รวมถึงอาการชัก ในผู้ป่วย AD มีการทำหน้าที่ของสมองและพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลง ผู้ป่วยที่มีภาวะของโรคที่เลวร้ายลงจะมีการสูญเสียความสามารถในการทำกิจวัตรประจำวันขั้นสูง เช่นการเขียน การใช้รถประจำทาง หรือการทำกิจวัตรประจำวันปกติเช่นการกิน การแต่งตัว การใช้ห้องน้ำ พฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไป มีอารมณ์ที่แปรปรวน ไร้อารมณ์จะเป็นในช่วงแรก และเกิดอาการทางจิต อาการอยู่ไม่สุขจะพบในระยะต่อมาของโรค

การประเมินภาวะสมองเสื่อม

ผลทางห้องปฏิบัติการเป็นสิ่งจำเป็นในการแยกสาเหตุของสมองเสื่อมออกจากสภาวะปกติของผู้สูงอายุ เช่น thyroid function test, การวัดระดับวิตามิน B12 ซึ่งควรจะวัดเพื่อแยกสาเหตุที่ชัดเจนของภาวะสมองเสื่อมที่เกิดขึ้น Complete blood count เช่น BUN, electrolyte, ระดับน้ำตาลในเลือดและ liver function test ก็ควรจะได้รับการตรวจเพื่อยืนยันเช่นกัน

ผลทางห้องปฏิบัติการที่เฉพาะเจาะจง ได้แก่

- ผลการตรวจเชื้อ syphilis, ESR, HIV และโลหะหนัก ซึ่งอาจจะบอกได้ว่าภาวะสมองเสื่อมที่เกิดอาจจะมาจากการติดเชื้อ การอักเสบหรือการได้รับพิษที่ทำให้เกิดภาวะสมองเสื่อม
- ภาพถ่ายภาพสมอง มีส่วนสำคัญในการช่วยแยกสาเหตุของการเกิดภาวะสมองเสื่อม โดยการแสดงภาพโครงสร้างของสมองโดยเครื่อง computed tomography (CT) หรือ magnetic resonance imaging (MRI) และการแสดงภาพการทำงานของสมองโดยเครื่อง positron-emission tomography หรือ single-photon-emission CT การเสื่อมลงและการถูกทำลายของเซลล์ประสาทส่งผลให้มีการลดลงของสารสื่อประสาทต่างๆ เช่น ACh, Norepinephrine (NE) และ Serotonin (5-HT)

ยากลุ่มที่ได้รับการรับรองให้ใช้ในการรักษา AD(16,21)

- ยาในกลุ่ม NMDA Receptor Antagonist
- ยาในกลุ่ม Cholinesterase Inhibitors

กลุ่ม NMDA Receptor Antagonists

Memantine เป็นยาที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาในการรักษา AD ในขั้นปานกลางถึงรุนแรง (moderate to severe) Memantine ออกฤทธิ์ยับยั้งที่ NMDA receptor แบบ non-competitive โดย Memantine ยับยั้งการทำลายเซลล์ประสาทที่เกิดจากการกระตุ้น NMDA receptor ที่มากเกินไป

โคลีนเอสเตอเรสสายพันธุ์มนุษย์ของสารอนุพันธุ์คูมาริน

ซึ่ง Memantine จะไปจับและยับยั้ง NMDA receptor ที่ตำแหน่งเดียวกับ Mg^{2+} การจับของ Memantine ทำให้ NMDA receptor ทำงานตามปกติ นั่นคือไปลดการ influx ของ Ca^{2+} เนื่องจาก Memantine มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ cell membrane (voltage-dependency) สูงกว่า Mg^{2+} จึงหลุดออกจาก channel ได้ยากกว่า Mg^{2+} โดยที่ Memantine และ Mg^{2+} จะหลุดออกจาก NMDA receptor เมื่อความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ cell membrane ประมาณ -20 และ -50 mV ตามลำดับ ซึ่งในขณะที่เกิด depolarization อย่างต่อเนื่องจากการกระตุ้นด้วย glutamate ซึ่งส่งผลทำลายเซลล์ประสาทนั้น ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ cell membrane ประมาณ -50 mV หรือสูงกว่า จะไม่เพียงพอที่ทำให้ Memantine หลุดออกจาก NMDA receptor จึงมีผลทำให้ “synaptic noise” ที่อยู่ในระดับสูงกลับลดลง จากการที่ Ca^{2+} ไม่สามารถเข้าเซลล์ประสาทได้เมื่อมีการกระตุ้นด้วย glutamate จากสัญญาณประสาทโดยสิ่งเร้าที่ต้องการให้เกิดการเรียนรู้และความจำหรือ “signal” ทำให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ cell membrane สูงขึ้นอยู่ที่ประมาณ -20 mV ซึ่งสูงกว่า synaptic noise ที่เกิดขึ้นก่อนหน้านี้ เป็นผลให้ Memantine หลุดออกจาก NMDA receptor Ca^{2+} จากภายนอกจึงไหลเข้าสู่ภายในเซลล์ส่งผลให้เกิด Long term potential และการเรียนรู้และความจำได้ ดังนั้น Memantine จึงสามารถป้องกันเซลล์ประสาทไม่ให้ถูกทำลาย และทำให้อาการของผู้ป่วย AD ดีขึ้น

กลุ่ม Cholinesterase Inhibitors

Cholinesterase Inhibitors เป็นยาในกลุ่มแรกที่ได้รับการรับรองในการรักษา AD ในขั้นไม่รุนแรงถึงรุนแรงปานกลาง (mild to moderate) ยาในกลุ่มนี้มีผลทำให้การเรียนรู้ สติปัญญาและความจำของผู้ป่วย AD ดีขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการที่ยาไปลดการทำลาย ACh จากการยับยั้ง enzyme cholinesterase ทำให้การดำเนินของโรคช้าลง และลดน้อยลง ยาตัวแรก (first generation cholinesterase inhibitor) ที่ได้รับการรับรองให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา และยุโรป เพื่อรักษาอาการของ AD ได้แก่ Tacrine แต่เนื่องจากมีพิษต่อตับ (hepatotoxicity effects) จึงทำให้ความนิยมในการใช้ Tacrine ลดน้อยลงมาก ปัจจุบันจึงมียาตัวอื่นๆ ในกลุ่มนี้ (second generation cholinesterase inhibitors) ที่ได้รับการรับรองให้ใช้ในการรักษา AD ซึ่งมีพิษต่อตับน้อยกว่า ได้แก่ Donepezil, Rivastigmine และ Galantamine

แม้ว่ายาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ยับยั้ง enzyme cholinesterase แต่กลไกการยับยั้งจะแตกต่างกันออกไป ซึ่งอาจจะเป็นแบบ competitive หรือ noncompetitive ทั้งในลักษณะ reversible, irreversible หรือ pseudoirreversible นอกจากนี้ความจำเพาะเจาะจงที่มีต่อการยับยั้ง enzyme cholinesterase รวมถึงความแตกต่างในการยับยั้ง enzyme cholinesterase รวมถึงความแตกต่างในการยับยั้ง enzyme butyrylcholinesterase และการควบคุมความไวของ nicotinic receptors ทำให้ยาแต่ละตัวมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป

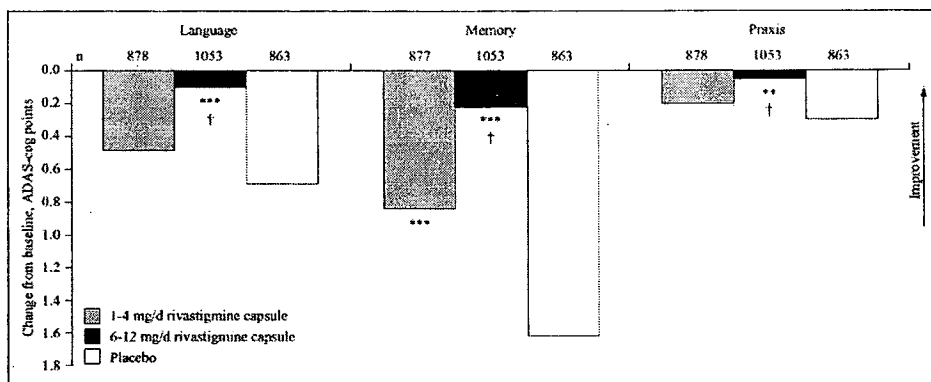
อาการข้างเคียงที่มักพบได้จากการใช้ยาในกลุ่มนี้เกิดจากการที่ยาไปมีผลเพิ่มระดับของ ACh เช่น คลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ และเบื่ออาหาร อาการดังกล่าวจะเกิดได้มากเมื่อมีการเพิ่มขนาดยาที่ได้รับ วิธีลดอาการข้างเคียงจากการใช้ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors โดยเฉพาะอาการทางระบบทางเดินอาหารทำได้โดยการค่อยๆ เพิ่มขนาดยาปรับประทานยาพร้อมอาหาร คื่นน้ำตามมากๆ และใช้ยาระงับอาการอาเจียน หากจำเป็น กลไกการออกฤทธิ์ของ Cholinesterase Inhibitors(16,21,22)

ผู้ป่วย AD จะมีระดับของ ACh ในเซลล์ประสาท cholinergic ลดลง รวมทั้งมีการสูญเสียเซลล์ประสาท cholinergic ใน cholinergic pathway ทำให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการเรียนรู้ การคิด และความจำ ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำลาย ACh โดย AChE ทำให้ระดับของ acetylcholine เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มระดับของ acetylcholine ในเซลล์ประสาท cholinergic ที่ยังเหลืออยู่ของผู้ป่วยทำให้อาการของผู้ป่วยดีขึ้น

Cholinesterases ในร่างกายมีอยู่ 2 ชนิด คือ AChE และ BuChE ในสมองของคนปกติอัตราส่วนของการทำงานของ AChE ต่อ BuChE เป็น 99:1 แต่ในสมองของผู้ป่วย AD พบว่ามีระดับและการทำงานของ AChE ลดลง ในขณะที่ระดับและการทำงานของ BuChE เพิ่มขึ้น ทำให้อัตราส่วนการทำงานของ AChE ต่อ BuChE เป็น 65:35 หรือ 2:1 เนื่องจาก amyloid plaques และ neurofibrillary tangles รวมทั้ง glial cells ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบสามารถสร้าง BuChE ได้ และเมื่อผู้ป่วยมีอาการของโรคมกขึ้น BuChE จะทำหน้าที่แทน AChE ในการทำลาย ACh ดังนั้นยาที่มีฤทธิ์ยับยั้ง AChE และ BuChE เช่น Rivastigmine จึงน่าจะให้ผลในการรักษาอาการของผู้ป่วยได้ดีกว่าที่ยับยั้งเพียง AChE เพียงอย่างเดียว ซึ่งจากการศึกษาวิจัยถึงผลของ Rivastigmine ต่อ cognitive function ใน mild to moderate AD พบว่า

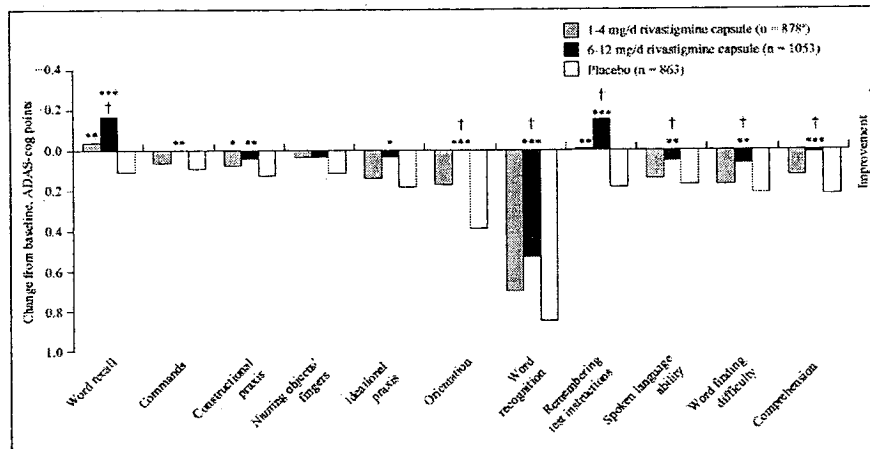
Rivastigmine มีผลเพิ่ม cognitive function ใน mild to moderate AD ซึ่งผลในการยับยั้ง cholinesterase ประเมินโดยใช้ ADAS-cog และ individual items ทำการทดลองแบบ 4 randomized, double-blind placebo-controlled เป็นเวลา 26 สัปดาห์ มีผู้เข้าร่วมการวิจัย 878, 1053 และ 863 คนที่ได้รับ Rivastigmine 1-4 mg/d, Rivastigmine 6-12 mg/d และ placebo ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย Rivastigmine มีคะแนน total ADAS-cog และเกี่ยวกับความจำมากกว่ากลุ่ม placebo ($P \leq 0.0001$) และกลุ่มที่ได้รับ Rivastigmine 6-12 mg/d มีการใช้ภาษาและการปฏิบัติกิจกรรมต่างได้ดีกว่ากลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) ซึ่งการตอบสนองต่อการรักษาที่ดีที่สุดเป็นเรื่องเกี่ยวกับความทรงจำ ($P < 0.0001$) ซึ่ง Rivastigmine มีความสัมพันธ์ในการเพิ่มกระบวนการเรียนรู้ทั้งหมดแบบ dose-dependent

The Alzheimer's disease assessment scale (ADAS-cog) วัดกระบวนการรับรู้ที่มีการเปลี่ยนแปลงใน AD โดยประเมิน 3 อาการหลัก คือ ความทรงจำ (memory), การใช้ภาษา (language) และการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ (praxis) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0-70 โดยค่าสูงๆ แสดงถึงการรับรู้มีความบกพร่องรุนแรงกว่าค่าต่ำๆ ADAS-cog นั้นได้รับการรับรองให้เป็น gold standard ในการวัดพฤติกรรมการเรียนรู้ใน mild-to-moderate AD ใน clinical trials



กราฟที่ 1 แสดงการประเมิน ADAS-cog (memory, language, praxis) จากการได้รับ Rivastigmine 1-4 mg/d

จากกราฟพบว่า Rivastigmine ในขนาด 6-12 mg/d มีผลเพิ่ม ADAS-cog อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในเรื่องเกี่ยวกับความทรงจำ, การใช้ภาษา และการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ



กราฟที่ 2 กราฟแสดงการประเมิน ADAS-cog (word recall, constructional praxis, remembering test instructions, ideational praxis, orientation, word recognition, spoken language ability, word finding difficulty, comprehension) จากการได้รับ Rivastigmine 1-4 mg/d, Rivastigmine 6-12 mg/d และ placebo

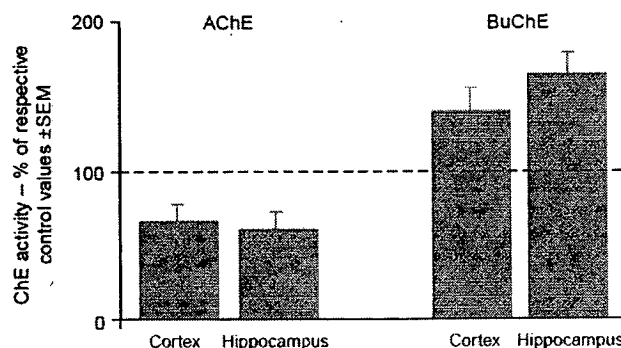
Rivastigmine ในขนาด 1-4 mg/d และ 6-12 mg/d เพิ่มการจดจำคำต่างๆ (word recall), การผูกประโยคหรือคำ (constructional praxis) และการจดจำคำสั่งต่างๆ (remembering test instructions) ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ placebo แต่อย่างไรก็ตามการได้รับ Rivastigmine ในขนาด 6-12 mg/d ยังมีผลเพิ่มความนึกคิด (ideational praxis), การรับรู้เกี่ยวกับสถานที่และเวลา (orientation), การจำแนกคำต่างๆ (word recognition), ความสามารถในการพูดภาษา (spoken language ability), การค้นหาคำที่ยากซับซ้อน (word finding difficulty) และการทดสอบความรู้อย่างกว้างขวาง (comprehension) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สรุป

Rivastigmine สามารถเพิ่ม cognitive function ใน mild to moderate AD แบบ dose-dependent ในเรื่องเกี่ยวกับความจำ, การใช้ภาษา และการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ จากการที่ BuChE สามารถทำหน้าที่ในการทำลาย ACh เหมือนกับ AChE จึงน่าจะเป็นเป้าหมายใหม่ในการรักษา AD ที่เกิดจากการขาด ACh ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาถึงบทบาทของ BuChE ในโรคอัลไซเมอร์ รวมถึงการพัฒนาศาสตร์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวมากขึ้น

บทบาทของ Butyrylcholinesterase ในสมองของผู้ป่วย AD^(17,20,23)

มีหลักฐานต่างๆ ที่ชี้ให้เห็นอย่างค่อนึงถึงบทบาทของ BuChE ทางพยาธิวิทยาและการดำเนินไปของโรค ในสมองของคนปกติ จะพบ AChE ได้ประมาณ 80% ของ cholinesterase และพบ BuChE ประมาณ 20 % แต่ในสมองของผู้ป่วย AD จะมีการทำงานของ AChE ลดลงประมาณ 55-67% ของระดับปกติในขณะที่การทำงานของ BuChE จะมีมากขึ้น



กราฟที่ 3 แสดงการทำงานที่ลดลงของ AChE และการทำงานที่เพิ่มขึ้นของ BuChE
ในสมองของผู้ป่วย AD

อัตราส่วนในการทำงานของ AChE : BuChE จะเปลี่ยนไป เมื่อ AD มีความรุนแรงมากขึ้น โดย BuChE จะมีบทบาทมากขึ้นในการควบคุมระดับ ACh

การศึกษาทาง Cytochemical เปิดเผยว่า pathway ของระบบประสาทบางชนิด BuChE จะทำหน้าที่แทน AChE เช่น cholinergic pathway อาจถูกควบคุมด้วย BuChE เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าในสมองส่วน Amygdaloid nuclei จะมีการทำงานของ BuChE มากกว่า AChE ในทางตรงกันข้ามสมองส่วน hippocampus จะมีการทำงานร่วมกันของ BuChE และ AChE มีหลักฐานแสดงให้เห็นว่า BuChE อาจมีบทบาททำให้เกิดการรวมตัวของ β -amyloid peptide (β) ซึ่งจะเกิดขึ้นในผู้สูงอายุและทำให้เกิดการการสร้าง plaque ในผู้ป่วย AD AChE และ BuChE จะสะสมอยู่ใน amyloid plaques และสามารถพบใน neurofibrillary tangles ด้วย การเพิ่มขึ้นของ BuChE มีความเกี่ยวข้องกับการเกิด plaque ที่ cortical และ neocortical การศึกษาทาง tissue culture พบว่าเมื่อมีการเพิ่มของ BuChE ที่ β จะมีผลเพิ่มความเป็นพิษของ β ซึ่งนี่ก็เป็นเหตุผลหนึ่งที่สำคัญในการรักษา AD ด้วยการยับยั้งเอนไซม์ BuChE ด้วย นอกจากนี้ทั้ง AChE และ BuChE มีความสัมพันธ์กับความหนาแน่น และพยาธิสภาพของ plaque จึงมีการแนะนำในยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 2 ตัว

การศึกษาในระดับ gene พบตัวแปรที่สำคัญใน BuChE ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับความไวในการดำเนินไปของ AD ในการศึกษาทาง histopathologically ในผู้ป่วย AD ที่มีอายุมากกว่า 65 ปี จะช่วยยืนยันถึงการมี BuChE-K ในผู้ป่วย AD ที่มากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็น AD หรือผู้ป่วยที่มีภาวะ dementia ความเกี่ยวข้องกันของ BuChE-K กับ late-onset AD จะจำกัดในผู้ที่มี gene apolipoprotein E4 ในเบื้องต้นเชื่อว่า การมี BuChE-K กับ ApoE4 จะเพิ่มความไวในการเกิด late-onset AD และก็เป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่สนับสนุนบทบาทของ BuChE ในการดำเนินไปของ AD

จากงานวิจัยของ Guillozer A.L. และคณะแสดงให้เห็นว่า BuChE อาจมีส่วนร่วมในการเปลี่ยนสภาพของ β จาก benign form เป็น malignant form โดยจะพบ BuChE ในสมองส่วน cortex ของผู้ป่วย AD

โคลีนเอสเตอเรสสายพันธุ์มนุษย์ของสารอนุพันธุ์คูมาริน

มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งกลไกการเกิดยังไม่ทราบแน่ชัด BuChE จะถูกพบใน plaques และเป็นตัวแปรสำคัญในการเปลี่ยนสภาพเป็น compact plaques โดยในช่วงที่เป็น diffuse plaques จะไม่มีการเพิ่มของ BuChE ในขณะที่ช่วงที่เป็น compact plaques จะมีการเพิ่มของ BuChE อาจเป็นไปได้ว่า BuChE อาจจะมีส่วนร่วมในการเปลี่ยนสภาพจาก diffuse plaques เป็น compact plaques ซึ่งการเปลี่ยนสภาพดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมของเส้นประสาทและสมอง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีสัดส่วนการทำงานของ BuChE ใน amyloid plaques ในผู้ป่วย AD สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เป็น AD แต่กลไกในการเกิดยังคงไม่สามารถเข้าใจได้ รวมถึงกลไกในการ hydrolyse enzyme ก็ยังไม่ทราบแน่ชัด ทราบแค่เพียงว่า BuChE อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 ถูกสร้างขึ้นมาจากตับ และอาจมีบทบาทในการเข้าไปรวมอยู่ใน amyloid plaques ทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพจาก diffuse form เป็น compact form หรือ nonneuritic stage เป็น neuritic stage นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของ BuChE จะส่งผลให้เกิดการพัฒนาของ amyloid neuritic plaques และ neurofibrillary tangles แสดงว่าการมี BuChE ที่สามารถทำงานได้มากจะเป็นอันตรายต่อสมอง