

اللهم لا تحرمنا

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه دامغان

دانشکده زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد بافت شناسی و جنین شناسی

تأثیر پیوند داخل وریدی سلول‌های بنیادی چربی بر تکثیر سلول‌های هیپوکمپ و حافظه فضایی در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی تیمار شده با عصاره برگ رزماری

توسط:

سیده نرجس هاشمی راد

استاد راهنما:

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی

استادان مشاور:

دکتر محمد تقی قربانیا

دکتر کتانه ابراری

مهر ماه ۱۳۹۲

به نام خدا

تأثیر پیوند داخل وریدی سلول‌های بنیادی چربی بر تکثیر سلول‌های هیپوکمپ و
حافظه فضایی در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی تیمار شده با عصاره برگ
رزماری

توسط:

سیده نرجس هاشمی راد

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به‌عنوان بخشی
از فعالیت‌های لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

زیست‌شناسی (بافت‌شناسی و جنین‌شناسی)
از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تایید شده توسط کمیته داوران با درجه: عالی

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی استادیار رشته علوم تشریح دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان (استاد راهنما)

دکتر محمدتقی قربانیان استادیار رشته علوم تشریح گرایش بافت و جنین‌شناسی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه
دامغان (استاد مشاور)

دکتر کتانه ابراری استادیار رشته فیزیولوژی گرایش فیزیولوژی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان (استاد مشاور)

دکتر لیلی حاتمی، استادیار علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی شاهرود (استاد داور)

دکتر سید حسن پای لاهی، استادیار ژنتیک مولکولی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر وحید پوزش استادیار رشته زیست‌شناسی گرایش علوم گیاهی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان

(نماینده تحصیلات تکمیلی)

مهرماه ۱۳۹۲

تقدیم به خوب‌ترین جاودانه‌های جهان، آنانی که در فروسه‌ترین دشواری‌ها و در گرانبارترین نومی‌ها، یادشان و

عشقشان به دل خسته‌ام نیروی فزاینده بخشید

تقدیم به استوارترین حامیان زندگیم

پدر و مادر مهربانم

و تقدیم به خواهر و برادر عزیزم

فاطمه و محمد مهدی

پاسکزاری

الهی تو را سپاس می گویم که بی بیچ چشم داشتی از بندگانت و با کرامت بی اتیاهت هر روز می بخشی و می بخشی. انجالی.
از صمیم قلب پاسکزارم از خانواده می عزیزم که امروز را میون سال ما مهر و عشق بی دروغشان، ستم و آنچه امروز
به دستشان می سپارم تحفه ای است ناچیز.

بدین ترتیب مراتب سپاس و قدر دانی خود را از استادانه های فاضل و فرزانه ام سرکار خانم دکتر مریم حاجی قاسم
کاشانی که همواره بار، نمودهای ارزشمند خویش راه گشای این کار بودند، ابراز می دارم.
از اساتید کرامت قدر جناب آقای دکتر محمد تقی قربانیان و سرکار خانم دکتر کتانه ابراری، که با دیدی عالمانه زحمات
مشاوره ای این پایان نامه را بر عهده داشتند. همچنین از سرکار خانم دکتر حاتمی و جناب آقای دکتر پای لاهی که
زحمات داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر و پاسکزاری را دارم و از نمانده محترم تحصیلات
تکمیلی جناب آقای دکتر پوزش صمیمانه پاسکزارم.

چکیده

تأثیر پیوند داخل وریدی سلول‌های بنیادی چربی بر تکثیر سلول‌های هیپوکمپ و حافظه فضایی در
موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی تیمار شده با عصاره برگ رزماری

به وسیله‌ی

سیده نرجس هاشمی راد

زمینه و هدف: دوپامین ترشح شده در مسیر مزولیمبیک با تحریک نورون‌زایی و شکل‌گیری سیناپس در هیپوکمپ، بر روی حافظه موقعیت یابی فضایی و یادگیری تأثیر می‌گذارد. عصاره رزماری با اثر آنتی‌اکسیدانتی و آنتی‌آپوپتوتیکی، از نورون‌های دوپامینرژیک در مقابل نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) محافظت می‌کند. سلول‌های بنیادی از نورون‌های دوپامینرژیک در محیط‌های *in vivo* و *in vitro* محافظت می‌کنند، قادرند به محل آسیب مهاجرت کرده و به سلول‌های استرومایی مغز تمایز یابند. در این تحقیق اثر درمانی سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی (ADSC) و عصاره برگ رزماری بر نورون‌زایی هیپوکمپ و اختلال حافظه در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی ضایعه دیده با ۶-هیدروکسی دوپامین مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: مناطق بخش متراکم جسم سیاه SNC با تزریق دو طرفه 6-OHDA به میزان ۶ میکروگرم، در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستاردچار آسیب شد و سپس به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم شدند: به دو گروه، به ترتیب عصاره رزماری با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (عصاره) و آب مقطر (آب) یک بار در روز و به صورت گاوآژ تجویز شد. طول دوره درمان ۱۴ روز قبل و ۸ هفته پس از ضایعه بود. گروه‌های سلول و α -mem، به ترتیب با پاساژ چهارم سلول‌های ADSC و نشان دار شده با BrdU (1×10^6 سلول در ۵۰ میکرولیتر محیط کشت) و محیط کشت به جای سلول از طریق ورید دمی تیمار شدند. گروه پنجم موش‌های آسیب دیده بدون تیمار بودند (آسیب). یک گروه هم به عنوان شم در نظر گرفته شد که به آن‌ها، نرمال سالین به جای نوروتوکسین تزریق شد. پس از پایان طول درمان، حافظه فضایی با آزمون ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. سپس مغزها خارج شد و با رنگ آمیزی کریزل ویوله، ایمنوهیستوشیمی آنتی BrdU و آنتی GFAP مورد بررسی بافتی قرار گرفت.

یافته‌ها: آنالیز واریانس یک طرفه کاهش معنی داری را در زمان رسیدن به سکو و مدت زمان سپری شده در ربع هدف در گروه‌های تیمار شده با سلول و عصاره در مقایسه با گروه‌های آسیب، آب و α -mem نشان داد، که دلالت بر افزایش حافظه فضایی دارد. از سویی مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در یک مدت زمان ثابت تفاوت معنی داری را در کل گروه‌ها نشان نداد، که نشان دهنده عدم اختلال حرکتی در گروه‌هاست. یافته‌های حاصل از شمارش سلول با رنگ آمیزی کریزل، نشان دهنده افزایش معنی دار تعداد سلول‌های گرانولار و پیرامیدال در نواحی CA1، DG، و CA3 در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه‌های آسیب، آب و α -mem می‌باشد ($P < 0.05$). همچنین سلول‌های نشان دار شده با BrdU در مناطق مختلف مغز رویت گردید، بنابراین سلول‌های پیوندی توانسته‌اند از سدخونی مغزی عبور کنند و اثر بهبودی در اختلال حافظه نشان دهند. سلول‌های GFAP مثبت، در مناطق هیپوکمپ در گروه‌های تیمار و شم نسبت به گروه‌های آسیب، آب و α -mem کاهش یافت، احتمالاً آستروسیت‌ها در پاسخ به آسیب به نورون‌ها تمایز پیدا کردند. نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی عصاره رزماری و پیوند سلول‌های ADSC با تحریک نورون‌زایی و اثر نوروپروتکتیو آستروسیت‌ها، اختلال حافظه را در موش‌های مدل پارکینسونی بهبود بخشید. کلید واژه‌ها: عصاره برگ رزماری، سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی، هیپوکمپ، حافظه، آستروسیت‌ها.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته
۲	۱-۱ بیماری پارکینسون.....
۲	۲-۱-۱ علائم بیماری پارکینسون.....
۳	۳-۱-۱ عوامل ایجاد کننده بیماری پارکینسون.....
۴	۲-۱ نقش دوپامین در اختلالات شناختی پارکینسون.....
۵	۱-۲-۱ ارتباطات عصبی دوپامینی با بخش های مختلف مغز.....
۷	۲-۲-۱ ارتباط دوپامین و حافظه.....
۸	۳-۱ آناتومی هیپوکمپ.....
۹	۱-۳-۱ تشکیلات هیپوکمپ.....
۱۰	۲-۳-۱ ارتباطات عصبی هیپوکمپ.....
۱۱	۴-۱ تأثیر نورون زایی هیپوکمپ در یادگیری و حافظه.....
۱۳	۵-۱ پارکینسون و روش های درمان.....
۱۵	۶-۱ گیاه رزماری.....
۱۶	۷-۱ سلول درمانی.....
۱۷	۱-۷-۱ سلول های بنیادی.....
۱۸	۲-۷-۱ سلول های بنیادی جنینی.....
۱۹	۳-۷-۱ سلول های بنیادی بالغ.....
۲۰	۱-۳-۷-۱ سلول های بنیادی مزانشیمی.....
۲۱	۸-۱ مغز استخوان.....
۲۲	۱-۸-۱ سلول های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان.....
۲۳	۹-۱ بافت چربی.....
۲۴	۱-۹-۱ سلول های بنیادی مشتق شده از چربی.....
۲۵	۱۰-۱ مقایسه BMSC و ADSC.....
۲۶	۱۱-۱ بیولوژی آستروسیت ها.....
۲۷	۱-۱۱-۱ انواع آستروسیت.....
۲۷	۲-۱۱-۱ آستروسیت و بیماری نورودژنراتیو.....

۲۹.....	۳-۱۱-۱ مارکر شناسایی آستروسیت.....
۲۹.....	۱۲-۱ مدل آزمایشگاهی بیماری پارکینسون در موش صحرایی.....
۳۰.....	۱۳-۱ روش‌های عملی مطالعه یادگیری و حافظه فضایی.....
۳۰.....	۱-۱۳-۱ ماز آبی موریس.....
۳۱.....	۱۴-۱ ضرورت انجام تحقیق.....

فصل دوم مواد و روش‌ها

۳۴.....	۱-۲ تهیه و نگهداری حیوانات مورد آزمایش.....
۳۴.....	۲-۲ گروه‌های مورد مطالعه.....
۳۵.....	۳-۲ ایجاد موش‌های صحرایی مدل اختلال حافظه پارکینسونی با استفاده از 6-OHDA.....
۳۷.....	۴-۲ آزمون رفتاری ماز آبی موریس.....
۳۸.....	۵-۲ استخراج و کشت سلول.....
۳۸.....	۱-۵-۲ پاساژ سلولی.....
۳۹.....	۲-۵-۲ نشان دار کردن سلول با BrdU و آماده سازی برای تزریق.....
۳۹.....	۳-۵-۲ طرز تهیه α -MEM و ده درصد سرم جنین گاوی.....
۴۰.....	۶-۲ گاوآذ عصاره رزماری.....
۴۰.....	۷-۲ بررسی‌های بافتی و ایمنوهیستوشیمی.....
۴۰.....	۱-۷-۲ تثبیت بافت.....
۴۳.....	۲-۷-۲ رنگ آمیزی کرزیل و یوله.....
۴۴.....	۳-۷-۲ روش شمارش سلولی.....
۴۵.....	۴-۷-۲ مطالعه ایمنوهیستوشیمی.....
۴۵.....	۱-۴-۷-۲ ایمنوهیستوشیمی تیروزین هیدروکسیلاز و BrdU.....
۴۹.....	۲-۴-۷-۲ ایمنوهیستوشیمی GFAP.....
۵۱.....	۸-۲ روش آماری.....

فصل سوم نتایج

۵۳.....	۱-۳ نتایج مطالعه رفتاری.....
۵۳.....	۱-۱-۳ نتایج روزهای آموزش قبل از ایجاد مدل.....
۵۵.....	۳-۱-۳ نتایج روزهای آموزش بعد از ایجاد مدل.....
۵۷.....	۵-۱-۳ نتایج روزهای آموزش چهار هفته بعد از ایجاد مدل.....
۵۹.....	۷-۱-۳ نتایج روزهای آموزش هشت هفته بعد از ایجاد مدل.....

- ۹-۱-۳ یافته‌های آزمون به خاطر آوری..... ۶۱
- ۱۵-۱-۳ مقایسه دو گروه سلول و عصاره در هفته ۴ و ۸ بعد از آسیب..... ۶۸
- ۲-۳ ارزیابی بافتی و ایمنوهیستوشیمی..... ۷۰
- ۱-۲-۳ تأیید تخریب نورون‌های دوپامینرژیک با استفاده از ایمنوهیستوشیمی تیروزین هیدروکسیلاز..... ۷۰
- ۲-۲-۳ رنگ آمیزی کریزل ویوله از مقاطع کرونال هیپوکمپ..... ۷۱
- ۵-۲-۳ ایمنوهیستوشیمی آنتی BrdU..... ۷۷
- ۷-۲-۳ ایمنوهیستوشیمی آنتی GFAP..... ۷۹

فصل چهارم بحث و نتیجه گیری

- بحث و نتیجه گیری..... ۸۴
- منابع..... ۹۶

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱ مقطع هیپوکمپ موش صحرایی که در آن نواحی مختلف ساییکولوم و شکنج دندانهای نشان داده شده.....	۹
شکل ۱-۲ (A) جراحی حیوان پس از ایجاد مدل پارکینسونی. (B) مقاطع کرونال با ضخامت ده میکرومتری در محل تزریق نوروتوکسین 6-OHDA در منطقه جسم سیاه مغز میانی.....	۳۷
شکل ۲-۲ دستگاه میکروتوم روتاری.....	۴۲
شکل ۱-۲-۳ تأیید تخریب نورون‌های دوپامینرژیک با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمی تیروزین هیدروکسیلاز.....	۷۰
شکل ۲-۲-۳ رنگ آمیزی کریزل ویوله از برش‌های منطقه شکنج دندانهای.....	۷۱
شکل ۳-۲-۳ رنگ آمیزی کریزل ویوله از برش‌های منطقه CA1.....	۷۲
شکل ۴-۲-۳ رنگ آمیزی کریزل ویوله از برش‌های منطقه CA3.....	۷۳
شکل ۵-۲-۳ تصویر فاز کنتراست سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی در پاساژ چهارم (A) که در آن سلول‌ها با مورفولوژی دوکی، پهن و زوائد سیتوپلاسمی مشاهده می‌شوند. (B) سلول‌های نشان دار شده با BrdU. (C) فاز کنتراست سلول‌های مشتق شده از چربی با بیان مثبت مارکر CD۷۱. (D) سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی با بیان مثبت مارکر CD۷۱. (E) فاز کنتراست سلول‌های مشتق شده از چربی با بیان مثبت مارکر CD۹۰. (F) سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی با بیان مثبت مارکر CD۹۰.....	۷۸
شکل ۶-۲-۳ تصاویر ایمنوهیستوشیمی مغز موش‌های صحرایی که به BrdU پاسخ مثبت نشان دادند... ۷۹	۷۹
شکل ۷-۲-۳ تصاویر ایمنوهیستوشیمی سلول‌های GFAP مثبت در ناحیه شکنج دندانهای با استفاده از آنتی بادی رودامین.....	۸۰

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱ بیان مارکرهای CD در سطح سلول‌های ADSC در پاساژ ۴ و ۲۰	۲۵
نمودار ۱-۱-۳ مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو قبل از ایجاد مدل	۵۴
نمودار ۲-۱-۳ مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو قبل از ایجاد مدل	۵۵
نمودار ۳-۱-۳ مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو بعد از ایجاد مدل	۵۶
نمودار ۴-۱-۳ مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو بعد از ایجاد مدل	۵۷
نمودار ۵-۱-۳ مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو چهار هفته بعد از ایجاد مدل	۵۸
نمودار ۶-۱-۳ مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو چهار هفته بعد از ایجاد مدل	۵۹
نمودار ۷-۱-۳ مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو هشت هفته بعد از ایجاد مدل	۶۰
نمودار ۸-۱-۳ مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو هشت هفته بعد از ایجاد مدل	۶۱
نمودار ۹-۱-۳ کل مسافت طی شده برای یافتن سکو در مرحله آزمون به خاطرآوری چهار هفته بعد از ایجاد مدل	۶۲
نمودار ۱۰-۱-۳ کل مسافت طی شده برای یافتن سکو در مرحله آزمون به خاطرآوری هشت هفته بعد از ایجاد مدل	۶۳
نمودار ۱۱-۱-۳ میانگین مدت زمان طی شده برای یافتن سکو در آزمون به خاطرآوری چهار هفته بعد از ایجاد مدل	۶۴
نمودار ۱۲-۱-۳ میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو در آزمون به خاطرآوری هشت هفته بعد از ایجاد مدل	۶۵
نمودار ۱۳-۱-۳ مقایسه درصد زمان حضور در ربع هدف در مرحله آزمون به خاطرآوری چهار هفته بعد از ایجاد مدل	۶۶
نمودار ۱۴-۱-۳ مقایسه درصد زمان حضور در ربع هدف در مرحله آزمون به خاطرآوری هشت هفته بعد از ایجاد مدل	۶۷
۱۵-۱-۳ مقایسه مدت زمان رسیدن به سکو در دو گروه سلول و عصاره	۶۸
۱۶-۱-۳ مقایسه زمان حضور در ربع هدف در دو گروه سلول و عصاره	۶۹
۱-۲-۳ تأثیر پیوند سلول و عصاره رزماری بر تراکم نوروها در منطقه شکنج دندانه‌ای	۷۴

- ۲-۲-۳-۱ تأثیر پیوند سلول و عصاره رزماری بر تراکم نورون‌ها در منطقه CA1 ۷۵
- ۲-۲-۳-۱ تأثیر پیوند سلول و عصاره رزماری بر تراکم نورون‌ها در منطقه CA3 ۷۶
- ۲-۲-۳-۱ تعداد سلول‌های آستروسیت در منطقه شکنج دندانه‌ای ۸۱
- ۲-۲-۳-۱ تعداد سلول‌های آستروسیت در منطقه SGZ ۸۲

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱- بیماری پارکینسون

بیماری پارکینسون (PD) برای اولین بار توسط جمیز پارکینسون در سال ۱۸۱۷ به عنوان یک سندرم توصیف شد، این بیماری دومین بیماری تحلیل رونده عصبی^۱ بعد از آلزایمر است [۱]. مشخصه بارز این بیماری از نظر پاتولوژی تخریب تدریجی نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه^۲ (SNc) می‌باشد که منجر به کاهش سطح دوپامین در نئواستریاتوم می‌گردد. علت این دژنراسیون انتخابی نورون‌های دوپامینرژیک در PD به طور کامل شناخته شده نیست اما از نظر فیزیوپاتولوژی عواملی مانند استرس اکسیداتیو، عملکرد نادرست میتوکندری و سمیت‌های خارج سلولی به عنوان علت‌هایی در این بیماری هستند [۲]. در خصوص مکانیسم‌های پاتولوژیک و علت مرگ سلول‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه فرضیات متعددی از قبیل نقص کمپلکس I میتوکندریایی مربوط به زنجیره انتقال الکترون، تجمع آهن، اختلال عملکرد سیتوکروم کبدی P۴۵۰ و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد مطرح است. تقریباً در حدود ۷۰٪ نورون دوپامینی در این بیماری از دست رفته است، PD نوعی بیماری تحلیل رونده عصبی است که تقریباً ۱-۲٪ جمعیت بالای ۵۵ سال را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۳]. ۱.۷ میلیون از جمعیت ایالات متحده آمریکا مبتلا به این بیماری هستند و تقریباً ۷۰ هزار مورد در هر سال شناسایی می‌شود، علت اصلی این بیماری تخریب نورون دوپامینرژیک در SNc می‌باشد.

عواملی همچون سن بالا، قرارگیری در معرض توکسین‌های محیطی باعث کاهش دوپامین در مسیر نیگرواستریاتال^۳ می‌شوند [۴]. در چین شیوع این بیماری در مردها ۱.۷٪ و در زنان ۱.۶٪ در سن ۶۵ سال به بالاست [۴، ۵].

۱-۱-۲- علائم بیماری پارکینسون

حرکات به وسیله نوروترنسمیتر دوپامین یک ماده شیمیایی که سیگنال‌هایی بین اعصاب در مغز را حمل می‌کند کنترل می‌شود زمانی که نورون‌های تولید کننده دوپامین آسیب می‌بینند یا می‌میرند علائم بیماری PD ظاهر می‌گردد که از علائم حرکتی می‌توان به لرزش هنگام

1. Degenerative neurological
2. Substantianigra parscompacta
3. Nigrostriatal

استراحت^۱ سفتی عضلات^۲، کندی حرکات^۳ و از علائم غیر حرکتی آن به اختلالات خواب، یبوست، bladder urgency اشاره نمود [۶]. همچنین تخریب نورون‌های دوپامینی باعث ایجاد دامنه وسیعی از اختلالات روانشناختی خواهد شد که این اختلالات را می‌توان در بیماری‌هایی مثل پارکینسون، اسکیزوفرنیا و (ADHA)^۴ مشاهده نمود [۷].

۱-۱-۳- عوامل ایجاد کننده بیماری پارکینسون

الف) تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در مسیر نیگرواستریاتال یکی از عوامل ایجاد کننده PD است [۸].

ب) کاهش و تخریب نورون‌های نورآدرنرژیک واقع در لوکوس سرولئوس^۵ و هسته دورسال واگال^۶، نورون‌های سروتونرژیک دورسال رافه و نورون‌های کولینرژیک جسم سیاه و هسته پلی پایه‌ای [۹].

ج) تشکیل انکلوژیون‌های رشته‌ای داخل سلولی در نورون‌های دوپامینرژیک که اجسام لوئی (Lower body) نامیده می‌شود، در واقع این اجسام تجمعات پروتئینی غیر طبیعی از جمله آلفا-سینکولین است که در نورون دوپامینرژیک دیده می‌شود [۱۰].

د) فاکتورهای محیطی و ژنتیکی

توکسین‌های آگزوزن و اندوزن از جمله فاکتورهای محیطی هستند که خطر ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهند. سموم دفع آفات مثل روتنون^۷، مواد شیمیایی صنعتی، مصرف سیگار، قهوه، کافئین، مونوکسید کربن و کربن دی سولفید به عنوان توکسین‌های آگزوزن می‌باشند [۱۱].

از توکسین‌های اندوزن می‌توان به ۱،۲،۳،۶-متیل-فنیل-تتراهیدروپیریدین^۸ (MPTP) و ۶-هیدروکسی دوپامین^۹ (6-OHDA) اشاره نمود. MPTP یک آنالوگ پیریدینی^{۱۰} می‌باشد. MPTP یک نوروتوکسیک مخرب بوده و در ایجاد مدل‌های پارکینسونی استفاده می‌شود. MPTP دارای خاصیت لیپوفیلیک بوده و به سرعت از سد خونی مغزی عبور می‌کند، در سلول

1. Resting tremor
2. Rigidity
3. Bradykinesia
4. Attention Deficit Hyperactivity Disorder
5. Locus ceruleus
6. Dorsal vagal
7. Rotenone
8. 1,2,3,6-methyl-phenyl-tetrahydropyridine
9. 6-hydroxydopamine
10. Meperidine

های غیر دوپامینی MPTP به MPDP به وسیله مونوآمین اکسیداز B تبدیل می‌شود و سپس به طور خود به خود به (MPP) ۴ فنیل پری نیدیم، اکسید می‌شود استفاده از MPTP خطر جدی را نشان می‌دهد به دلیل این که می‌تواند از طریق جذب، استنشاق و فروبردن وارد بدن انسان شود [۱۲-۱۵].

6-OHDA یکی از نوروتوکسین‌های معمول در ایجاد مدل‌های تخریب عصبی استفاده می‌شود. 6-OHDA فعالیت گلوتاتیون استریاتال (GSH) و سوپر اکسید دسموتاز (SOD) را کاهش می‌دهد و سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد سوپراکسید می‌گردد. به دلیل این که 6-OHDA از سد خونی مغزی عبور نمی‌کند مستقیماً "به مناطقی از مغز مانند جسم سیاه، بخش میانی مغز پیشین و جسم مخطط تزریق می‌شود. به دنبال تزریق 6-OHDA به جسم سیاه یا بخش میانی مغز پیشین، نورون‌های دوپامینرژیک در مدت ۱۲ ساعت تخریب شده و سطح دوپامین جسم مخطط کاهش می‌یابد [۱۶].

۱-۲- نقش دوپامین در اختلالات شناختی پارکینسون

دوپامین به عنوان یک نوروترانسمیتر در مغز عمل می‌کند که به وسیله سلول‌های عصبی آزاد شده، و سیگنال‌هایی به سلول‌های عصبی دیگر می‌فرستد، این نوروترانسمیتر نقش مهمی در کنترل رفتارهای عاطفی، پاداش، شناخت و حرکت دارد. Brozoski و همکارانش در سال ۱۹۷۹ نشان دادند کاهش کاتکول آمین‌های بخش پشتی-طرفی کورتکس پری فرونتال به حافظه فضایی آسیب می‌رساند. نقش هر دو نوروترانسمیتر دوپامین و اپی‌نفرین بر عملکرد قشری پری فرونتال ضروری‌اند و سبب هماهنگی در وضعیت شناخت، انگیزه می‌گردند [۱۷].

نورون‌های دوپامینرژیک بر اساس سه معیار تعریف می‌شوند:

الف) ویژگی ساختار سلولی^۱ که به وسیله رنگ آمیزی غیر اختصاصی مثل رنگ آمیزی نیسل مشاهده می‌شود.

ب) فنوتیپ دوپامینرژیک نورون‌ها .

ج) سازماندهی نورون‌های دوپامینرژیک در بخش‌های پشتی و شکمی مغز میانی [۱۸].

نورون‌های دوپامینرژیک عمدتاً^۱ در دیانسفالون^۱، مزنسفالونون^۲، پیاز بویایی^۳ قرار دارند تقریباً ۹۰٪ کل نورون‌های دوپامینرژیک مغز در بخش شکمی مزنسفالون مستقرند [۱۹].

۱-۲-۱- ارتباطات عصبی نورون‌های دوپامینی با بخش‌های مختلف مغز

۱) مزولیمبیک: در بخش داخلی سیستم نیگرواستریاتال قرار دارند، به طوری که نورون‌های دوپامینرژیک در ناحیه‌ی شکمی تگمنتوم^۴ (VTA) خروجی‌هایی به هسته‌های آکومبنس^۵، آمیگدال، برجستگی بویایی، سپتوم^۶ و هیپوکمپ می‌فرستند. این خروجی‌ها، سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک را تشکیل می‌دهند [۲۰].

۲) نیگرواستریاتال: نورون‌های گروه A^۹ که در جسم سیاه واقعند، خروجی‌هایی به بخش پشتی جسم مخطط (هسته دم‌دار^۷ و پوتامن^۸) می‌فرستند. این سیستم در کنترل حرکات ارادی نقش دارد.

۳) مزوکورتیکال: شامل نورون‌های دوپامینرژیک بخش داخلی VTA است که خروجی‌هایی به لوب‌پری‌فورتال و شکنج سینگولی^۹ می‌فرستند. سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک و مزوکورتیکال با یکدیگر مرتبطند و سیستم مزوکورتیکولیمبیک را تشکیل می‌دهند. نورون‌های دوپامینرژیک VTA در سیستم مزوکورتیکولیمبیک شرکت می‌کنند و در رفتارهای عاطفی هم‌چون پاداش و ایجاد انگیزه نقش دارند.

۴) هسته‌های اطراف بطن^{۱۰}: گروه سلول‌های A^{۱۱} شامل نورون‌های دوپامینی که در نواحی سوپرا فاسیکولار^{۱۱} و مناطق اطراف بطن گسترش یافته‌اند.

۵) نورون‌های دوپامینی مسیر اینسرتوهیپوتالامیک^{۱۲}: گروه سلولی A^{۱۳} در بخش داخل

-
1. Diencephalon
 2. Mesencephalon
 3. Olfactory Bulb
 4. Ventral tegmental area
 5. Nucleus Accumbens
 6. Septum
 7. Caudate
 8. Putamen
 9. Cingulat gyrus
 10. Periventricular nuclei
 11. Suprafascicular
 12. Incertohypothalamic pathway

اینسرتا^۱ که خروجی‌هایی به مناطق جلویی، پشتی و پشتی-میانی^۲ هیپوتالاموس می‌فرستند. (۶) نورون‌های دوپامینی توبرو هیپوفیزیال^۳ مشابه هسته‌های قوسی هیپوتالاموس^۴ (گروه سلول-های A۱۲) و هسته‌های اطراف بطن (گروه سلول‌های A۱۴) می‌باشند، این نورون‌ها خروجی-هایی به لوب حدواسط و برجستگی میانی^۵ هیپوفیز می‌فرستند. (۷) نورون‌های دوپامینی پری گلومولار (گروه سلول‌های A۱۶)، از پیاز بویایی به دندریته‌های سلول‌های میترال در نواحی گلومرول اتصال دارند. (۸) نورون‌های بین شبکه‌ای آماکین مانند سلول‌های A۱۷ در داخل بخش پروگزیمال و لایه-های خارجی شبکه^۶ چشم وجود دارند [۲۱].

دوپامین یک نوروترنسمیتر کاتاکول آمین مهم در مهره داران و بی مهره داران می‌باشد. دوپامین به وسیله نورون‌های دوپامینرژیک و رسپتورهای خاص خود که در اکثر سلول‌های مغز یافت می‌شوند، منتشر می‌گردد. نقص سیستم دوپامینرژیک سبب رنج وسیعی از شرایط نورولوژیکال در انسان می‌شود، دوپامین از طریق میانکنش با رسپتورهایش عمل می‌کند که رسپتورهای دوپامین به ۲ گروه اصلی تقسیم می‌شوند که شامل خانواده D۱ (D۱ و D۵) و خانواده D۲ (D۲، D۳، D۴) می‌باشد [۲۲، ۲۳].

رسپتورهای دوپامینی در مکان‌هایی چون کلیه، سیستم عروقی، غده، حضور دارند و عمدتاً روی اعمالی چون هموستاز سدیم، تون عضلانی و ترشح هورمون تأثیر می‌گذارند. به طوری که رسپتورهای D۲ در بخش حسی- حرکتی^۷ جسم مخطط هستند، رسپتورهای D۳ در نواحی لیمبیک قرار دارند. نقص در رسپتورهای دوپامینی نقش مهمی در اختلالات Attention Deficit Hyperactivity Disorder، افزایش فشار خون ژنتیکی و اعتیاد دارد [۲۴].

-
1. Inserta
 2. dorsomedial
 3. tubero-hypophysial
 4. arcuate
 5. median eminence
 6. Retina
 7. Sensory-motor

۱-۲-۲- ارتباط دوپامین و حافظه

بسیاری از روانشناسان و نورولوژیست‌ها عقیده دارند که هیپوکمپ نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه جدید در مورد رویدادهای مشاهده شده دارد و این ناحیه از مغز غنی از گیرنده‌های دوپامینی در سلول‌های گلیال، به ویژه آستروسیت‌ها می‌باشد. افزایش دوپامین در یادگیری نقش دارد که به موجب آن افزایش^۱ LTP را در پی دارد [۲۵]. همان‌طور که سیستم دوپامین در یادگیری رفتار نقش دارد، در فعالیت‌های وابسته به شکل‌پذیری سیناپس نیز نقش دارد.

به‌طوری که اختلال در سیستم دوپامینرژیک کورتکس پری‌فرونتال یا هیپوکمپ منجر به اختلالات یادگیری رفتار وابسته به هدف خواهد شد و همچنین حافظه کوتاه مدت و بلند مدت را در خزندگان و پریمات‌های غیر انسان مختل می‌کند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که درمان مزمن و طولانی مدت با بروموکریپتین که آگونیست گیرنده D₂ است باعث دقیق شدن حافظه کاری و بهبود حافظه فضایی از طریق افزایش سیناپس‌ها می‌گردد [۲۶].

مطالعات آناتومیکی نشان می‌دهد که ارتباطات عصبی بین هسته‌های قاعده‌ای، قشر مخ و تالاموس وجود دارد، از طرفی نیز این هسته‌ها و نواحی قشری به طور غیر مستقیم با یکدیگر در ارتباطند. مناطق حسی- حرکتی و شناختی در جسم مخطط بر اساس ارتباطاتی که با قشر مخ دارند از هم متمایز می‌گردند [۲۷]. نقص‌های شناختی در بیماری پارکینسون به دلیل نقص در عملکرد نوروهای دوپامینرژیک در داخل شبکه‌های عصبی بخش پشتی جسم مخطط و قشر فرونتال می‌باشد. نوروهای دوپامینرژیک در مناطق مختلف مغز از جمله سیستم نیگرواستریاتال و سیستم مزوکورتیکال حضور دارند. آکسون‌های نوروهای موجود در سیستم مزوکورتیکال به هسته آکومبنس و نواحی زیر قشری لیمبیک رفته و در رفتارهایی مانند تنبیه، پاداش و اعتیاد نقش ایفاء می‌کنند [۲۸].

عملکرد دوپامین به حضور رسپتورهای غشایی D₁ و D₂ وابسته است. این رسپتورها به G پروتئین‌های فعال متصل هستند، خانواده رسپتور D₁ (D₁ و D₅) با افزایش فعالیت آدنیلات سیکلاز در حالی که خانواده رسپتور D₂ (D₂، D₃ و D₄) با کاهش فعالیت همراه است. توزیع آناتومی رسپتورها نشان می‌دهد که نقش‌های عملکردی مختلفی دارند [۲۹].

دوپامین باعث ارتباط بین سلول‌های عصبی و همچنین بین سلول‌های عصبی و عضلانی می‌گردد. نقش مهم دوپامین، تشکیل حافظه طولانی مدت (LTP) می‌باشد. مطالعات زیادی

1. Long- term potentiation

تسهیل حافظه کاری را پس از مصرف آگونیست‌های گیرنده D₂ از جمله بروموکریپتین^۱ تأیید می‌کند، از طرفی آسیب حافظه کاری با مصرف آنتاگونیست‌های D₂ نیز مشاهده شده است. این امکان وجود دارد که تحریک گیرنده‌های D₁ و D₂ باعث بهبود حافظه کاری می‌گردد [۳۰].

در بیماری پارکینسون کاهش دوپامین در ابتدا در هسته پوتامن اتفاق می‌افتد، این هسته ارتباطاتی را از نواحی حرکتی قشر مخ دریافت می‌کند و هم‌چنین خروجی‌هایی به این نواحی می‌فرستد. بخش‌های دیگر جسم مخطط، هسته‌ی دمدار ورودی‌هایی از قشر پری فرونتال دریافت می‌کنند که ناحیه‌ای فعال در پردازش شناخت می‌باشد [۳۱]. هسته‌های دمدار خروجی‌هایی از بخش پشتی - طرفی قشر پری فرونتال دریافت می‌کند این ناحیه در حافظه کاری فضایی^۲ نقش دارد. فقدان دوپامین در جسم مخطط عامل ناتوانی دیداری - فضایی^۳ در PD می‌باشد. به طوری که کاهش دوپامین با نقص شناخت همراه بوده، بنابراین نقص در عملکرد جسم مخطط در اثر کاهش دوپامین منجر به تحریک نقص در پردازش اطلاعات فضایی می‌گردد [۳۲].

Goldman- Rakic بیان کردند ارتباطات متعدد سیناپسی بین قشر پری فرونتال و تشکیلات هیپوکمپ وجود دارد، این ارتباطات به یک ارتباط عملکردی متقابل در حافظه کاری دلالت دارد. به طوری که آسیب هیپوکمپ و ساختارهای وابسته به آن در موش، نقص‌های شدیدی در حافظه کاری فضایی ایجاد می‌کند که حافظه کاری فضایی به وسیله تجویز لودوپا بهبود می‌یابد [۳۳].

۱-۳- آناتومی هیپوکمپ

قشر مخ، ساختار توسعه یافته‌ای در مغز انسان است و نقش مهمی در عملکردهای مغز مانند هوشیاری، پردازش اطلاعات، زبان، حافظه و احساس دارد. نئوکورتکس ناحیه‌ای خارج از کورتکس است که شامل مناطق قشری لوب‌های فرونتال، پاریتال، اکسی پیتال و تمپورال است هیپوکمپ یک ساختار دو طرفه است که در زیر نئوکورتکس و بر روی سطح میانی بخش قاعده ای لوب‌های تمپورال قرار دارد.

هیپوکمپ از آمیگدال به سمت سپتوم در امتداد لوب‌های تمپورال توسعه یافته است. قطب آمیگدال به سمت سپتوم در امتداد لوب تمپورال، قطب Septotemporal هیپوکمپ نامیده می‌شود.

1. Bromocriptine
2. Spatial Working Memory
3. visual_spatial_disability