

## **The role of potassium channels in the regulation of calcium spike configuration in the cerebellar Purkinje neurons**

**Haghdoost-Yazdi H<sup>1\*</sup>, Esmaeili M<sup>1</sup>, Sophiabadi M<sup>1</sup>, Azhdari-Zarmehri H<sup>1</sup>, Janahmadi M<sup>2</sup>**

1- Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I. R. Iran

2- Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran

Received May 25, 2010; Accepted August 18, 2010

### **Abstract:**

**Background:** Calcium spikes play important roles in the control of neuronal spontaneous activity. Cerebellar Purkinje neurons fire spontaneous calcium spikes. In this study, the role of potassium channels in the regulation of these spikes was studied.

**Materials & Methods:** Brain slices from the cerebellum of young rats were prepared and the Purkinje cells were visualized using an upright microscope. Using borosilicate micropipettes and Axoclamp 2B amplifier, intracellular recordings were taken from the cells. The role of different K<sup>+</sup> channels in the regulation of calcium spikes configuration was determined using different K<sup>+</sup> channels blockers and precise analysis of the recorded calcium spikes in the presence of blockers.

**Results:** Application of wide-range 4-aminopyridine and tetraethylammonium blockers increased duration and amplitude of afterhyperpolarization (AHP) of the calcium spikes and converted them from one-peak spike to two- or multiple-peaks spikes. Blockade of small conductance calcium dependent potassium channels increased duration of the spikes but had no effect on the AHP amplitude. Blockade of large conductance calcium dependent potassium channels increased duration of the calcium spikes and decreased the AHP amplitude.

**Conclusion:** Our results showed that properties of the calcium spikes in the cerebellar Purkinje neurons were largely controlled by different potassium channels, including calcium dependent types.

**Keywords:** Cerebellar Purkinje neurons, Multiple peaks calcium spikes, AHP, Calcium dependent potassium channels

**\* Corresponding Author.**

**Email:** hhaghdoost@yahoo.com

**Tel:** 0098 912 481 8325

**Fax:** 0098 281 332 4971

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Autumn, 2010; Vol 14, No 3, Pages 182-189*

# نقش کانال های پتانسیل های عمل کلسیمی در سلول های پورکنژ مخچه

هاشم حقدوست یزدی<sup>۱\*</sup>، محمد رضا اسماعیلی<sup>۱</sup>، محمد صوفی آبادی<sup>۱</sup>، حسن اژدری زرمه‌ری<sup>۱</sup>، مهیار جان احمدی<sup>۲</sup>

## خلاصه

سابقه و هدف: اسپاکهای کلسیمی نقش مهمی در کنترل فعالیت خود به خودی نورون‌ها ایفا می‌نمایند. سلول‌های پورکنژ مخچه به صورت خود به خودی اسپاکهای کلسیمی شلیک می‌نمایند. در این تحقیق، نقش کانال‌های پتانسیل های کلسیمی در شلیک این اسپاکها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی برش‌های مغزی از مخچه موش‌های صحرابی جوان تهیه گردید و سلول‌های پورکنژ با استفاده از میکروسکوپ upright مشاهده شدند. ثبت‌های داخل سلولی با استفاده از میکروپیپت‌های شیشه‌ای و آمپلی فایر Axoclamp 2B از این سلول‌ها به عمل آمد. با استفاده از مهار کننده‌های کانال‌های پتانسیل های کلسیمی مختلف و آنالیز دقیق اسپاکهای کلسیمی ثبت شده در حضور این مهار کننده‌ها، نقش کانال‌های پتانسیل های مختلف در تنظیم ویژگی‌های این اسپاکها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: کاربرد مهار کننده‌های عمومی ۴-آمینوپیریدین و تراالیت آمونیوم سبب افزایش دامنه، مدت زمان و دامنه هیپرپولاrizاسیون متعاقب (AHP) اسپاکهای کلسیمی شده و آن‌ها را از حالت تک قله‌ای به شکل چند قله‌ای تبدیل نمود. مهار کانال‌های پتانسیل های کلسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین، مدت زمان این اسپاکهای افزایش داد، ولی بردامنه AHP اثری نداشت. مهار کانال‌های پتانسیل های کلسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا علاوه بر افزایش مدت زمان اسپاکهای کلسیمی، دامنه AHP آنها را نیز کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهند ویژگی‌های اسپاکهای کلسیمی در سلول‌های پورکنژ مخچه به میزان زیادی تحت کنترل کانال‌های پتانسیل های مختلف از جمله انواع وابسته به کلسیم می‌باشد.

واژگان کلیدی: سلول‌های پورکنژ مخچه، اسپاکهای کلسیمی چند قله‌ای، هیپرپولاrizاسیون متعاقب، کانال‌های پتانسیل های کلسیمی وابسته به کلسیم  
فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹-۱۸۲، صفحات ۱۸۹-۱۸۲

حرکات پی در پی ویژه را شامل می‌شود، نقش دارد [۱]. این اندام به تنهایی بیش از نیمی از تمامی نورون‌های مغز را دارا بوده که در یک مدار به خوبی شناخته شده به نام واحد عملی (module) مخچه قرار می‌گیرند. در مرکز این مدار نورون‌های پورکنژ با درخت دندربیتی وسیع قرار می‌گیرند که ورودی‌های سیناپسی از فیرهای بالارونده و فیرهای موازی و همچنین چندین سلول بینایی دریافت کرده و به نوعه خود خروجی منحصر به فرد از قشر مخچه به سلول‌های هسته‌های عمقی مخچه را تشکیل می‌دهند. اختلال در عملکرد این نورون‌ها سبب بروز برخی اختلالات در کنترل حرکت و بروز بیماری‌هایی مانند آتاکسی می‌شود [۱-۶]. سلول‌های پورکنژ دارای فعالیت خود به خودی می‌باشند که به صورت شلیک پتانسیل‌های عمل سدیمی در موش‌های صحرابی نابالغ [۷-۹]، پتانسیل‌های عمل کلسیمی [۹-۸] و شلیک انفجاری شامل پتانسیل‌های عمل کلسیمی همراه با پتانسیل‌های عمل سدیمی در موش‌های صحرابی بالغ ظاهر می‌شود [۱۰-۸]. این فعالیت خود به خودی به طور عمده توسط خواص ذاتی غشاء تنظیم می‌شود و مهار ورودی‌های سیناپسی بر روی این فعالیت اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد [۷]. نشان داده شده است که دندربیت‌های

مقدمه مهمترین شکل پاسخ سلول‌های تحریک پذیر به تحریکات شلیک پتانسیل‌های عمل می‌باشد. این پتانسیل‌های عمل در نورون‌ها به طور عمده از نوع سدیمی می‌باشند؛ لکن در دهه اخیر مشخص شده است که برخی از نورون‌ها نوع دیگری از پتانسیل‌های عمل به نام پتانسیل‌های عمل یا اسپاکهای کلسیمی شلیک می‌نمایند. این اسپاکها از دندربیت‌ها منشا گرفته و در مقایسه با پتانسیل‌های عمل سدیمی مدت زمان بیشتری دارا می‌باشند. پتانسیل‌های عمل کلسیمی در تنظیم فعالیت خود به خودی، تحریک پذیری و پاسخ به ورودی‌های سیناپسی در نورون‌ها نقش مهمی ایفا می‌نمایند [۱-۶]. مخچه در کنترل بسیاری از اعمال حرکتی از جمله حرکاتی که نیاز به زمان بندی دقیق دارند، کنترل تعادل و وضعیت، برخی از اشکال بادگیری حرکتی و سازش رفلکسی و شماری از وظایف شناختی که برنامه ریزی و انجام

۱ استادیار، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۲ استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

\*نشان نویسنده مسؤول؛

قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی  
تلفن: ۰۹۱۲ ۴۸۱۸۳۲۵؛ دورنويسي: ۰۲۸۱ ۳۳۲۴۹۷۱

پست الکترونیک: hhaghdoost@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۷

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۹/۳/۴

(Burleigh Instruments Ltd, Harpenden, UK) سوپرفیوز می‌گردید. به منظور مهار جریان‌های سیناپسی، اسید کائینورنیک، مهار کننده جریانات گلوتاماتی سریع با غلظت ۱ میلی مولار [۲۲] و پیکروتوکسین، مهار کننده اختصاصی گیرنده‌های GABA نوع A با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۲۳] به محلول پر فیوزن اضافه می‌شد. سلول‌های پورکنتر بر اساس موقعیت، اندازه، شکل و درخت دندرتیتی شناسایی می‌شدند. ثبت داخل سلولی از جسم سلولی با استفاده از آمپلی فایر (Axon Instruments Inc., USA) AxoClamp 2B بrij (که ثبت کارتنت کلامپ را امکان پذیر می‌نماید) و با کمک میکروپیچه‌های شیشه‌ای با دیواره ضخیم و از جنس بروسیلیکات (WPI, 120F with inner filament) با مقاومت ۴۰-۸۰ مگاهم انجام می‌گردید. میکروپیچه‌ها با استفاده از یک پولر افقی (APP-1, 52500, Stoelting, USA) کشیده شده و با محلول ۳ KCl مولار پر می‌شدند.

اکتساب داده‌ها و آنالیز: ثبت‌ها در ۳۰ KHz فیلتر گردیده و با KHz (Powerlab ADInstrument A/D) در Chart ۴۰ رقمی شده و در یک رایانه IBM با کمک نرم افزار ویرایش ۵ (Powerlab ADInstrument) ذخیره می‌شدند. آنالیز داده‌ها با نرم افزار Chart صورت گرفت. به منظور بررسی نقش کانال‌های پتانسیمی اثر ۴ مهارکننده پتانسیمی ۴ آمینوپیریدین (IBTX) (AP, تتراتیل آمونیوم (TEA)، اپامین و ایبریوتوكسین (IBTX) در ۴ گروه مجزا از نوروون‌ها مورد بررسی قرار گرفت؛ به این صورت که پس از ورود الکترد به سلول و ثبت فعالیت الکتریکی آن برای حداقل ۲۰ دقیقه و پس از آن که مطمئن می‌شدیم فعالیت الکتریکی ثابت و پایدار است، داروی موردنظر به کار برد می‌شد. به منظور اطمینان از کلسیمی بودن پتانسیل عمل، کادمیم در یک گروه مجزا از نوروون‌ها اعمال گردید. نتایج به دست آمده پس از کاربرد دارو با نتایج به دست آمده قبل از اعمال دارو در همان نوروون مقایسه گردیده و با آزمون  $\chi^2$  جفتی مقایسه می‌شدند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده و  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته می‌شد. دامنه پتانسیل‌های عمل کلسیمی از قله تا انتهای هیپرپولاژیاسیون متعاقب سریع، مدت زمان آن از شروع پتانسیل عمل تا فاز رپولاژیاسیون و دامنه هیپرپولاژیاسیون متعاقب از ولتاژ شروع پتانسیل عمل تا انتهای هیپرپولاژیاسیون متعاقب سریع در نظر گرفته می‌شد.

مواد و داروها: TEA-4-AP با غلظت ۲ میلی مولار [۲۴]، اپامین با غلظت ۲۰۰ نانومولار، IbTX با غلظت ۱۰۰ نانومولار و کادمیم با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۱] به کار برد شدند. تماسی این داروها

سلول‌های پورکنتر پتانسیل‌های عمل کلسیمی ایجاد می‌نمایند که منشا اصلی فعالیت خود به خودی سلول‌های پورکنتر می‌باشد [۱۲، ۱۱]. این پتانسیل‌های عمل همچنین در تنظیم پاسخ سلول‌های پورکنتر به ورودی‌های سیناپسی نقش برجسته‌ای ایفا می‌نمایند [۱]. کانال‌های پتانسیمی دسته بزرگی از کانال‌های یونی می‌باشند که در تنظیم تحريك پذیری و فرکانس شلیک، تنظیم شکل و رپولاژیاسیون پتانسیل‌های عمل نقش مهمی ایفا می‌نمایند [۱۶-۱۳]. سلول‌های پورکنتر بسیاری از انواع این کانال‌ها را بیان می‌نمایند. نشان داده شده است این کانال‌ها در رپولاژیاسیون و تنظیم فرکانس شلیک نورون‌های پورکنتر سهم قابل توجهی دارا می‌باشند [۱۷-۲۱]. در این مطالعه با استفاده از مهار کننده‌های برخی از کانال‌های پتانسیمی نقش این کانال‌ها در شلیک پتانسیل‌های عمل کلسیمی در سلول‌های پورکنتر مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

فعالیت الکتروفیزیولوژیک سلول‌های پورکنتر با استفاده از روش ثبت داخل سلولی بر روی برش‌های زنده مغزی ثبت گردید. روش کار به صورت مراحل زیر انجام گردید: آماده سازی برش‌های مغزی: موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley در محدوده سنی ۱۵-۳۰ روزه با اتر بیهوده گردیده و با استفاده از گیوتین حیوانات کوچک، سر آن‌ها جدا می‌گردد. با برداشتن استخوان پس سری، مخچه نمایان شده و با استفاده از اسکالپل از باقی مغز جدا شده و در محلول مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF) سرد شده قرار می‌گرفت. این محلول (بر حسب میلی مولار) شامل  $KCl = ۵$ ،  $NaCl = ۱۲۴$ ،  $MgSO_4 = ۱/۳$ ،  $KH_2PO_4 = ۲/۴$ ،  $CaCl_2 = ۱/۲$ ،  $Glucose = ۱۰$  بود. این محلول به طور مداوم با ترکیب اکسیژن ۹۵ درصد و دی اکسید کربن ۵ درصد (کربوژن) تهویه می‌گردد. پس از چند دقیقه بخش ورمیس مخچه جدا شده و برش‌های پاراسائزیتال با ضخامت ۳۰۰ میکرومتر با استفاده از یک ویراتوم تهیه می‌شد. برش‌ها در محلول کربوژن شده ACSF به مدت یک ساعت در درجه حرارت C ۳۶ $^{\circ}$  انکوبه شده و در طول آزمایش در محلول ذکر شده در درجه حرارت اتفاق (C ۲۳-۲۷ $^{\circ}$ ) نگه داری می‌شدند.

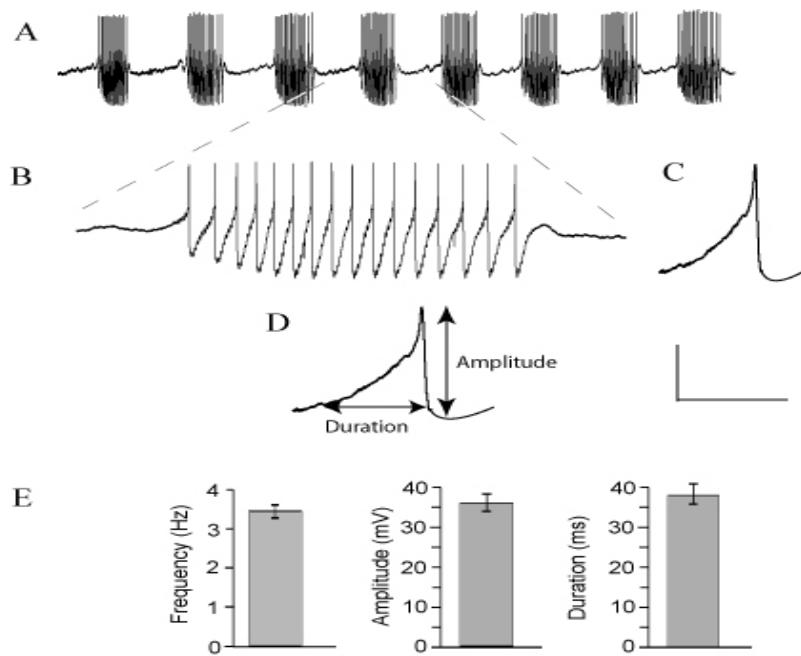
ثبت داخل سلولی: برش‌ها در محفظه ثبت از نوع غوطه ور قرار داده شده و با استفاده از میکروسکوپ Olympus: BX 51 upright (Olympus: BX 51 upright WI) مجهز به لنزهای نومارسکی و با عدسی 40x water immersion مشاهده می‌شدند. محفظه ثبت با محلول ACSF کربوژن به طور مداوم با سرعت ۱-۲ میلی لیتر در دقیقه توسط پمپ

این فعالیت خود به خود به صورت دوره‌های فعالی که توسط دوره‌های خاموش و یا غیر فعال از یکدیگر جدا می‌شوند ظاهر می‌شود (شکل شماره ۱). همان طور که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود این پتانسیل‌های عمل نسبت به پتانسیل‌های عمل سدیمی مدت زمان طولانی‌تری دارا بوده و دارای یک قله بودند. هنگامی که کادمیم، مهار کننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ به محلول سوپرفیوژن اضافه می‌گردید، شلیک این پتانسیل‌های عمل متوقف می‌گردید ( $n=6$ )؛ از این رو، این پتانسیل‌های عمل وابسته به کلسیم بوده و از این به بعد با نام پتانسیل‌های عمل یا اسپایک‌های کلسیمی خوانده می‌شوند.

از شرکت سیگما تهیه شدند. اسید کائینورنیک و پیکرتوکسین از شرکت توکرپس تهیه شدند. داروها در آب مقطر حل شده و به صورت تغليظ شده ۱۰۰ برابر غلظت اعمال شده در  ${}^{\circ}\text{C}$ -۲۰ در الیکوت یک بار مصرف نگه داری می‌شوند. داروها با اضافه شدن به محلول سوپرفیوژن در حد نیاز به غلظت نهایی می‌رسیدند.

## نتایج

فعالیت خود به خودی سلول‌های پورکنژ در حضور مهار کننده‌های سیناپسی بسیاری از سلول‌های پورکنژ ( $n=36$ ) فعالیت خود به خودی از خود نشان می‌دادند.



شکل شماره ۱- فعالیت خود به خودی در سلول‌های پورکنژ در حضور مهار کننده‌های سیناپسی. A: فعالیت خود به خودی در سلول‌های پورکنژ، این فعالیت شامل دوره‌های فعال و غیر فعال بود. B: شکل گسترده از یک دوره فعال که شلیک خود به خود پتانسیل‌های عمل را در این دوره نشان می‌دهد. C: شکل گسترده یکی از پتانسیل‌های عمل. D: یکی از پتانسیل‌های عمل همراه با پروتوكول‌های عمل. E: مقایسه‌های اندازه گیری برخی از ویژگی‌های آن استفاده می‌شده است. فرکانس شلیک پتانسیل‌های عمل توسط نرم افزار و با محاسبه مدت زمان بین قله تا آنها اندازه گیری می‌شود. این پتانسیل‌های عمل در حضور کادمیم، مهار کننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ ناپدید می‌شوند. F: هیستوگرام‌ها، فرکانس (frequency) و مدت زمان این پتانسیل‌های عمل را در شرایط کنترل نشان می‌دهد ( $n=36$ ). مقياس‌های اندازه گیری: محور عمودی ۲۰ میلی ولت برای تمامی ثبت‌ها. محور افقی در شکل A: ۱۰ ثانیه، در شکل B: ۱ ثانیه و در شکل C: ۵۰ هزارم ثانیه.

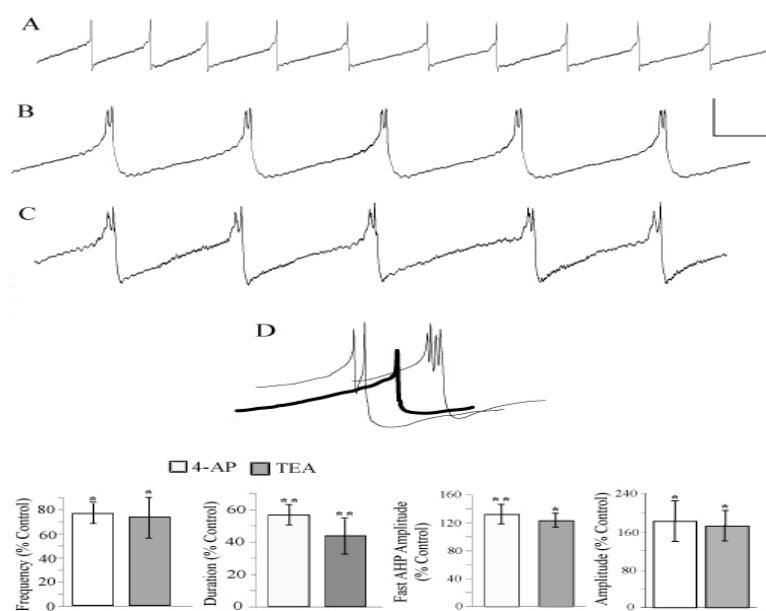
شماره ۲، اثر این دو مهار کننده را بر روی شلیک اسپایک‌های کلسیمی نشان می‌دهد. هر دوی این مهار کننده‌ها سبب افزایش دامنه، کاهش فرکانس، افزایش مدت زمان و افزایش دامنه هیبرپولاریزاسیون متعاقب سریع این اسپایک‌ها گردیدند، ولی مهمترین اثر این مهار کننده‌ها تغییر شکل اسپایک‌های کلسیمی از

تأثیر مهار کننده‌های کانال‌های پتانسیمی بر ویژگی‌های پتانسیل-های عمل کلسیمی

به منظور مطالعه نقش کانال‌های پتانسیمی بر ویژگی‌های اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ، در ابتدا اثر ۲ مهار-کننده عمومی یعنی ۴-آمینوپریدین، مهار کننده کانال‌های پتانسیمی سریع ( $n=12$ ) و ترا اتیل امینیوم، مهار کننده کانال‌های پتانسیمی

های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا را مهار می نماید. شکل ۳ اثر این مهار کننده‌ها را بر اسپایک‌های کلسیمی نشان می‌دهد. کاربرد هر دو سم به طور جداگانه سبب افزایش معنی دار در مدت زمان این اسپایک‌ها گردید. IBTX (n=۷) همچنین سبب کاهش دامنه اسپایک‌ها و کاهش دامنه هیپرپولاrizاسیون متعاقب سریع در آنها گردید، در حالی که اپامین (n=۸) اثری بر این شاخص‌ها نداشت. کاربرد این سومون بر فرکانس شلیک اسپایک‌های کلسیمی و همچنین تعداد قله‌های آنها اثری نداشت.

حالات تک قله‌ای به شکل دو یا چند قله‌ای بود؛ به گونه‌ای که پس از سوپرفیوژن این مهار کننده‌ها، وقوع اسپایک‌های دو یا چند قله‌ای به میزان ۶۲۵ و ۴۷۵ درصد به ترتیب برای 4-AP و TEA افزایش یافت. در قدم بعدی نقش کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم مورد بررسی قرار گرفت. این کانال‌ها شامل دو گروه کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین و با کنداکتانس بالا می‌باشند. اپامین سمعی است که به طور اختصاصی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین را مهار می‌نماید و سم ایبریوتوكسین (IbTx) به طور اختصاصی کانال-



شکل شماره ۲- اثر مهار کننده‌های کانال‌های پتاسیمی وسیع الطیف بر اسپایک‌های کلسیمی. A، B و C ثبت از سلول‌های پورکنر به ترتیب در شرایط کنترل، در حضور ۴-آمینوپیریدین (4-AP) و تراتیل امینیوم (TEA) را نشان می‌دهند. D اسپایک‌های کلسیمی ثبت شده در شرایط کنترل (ثبت ضخیم) و در حضور 4-AP یا TEA (ثبت نازک) بر روی هم قرار گرفته‌اند. به تعداد قله‌های پتانسیل‌های عمل توجه کنید. هیستو گرام‌ها اثر این دو مهار کننده را بر فرکانس شلیک (duration)، مدت زمان (frequency)، مدت زمان (AHP amplitude) و دامنه هیپرپولاrizاسیون متعاقب سریع (fast afterhyperpolarization) (amplitude) می‌نمایند. مقیاس‌های اندازه گیری: محور عمودی ۲۰ میلی ولت و محور افقی ۵۰ هزارم ثانیه برای A، B و C و ۲۰ هزارم ثانیه برای D.  $*P < 0.05$  و  $**P < 0.01$ .

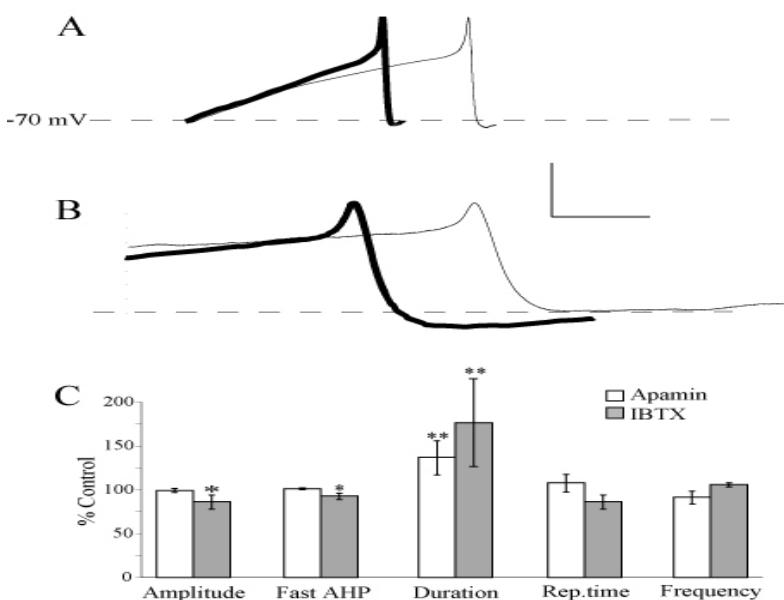
آنها را به میزان زیادی افزایش می‌دهند. بر اساس داده‌های این تحقیق مهار کانال‌های BK و نه SK دامنه اسپایک‌های کلسیمی و AHP آنها را کاهش می‌دهد. تقویت و افزایش دامنه پتانسیل‌های عمل کلسیمی توسط 4-AP توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است [۲۴، ۲۵]. همچنین نتایج ما در تایید نتایج Etzion و همکاران [۲۱] می‌باشد که گزارش داده‌اند 4-AP-شلیک پتانسیل‌های عمل کلسیمی دوگانه (دو پتانسیل عمل متصل به یکدیگر) را افزایش می‌دهد. مشا تولید اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنر دندربیت‌ها می‌باشند. این اسپایک‌ها از طریق هدایت دندروسماتیک به جسم

## بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که سلول‌های پورکنر مخلصه به صورت خود به خودی اسپایک‌های کلسیمی شلیک می‌نمایند. این اسپایک‌ها در حضور مهار کننده‌های وسیع الطیف کانال‌های پتاسیمی، 4-AP و TEA به طور قابل توجه‌ای تقویت شده و از حالات تک قله‌ای به شکل دو یا چند قله‌ای تبدیل می‌شوند. این مهار کننده‌ها همچنین مدت زمان اسپایک‌ها و دامنه AHP در آنها را افزایش می‌دهند. از طرف دیگر مهار کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم بر تعداد قله‌های این اسپایک‌ها اثری نداشته، ولی مدت زمان

های پتانسیمی توسط 4-AP و TEA هدایت دندروسوماتیکی را تقویت می‌نماید [۲۶].

سلولی می‌رسند. نشان داده شده است که کانال‌های پتانسیمی نقش مهمی در هدایت دندروسوماتیک اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ ایفا می‌نمایند [۲۷, ۲۶]. گزارش شده است که مهار کانال-



شکل شماره ۳- اثر اپامین، مهار کننده کانال‌های پتانسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین و ایبریوتوكسین (IbTX)، مهار کننده کانال‌های پتانسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا بر اسپایک‌های کلسیمی. A و B. ثبت‌های بر روی هم اندخته شده به ترتیب اثر اپامین و IbTX را بر اسپایک‌های کلسیمی نشان می‌دهند (ثبت ضخیم در شرایط کنترل و ثبت نازک پس از کاربرد دارو). هیستو گرام اثر این مهار کننده‌ها را بر دامنه هیپرپولا ریزاسیون متعاقب سریع (fast afterhyperpolarization) (duration)، مدت زمان (amplitude) و فرکانس شلیک (frequency) پتانسیل‌های عمل کلسیمی نشان می‌دهد. n=۷ برای اپامین و n=۸ برای IbTX. داده‌ها نسبت به اندازه‌های به دست آمده در شرایط کنترل (۱۰۰ درصد) نمایش داده شده‌اند. مقیاس‌های اندازه گیری: محور عمودی ۲۰ میلی ولت و محور افقی ۲۰ هزارم ثانیه. \*P<۰.۰۵ و \*\*P<۰.۰۱.

پتانسیل‌های عمل کلسیمی می‌گردد که بر خلاف نتایج ما می‌باشد که نشان می‌دهد مهار BK ها دامنه این پتانسیل‌های عمل را کاهش و مهار SK ها اثری بر آن ندارد. تفاوت در اثر مهار BK ها در نتایج ما و Edgerton و همکاران می‌تواند ناشی از تفاوت در پرتوکل‌های اندازه‌گیری دامنه اسپایک‌های عمل باشد؛ به این معنی که در این تحقیق دامنه اسپایک از قله تا قعر AHP محاسبه می‌گردید، در حالی که Edgerton و همکاران دامنه پتانسیل عمل را از قله تا سطح پتانسیل استراحت منظور نموده‌اند. از طرف دیگر بر اساس نتایج این تحقیق مهار کانال‌های SK و BK سبب افزایش مدت زمان اسپایک‌های کلسیمی می‌شود. این اثر که تا به حال شرح داده نشده است می‌تواند ناشی از آهسته شدن فاز رپولاریزاسیون در این پتانسیل‌های عمل باشد. تنظیم و تسریع فاز رپولاریزاسیون پتانسیل‌های عمل در سلول‌های تحریک‌پذیر یکی از شناخته شده ترین اثرات کانال‌های پتانسیمی می‌باشد. البته به خوبی مشخص گردیده است که کانال‌های BK در تعیین مدت زمان

این تقویت سبب افزایش دامنه این اسپایک‌ها در جسم سلول می-گردد که در نتایج ما و نتایج دیگر محققین مشاهده شده است؛ همچنین تسهیل هدایت دندروسوماتیکی باعث می‌شود که اسپایک‌های کلسیمی تولید شده در شاخه‌های مختلف دندرویتی در زمان‌های مختلف به جسم سلول رسیده و تولید قله‌های چند گانه در اسپایک‌های شلیک شده در این محل نمایند. این مکانیسم‌ها علت بروز پتانسیل‌های عمل کلسیمی چند قله‌ای را در نتایج ما در حضور 4-AP و TEA شرح می‌دهند. تقویت هدایت دندروسوماتیکی در حضور مهار کننده‌های کانال‌های پتانسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا نیز گزارش شده است [۲۷]، لکن نتایج ما چنین چیزی را نشان نمی‌دهند. در این تحقیق نشان داده شد که مهار کانال‌های BK و نه SK سبب کاهش معنی‌دار در دامنه AHP اسپایک‌های کلسیمی گردد که موبد نتایج ارائه شده توسط Edgerton و همکاران [۱] می‌باشد. از سوی دیگر این محققین نشان داده‌اند که مهار این کانال‌ها سبب افزایش دامنه

تقویت هدایت دندروسماتیکی موجب افزایش دامنه این اسپاپک‌ها شده و آن‌ها را به شکل چند قله‌ای تبدیل می‌نماید. کانال‌های پتانسیمی وابسته به کلسیم به ویژه نوع BK با تنظیم AHP و مدت زمان و نوع SK عمدتاً از طریق تنظیم مدت زمان این اسپاپک‌ها، شکل آنها را تنظیم می‌نمایند.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جهت تامین قسمتی از هزینه‌های این طرح تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

### References:

- [1] Edgerton JR, Reinhart PH. Distinct contributions of small and large conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channels to rat Purkinje neuron function. *J Physiol* 2003; 548: 53-69.
- [2] Womack MD, Khodakhah K. Dendritic control of spontaneous bursting in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 2004; 24: 3511-21.
- [3] Higley MJ, Bernardo L, Sabatini BL. Calcium Signaling in Dendrites and Spines: Practical and Functional Considerations. *Neuron* 2008; 59: 902-13.
- [4] Kano M, Schneggenburger R, Vekhratsky A, Konnerth A. Depolarization-induced calcium signals in the somata of cerebellar Purkinje neurons. *Neurosci Res* 1995; 24: 87-95.
- [5] Lang EJ, Sugihara I, Welsh JP, Llinas R. Patterns of spontaneous Purkinje cell complex spike activity in the awake rat. *J Neurosci* 1999; 19: 2728-39.
- [6] Mouginot D, Bossu JL, Gähwiler BH. Low-threshold  $\text{Ca}^{2+}$  currents in dendritic recordings from Purkinje cells in rat cerebellar slice cultures. *J Neurosci* 1997; 17: 160-70.
- [7] Cingolani LA, Gymnopoulos M, Boccaccio A, Stocker M, Pedarzani P. Developmental regulation of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channel expression and function in rat Purkinje neurons. *J Neurosci* 2002; 22: 4456-67.
- [8] Womack M, Khodakhah K. Active contribution of dendrites to the tonic and trimodal patterns of activity in cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 2002; 22: 10603-12.
- [9] McKay BE, Turner RW. Physiological and morphological development of the rat cerebellar Purkinje cell. *J Physiol* 2005; 567: 829-50.
- [10] Hockberger PE, Tseng HY, Connor JA. Development of rat cerebellar Purkinje cells: electrophysiological properties following acute isolation and in long-term culture. *J neurosci* 1989; 9: 2258-71.
- [11] Llinas R, Sugimori M. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell somata in mammalian cerebellar slices. *J Physiol* 1980; 305: 171-95.
- [12] Llinas R, Sugimori M. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell dendrites in mammalian cerebellar slices. *J Physiol* 1980; 305: 197-213.
- [13] Coetzee WA, Amarillo Y, Chiu J, Chow A, Lau D, McCormack T. Molecular diversity of  $\text{K}^+$  channels. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868: 233-85.
- [14] Mathie A, Wooltorton JR, Watkins CS. Voltage-activated potassium channels in mammalian neurons and their block by novel pharmacological agents. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 13-24.
- [15] Martina M, Yao GL, Bean BP. Properties and functional role of voltage-dependent potassium channels in dendrites of rat cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 2003; 23: 5698-707.
- [16] Lesage F. Pharmacology of neuronal background potassium channels. *Neuropharmacology* 2003; 44(1): 1-7.
- [17] McKay BE, Turner W. Kv3 channels enable burst output in rat cerebellar Purkinje cells. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 729-39.
- [18] Womack MD, Khodakhah K. Somatic and small-conductance calcium-activated potassium channels regulate the output of cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 2003; 23: 2600-7.
- [19] Shieh CC, Coghlani M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M. Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 557-94.
- [20] Sacco T, Tempia F. A-type potassium currents active at subthreshold potentials in mouse cerebellar Purkinje cells. *J Physiol* 2002; 543(2): 505-20.
- [21] Etzion Y, Grossman Y. Potassium currents modulation of calcium spike firing in dendrites of

اسپاپک‌های سدیمی نقش قابل ملاحظه‌ای ایفا می‌نمایند [۲۸-۳۰]. از طرف دیگر چنین نقشی برای کانال‌های SK شرح داده نشده است. این کانال‌ها در پتانسیل‌های استراحت غشاء در سلول‌های پورکنژ فعال می‌باشند [۳۱] و ممکن است که با کاهش شبیب فاز بالارونده پتانسیل‌های عمل کلسیمی سبب کاهش مدت زمان آنها گردد. مهار این کانال‌ها موجب طولانی شدن فاز بالارونده و به تبع آن افزایش مدت زمان اسپاپک کلسیمی می‌گردد.

### نتیجه گیری

کانال‌های پتانسیمی نقش مهمی در تنظیم اسپاپک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ ایفا می‌نمایند. مهار این کانال‌ها با

- cerebellar Purkinje cells. *Exp Brain Res* 1998; 122: 283-94.
- [22] Stone TW. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 309-79.
- [23] Yoon KW, Covey DF, Rothman SM. Multiple mechanisms of picrotoxin block of GABA-induced currents in rat hippocampal neurons. *J Physiol* 1993; 464: 423-39.
- [24] Seo WS, Shin JH, Suh CK. 4-Aminopyridine (4-AP) augments  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent action potential and changes oscillatory firing patterns in rat cerebellar Purkinje cells. *Yonsei Med J* 1999; 40: 112-7.
- [25] Gavelier P, Desplantez T, Beekenkamp H, Bossu JL.  $\text{K}^+$  channel activation and low-threshold  $\text{Ca}^{2+}$  spike of rat cerebellar Purkinje cells in vitro. *Neuroreport* 2003; 14: 167-71.
- [26] Etzion Y, Grossman Y. Highly 4-aminopyridine sensitive delayed rectifier current modulates the excitability of guinea pig cerebellar Purkinje cells. *Exp Brain Res* 2001; 139: 419-25.
- [27] Cavelier P, Pouille F, Desplantez T, Beekenkamp H, Bossu JL. Control of the propagation of dendritic low-threshold  $\text{Ca}^{2+}$  spikes in Purkinje cells from rat cerebellar slice cultures. *J Physiol* 2002; 540(1): 57-72.
- [28] Pouille F, Cavelier P, Desplantez T, Beekenkamp H, Craig PJ, Beattie RE, et al. Dendro-somatic distribution of calcium-mediated electrogenesis in Purkinje cells from rat cerebellar slice cultures. *J Physiol* 2000; 527(2): 265-82.
- [29] Shao LR, Halvorsrud R, Graham LB, Storm JF. The role of BK-type  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^+$  channels in spike broadening during firing in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 1999; 521: 135-46.
- [30] Haghdoost-Yazdi H, Janahmadi M, Behzadi G. Iberiotoxin-sensitive large conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^+$  (BK) channels regulate the spike configuration in the burst firing of cerebellar Purkinje neurons. *Brain Res* 2008; 1212: 1-8.
- [31] Yazdi HH, Janahmadi M, Behzadi G. The role of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channels in the modulation of 4-aminopyridine-induced burst firing in rat cerebellar Purkinje cells. *Brain Res* 2007; 1156: 59-66.