Original Article

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

Haghdoost-Yazdi H[1*], Esmaeili M[1], Sophiabadi M[1], Azhdari-Zarmehri H[1], Janahmadi M[2]

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^+ channels in the regulation of calcium spikes configuration was determined using different K^+ channels blockers and precise analysis of the recorded calcium spikes in the presence of blockers.
Results: Application of wide-range 4-aminophyridine 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

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

نقش کانال های پتاسیمی در تنظیم شکل و ویژگی‌های پتانسیل های عمل کلسیمی در سلول‌های پورکنژ مخچه

هاشم حقدوست یزدی [1*]، محمد رضا اسماعیلی [1]، محمد صوفی آبادی [1]، حسن اژدری زرمهری [1]، مهیار جان احمدی [2]

خلاصه

سابقه و هدف: اسپایک‌های کلسیمی نقش مهمی در کنترل فعالیت خود به خودی نورون‌ها ایفا می‌نمایند. سلول‌های پروکنژ مخچه به صورت خود به خودی اسپایک‌های کلسیمی شلیک می نمایند. در این تحقیق، نقش کانال‌های پتاسیمی در شلیک این اسپایک‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی برش‌های مغزی از مخچه موش‌های صحرایی جوان تهیه گردید و سلول های 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 پتاسیمی مختلف و آنالیز دقیق اسپایک های کلسیمی ثبت شده در حضور این مهار کننده‌ها، نقش کانال‌های پتاسیمی مختلف در تنظیم ویژگی‌های این اسپایک‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: کاربرد مهار کننده‌های عمومی ٤- آمینوپیریدین و تترااتیل آمونیوم سبب افزایش دامنه، مدت زمان و دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب (AHP) اسپایک‌های کلسیمی شده و آن‌ها را از حالت تک قله‌ای به شکل چند قله‌ای تبدیل نمود. مهار کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین، مدت زمان این اسپایک‌ها را افزایش داد، ولی بردامنه AHP اثری نداشت. مهار کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا علاوه بر افزایش مدت زمان اسپایک‌های کلسیمی، دامنه AHP آنها را نیز کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهند ویژگی‌های اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ مخچه به میزان زیادی تحت کنترل کانال‌های پتاسیمی مختلف از جمله انواع وابسته به کلسیم می باشد.

واژگان کلیدی: سلول‌های پورکنژ مخچه، اسپایک‌های کلسیمی چند قله‌ای، هیپرپولاریزاسیون متعاقب، کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم

فصلنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۱۸۹-۱۸۲

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 اسپایک‌های کلسیمی شلیک می‌نمایند. این اسپایک‌ها از دندریت‌ها منشا گرفته و در مقایسه با پتانسیل‌های عمل سدیمی مدت زمان بیشتری دارا می‌باشند. پتانسیل‌های عمل کلسیمی در تنظیم فعالیت خود به خودی، تحریک‌پذیری و پاسخ به ورودی‌های سیناپسی در نورون‌ها نقش مهمی ایفا می‌نمایند [٦-١]. مخچه در کنترل بسیاری از اعمال حرکتی از جمله حرکاتی که نیاز به زمان بندی دقیق دارند، کنترل تعادل و وضعیت، برخی از اشکال یادگیری حرکتی و سازش رفلکسی و شماری از وظایف شناختی که برنامه ریزی و انجام حرکات پی در پی ویژه را شامل می‌شود، نقش دارد [١]. 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 دندریتی وسیع قرار می‌گیرند که ورودی‌های سیناپسی از فیبرهای بالارونده و فیبرهای موازی و همچنین چندین سلول بینابینی دریافت کرده و به نوبه خود خروجی منحصر به فرد از قشر مخچه به سلول‌های هسته‌های عمقی مخچه را تشکیل می دهند. اختلال در عملکرد این نورون‌ها سبب بروز برخی اختلالات در کنترل حرکت و بروز بیماری‌هایی مانند آتاکسی می‌شود [٤،٣،١]. سلول‌های پورکنژ دارای فعالیت خود به خودی می‌باشند که به صورت شلیک پتانسیل‌های عمل سدیمی در موش‌های صحرایی نابالغ [٩-٧]، پتانسیل‌های عمل کلسیمی [٩،٨] و شلیک انفجاری شامل پتانسیل‌های عمل کلسیمی همراه با پتانسیل‌های عمل سدیمی در موش‌های صحرایی بالغ ظاهر می‌شود [١٠-٨]. 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 [٧]. نشان داده شده است که دندریت‌های

[1] استادیار، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

[2] استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

* **نشانی نویسنده مسوول:**

قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۹۱۲ ۴۸۱۸۳۲۵ **دورنویس:** ۳۳۲۴۹۷۱ ۰۲۸۱

پست الکترونیک: hhaghdoost@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۸۹/۵/۲۷

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

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

مواد و روش‌ها

فعالیت الکتروفیزیولوژیک سلول‌های پورکنژ 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 ۳۰-۱۵ روزه با اتر بیهوش گردیده و با استفاده از گیوتین حیوانات کوچک، سر آن ها جدا می‌گردید. 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 ۱۲٤ NaCl، ۵ KCl، ۱/۲ KH_2PO_4، ۱/۳ $MgSO_4$، ۲/٤ $CaCl_2$ و ۱۰ Glucose بود. این محلول به طور مداوم با ترکیب اکسیژن ۹۵ درصد و دی اکسید کربن ۵ درصد (کربوژن) تهویه می‌گردید. پس از چند دقیقه بخش ورمیس مخچه جدا شده و برش‌های پاراساژیتال با ضخامت ۳۰۰ میکرومتر با استفاده از یک ویبراتوم تهیه می شد. برش‌ها در محلول کربوژنه شده ACSF به مدت یک ساعت در درجه حرارت 36^{o} C انکوبه شده و در طول آزمایش در محلول ذکر شده در درجه حرارت اتاق (27^{o} C - ۲۳) 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 WI) مجهز به لنزهای نومارسکی و با عدسی 40x water immersion مشاهده می‌شدند. محفظه ثبت با محلول ACSF کربوژنه به طور مداوم با سرعت ۲-۱ میلی لیتر در دقیقه توسط پمپ پریستالتیک (Burleigh Instruments Ltd, Harpenden, Herts, UK) سوپرفیوز می‌گردید. به منظور مهار جریان‌های سیناپسی، اسید کاینورنیک، مهار کننده جریانات گلوتاماتی سریع با غلظت ۱ میلی مولار [۲۲] و پیکروتوکسین، مهار کننده اختصاصی گیرنده های GABA نوع A با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۲۳] به محلول پرفیوژن اضافه می‌شد. سلول‌های پورکنژ بر اساس موقعیت، اندازه، شکل و درخت دندریتی شناسایی می شدند. ثبت داخل سلولی از جسم سلولی با استفاده از آمپلی فایر (Axon Instruments Inc., USA) AxoClamp 2B در مد بریج (که ثبت کارنت کلامپ را امکان پذیر می‌نماید) و با کمک میکروپی‌پت‌های شیشه‌ای با دیواره ضخیم و از جنس بروسیلیکات (WPI, 120F with inner filament) با مقاومت ۸۰-٤۰ مگااهم انجام می‌گردید. میکروپی‌پت‌ها با استفاده از یک پولر افقی (APP-1, 52500, Stoelting, USA) کشیده شده و با محلول KCl ۳ مولار پر می‌شدند.

اکتساب داده‌ها و آنالیز: ثبت‌ها در KHz ۳۰ فیلتر گردیده و با استفاده از مبدل A/D (Powerlab ADInstrument) در KHz ٤۰ رقمی شده و در یک رایانه IBM با کمک نرم افزار Chart ویرایش ۵ (Powerlab ADInstrument) ذخیره می‌شدند. آنالیز داده‌ها با نرم افزار Chart صورت گرفت. به منظور بررسی نقش کانال‌های پتاسیمی اثر ٤ مهارکننده پتاسیمی ٤ آمینوپیریدین (4-AP)، تترااتیل آمونیوم (TEA)، اپامین و ایبریوتوکسین (IBTX) در ٤ گروه مجزا از نورون‌ها 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 مورد نظر به کار برده می-شد. به منظور اطمینان از کلسیمی بودن پتانسیل عمل، کادمیم در یک گروه مجزا از نورون‌ها اعمال گردید. نتایج به دست آمده پس از کاربرد دارو با نتایج به دست آمده قبل از اعمال دارو در همان نورون مقایسه گردیده و با آزمون t جفتی مقایسه می‌شدند. داده‌ها به صورت میانگین±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 هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع، مدت زمان آن از شروع پتانسیل عمل تا فاز رپولاریزاسیون و دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب از ولتاژ شروع پتانسیل عمل تا انتهای هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع در نظرگرفته می شد.

مواد و داروها: 4-AP و TEA با غلظت ۲ میلی مولار [۲٤]، اپامین با غلظت ۲۰۰ نانومولار، IbTX با غلظت ۱۰۰ نانومولار و کادمیم با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۱] به کار برده شدند. تمامی این داروها

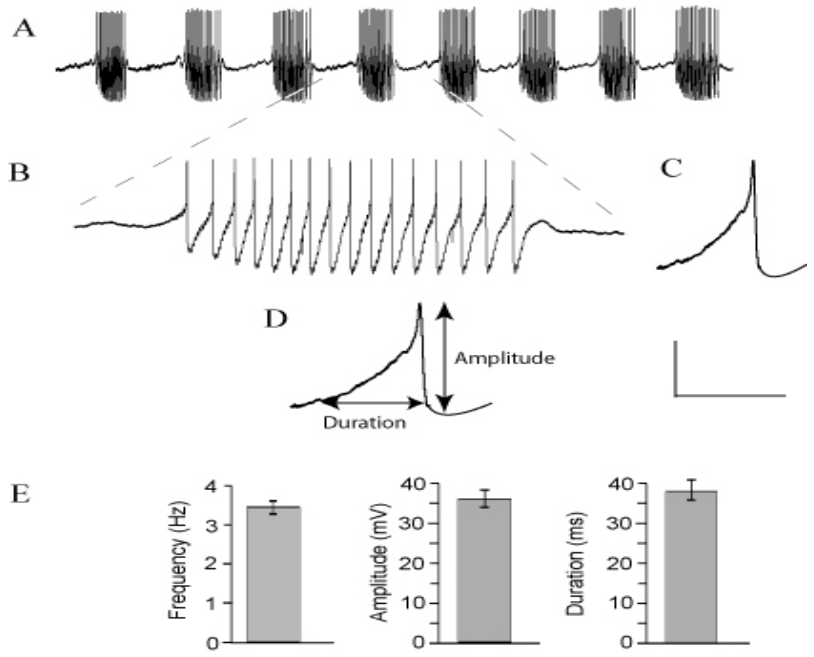
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

از شرکت سیگما تهیه شدند. اسید کاینورنیک و پیکروتوکسین از شرکت توکریس تهیه شدند. داروها در آب مقطر حل شده و به صورت تغلیظ شده ۱۰۰ برابر غلظت اعمال شده در C^{o} ۲۰- در الیکوت یک بار مصرف نگه داری می‌شدند. داروها با اضافه شدن به محلول سوپرفیوژن در حد نیاز به غلظت نهایی می‌رسیدند.

نتایج

فعالیت خود به خودی سلول‌های پورکنژ

در حضور مهار کننده های سیناپسی بسیاری از سلول‌های پورکنژ (n= ۳۶) فعالیت خود به خودی از خود نشان می‌دادند. این فعالیت خود به خود به صورت دوره‌های فعالی که توسط دوره‌های خاموش و یا غیر فعال از یکدیگر جدا می شدند ظاهر می‌شد (شکل شماره ۱). همان طور که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود این پتانسیل‌های عمل نسبت به پتانسیل‌های عمل سدیمی مدت زمان طولانی تری 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=٦)؛ از این رو، این پتانسیل‌های عمل وابسته به کلسیم بوده و از این به بعد با نام پتانسیل‌های عمل یا اسپایک-های کلسیمی خوانده می شوند.



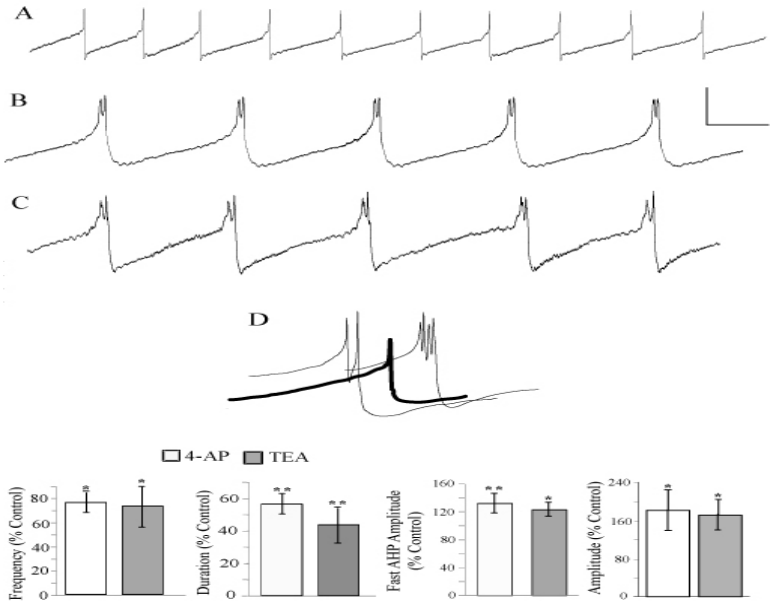
شکل شماره ۱- فعالیت خود به خودی در سلول‌های پورکنژ در حضور مهار کننده‌های سیناپسی. A؛ فعالیت خود به خودی در سلول‌های پورکنژ؛ این فعالیت شامل دوره‌های فعال و غیر فعال بود. B؛ شکل گسترده از یک دوره فعال که شلیک خود به خود پتانسیل‌های عمل را در این دوره نشان می‌دهد. C؛ شکل گسترده یکی از پتانسیل‌های عمل. D؛ یکی از پتانسیل‌های عمل همراه با پروتوکل‌هایی که برای اندازه گیری برخی از ویژگی‌های آن استفاده می‌شده است. فرکانس شلیک پتانسیل‌های عمل توسط نرم افزار و با محاسبه مدت زمان بین قله تا قله آنها اندازه گیری می‌شد. این پتانسیل‌های عمل درحضور کادمیم، مهار کننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ ناپدید می‌شدند E؛ هیستوگرام‌ها، فرکانس (frequency)، دامنه (amplitude) و مدت زمان این پتانسل‌های عمل را در شرایط کنترل نشان می‌دهد (n=٣٦). مقیاس‌های اندازه‌گیری: 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.

تاثیر مهارکننده‌های کانال‌های پتاسیمی بر ویژگی‌های پتانسیل-های عمل کلسیمی

به منظور مطالعه نقش کانال‌های پتاسیمی بر ویژگی‌های اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ، در ابتدا اثر ۲ مهار-کننده عمومی یعنی ٤-آمینوپیریدین، مهار کننده کانال‌های پتاسیمی سریع (n=۱۲) و تترا اتیل امینیوم، مهار کننده کانال‌های پتاسیمی delayed rectifier (n=۹) مورد بررسی قرار گرفت. شکل 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 هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع این اسپایک‌ها گردیدند، ولی مهمترین اثر این مهار کننده‌ها تغییر شکل اسپایک‌های کلسیمی از

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

حالت 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 ٦٢٥ و ٤٧٥ 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 می باشند. اپامین سمی است که به طور اختصاصی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین را مهار می‌نماید و سم ایبریوتوکسین (IbTx) به طور اختصاصی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا را مهار می نماید. شکل ۳ اثر این مهار کننده‌ها را بر اسپایک های 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 هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع در آنها گردید، در حالی که اپامین (n=۸) اثری بر این شاخص‌ها نداشت. کاربرد این سموم بر فرکانس شلیک اسپایک‌های کلسیمی و همچنین تعداد قله های آنها اثری نداشت.



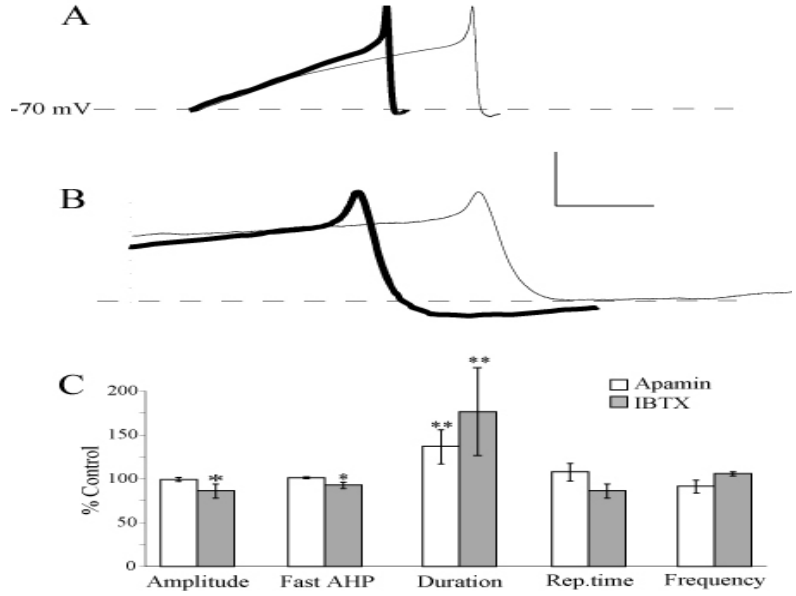
شکل شماره ۲- اثر مهار کننده‌های کانال های پتاسیمی وسیع الطیف بر اسپایک های کلسیمی. A، B و C ثبت از سلول های پورکنژ به ترتیب در شرایط کنترل، در حضور ٤- آمینوپیریدین (4-AP) و تترااتیل امینیوم (TEA) را نشان می دهند. D. اسپایک های کلسیمی ثبت شده در شرایط کنترل (ثبت ضخیم) و در حضور 4-AP یا TEA (ثبت نازک) بر روی هم قرار گرفته اند. به تعداد قله های پتانسیل‌های عمل توجه کنید. هیستو گرام‌ها اثر این دو مهار کننده را بر فرکانس شلیک (frequency)، مدت زمان (duration)، دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع (fast afterhyperpolarization) و دامنه (amplitude) اسپایک‌های کلسیمی را نشان می‌دهند. n=۱۲ برای 4-AP و n=۹ برای TEA. داده‌ها نسبت به اندازه های به دست آمده در شرایط کنترل (۱۰۰ درصد) نمایش داده شده‌اند. مقیاس‌های اندازه گیری: محور عمودی ۲۰ میلی ولت و محور افقی ۵۰ هزارم ثانیه برای A، B و C. برای D: ۲۰ هزارم ثانیه. $P<$ ۰/۰۵:* و $P<$ ۰/۰۱:**.

بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که سلول‌های پورکنژ مخچه 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 حالت تک قله‌ای به شکل دو یا چند قله ای 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 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 [۲۵،۲٤]. همچنین نتایج ما در تایید نتایج Etzion و همکاران [۲۱] می‌باشد که گزارش داده‌اند 4-AP شلیک پتانسیل های عمل کلسیمی دوگانه (دو پتانسیل عمل متصل به یکدیگر) را افزایش می‌دهد. منشا تولید اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ دندریت‌ها می‌باشند. این اسپایک‌ها از طریق هدایت دندروسوماتیک به جسم

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

سلولی می‌رسند. نشان داده شده است که کانال‌های پتاسیمی نقش مهمی در هدایت دندروسوماتیک اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ ایفا می‌نمایند [۲۶،۲۷]. گزارش شده است که مهار کانال-های پتاسیمی توسط 4-AP و TEA هدایت دندروسوماتیکی را تقویت می‌نماید [۲۶].



شکل شماره ۳- اثر اپامین، مهار کننده کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس پایین و ایبریوتوکسین (IbTX)، مهار کننده کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم با کنداکتانس بالا بر اسپایک‌های کلسیمی. A و B. ثبت‌های بر روی هم انداخته 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 (amplitude)، دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب سریع (fast afterhyperpolarization)، مدت زمان (duration) و فرکانس شلیک (frequency) پتانسیل‌های عمل کلسیمی نشان می‌دهد. n=۸ برای اپامین و n=۷ 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. $P<0/05$:* و $P<0/01$:**.

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 اسپایک-های کلسیمی تولید شده در شاخه‌های مختلف دندریتی در زمان-های 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 پتاسیمی 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 گردید که موید نتایج ارائه شده توسط Edgerton و همکاران [۱] می‌باشد. از سوی دیگر این محققین نشان داده‌اند که مهار این کانال‌ها سبب افزایش دامنه 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 پروتوکل‌های اندازه‌گیری دامنه پتانسیل‌های 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 پتاسیمی می‌باشد. البته به خوبی مشخص گردیده است که کانال‌های BK در تعیین مدت زمان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

اسپایک‌های سدیمی نقش قابل ملاحظه‌ای ایفا می‌نمایند [۳۰،۱- ۲۸]؛ از طرف دیگر چنین نقشی برای کانال‌های SK شرح داده نشده است. این کانال‌ها در پتانسیل‌های استراحت غشاء در سلول-های پورکنژ فعال می‌باشند [۳۱] و ممکن است که با کاهش شیب فاز بالارونده پتانسیل‌های عمل کلسیمی سبب کاهش مدت زمان آنها گردند. مهار این کانال‌ها موجب طولانی شدن فاز بالارونده و به تبع آن افزایش مدت زمان اسپایک کلسیمی می‌گردد.

نتیجه گیری

کانال‌های پتاسیمی نقش مهمی در تنظیم اسپایک‌های کلسیمی در سلول‌های پورکنژ ایفا می‌نمایند. مهار این کانال‌ها با تقویت هدایت دندروسوماتیکی موجب افزایش دامنه این اسپایک‌ها شده و آن‌ها را به شکل چند قله‌ای تبدیل می‌نماید. کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم به ویژه نوع BK با تنظیم AHP و مدت زمان و نوع SK عمدتا از طریق تنظیم مدت زمان این اسپایک‌ها، شکل آنها را تنظیم می نمایند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جهت تامین قسمتی از هزینه‌های این طرح تشکر و سپاسگزاری می نمایند.

References:

[1] Edgerton JR, Reinhart PH. Distinct contributions of small and large conductance Ca^{2+}-activated 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 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 Ca^{2+}-activated 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 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, Coghlan 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

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]

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. Multiplemechanisms 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 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. K^+ channel activation and low-threshold 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 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 Ca^{2+}-dependent 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 Ca^{2+}-dependent 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 Ca2+-activated K+ channels in the modulation of 4-aminopyridine-induced burst firing in rat cerebellar Purkinje cells. ***Brain Res*** 2007; 1156: 59–66.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12]