

Effect of potassium channel blocker 4-aminopyridine pretreatment on the 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats

M. Sofiabadi* H. Haghdoost-Yazdi** M. Mahmudi*** H. Piri**** T. Dargahi***** M. Yaghubidust*****

*Associate Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Assistant Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

***M.Sc. Student of Anatomy, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

****Assistant Professor of Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*****M.Sc. Student of Hematology, Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran

*****Student of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Abstract

Background: Nuclease and caspase enzymes activities which promote death signals and lead to apoptosis are dependent to potassium ions.

Objective: The aim of this study was to determine the effect of 4-aminopyridine (4-AP) potassium channel blocker on the animal model of Parkinson's disease.

Methods: This experimental study was performed in Qazvin University of Medical Sciences, 2013. Male Rats were received different doses of 4-AP twice daily from half an hour before injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) to 7 or 15 days after that. 6-OHDA was injected into medial forebrain bundle (MFB) in acute model groups and into striatum in chronic model groups. The severity of Parkinsonism was assessed by standard behavioral methods. Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann Whitney U tests.

Findings: In acute model groups, administration of 0.5 mg/kg 4-AP (n=9) had no remarkable effect on behavioral symptoms, but 1 mg/kg 4-AP (n=8) significantly reduced the severity of apomorphine-induced rotations and improved motor learning in rotarod test. In chronic model groups, although 1 mg/kg 4-AP (n=7) significantly reduced the severity of rotations and improved motor learning, but 0.5 mg/kg 4-AP (n=8) was more effective.

Conclusion: Pretreatment with 4-AP can reduce 6-OHDA-induced dopaminergic neuron death. Since the chronic model of 6-OHDA is more similar to Parkinson's disease in human, the low dose of 4-AP is recommended for treatment of this disease.

Keywords: Parkinson Disease, Potassium Channel Blockers, Oxidopamine, Substantia Nigra

Citation: Sofiabadi M, Haghdoost-Yazdi H, Mahmudi M, Piri H, Dargahi T, Yaghubidust M. Effect of potassium channel blocker 4-aminopyridine pretreatment on the 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. J Qazvin Univ Med Sci. 2015; 19 (2): 11-20.

Corresponding Address: Hashem Haghdoost-Yazdi, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran

Email: haghdoost@gmail.com

Tel: +98-912-4818325

Received: 20 Oct 2014

Accepted: 17 Dec 2014

اثر پیش‌درمانی با مهارکننده کانال‌های پتاسیمی ۴-امینوپیریدین بر بیماری پارکینسون القا شده با سم ۶-هیدروکسی دی‌پامین در موش صحرایی

دکتر محمد صوفی‌آبادی* دکتر هاشم حق دوست بزدی** مرضیه محمودی*** دکتر حسین پیری**** طاهره درگاهی***** محمد حسین یعقوبی دوست*****

* دانشیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 ** استادیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 *** دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 **** استادیار بیوشیمی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 ***** دانشجوی کارشناسی ارشد خون‌شناسی سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران
 ***** دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس نویسنده مسؤل: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۰۹۱۲۴۸۱۸۳۲۵

Email: hhaghdooost@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۸

* چکیده

زمینه: فعالیت آنزیم‌های نوکلئاز و کاسپاز که پیام‌های مرگ را هدایت و تقویت می‌کنند و از این طریق سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها می‌شوند، وابسته به یون پتاسیم است.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر مهارکننده کانال‌های پتاسیمی ۴-امینوپیریدین (4-AP) بر بیماری پارکینسون در مدل حیوانی انجام شد.
مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. موش‌های صحرایی نر نیم ساعت قبل از دریافت سم ۶-هیدروکسی دی‌پامین (6-OHDA) تا ۷ یا ۱۵ روز پس از آن میزان‌های مختلف 4-AP را دو بار در روز دریافت کردند. 6-OHDA در گروه‌های مدل حاد به ناحیه دسته مغزی جلویی (MFB) و در گروه‌های مدل مزمن به استریاتوم در مغز تزریق شد و شدت پارکینسونیسم توسط آزمون‌های رفتاری متداول ارزیابی شد. داده‌ها با آزمون‌های غیر پارامتریک کروسکال والیس و من ویتنی یو تحلیل شدند.
یافته‌ها: در گروه‌های مدل حاد، 4-AP با میزان ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن (n=9) اثر قابل ملاحظه‌ای بر علایم رفتاری بیماری نداشت، ولی در میزان ۱ میلی‌گرم (n=8) سبب کاهش معنی‌دار شدت چرخش‌های القا شده با اپومرفین و تا اندازه‌ای بهبود یادگیری حرکتی در آزمون روتارد شد. در گروه‌های مدل مزمن اگرچه میزان ۱ میلی‌گرم 4-AP (n=7) اثر معنی‌داری بر کاهش شدت چرخش‌ها و بهبود یادگیری حرکتی نداشت، ولی میزان ۰/۵ میلی‌گرم (n=8) بسیار مؤثرتر بود.
نتیجه‌گیری: پیش‌درمان با 4-AP می‌تواند مرگ نوروپاتولوژیکی توسط سم 6-OHDA را کاهش دهد. از آنجا که مدل مزمن 6-OHDA بیش‌تر شبیه بیماری پارکینسون در انسان است میزان‌های پایین 4-AP برای درمان این بیماری پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: بیماری پارکینسون، مهارکننده‌های کانال پتاسیم، اکسی دی‌پامین، هسته جسم سیاه

* مقدمه

می‌کند ولی برخی علایم پس از چند سال مجدداً عود می‌کنند که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می‌شود. از این رو در حال حاضر تحقیق‌ها به سمت شناخت روش‌های نوین برای پیشگیری از مرگ نوروپاتولوژیکی و جلوگیری از بروز این بیماری روی آورده‌اند.^(۱و۲)

پارکینسون (PD) دومین بیماری شایع نورودژنراتیو بعد از آلزایمر است که بر اثر تخریب نوروپاتولوژیکی بخش متراکم هسته جسم سیاه (substantial nigra) به وجود می‌آید. اگرچه درمان با داروی L-DOPA بسیاری از علایم بیماری را برطرف

توجهی در کاهش شدت علایم رفتاری بیماری پارکینسون در مدل حیوانی ۶-هیدروکسی دیپامین (6-OHDA) داشته باشد^(۲۳) که احتمالاً به علت اثر بر فعالیت الکتروفیزیولوژیک نورون‌های هسته جسم سیاه است. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر مهارکننده کانال‌های پتاسیمی ۴-امینوپیریدین بر بیماری پارکینسون است.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین بر روی ۴۸ موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار انجام شد که در ابتدای تحقیق در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بودند. موش‌ها در حیوان‌خانه دانشگاه در قفس‌های بزرگ با ابعاد ۳۸×۵۹×۲۰ در اتاقی با درجه حرارت کنترل شده و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و به آب و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. سپس به ۶ گروه زیر تقسیم شدند:

۱- گروه سالیین مدل حاد (A veh, n=8) که ۰/۱ میلی‌لیتر سالیین مطابق الگوی دیگر گروه‌های حاد دریافت کردند. ۲- گروه 4-AP مدل حاد با میزان کم (A L 4-AP, n=9) که نیم ساعت قبل از تزریق سم 6-OHDA ۷ روز پس از آن روزی دو بار ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن 4-AP به صورت درون صفاقی دریافت کردند. ۳- گروه 4-AP مدل حاد با میزان زیاد (A H 4-AP, n=8) که نیم ساعت قبل از تزریق سم تا ۷ روز پس از آن روزی دو بار ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن 4-AP به صورت درون صفاقی دریافت کردند. ۴- گروه سالیین مدل مزمن (C veh, n=8) که ۰/۱ میلی‌لیتر سالیین مطابق الگوی دیگر گروه‌های مزمن دریافت کردند. ۵- گروه 4-AP مدل مزمن با میزان کم (C L 4-AP, n=8) که نیم ساعت قبل از تزریق سم تا ۱۵ روز پس از آن روزی دو بار ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن 4-AP به صورت درون صفاقی دریافت

کانال‌های پتاسیمی در تنظیم خواص الکتروفیزیولوژیک نورون‌ها نقش مهمی دارند. آن‌ها الگو و بسامد شلیک در نورون‌ها را تنظیم می‌کنند و از این طریق در کد کردن پیام‌ها در سیستم‌های عصبی حسی و حرکتی نقش دارند.^(۴۳) از طرف دیگر نوکلئازها و کاسپازها که پیام‌های مرگ را هدایت و تقویت می‌کنند، وابسته به یون پتاسیم هستند. در سلول‌های ایمنی و عصبی در حال مرگ، میزان پتاسیم داخل سلولی کاهش می‌یابد که باعث فعال شدن کاسپاز ۳ و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود.^(۶۵) همچنین نشان داده شده است که پروتئین AB (یک پروتئین غشایی که به میزان زیادی در سیستم عصبی بیان شده است و در یادگیری و بقای سلولی نقش دارد) می‌تواند از طریق فعال کردن جریان پتاسیمی وابسته به کلسیم با میزان هدایت بالا سبب مسمومیت عصبی شود.^(۷)

از سوی دیگر، ۴-امینوپیریدین (4-AP) یک ترکیب آلی است که طیف بزرگی از کانال‌های پتاسیمی را مهار می‌کند و از این طریق تحریک پذیری نورون‌ها را افزایش می‌دهد و سبب افزایش شلیک پتانسیل عمل در آن‌ها می‌شود.^(۴۳) کاربرد این دارو نورون‌های خاموش پورکنژ مخچه را فعال می‌کند و سبب بروز شلیک انفجاری می‌شود.^(۸-۱۲) این دارو اختلال‌های نورولوژیک ناشی از نقص در فعالیت سلول‌های پورکنژ مخچه مانند اتاکسیا و نیستاگموس را بهبود می‌بخشد و سبب کاهش علایم بیماری مولتیپل اسکلروزیس می‌شود.^(۱۳-۱۶) این دارو اثرات مثبتی در درمان بیماری الزایمر و اثر حفاظت نورونی در برابر مرگ نورونی القا شده توسط کاینات دارد.^(۱۷-۱۹)

در مورد اثر مهارکننده‌های کانال‌های پتاسیمی بر بیماری پارکینسون مطالعه‌های اندکی انجام شده است. برخی مطالعه‌ها بیان کرده‌اند که اختلال در عملکرد کانال‌های پتاسیمی عقده‌های قاعده‌ای ممکن است در ایجاد بیماری پارکینسون نقش داشته باشد.^(۲۰-۲۲) نتایج اخیر نشان داده است که 4-AP می‌تواند اثرات قابل

در گروه‌های مدل مزمن، ۱۰ میکرولیتر از سم به ناحیه استریاتوم نیم‌کره راست با مختصات زیر برحسب برگما تزریق شد:

AP	1.50	0.8	0.1	-0.5
L	-2.5	-3	-3.2	-3.6
V	6	6	6	6

آزمون‌های رفتاری عبارت بودند از:

الف- آزمون چرخش القا شده با اپومرفین که براساس روش به کار برده شده توسط فوجی و همکاران انجام شد.^(۲۵) برای اجرای این آزمون موش‌ها ابتدا در داخل یک استوانه پلکسی گلاس شفاف با قطر ۲۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۸ سانتی‌متر قرار گرفتند و سپس اپومرفین هیدروکلراید (۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن، درون صفاقی) به موش‌ها تزریق شد و ۱ دقیقه پس از آن، تعداد چرخش‌ها به طرف محل تزریق سم (عدد منفی) یا خلاف آن (عدد مثبت) به مدت ۱ ساعت ثبت گردید. در پایان تعداد چرخش خالص موش‌ها به یک طرف با جمع جبری اعداد به دست آمده محاسبه شد.

ب- آزمون پیچش بدن بالا رفته (elevated body swing test, EBST). این آزمون طبق روش بورلنگان و همکاران انجام شد.^(۲۶) به طور خلاصه دم موش از محدوده ۲ سانتی‌متری محل اتصال با بدن گرفته و به بالا آورده شد. سپس تعداد پیچش‌ها به راست یا چپ در مدت زمان ۱ دقیقه شمارش و انحراف در پیچش بدن به صورت زیر محاسبه شد:

$$L/(L + R) (\%) \text{ یا } R/(R + L) (\%)$$

L=تعداد پیچش به چپ و R=تعداد پیچش به راست

ج- آزمون روتارد که یادگیری حرکتی موش‌ها را ارزیابی می‌کند طبق روش لاندبلد و همکاران انجام شد.^(۲۷)

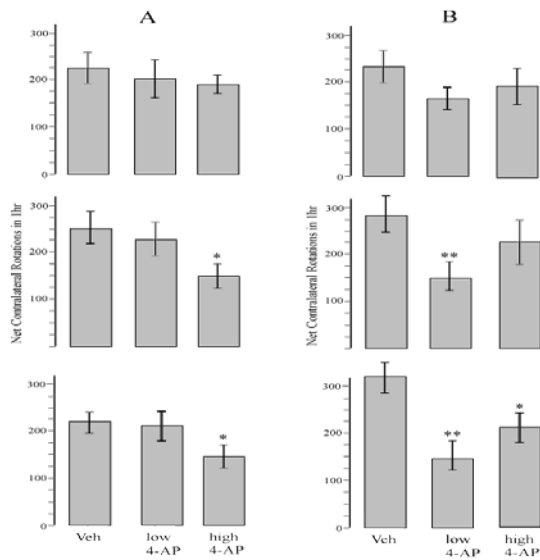
دستگاه روتارد (M.T6800, Borj Sanat, Iran) شامل یک میله چرخان است که سرعت چرخش آن در طول زمان افزایش می‌یابد. مدت زمانی که حیوان بر روی میله باقی می‌ماند به عنوان عملکرد در دستگاه روتارد محاسبه

گردید. ۶- گروه 4-AP مدل مزمن با میزان زیاد (C H 4-AP, n=7) که نیم ساعت قبل از تزریق سم تا ۱۵ روز پس از آن روزی دو بار ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن 4-AP به صورت درون صفاقی دریافت کردند. تمامی موش‌ها جراحی استرئوتاکسیک شدند و سم 6-OHDA به درون مغز آن‌ها تزریق شد. نتایج یک گروه دیگر به نام موش‌های سالم (healthy, n=10) در تحلیل نتایج آزمون روتارد استفاده شد. این موش‌ها جراحی نشدند و سم 6-OHDA یا داروی دیگری دریافت نکردند.

میزان داروها براساس مطالعه‌های قبلی و ضد تشنج بودن آن‌ها انتخاب شد. در گروه‌های حاد، آزمون چرخش القا شده با اپومرفین و پیچش بدن بالا رفته در هفته‌های سوم، پنجم و هشتم پس از جراحی و آزمون روتارد در هفته هفتم پس از جراحی انجام شد. در گروه‌های مزمن، آزمون چرخش القا شده با اپومرفین و پیچش بدن بالا رفته در هفته‌های چهارم، ششم و هشتم و آزمون روتارد در هفته هشتم پس از جراحی انجام شد.

برای جراحی استرئوتاکسی، موش‌ها ابتدا با استفاده از کتامین یا زایلازین ۶/۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن بی‌هوش شدند و سپس در دستگاه استرئوتاکس (Stoelting, USA) قرار گرفتند. در گروه‌های مدل حاد، ۶ میکرولیتر سم 6-OHDA (۴ میکروگرم در هر میکرولیتر حل شده در سالین حاوی ۰/۲ درصد اسید اسکوربیک) به روش زیر به مغز موش‌ها تزریق شد: براساس اطلس پاکسینوز و واتسون و با استفاده از سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری به دو ناحیه در دسته میانی مغز جلویی (medial forebrain bundle, MFB) نیم‌کره راست با مختصات برحسب برگما.^(۲۴)

AP	-4	-4.4
L	-0.8	-1.2
V	-8	-7.8



شکل ۱- نتایج آزمون چرخش القا شده با اپومرفین در

گروه‌های مدل حاد (A) و مدل مزمن (B)

(شکل‌های بالا تا پایین به ترتیب نتایج آزمون را در اولین، دومین و سومین آزمون پس از جراحی نشان می‌دهند. Veh: گروه سالین، $P < 0.05$ و $P < 0.01^{**}$)

در گروه‌های مدل مزمن، در اولین آزمون (شکل ۱B پانل بالا) اثر 4-AP معنی‌دار نبود. در دومین آزمون (شکل ۱B پانل وسط) میزان کم 4-AP سبب کاهش شدید و معنی‌دار شدت چرخش‌ها (حدود ۵۰ درصد، $P < 0.01$) نسبت به گروه سالین شد. در سومین آزمون (شکل ۱B پانل پایین) نیز میزان کم 4-AP سبب کاهش شدید و معنی‌دار شدت چرخش‌ها (حدود ۶۰ درصد، $P < 0.01$) نسبت به گروه سالین گردید. اثر میزان زیاد 4-AP در کاهش شدت چرخش‌ها نیز معنی‌دار بود (حدود ۶۰ درصد، $P < 0.05$) ولی این اثر ضعیف‌تر از میزان کم بود. همچنین در گروه مزمن سالین، شدت چرخش‌ها پس از جراحی به تدریج افزایش یافت، ولی در گروه‌های مزمن 4-AP به ویژه در گروه میزان کم این افزایش در شدت چرخش‌ها مشاهده نشد.

در آزمون EBST اگرچه 4-AP در میزان زیاد اندکی از انحراف در پیچش‌ها نسبت به گروه سالین کاست، ولی در مجموع اثر 4-AP بر آزمون EBST در مدل حاد قابل

می‌شود. در این تحقیق مدت زمان آزمایش ۲۰۰ ثانیه بود که در آن سرعت چرخش میله چرخان از ۵ دور در دقیقه شروع می‌شد و در عرض ۱۲۰ ثانیه به حداکثر سرعت ۴۰ دور در دقیقه می‌رسید و در باقی زمان آزمایش در حداکثر سرعت می‌ماند. آزمون در ۳ روز متوالی هر روز ۲ جلسه انجام شد. داده‌های آزمون روتارد براساس معیار ناحیه زیر منحنی (AUC) و area under the curve و براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$AUC = \text{time on the rod (s)} \times [\text{time on the rod (s)} \times 0.44 / 2]$$

0.44 = میزان شتاب سرعت چرخش میله گردان دستگاه در ثانیه
داده‌ها با آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس و من ویتنی یو تحلیل شدند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

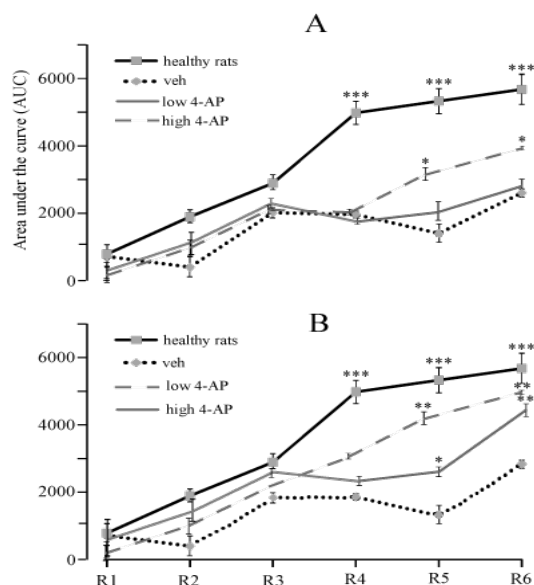
* یافته‌ها:

موش‌های تمامی گروه‌ها درجه‌های مختلفی از چرخش القا شده با اپومرفین را نشان دادند و تجویز داروی 4-AP نتوانست به طور کامل از مرگ نورون‌های دپامینرژیک هسته جسم سیاه توسط سم 6-OHDA جلوگیری کند. لکن تفاوت‌هایی بین گروه‌ها در شدت چرخش‌ها مشاهده شد. در گروه‌های مدل حاد، اگرچه تجویز میزان کم 4-AP اندکی از شدت چرخش‌ها کاست، ولی این اثر از نظر آماری معنی‌دار نبود. از طرف دیگر 4-AP در میزان زیاد اگرچه در اولین آزمون چرخشی پس از جراحی (شکل ۱A پانل بالا) اثر معنی‌داری بر شدت چرخش‌ها نداشت، ولی در دومین و سومین آزمون چرخشی پس از جراحی (شکل ۱A پانل وسط و پایین) به میزان معنی‌داری از شدت چرخش‌ها کاست. در گروه 4-AP مدل حاد با میزان زیاد، شدت چرخش‌ها در دومین آزمون پس از جراحی ۴۰ درصد و در سومین آزمون حدود ۳۰ درصد کمتر از گروه سالین (veh) بود. شدت چرخش‌ها در هفته‌های پس از جراحی در گروه حاد سالین (veh) تغییر قابل ملاحظه‌ای نکرد (شکل شماره ۱).

حاد (veh) و در جلسه‌های ۴، ۵ و ۶ بسیار کم‌تر از زمان ماندن در موش‌های سالم و تفاوت بین این دو گروه معنی‌دار بود ($P < 0.001$). تزریق میزان کم 4-AP اثر مشخصی نداشت و الگوی یادگیری و زمان ماندن بر میله چرخان در گروه حاد کم 4-AP بسیار نزدیک به گروه سالیین بود. از طرف دیگر در گروه 4-AP با میزان زیاد، حرکت موش‌ها اندکی بهبود یافت؛ به طوری که زمان ماندن در جلسه‌های ۵ و ۶ به میزان معنی‌داری بیش‌تر از گروه سالیین و گروه حاد با میزان کم 4-AP بود ($P < 0.05$).

در گروه 4-AP با میزان کم، حرکت موش‌ها بسیار بهتر از گروه سالیین و الگوی یادگیری به موش‌های سالم نزدیک بود. AUC جلسه‌های ۵ و ۶ به صورت معنی‌داری در گروه‌های 4-AP مزمن بیش‌تر از گروه سالیین بود ($P < 0.001$).

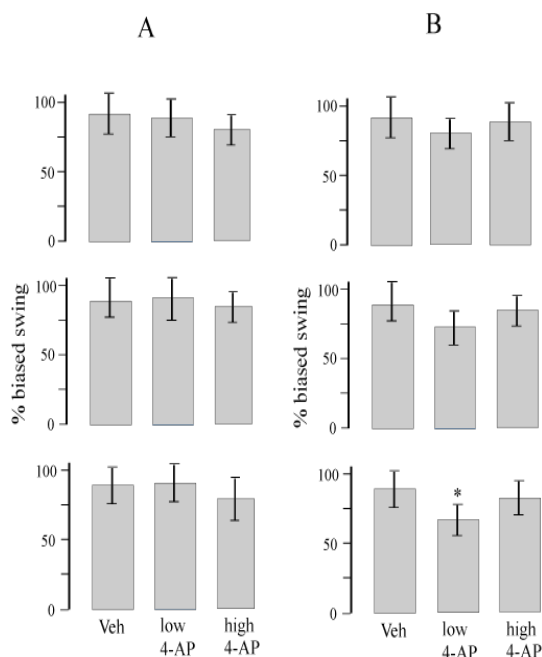
در گروه 4-AP با میزان زیاد، زمان ماندن در جلسه‌های ۵ و ۶ بیش‌تر از گروه سالیین، ولی الگوی یادگیری به موش‌های پارکینسونی نزدیک‌تر بود (شکل شماره ۳).



شکل ۳- نتایج آزمون روتارد در گروه‌های مدل حاد (A) و مدل مزمن (B)

(AUC): زمان ماندن در میله چرخان دستگاه روتارد، Veh: گروه سالیین، $P < 0.05^*$ و $P < 0.001^{***}$

ملاحظه و معنی‌دار نبود. در گروه‌های مدل مزمن اثر 4-AP تا اندازه‌ای بارزتر بود. میزان کم 4-AP سبب کاهش در شدت انحراف پیش‌ها در هر سه آزمون پس از جراحی شد که این کاهش در سومین آزمون نسبت به گروه سالیین معنی‌دار بود. لکن اثر میزان زیاد 4-AP قابل ملاحظه نبود (شکل شماره ۲).



شکل ۴- نتایج آزمون پیش‌بدن بالا رفته (EBST) در گروه‌های مدل حاد (A) و مدل مزمن (B)

(شکل‌های بالا تا پایین به ترتیب نتایج آزمون را در اولین، دومین و سومین آزمون پس از جراحی نشان می‌دهند. Veh: گروه سالیین و $P < 0.05^*$)

در آزمون روتارد موش‌های سالم به سرعت نحوه قدم زدن در دستگاه روتارد را آموختند به طوری که در جلسه چهارم آزمون به حداکثر زمان ماندن بر میله چرخان نزدیک شدند و در جلسه ششم به حداکثر زمان رسیدند. در موش‌های پارکینسونی (موش‌های گروه سالیین veh) اگرچه درجه‌ای از یادگیری مشاهده شد، ولی این یادگیری بسیار ضعیف بود و زمان ماندن تغییراتی را در جلسه‌های مختلف آزمون نشان داد.

در گروه‌های مدل حاد، AUC (متغیر وابسته به زمان ماندن در میله چرخان روتارد) در موش‌های گروه سالیین

*بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که در نوع حاد مدل 6-OHDA بیماری پارکینسون، تجویز مهارکننده کانال‌های پتاسیمی 4-AP در میزان بالا و تحت تشنجی (یک میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) قبل از تزریق سم تا یک هفته پس از آن می‌تواند سبب کاهش معنی‌دار شدت چرخش‌های القا شده با اپومرفین شود و تا اندازه‌های یادگیری حرکتی در آزمون روتارد را بهبود بخشد. تجویز 4-AP با میزان کم (۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) اثر قابل ملاحظه‌ای بر علایم رفتاری بیماری نداشت. از طرف دیگر در مدل مزمن، اگرچه میزان بالای 4-AP اثر معنی‌داری بر کاهش شدت چرخش‌های القا شده با اپومرفین و بهبود یادگیری حرکتی در آزمون روتارد داشت، ولی اثر میزان کم این مهارکننده بسیار قوی‌تر و بارزتر بود. 4-AP در این میزان نه تنها سبب کاهش معنی‌دار شدت چرخش‌های القا شده با اپومرفین و بهبود یادگیری حرکتی گردید بلکه سبب کاهش انحراف پیش‌ها در آزمون EBST نیز شد. این نتایج نشان می‌دهند که پیش‌درمان با 4-AP می‌تواند تا اندازه‌های شدت علایم رفتاری پارکینسون القا شده با سم 6-OHDA را کاهش دهد.

نوع حاد مدل 6-OHDA بیماری پارکینسون بر اثر تجویز سم به ناحیه MFB یا هسته جسم سیاه ایجاد می‌شود. در این حالت سم در مدت ۲ یا ۳ روز سبب مرگ گسترده نورون‌های دپامینرژیک بخش متراکم هسته جسم سیاه می‌شود. نوع مزمن مدل 6-OHDA بیماری پارکینسون بر اثر تجویز سم به ناحیه استریاتوم مغز جلویی ایجاد می‌شود. در این حالت سم در طی ۵ تا ۱۰ روز سبب مرگ نورون‌های دپامینرژیک هسته جسم سیاه می‌شود.^(۲۸) مرگ گسترده نورون‌های دپامینرژیک در مدت نسبتاً کوتاه در مدل حاد، نیاز به میزان بالای 4-AP برای اثربخش بودن را توجیه می‌کند. این یافته مطابق با داده‌های قبلی محققین بود که میزان کم (۰/۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن) و متوسط (۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن) 4-AP در درمان و کاهش شدت علایم رفتاری

بیماری پارکینسون در موش‌های صحرایی اثری نداشت، ولی میزان بالا (۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) مؤثر بود.^(۲۳) از طرف دیگر مدل مزمن بیش‌تر شبیه ایجاد بیماری پارکینسون در انسان است.^(۲۸) بنابراین براساس یافته‌های مطالعه حاضر، در صورت استفاده از 4-AP برای درمان بیماری پارکینسون در انسان، میزان‌های پایین آن توصیه می‌شود.

گزارش‌ها نشان داده‌اند بین مرگ سلول‌های دپامینرژیک هسته جسم سیاه و شدت علایم رفتاری در مدل حیوانی 6-OHDA بیماری پارکینسون ارتباط مثبتی وجود دارد.^(۳۳-۳۹) براساس نتایج این تحقیق نیز پیش‌درمان با 4-AP توانست مرگ نورون‌های دپامینرژیک در هسته جسم سیاه توسط سم 6-OHDA را کاهش دهد و از این رو نتایج محققین مختلف مبنی بر اثربخش بودن 4-AP در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو مختلف را تأیید می‌کند.^(۱۳-۱۹)

مطالعه‌های بالینی نشان داده‌اند 4-AP در درمان برخی از اختلال‌های عملکرد مخچه از جمله آتاکسیا اسپودییک نوع دو و نیستاگموس Upbeat در انسان مؤثر است.^(۱۳-۱۵) 4-AP همچنین سبب کاهش و تخفیف علایم بیماری مولتیپل اسکلروزیس و الزایمر می‌شود.^(۱۶-۱۸)

4-AP مهارکننده کلاسیک کانال‌های پتاسیمی سریع است که بر کانال‌های پتاسیمی زیرخانواده KV1، KV3، KV4 و با آفینیتت کم‌تر KV2 اثر می‌کند.^(۳-۴) نشان داده شده است که کانال‌های Kv در مرگ برنامه‌ریزی شده نورون‌های دپامینرژیک سهیم هستند.^(۲۰-۲۲) برخی از این کانال‌ها راه اصلی خروج پتاسیم در نورون‌های در حال مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی هستند. ردمن و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که سم 6-OHDA سبب مرگ سلولی وابسته به کانال‌های Kv القایی توسط تنش اکسیداتیو در نورون‌های قشری می‌شود.^(۳۴) همچنین نشان داده شده است که 6-OHDA جریان‌های یونی را از طریق کانال‌های Kv در نورون‌های دپامینرژیک مغز

and modulators. *Chem Biol Drug Des* 2014 Jan; 83 (1): 1-26.

4. González C, Baez-Nieto D, Valencia I, Oyarzún I, Rojas P, Naranjo D, et al. K(+) channels: function-structural overview. *Compr Physiol* 2012 Jul; 2 (3): 2087-149.

5. Skryma RN, Prevarskaya NB, Dufy-Barbe L, Odessa MF, Audin J, Dufy B. Potassium conductance in the androgen-sensitive prostate cancer cell line, LNCaP: involvement in cell proliferation. *Prostate* 1997 Oct; 33 (2): 112-22.

6. Yu SP, Yeh CH, Gottron F, Wang X, Grabb MC, Choi DW. Role of the outward delayed rectifier K1 current in ceramide-induced caspase activation and apoptosis in cultured cortical neurons. *J Neurochem* 1999 Sep; 73 (3): 933-41.

7. Furukawa K, Barger SW, Blalock EM, Mattson MP. Activation of K⁺ channels and suppression of neuronal activity by secreted beta-amyloid-precursor protein. *Nature* 1996 Jan 4; 379 (6560): 74-8.

8. Sacco T, Tempia F. A-type potassium currents active at subthreshold potentials in mouse cerebellar Purkinje cells. *J Physiol* 2002 Sep 1; 543 (Pt 2): 505-20.

9. Edgerton JR, Reinhart PH. Distinct contributions of small and large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels to rat Purkinje neuron function. *J Physiol* 2003 Apr 1; 548 (Pt 1): 53-69.

10. Cavelier P, Pouille F, Desplantez T, Beekenkamp H, Bossu JL. Control of the propagation of dendritic low-threshold Ca²⁺ spikes in Purkinje cells from rat cerebellar slice cultures. *J Physiol* 2002 Apr 1; 540 (Pt 1): 57-72.

11. Yazdi HH, Janahmadi M, Behzadi G. The role of small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in the modulation of 4-

میانی افزایش می‌دهد و انتاگونیست‌های این کانال‌ها می‌توانند اثر این سم را خنثی کنند. مکانیسم‌های دیگری برای اثرات حفاظت نورونی 4-AP پیشنهاد شده است. این مهارکننده سبب فعال شدن گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA و غیر NMDA می‌شود و از این طریق آزدسازی دپامین در استریاتوم را افزایش می‌دهد.^(۳۵) به طور کلی این مطالعه نشان داد مهارکننده کانال‌های پتاسیمی ۴-امینوپیریدین می‌تواند برای نورون‌های دپامینرژیک هسته جسم سیاه در برابر سم 6-OHDA اثرات حفاظت نورونی داشته باشد. این اثر وابسته به میزان بود و در شرایطی که مرگ نورونی گسترده و سریع وجود داشت، میزان‌های نسبتاً بالا و در شرایط مزمن میزان‌های پایین‌تر مؤثر بود. با توجه به این که بیماری پارکینسون در انسان یک بیماری نورودژنراتیو مزمن است، کاربرد 4-AP در بیماران پارکینسونی به ویژه در مراحل اول بیماری می‌تواند سبب کاهش یا آهسته کردن مرگ نورون‌های دپامینرژیک شود و در کاهش پیشرفت علائم بیماری مؤثر باشد.

*سیاس‌گذاری:

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی قزوین است.

*مراجع:

1. Mullin S, Schapira AH. Pathogenic mechanisms of neurodegeneration in Parkinson disease. *Neurol Clin* 2015 Feb; 33 (1): 1-17.
2. Labandeira-Garcia JL, Rodríguez-Perez AI, Villar-Cheda B, Borrajo A, Dominguez-Meijide A, Guerra MJ. Rho kinase and dopaminergic degeneration: a promising therapeutic target for Parkinson's disease. *Neuroscientist* 2014 Oct 16.
3. Tian C, Zhu R, Zhu L, Qiu T, Cao Z, Kang T. Potassium channels: structures, diseases,

- aminopyridine-induced burst firing in rat cerebellar Purkinje cells. *Brain Res* 2007 Jul 2; 1156: 59-66.
12. Haghdoost-Yazdi H, Janahmadi M, Behzadi G. Iberitoxin-sensitive large conductance Ca^{2+} -dependent K^{+} (BK) channels regulate the spike configuration in the burst firing of cerebellar Purkinje neurons. *Brain Res* 2008 May 30; 1212: 1-8.
13. Strupp M, Kalla R, Dichgans M, Freilinger T, Glasauer S, Brandt T. Treatment of episodic ataxia type 2 with the potassium channel blocker 4-aminopyridine. *Neurology* 2004 May 11; 62 (9): 1623-5.
14. Glasauer S, Kalla R, Buttner U, Strupp M, Brandt T. 4-aminopyridine restores visual ocular motor function in upbeat nystagmus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005 Mar; 76 (3): 451-3.
15. Glasauer S, Strupp M, Kalla R, Büttner U, Brandt T. Effect of 4-Aminopyridine on upbeat and downbeat nystagmus elucidates the mechanism of downbeat nystagmus. *Ann N Y Acad Sci* 2005 Apr; 1039: 528-31.
16. Leung G, Sun W, Brookes S, Smith D, Shi R. Potassium channel blocker, 4-aminopyridine-3-methanol, restores axonal conduction in spinal cord of an animal model of multiple sclerosis. *Exp Neurol* 2011 Jan; 227 (1): 232-5.
17. Andreani A, Leoni A, Locatelli A, Morigi R, Rambaldi M, Pietra C, et al. 4-Aminopyridine derivatives with anti-amnesic activity. *Eur J Med Chem* 2000 Jan; 35 (1): 77-82.
18. Franciosi S, Ryu JK, Choi HB, Radov L, Kim SU, McLarnon JG. Broad-spectrum effects of 4-aminopyridine to modulate amyloid beta1-42-induced cell signaling and functional responses in human microglia. *J Neurosci* 2006 Nov 8; 26 (45): 11652-64.
19. Ogita K, Okuda H, Watanabe M, Nagashima R, Sugiyama C, Yoneda Y. In vivo treatment with the KC channel blocker 4-aminopyridine protects against kainate-induced neuronal cell death through activation of NMDA receptors in murine hippocampus. *Neuropharmacology* 2005 May; 48 (6): 810-21.
20. Wang Y, Yang PL, Tang JF, Lin JF, Cai XH, Wang XT, et al. Potassium channels: possible new therapeutic targets in Parkinson's disease. *Med Hypotheses* 2008 Oct; 71 (4): 546-50.
21. Baranauskas G, Tkatch T, Surmeier DJ. Delayed rectifier currents in rat globus pallidus neurons are attributable to Kv2.1 and Kv3.1/3.2 K^{+} channels. *J Neurosci* 1999 Aug 1; 19 (15): 6394-404.
22. Norman ED, Egli RE, Colbran RJ, Winder DG. A potassium channel blocker induces a long-lasting enhancement of corticostriatal responses. *Neuropharmacology* 2005 Feb; 48 (2): 311-21.
23. Haghdoost-Yazdi H, Faraji A, Fraidouni N, Movahedi M, Hadibeygi E, Vaezi F. Significant effects of 4-aminopyridine and tetraethylammonium in the treatment of 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2011 Sep 30; 223 (1): 70-4.
24. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2007.
25. Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1996 Jul; 39 (1-2): 127-36.
26. Borlongan CV, Randall TS, Cahill DW,

- Sanberg PR. Asymmetrical motor behavior in rats with unilateral striatal excitotoxic lesions as revealed by the elevated body swing test. *Brain Res* 1995 Apr 3; 676 (1): 231-4.
27. Lundblad M, Vaudano E, Cenci MA. Cellular and behavioural effects of the adenosine A2a receptor antagonist KW-6002 in a rat model of l-DOPA-induced dyskinesia. *J Neurochem* 2003 Mar; 84 (6): 1398-410.
28. Shimohama S, Sawada H, Kitamura Y, Taniguchi T. Disease model: Parkinson's disease. *Trends Mol Med* 2003 Aug; 9 (8): 360-5.
29. Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol* 2002 Jun; 175 (2): 303-17.
30. Yuan H, Sarre S, Ebinger G, Michotte Y. Histological, behavioral and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods* 2005 May 15; 144 (1): 35-45.
31. Yuan H, Sarre S, Ebinger G, Michotte Y. Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods* 2005 May 15; 144 (1): 35-45.
32. Abrous DN, Rodriguez JJ, Montaron MF, Aoussseau C, Le Moal M, Barneoud P. Behavioural recovery after unilateral lesion of the dopaminergic mesotelencephalic pathway: effect of repeated testing. *Neuroscience* 1998 May; 84 (1): 213-21.
33. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res* 2005 Jul 1; 162 (1): 1-10.
34. Redman PT, Jefferson BS, Ziegler CB, Mortensen OV, Torres GE, Levitan ES, et al. A vital role for voltage-dependent potassium channels in dopamine transporter-mediated 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *Neuroscience* 2006 Nov 17; 143 (1): 1-6.
35. Jin S, Fredholm BB. Role of NMDA, AMPA and kainate receptors in mediating glutamate- and 4-AP-induced dopamine and acetylcholine release from rat striatal slices. *Neuropharmacology* 1994 Sep; 33 (9): 1039-48.