پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳، صفحات ۸۶ تا ۹۲

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی اثرات دو جزء فعال جدا شده از سم عقرب *Buthotus schach* بر ویژگی‌های پتانسیل عمل نورون‌های حلزون

هانیه تمدن[۱]، زهرا قاسمی[۱]، دکتر حسین وطن پور[۲]، دکتر مهیار جان احمدی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] گروه سم شناسی و داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *درک چگونگی اثرات سلولی و الکتروفیزیولوژیک سموم، از جمله سموم عقرب، می‌تواند گامی در جهت تولید داروهای جدید باشد. Buthotusschach (BS) یکی از خطرناک‌ترین عقرب‌های نواحی گرمسیر ایران است. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثرات الکتروفیزیولوژیک دو جزء فعال استخراج شده از سم عقرب Buthotusschach (BS)برشکل پتانسیل عمل نورون F1حلزون باغی بود.*

روش بررسی: *ثبت داخل سلولی از جسم سلولی نورون‌های F1حلزون باغی در حضور و عدم حضور دو جزء فعال F6 و F4جدا شده از سم عقرب BS در دو غلظت مختلف ۵۰ نانومولار و ۱ میکرو مولار انجام شد.*

یافته‌ها: *در شرایط کنترل، پتانسیل استراحت غشای نورون‌ها ۰/۳۳±۴۳/۱۱- میلی ولت، دامنه پتانسیل عمل ۰/۳۹±۴۹/۳۴ میلی ولت و فاصله زمانی رسیدن پتانسیل عمل به قله خود ۰/۳۲±۱۷/۰۲میلی ثانیه بود. در حالی که افزودن جزء F4 به مایع خارج سلولی، اثر دوگانه بصورت وابسته به ولتاژ روی پتانسیل استراحت غشا داشت، به طوری که درغلظت ۵۰ نانومولار موجب هیپرپلاریزاسیون پتانسیل استراحت غشا شد (۰/۵۴±۴۸/۸۱- میلی ولت؛ P<۰/۰۰۱)، اما دوز ۱میکرومولار آن پتانسیل غشا را به سمت ولتاژهای دپلاریزه شیفت داد (۰/۲۵±۴۰/۳۵- میلی ولت؛ P<۰/۰۰۱). دامنه پتانسیل عمل تنها تحت تاثیر دوز پایین کاهش معنی داری یافت (۰/۴۶± ۴۵/۳۸ میلی ولت ؛ P<۰/۰۰۱). مدت زمان لازم برای رسیدن به قله بطور معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) تحت تاثیر هردو غلظت افزایش پیدا کرد. حال آنکه افزودن جزء F6 موجب دپلاریزاسیون پتانسیل استراحت غشا شد. محلول رینگر حاوی جزءF6 با غلظت ۵۰ نانومولار هم چنین باعث افزایش دامنه (۰/۳۹±۵۲/۲ میلی ولت ؛ P<۰/۰۰۱) و مدت زمان رسیدن به قله پتانسیل عمل (۰/۹۲±۲۸/۰۴ میلی ثانیه؛ P<۰/۰۰۱) شد، در حالی که غلظت بالاتر محلول هیچ اثر معنی‌داری روی این پارامترها نداشت.*

نتیجه‌گیری: *اجزائ جدید جدا شده از سم عقرب Buthotusschach به ویژه در غلظت پایین باعث تغییر ویژگی‌های پتانسیل شد که با توجه به نقش کانالهای سدیمی در دامنه و زمان رسیدن به قله پتانسیل عمل به نظر می‌رسد این اجزا از طریق تاثیر بر کانال‌های سدیمی موجب تغییرات ذکر می‌شود.*

واژگان کلیدی: *سم عقرب، ثبت داخل سلولی، پتانسیل عمل، Buthotus schach.*

مقدمه

سموم، مواد ترشحی حیوانات سمی هستند و مخلوطی از مولکول‌های بزرگ زیست فعال همچون سموم پروتئینی، آنزیم ها و پلی پپتیدها می باشند. سموم از نظر شیمیایی خالص هستند و مواد فعال موجود در آنها اثرات خاصی بر سیستم های بیولوژیک دارند. اگرچه سموم و زهرابه ها موجب بروز علائم پاتوفیزیولوژیک می گردند، لکن می‌توانند به مواد مؤثر در درمان و بهبود بسیاری از بیماری ها نیز تبدیل شوند (۱). امروزه به خوبی پذیرفته شده است که یک ماده سمی می‌تواند در صورت مصرف درست به عنوان یک دارو نیز عمل نماید. استفاده از سموم در درمان

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دکتر مهیار جان احمدی (**e-mail:** Janahmadi@sbmu.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۲/۲۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۶/۲۵

بسیاری از بیماری‌ها در منابع پزشکی قدیمی اشاره گردیده است (۱). اصطلاح Apitherapy با قدمتی هزاران ساله به استفاده پزشکی و درمانی محصولات زنبور عسل که شامل عسل، دانه گرده، موم و سم زنبور عسل است، گفته می‌شود. شناخته شده ترین کاربرد درمانی سم زنبور عسل، درمورد بیماری‌های خودایمنی و به خصوص مالتیپل اسکلروزیس می باشد (۲).د ر تحقیقات مدرن و روز، انجام مطالعات دقیق در زمینه تظاهرات پاتوفیزیولوژیک ناشی از سموم، به محققین اجازه داده است که کاربرد منطقی آنها را برای تولید موادی که اثرات درمانی قوی دارند مورد توجه قرار دهند. بنابراین، بررسی اثرات سلولی والکتروفیزیولوژیک، از جمله سموم عقرب، شاید بتواند گامی در جهت تولید داروهای جدید باشد و به همین دلیل در بررسی حاضر اثرات الکتروفیزیولوژیک دو جزء جدا شده از سموم عقرب BSکه توسط وطن پور و همکارانش در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جداسازی شده (۳)، مورد بررسی قرار می گیرد. اخیرا اثرات سم خالص و اجزا جدا شده (F4 و F6) *Buthotusschach* که یکی از خطرناک‌ترین عقرب‌ها در نواحی گرمسیر ایران است، بر روی انتقال عصب عضله بررسی شده (۳) و نشان داده شده است که سم و به ویژه اجزاء جدا شده آن، با اثر برروی رهایش Ach موجب افزایش گذرای دامنه تویئج عضلانی شد که همراه با انقباض فوق العاده شدید بود، اما تاثیر آنها برروی ویژگیهای الکتریکی سلول های عصبی تاکنون مطالعه نشده است. بیش از هفتادوپنج سال پیش، Calmette و همکارانش نشان دادند که از نظر فیزیولوژیک اجزاء فعال سم مار ممکن است دارای اثرات درمانی قوی باشد(۱). آنها نشان دادند که زهر مار میتواند سرطان را درموش کوچک آزمایشگاهی درمان نماید. پس ازآن، گزارشات متعددی مبنی بر اثرات ضد سرطانی سموم گونه های مختلف مارداده شد (۵،۴). سموم و زهرهای خالص بی مهرگان، به ویژه بندپایان از جمله عقرب و زنبورعسل گزارش شده که اثرات درمانی دارند؛ به عنوان مثال Chlorotoxin که پپتیدی با ۳۶ اسید آمینه است و از سم عقرب گونه *Leiurusquinquestriatus*استخراج گردیده، می‌تواند مانع از رشد سلول های گلیوما گردد (۶،۱). Stoppin پروتئین کوچکی با ۲۷ اسیدآمینه است که از سم عقرب گونه آسیایی *Buthusmartensi Karsh*استخراج شده و می‌تواند سلولهای سرطانی را به صورت وابسته به P53 (پروتیئن مهار کننده تومور) از بین ببرد (۷). نوروتوکسین Kaliotoxin ، پلی پپتید۴ کیلو دالتونی استخراج شده از عقرب *Androctonusmauretanicusmauretanicus* نشان داده شده که می‌تواند در بهبود مالتیپل اسکلروزیس و تحلیل استخوان ناشی از پریودونتیت در موش مؤثر باشد (۸ ، ۹). سموم عقرب همچنین منبع غنی از پپتیدها با تنوعی از اثرات بیولوژیک و فارماکولوژیک است که باعث تخلیه حجیم کاتکول‌آمین‌ها و در نهایت موجب مرگ می‌شوند (۳). پروتئین هدف نوروتوکسین‌های عقرب اغلب کانال های سدیمی و پتاسیمی است. ازبین ۱۵۰۰ گونه عقرب، *Schach* که *(=Hottentotta) zagrosensisButhotus* نامیده می‌شود، ازخانواده *Buthidae*یک عقرب خطرناک در ایران محسوب می‌شود (۳). زهر گونه های خانواده بوتیده که عامل بیشترین گزیدگی ها در ایران هستند بیشتر روی دستگاه عصبی اثر گذاشتهو باعث پیدایش عوارض ناشی از اختلالات در سیستم اعصاب محیطی شامل سیستم پاراسمپاتیکی و سیستم عصبی عضلانی می شوند (۱۰). از بین سموم حیوانی،سموم عقرب به دلیل فعالیت و اختصاصی عمل کردن زیادی که دارند جهت مطالعه مکانیسم های پیچیده بیولوژیک از جمله مطالعه رفتار کانال های یونی سودمند می باشند (۱۱). از آنجاییکه بیشترین اثر زهر عقرب مربوط به نوروتوکسین های موجود در زهر است ، لذا در بسیاری از مطالعات برروی سم عقرب، نوروتوکسین های زهر به عنوان هدف اختصاصی درنظر گرفته می شود (۱۰). نوروتوکسین موجود در زهر عقرب بسیار کشنده و از این نظر قابل رقابت با سم مار و تنها کمی ضعیف تر از سم برخی باکتری ها هستند. هدف مولکولی نوروتوکسین ها کانال های وابسته به ولتاژ از جمله سدیمی و پتاسیمی می باشد، بنابراین سموم عقرب اغلب برروی سلول های تحریک پذیر اثر میکنند (۱۰). برخی از نوروتوکسین های پروتئینی موجود در سموم عقرب دارای خاصیت انتخابی برروی کانال های یونی پستانداران هستند (۱۰). تاکنون بیش از ۴۰۰ توکسین از عقرب هایی با گونه های مختلف شناسایی شده است اما بیشتر آنها روی کانال های سدیم اثر میکنند (۱۱). سموم عقرب هایی از خانواده Buthidae که به عنوان سموم پپتیدی شناخته شده اند (۱۱)، اثرات گسترده ای بر روی موجودات مهره دار وبی مهره دارند (۱۱) و مسمومیت آنها در ارتباط با انواع مختلفی از پلی پپتیدهایی است که با ۳ یا ۴ پل دی سولفیدی به یکدیگر متصل هستند (۱۲و۱۳). کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ در بسیاری از سلول های بدن وجود دارند و در بسیاری از اعمال سلولی مانند تولید و انتشار پتانسیل عمل در سیستم عصبی نقش دارند که در بیشتر موارد هدف اختصاصی بسیاری از سموم پپتیدی عقرب ها و مسئول بروز تظاهرات عقرب گزیدگی هستند (۱۴). مکانیسم‌های اولیه درمورد نحوه تاثیر سموم عقرب برروی کانال‌های سدیمی توسط مدل‌های ارائه شده توسط Catterall به دست آمده‌اند. سموم عقرب بلند زنجیره با ۴ پل دی‌سولفیدی روی کانال‌های سدیمی و سموم زنجیره کوتاه با

۳ پل دی‌سولفیدی بر کانال‌های پتاسیمی اثر کرده و آنها را بلوک می‌کنند (۱۵).بنابراین، با توجه به تحقیقات انجام شده، شناخت اثرات سلولی اجزاء تشکیل دهنده سموم می‌تواند در روشن نمودن اثرات بیولوژیک و شاید پتانسیل درمانی احتمالی سموم اهمیت داشته باشد. لذا بررسی حاضر، به بررسی اثرات الکتروفیزیولوژیک اجزاء سموم استخراج شده از عقرب *Buthotusschach* بر نورون‌های حلزون با استفاده از ثبت داخل سلولی پرداخت.

مواد و روشها

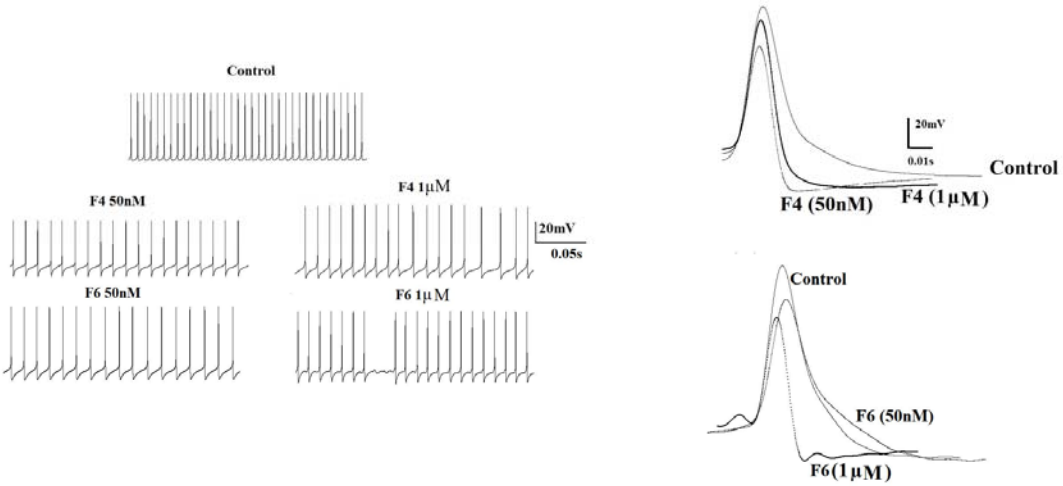
این تحقیق به روش تجربی و در شرایط *in vitro* انجام شد و در آن از تکنیک ثبت داخل سلولی که با وارد نمودن یک الکترود به داخل سلول و قرار دادن یک الکترود رفرانس در خارج سلول استفاده شد و ویژگی‌های پتانسیل عمل نورونی ثبت و بررسی گردید. آزمایشات بر روی نورون‌های F1 در گانگلیون زیر مری صورت گرفت. بدین منظور نمونه‌های بالغ حلزون باغی را که از منطقه شمال ایران جمع‌آوری شده بود، پس از خارج کردن از صدف روی چوب پنبه تثبیت کرده و با ایجاد شکافی طولی در ناحیه بین دو شاخک، حلقه گانگلیونی دور مری را به همراه اعصاب محیطی از بدن خارج و مجموعه آن را با سوزن حشره در محفظه ثبت با بستر سیلگارد و حاوی رینگر نرمال تثبیت کرده و بافت پیوندی اطراف آن را تا آشکار شدن نورون‌ها به وسیله انبرک‌های بسیار ظریف برداشته شد. محلول رینگر نرمال (بر حسب میلی مولار) شامل(5) $MgSO_4$، (4) KCl، (10) $CaCl_2$، (80) NaCl، (10) Glucose و HEPES (5) بود و pH آن با Trisma base در حد ۷/۴ تا ۷/۶ تنظیم شد.در شرایط کنترل شده آزمایشگاه از نورون‌های کنترل و پس از آنکه در معرض سم قرار گرفتند به وسیله ثبت داخل سلولی به روش کلمپ جریان در شرایط خودبخودی و یا پس از تزریق جریان به عمل آمد و فعالیت الکتریکی نورونی در شرایط مختلف مقایسه گردید. محلول رینگر حاوی اجزاء F4 و F6 در دو غلظت ۱µM و ۵۰nM (دوز سم بر اساس دوزی که در مورد سم عقرب کالیوتوکسین به عنوان استاندارد استفاده شده است (۱۶،۹) انتخاب گردید) تهیه شد و به کمک سیستم پرفیوژن متکی به جاذبه از محفظه ثبت حاوی گانگلیون عبور داده شد. مکانیسم سلولی تاثیر دو جزء فعال شده، با اندازه گیری ویژگی‌های کمی پتانسیل عمل صورت گرفت. آزمایش‌ها در سه گروه آزمایشی مجزا انجام شد. در هر گروه حداقل از پنج سلول ثبت داخل سلولی صورت گرفت و پس از آن که به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه ثبت پایه از فعالیت خودبخودی سلول‌های F1 در شرایط کنترل به عمل آمد، به منظوربررسی اثر سموم، درگروه جزء F4 محلول حاوی سم با دوز ۵۰ نانومولار و ۱میکرومولار و درگروه جزء F6 نیز محلول با همین غلظت‌ها به محیط خارج سلولی پرفیوژ شد و آنگاه از فعالیت الکتریکی سلول‌ها در این شرایط ثبت به عمل آمد. آنالیز نتایج حاصل از آزمایشات به کمک نرم افزار(Lab Chart (ADInstrument, Australia انجام شد و از برنامه Excel برای محاسبه میانگین و انحراف معیار داده‌ها و رسم منحنی ها استفاده خواهد شد. به منظور مقایسه داده‌ها از آزمون های آماری ANOVA یک طرفه استفاده شد و داده-ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید. مقادیر $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. متغیرهای مورد بررسی در این مطالعه، اطلاعات خام بدست آمده از طریق تکنیک Current clamp بودند. این متغیرها عبارت بودند از: ۱- اختلاف پتانسیل غشاء سلول (اختلاف ولتاژ بین دوطرف غشای سلول عصبی)، ۲- دامنه پتانسیل عمل (ارتفاع سیگنال از سطح پتانسیل استراحت تا قله پتانسیل عمل) و ۳- زمان رسیدن به قله (time to peak) پتانسیل عمل (فاصله زمانی از شروع پتانسیل عمل تا قله آن).

یافته‌ها

در شرایط کنترل، نورون‌ها دارای فعالیت خودبخودی منظم بودند (شکل۱) و پتانسیل استراحت غشای نورون ها برابر با ۴۳/۱۱±۰/۳۳- میلی ولت، دامنه پتانسیل عمل ۴۹/۳۴±۰/۳۹ میلی ولت و فاصله زمانی رسیدن پتانسیل عمل به قله خود ۱۷/۰۲±۰/۳۲میلی ثانیه بود (جدول۱).

اثرات جزء F4بر روی خصوصیات پتاسیل عمل

به دنبال افزودن جزء F4 جدا شده ازسم عقرب BS به مایع خارج سلولی،الگوی شلیک پتانسیل عمل تغییر پیدا کرد و تحریک پذیری نورونی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (شکل ۱). هر دو دوز ۵۰ نانومولار و ۱ میکرومولار اثرات دوگانه برروی پتانسیل استراحت غشا داشت (جدول ۱)، به طوری که محلول با غلظت ۵۰ نانومولار، پتانسیل استراحت را به طور معنی‌داری به سمت پتانسیل‌های هیپرپلاریزه شیف داد (۴۸/۸۱±۰/۵۴ mV-؛ $P<0/001$)، اما دوز ۱ میکرومولار محلول، به صورت معنی‌دار پتانسیل غشا را به سمت پتانسیل های دپلاریزه تر تغییر داد (۴۰/۳۵±۰/۲۵ mV-؛ $P<0/001$). دامنه پتانسیل عمل (جدول ۱) تحت تاثیر دوز ۵۰ نانومولار



شکل ۱. سمت راست: تاثیر دو جزء F4 و F6 (جدا شده از سم عقرب بوتوتوس شاخ) بر الگوی شلیک پتانسیل عمل در شرایط کنترل و در حضور F4 و F6 در دو غلظت ۵۰nM و ۱µM. به منظور نشان دادن تفاوت پاسخ، در هریک از شرایط، یک پتانسیل عمل انتخاب و بر هم منطبق گریده است. سمت چپ: پتانسیل‌های عمل خودبه‌خودی در شرایط کنترل و در حضور سموم.

جدول ۱. مقایسه اثرات سموم F4 و F6 در دو غلظت ۵۰ نانومولار و ۱میکرومولار (درهر گروه n>۵) بر شاخص های الکتروفیزیولوژیک پتانسیل عمل سلول‌های عصبی

گروه آزمایشی	RMP (mV)	APA (mV)	Time to peak (ms)
Control	-۴۳/۱۱±۰/۳۳	۴۹/۳۴±۰/۳۹	۱۷/۰۲±۰/۳۲
F4-50 nM	-۴۸/۸۱±۰/۵۴*	۴۵/۳۸±۰/۴۶*	۲۱/۳۳±۰/۵۴*
F4-1 µM	-۴۰/۳۵±۰/۲۵*	۴۹/۸۵±۰/۶۹	۲۰/۶۴±۰/۷۵*
F6-50 nM	-۴۰/۱۷±۰/۴۵*‡	۵۲/۲۷±۰/۳۹ *‡	۲۸/۰۴±۰/۹۲*‡
F6-1 µM	-۴۱/۵±۰/۵۶ †	۴۹/۴۸±۰/۵۶	۱۷/۸۶±۰/۸ l

تاثیر سموم بر پتانسیل استراحت غشا سلول (A)، دامنه پتانسیل عمل (B)، مدت زمان لازم برای رسیدن به قله پتانسیل عمل (C). * تفاوت معنی‌دار بین میانگین گروه‌ها با کنترل (p<۰/۰۰۱)؛ † تفاوت معنی‌دار بین میانگین گروه‌ها با کنترل (p<۰/۰۱) ‡ تفاوت معنی‌دار بین دو گروه F4 و F6 در غلظت‌های مشابه (p<۰/۰۰۱)؛ l تفاوت معنی‌دار بین دو گروه F4 و F6 در غلظت‌های مشابه (p<۰/۰۱).

این سم کاهش معنی‌داری یافت (۴۵/۳۸±۰/۴۶ mV؛ P<۰/۰۰۱)، اگرچه این محلول درغلظت بالاتر خود اثر معنی داری روی این پارامتر نداشت. تحت تاثیر جزء F4 مدت زمان لازم برای رسیدن به قله به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد (جدول ۱). افزایش مدت زمان رسیدن به قله (Time to Peak) در دوز ۵۰ نانومولار و ۱میکرومولار به ترتیب برابر با (۲۱/۳۳±۰/۵۴ ms؛ P<۰/۰۰۱) و (۲۰/۶۴±۰/۷۵ ms؛ P<۰/۰۰۱) بود.

اثرات جزء F6بر روی ویژگی های پتاسیل عمل

کاربرد جزءF6 نیز باعث کند شدن آهنگ شلیک پتانسیل عمل گردید (شکل ۱) و پتانسیل استراحت غشا سلول F1 را در هردوغلظت۵۰ نانومولار (-۴۰/۱۷±۰/۴۵ mV؛ P<۰/۰۰۱) و ۱ میکرو مولار (-۴۱/۵±۰/۵۶ mV؛ P<۰/۰۱) به سمت پتانسیل‌های دپلاریزه‌تر شیفت داد (جدول ۱). محلول رینگرحاوی جزء F6 با غلظت ۵۰ نانومولار، هم چنین باعث افزایش دامنه پتانسیل عمل (۵۲/۲۷±۰/۳۹ mV؛ P<۰/۰۰۱) و مدت زمان رسیدن به قله شد (۲۸/۰۴±۰/۹۲ ms؛ P<۰/۰۰۱)، در حالی که غلظت بالاتر محلول هیچ اثر معنی-داری روی این پارامترها نداشت (جدول ۱).

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که هردو جزء جدا شده از سم این عقرب باعث افزایش مدت زمان لازم برای رسیدن به قله پتانسیل عمل شد. با توجه به نقش کانال‌های سدیمی وابسته

به ولتاژ در زمان رسیدن به قله یا به عبارتی حداکثر تغییرات ولتاژ نسبت به زمان به نظر می‌رسد که افزایش مدت زمان رسیدن پتانسیل عمل به قله تحت تاثیر سم احتمالا ناشی از مهار کانال‌های وابسته به ولتاژ سدیمی باشد. از طرفی هردو جزء F4 و F6 در غلظت بالا باعث دپلاریزه شدن پتانسیل استراحت غشا سلول شدند. این دپلاریزاسیون می‌تواند ناشی از مهار کانال‌های پتاسیمی رو به خارج باشد. Banerjee و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که سم عقرب Charybdotoxin با اتصال به سطح خارج سلولی کانال‌های وابسته به ولتاژ پتاسیمی موجب مهار منفذ کانال و از این طریق مانع از خروج K^+ می‌گردد که خود باعث دپلاریزاسیون پتانسیل غشا می‌شود (۱۷). هم چنین گزارش شده است که سم Quinquestriatus جدا شده از سم عقرب Leiurusquin questriatus موجب دپلاریزاسیون پتانسیل غشا عضلات اسکلتی می‌گردد (۱۸). سموم عقرب مخزن فارماکولوژیک بزرگی از توکسین‌های پپتیدی است که می‌توانند اطلاعات خوبی در مطالعه و شناخت کانال‌های یونی مختلف از قبیل کانال‌های سدیمی، پتاسیمی، کلر و کلسیمی و همچنین آسیب‌های مرتبط با آنها به ما ارایه دهند (۱۹). پپتیدهای مشتق از سموم، کانال‌ها و رسپتورهای غشایی مختلفی را مورد حمله خود قرار می‌دهند؛ به عنوان مثال کالیوتوکسین که یک نوروتوکسین جداشده از نوعی عقرب می‌باشد (۲۰) به کانال های وابسته به ولتاژ پتاسیمی نوع Kv1.3 و کانال های پتاسیمی وابسته به کلسیم نوع BK متصل شده و با بستن ورودی کانال و القاء تغییر فرم فضایی در فیلتر انتخابی پتاسیم، جریان پتاسیم را ازطریق این کانال‌ها مهار می‌کند (۲۰). این کانال‌ها فرایندهای تنظیمی مختلفی، شامل رهایش نوروترانسمیتر، ضربان قلب، ترشح انسولین و انقباض عضله صاف را کنترل می‌کنند (۲۱). مهار کانال‌های Kv1.3 توسط کالیوتوکسین برخی بیماری‌ها را در مدل‌های موش آزمایشگاهی (rat) مالتیپل اسکلروزیس و تحلیل استخوان ناشی از التهاب دندان بهبود می‌بخشد (۲۲،۹،۸). همچنین تترودوتوکسین که سم استخراج شده از ماهی بادکنکی است اثر سمی خود را از طریق مهار عملکرد کانال های سدیمی اعمال می‌کند (۲۳). کلروتوکسین که جز فعال سم نوعی عقرب است توانایی مهار هدایت کلر را از کانال‌های کلر دارد (۲۴). همچنین نشان داده شده است که استفاده از آپامین (سم زنبورعسل) که مهارکننده اختصاصی کانال‌های پتاسیم وابسته به کلسیم (K_{Ca}) است، منجر به کاهش دامنه و طول مدت پتانسیل عمل می‌شود (۲). این درحالی است که مطالعه حاضر به ما نشان داد اگرچه جزء F_4 ، به صورت معنی‌داری دامنه پتانسیل عمل را کاهش می‌دهد، اما جزء F_6 عکس این نتیجه را نشان داده یعنی باعث افزایش دامنه پتانسیل عمل می‌شود. دامنه و upstroke حاصل فعالیت کانال‌های وابسته به ولتاژ سدیمی است (۲۵).

از آنجایی که جریانات سدیمی فعال شده رو به داخل به واسطه دپلاریزاسیون غشا تا حد آستانه و باز شدن کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ، عامل اصلی بروز فاز بالاروی پتانسیل عمل هستند و همچنین کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نیز در روند دپلاریزاسیون غشا طی پتانسیل عمل فعال می شوند، می‌توان پیشنهاد کرد که سموم بر عملکرد کانال‌های یونی درگیر در فاز بالاروی پتانسیل عمل، یعنی کانال‌های سدیمی و احتمالا کلسیمی وابسته به ولتاژ، دارای اثر مهاری است و با کاهش فعالیت آنها موجب بروز تغییراتی در سرعت فاز بالاروی پتانسیل عمل شده است، هرچند تاثیر دو جزء متفاوت از یکدیگر می‌باشد (۲۹-۲۶). از طرفی احتمالا مهار برخی جریان های پتاسیمی باعث آهسته نمودن فرایند غیرفعال سازی کانال‌های یونی و در نتیجه دپلاریزاسیون بیشتر و ورود مقدار بیشتر یون کلسیم در هر بار تحریک سلول و در نهایت فعال سازی نوع دیگری از کانال‌های پتاسیمی یعنی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم می شود که این موضوع می‌تواند علت احتمالی تفاوت تاثیر دو جزء را روی دامنه و الگوی پتانسیل عمل توجیه نماید.

بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان گفت که دو جزء جدا شده از سم عقرب Buthotusschach احتمالا با تغییر عملکرد کانال‌های یونی به ویژه پتاسیمی باعث تغییر تحریک‌پذیری نورونی می‌شوند.

تشکر و قدردانی

هزینه انجام تحقیق حاضر توسط معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی در قالب حمایت از پایان‌نامه‌های تحصیلات تکمیلی تامین گردیده است و بخشی از پایان‌نامه هانیه تمدن دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی می‌باشد.

REFERENCES

1. Biswas A, Gomes A, Sengupta J, Datta P, Singha S, Dasgupta AK, et al. Nanoparticle-conjugated animal venom-toxins and their possible therapeutic potential. J Venom Res 2012;3:15-21.

2. Vatanparast J, Janahmadi M. Contribution of apamin sensitiveSK channels to the firing precision but not to the slow after hyperpolarization and spike frequency adaptation in snail neurons. Brain Res 2009;1255:57-66.

3. Vatanpour H, Ahmadi F, ZareMirakabadi A, Jalali A. Two biological active fractions isolated from *Buthotusschach* (BS) scorpion venom examined on striated muscle preparation, in-vitro. IJPR 2012;11:905-11.

4. Iwaguchi T, Takhechi M, Hayashi K. Cytolytic activity of cytotoxin isolated from Indian cobra venom against experimental tumor cell. Biochem Int 1985;10:343-49.

5. Debnath A, Chatterjee U, Das M, Vedasiromoni JR, Gomes A. Venom of Indian monocellate cobra and Russell's viper show anticancer activity in experimental models. J Ethnopharmacol 2007;111:681-84.

6. Shaw C. Advancing drug discovery with reptile and amphibian venom peptides. Biochemical Soc 2009; 31:34-37.

7. Li C, Liu M, Monbo J, Zou G, Li C, Yuan W, et al. Turning a scorpion toxin into a antitumor miniprotein. J Am Chem Soc 2008;130:13546-48.

8. Beeton C, Barbaria J, Giraud P, Devaux J, Benoliel AM, Gola M, et al. Selective blocking of voltage-gated K^+ channels improves experimental autoimmune encephalomyelitis and inhibits T cell activation. J Immunol 2001;166:936- 44.

9. Valverde P, Kawai T, Taubman MA. Selective blockade of voltage-gated potassium channels reduces inflammatory bone resorption in experimental periodontal disease. J Bone Miner Res 2004;19:155-64.

10. Ahmadi F. The effects of *Buthotusschach* (*Hottentottazagrosenssis*) scorpion venom and it's extracted fractions on neuro-muscular transmission [PhD Thesis]. Tehran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2012. [In Persian]

11. Ghane M, ZareMirakabadi A, Rabei H, Mohamadpour N, EbrahimHabibi A. Identification and purification of two mammalian nourotoxins from Iranian scorpion (*Buthotusschach*) venom. Arch Razi Institute 2008;63:39-45.

12. Zlotkin E, Miranda F, Rochat C. Chemistry and pharmacology of Buthinae scorpion venoms. In: Bettini S, Editor. Arthropod Venoms. New York: Springer; 1978. P.317–69.

13. Rochat H, Bernard P, Couraud F. Scorpion toxins: chemistry and mode of action. Adv Cytopharmacol 1979;3:325-34.

14. Wang GW, Strichartz GR. Purification and physiological characterization of neurotoxins from the venom of the scorpion *Centruroidessculpturatus* and *Leiurusquinquestriqtus*. Mol Pharmacol 1983;23:519-33.

15. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. Neuron 2000;26:13–25.

16. Cerni FA, Pucca MB, Peigneur S, Cremonez CM, Bordon KCF, Tytgat J. Electrophysiological characterization of Ts6 and Ts7, K^+ channel toxins isolated through an improved *Tityusserrulatus* venom purification procedure. Toxins 2014;6:892-913.

17. Banerjee A, Lee A, Campbell E, Mackinnon R. Structure of a pore-blocking toxin in complex with a eukaryotic voltage-dependent K^+ channel. Elife.2013;2:e00594.

18. Chang CC, Hong SJ, Su MJ. A study on the membrane depolarization of skeletal muscles caused by a scorpion toxin, sea anemone toxin II and crotamine and the interaction between toxins.Br J Pharmacol 1983;79:673-80.

19. Bergeron ZL, Bingham JP. Scorpion toxins specific for potassium (K^+) Channels: a historical overview of peptide bioengineering. Toxins (Basel) 2012;4:1082-99.

20. Crest M, Jacquet G, Gola M, Zerrouk H, Benslimane A, Rochat H, et al. Kaliotoxin, a novel peptidyl inhibitor of neuronal BK-type Ca^{2+}-activated K^+ channels characterized from *Androctonusmauretanicusmauretanicus* venom. J BiolChem 1992;267:1640-47.

21. Wickenden AD. K^+ channels as therapeutic drug targets. Pharmacol Ther 2002;94:157-82.

22. Cahalan MD, Chandy KG. The functional network of ion channels in T lymphocytes. Immunol Rev 2009;231:59-87.

23. Kiernan, Matthew C, Geoffrey K, Isbister, Cindy S.-Y.Lin, Burke D, et al. Acute Tetrodotoxin-induced neurotoxicity after ingestion of Puffer fish. Ann Neurol 2005;57:339-48.

24. DeBin JA, Maggio JE, Strichartz GR. Purification and characterization of Chlorotoxin, a chloride channel ligand from the venom of scorpion. Am J Physiol 1993;264:C361-69.

25. Patrick Harty T, Waxman SG. Inactivation properties of sodium channel Nav1.8 maintain action potential amplitude in small DRG neurons in the context of depolarization. Mol Pain 2007;3:12.

26. Sakakibara M, Okuda F, Nomura K, Watanabe K, Meng H, Horikoshi T, et al. Potassium currents in isolated statocyst neurons and RPed1 in the pond snail, *Lymnaeastagnalis*. J Neurophysiol 2005;94:3884-92.

27. Bal R, Janahmadi M, Green GG, Sanders DJ. Two kinds of transient outward currents, IA and IAdepol, in F_{76} and D_1 soma membranes of the subesophageal ganglia of *Helix aspersa*. J Membr Biol 2001;179:71-78.

28. Gola M, Ducreux C, Chagneux H. Ca^{2+} activated K^+ current involvement in neuronal function revealed by insitu single channel analysis in Helix neurons. J Physiol 1990;420:73-109.

29. Thompson S. Aminopyridine block of transient potassium current. J Gen Physiol 1982;80:1-18.