# اثر داروی صرع‌زای پنتیلن تترازول بر ویژگیهای پتانسیل عمل سلول D5 حلزون باغی با استفاده از روش ثبت داخل سلولی

سکینه عمرانی M.Sc.☆، مهیار جان‌احمدی Ph.D.★♦، مهین گنج‌خانی M.Sc.★، روح الله فردوسی D.V.M.★

☆ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

★ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب

★ دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

★ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، آموزش دانشگاه

♦آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۸۱-۱۹۸۳۵، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

## چکیده

* **هدف:** بررسی اثر داروی صرع زای پنتیلن تترازول (PTZ: Pentylenetetrazol) بر ویژگیهای پتانسیل عمل سلول D5 حلزون باغی (*Helix aspersa*)

* **مواد وروشها:** آزمایشها روی جسم سلولی نورون D5 واقع در گانگلیون پاریتال چپ حلزون باغی انجام شد. پتانسیلهای عمل با استفاده از روش ثبت داخل سلولی دو میکروالکترودی (Two electrode current clamp) ثبت و خصوصیات آن در شرایط صرع و با استفاده از داروی صرع زای پنتیلن تترازول بررسی شد.

* **یافته‌ها:** نتایج این بررسی نشان می‌دهد که در حضور PTZ، تزریق یک نانوآمپر جریان دپلاریزه کننده موجب افزایش فرکانس و طول مدت پتانسیل عمل به ترتیب به میزان ۱۱/۷ و ۱۴ درصد می‌شود. همچنین حضور این ماده سبب کاهش دامنه هیپرپلاریزاسیون متعاقب در حدود ۳۲/۳ درصد و دامنه پتانسیل عمل بین ۳-۲ میلی‌ولت می‌گردد. هیپرپلاریزاسیون پتانسیل استراحت سلول به میزان ۴ میلی‌ولت نیز از دیگر آثار حضور PTZ است.

* **نتیجه‌گیری:** داروهای صرع‌زا نظیر PTZ با تأثیر بر ویژگیهای فعالیت الکتریکی سلولهای عصبی بر روند پیام رسانی تأثیر می‌گذارند.

**گل واژگان:** صرع، پنتیلن تترازول، ثبت داخل سلولی، حلزون باغی، پتانسیل عمل

## مقدمه

باوجود اینکه حدود $\frac{1}{200}$ جمعیت دنیا از بیماری صرع رنج می‌برند، لکن تاکنون درمان اساسی برای این بیماری وجود ندارد و مکانیسم دقیق آن مخصوصاً در سطح سلولی هنوز ناشناخته است (۱). همزمان با ظهور امواج تشنجی در الکتروآنسفالوگرام قشر مغز بستانداران، تغییر پتانسیلی در غشای سلولها، به نام امواج انفجاری یا PDS[1] به صورت دپلاریزاسیون بزرگ ناگهانی همراه با یک گروه امواج نیزه‌ای در فاز بالارو و در مواردی در فاز پایین‌روی آن مشاهده می‌شود (۲، ۳، ۴). همین الگو را می‌توان با به کار بردن PTZ به صورت خارج سلولی در نورونهای مشخصی از حلزون مشاهده کرد. (۱، ۵). PTZ بر شکل پتانسیل عمل نیز اثر گذاشته و موجب کاهش دامنه پتانسیل عمل و هیپرپلاریزاسیون متعاقب و افزایش طول مدت پتانسیل عمل می‌شود (۶، ۷). به‌نظر می‌رسد که این تغییرات نتیجه تغییر در هدایت یونی در غشا نورونها باشد (۷). برخی تحقیقات نشان می‌دهند که در حضور PTZ غلظت کلسیم درون سلولی افزایش یافته (۸، ۵) و جریان روبه‌خارج پتاسیمی کاهش می‌یابد (۶). ولی در برخی موارد افزایش جریان روبه‌خارج پتاسیمی نشان داده شده است (۹، ۱۰) که احتمالاً در بروز رپلاریزاسیون بعد از دپلاریزاسیونهای بزرگ نقش دارد. در پاره‌ای از تحقیقات نیز افزایش جریان روبه‌داخل سدیمی و کاهش جریان روبه‌داخل کلری مشاهده شده است (۱۱).

در تحقیق حاضر به منظور بررسی مکانیسم سلولی صرع، اثر PTZ به عنوان یک داروی صرع‌زا بر خصوصیات پتانسیل عمل سلول D5 حلزون باغی بررسی شد.



## مواد و روشها

### * حیوانات و روش تهیه نمونه

آزمایشها روی جسم سلولی نورون D5، واقع در گانگلیون کناری چپ حلزون باغی گونه Helix aspersa (۱۲) با وزن ۷/۴-۶/۱ گرم انجام شد. حلزونها پس از جمع‌آوری، در شرایط زیستی مناسب و در حرارت ۲۳°- ۲۰ سانتی‌گراد نگهداری شدند. قبل از هر آزمایش با قرار دادن آنها در آب فعال شدند. با باز کردن ناحیه سر، گانگلیونهای اطراف مری (Circum-oesophageal) جانور خارج می‌شد و در محفظه‌ای به حجم ۱/۵ میلی‌لیتر که داخل آن توسط Sylgard 184 (Dow corning, USA) پوشیده شده بود، ثابت گردید. برداشتن بافت پیوندی از روی سلولها، با کمک پنسهای ظریف و بدون استفاده از آنزیمهای هضم کننده انجام گرفت. ثبت داخل سلولی با استفاده از دو میکروالکترود انجام شد. میکروالکترودها از لوله‌های موئینه بروسیلیکات دارای فیلامان داخلی (Clark electromedical instruments, UK) تهیه شدند. مقاومت نوک میکروالکترودها پس از پر شدن با محلول کلرید پتاسیم ۳ مولار، ۹-۵ مگااهم بود. میکروالکترودهای تزریق کننده جریان و ثبت کننده ولتاژ در داخل نگهدارنده‌های Perspex مجزایی که مستقیماً به پری‌آمپلی فایر[2] وصل شده بود قرار گرفت و به آمپلی فایر Axoclamp 2B(Axon Instuments.Inc, Burlingame, USA) متصل شدند. داخل هر میکروالکترود سیم نقره‌ای با قطر ۰/۴ میلیمتر که بخشی از آن روکش کلرید نقره داشت (Ag/AgCl) قرار داده شد. الکترود مرجع (پل آگاری) حاوی کلرید پتاسیم سه مولار و آگار حل شده در رینگر استاندارد، به منظور کاستن مقاومت سری در داخل محفظه نگهدارنده بافت، نزدیک به گانگلیون قرار داده شد. جایگزینی محلولها با شستن محلول خارج سلولی انجام شد؛ سرعت این عمل ۲ میلی‌لیتر در دقیقه بود. تزریق جریان و پاسخ غشای سلول به صورت تغییرات ولتاژ با استفاده از یک مبدل آنالوگ به دیجیتال و دیجیتال به آنالوگ ۱۶ بیتی (Labmaster,scientific solution) به صورت داده‌های رقمی درآمده و در یک کامپیوتر IBM از نوع پنتیوم ذخیره شد. ثبت داده‌ها توسط برنامهٔ پالس و آنالیز بخشی از داده‌ها توسط برنامهٔ Analyse که در محیط Matlab نوشته شده بود، صورت گرفت.

### * ثبت داخل سلولی

در این روش جریانهای دپلاریزه و هیپرپلاریزه کننده به صورت امواج مربعی، با شدت بین ۱۰- تا ۱۰+ نانوآمپر به مدت ۴۵۰ میلی‌ثانیه، توسط میکروالکترود تزریق کننده جریان به سلول تزریق و تغییرات ولتاژ غشا توسط میکروالکترود دوم ثبت شد.

### * محلولهای مورد استفاده در آزمایشها

ترکیب رینگر استاندارد خارج سلولی بر حسب میلی‌مولار به قرار زیر بود (۱۳):

80 NaCl,10 CaCl2,5 MgCl2,4 KCl,10 glucose,5 HEPES[3]

برای ایجاد مدل صرعی، رینگر استاندارد با رینگر حاوی PTZ (۲۵ میلی‌مولار) تعویض شد. اسمولاریته محلولهای مورد استفاده ۲۰۶-۲۰۲ میلی‌اسمول و pH آنها ۷/۸-۷/۶ بود که توسط Trizma base تنظیم شد.

### * روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل از کلمپ جریان به کمک برنامهٔ Analyse در محیط Matlab بررسی و از برنامهٔ Excel برای محاسبه میانگین انحراف معیار داده‌ها و رسم منحنی‌ها استفاده و داده‌ها به صورت میانگین ±انحراف استاندارد بیان شد.

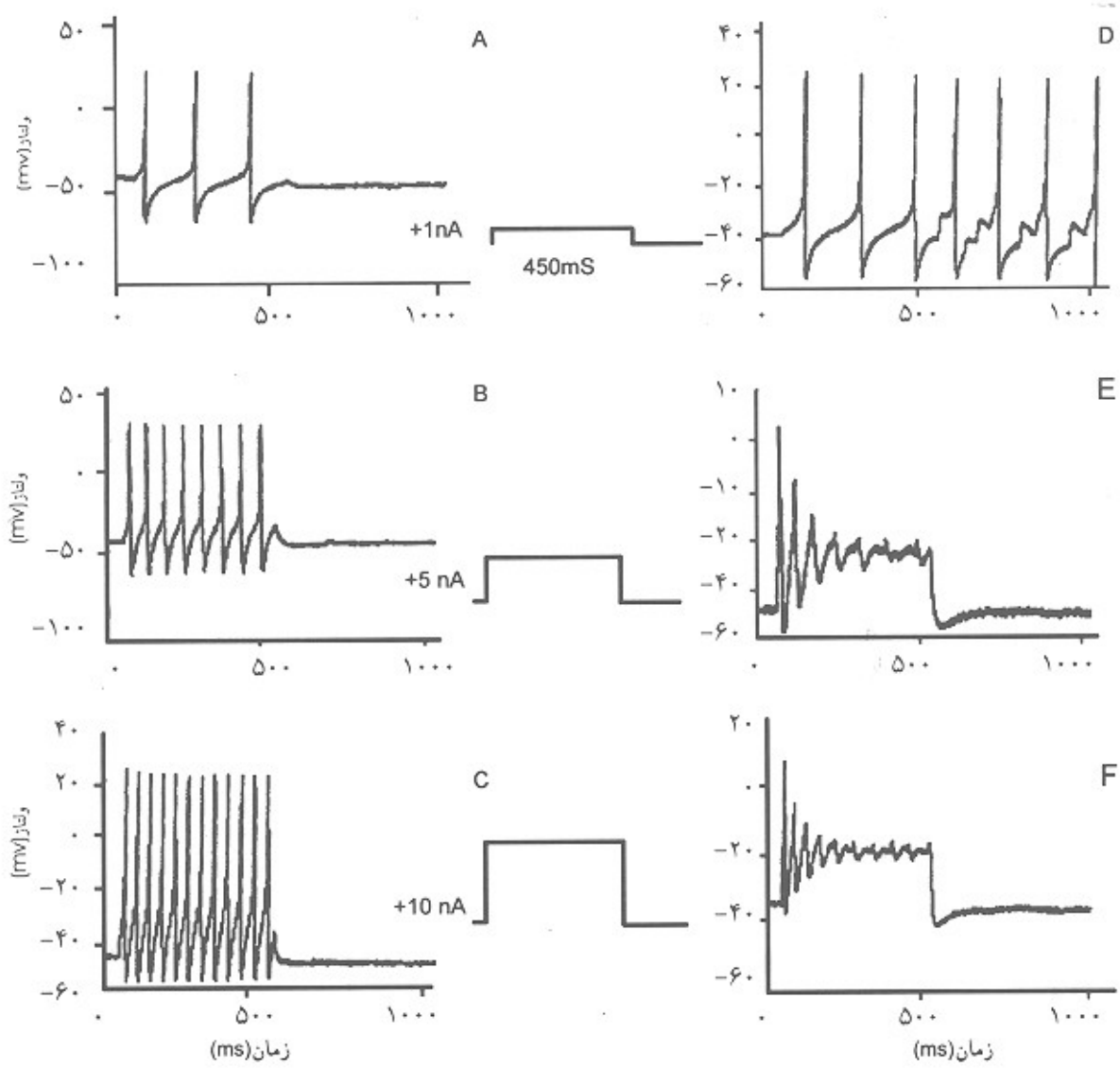
## یافته‌ها

پس از به کار بردن PTZ، تزریق جریانهای ۱ تا ۱۰ نانوآمپر موجب شد که در ابتدا فرکانس شلیک سلول افزایش پیدا کند. به‌طوری که سه دقیقه بعد با تزریق جریان ۱ نانوآمپر، فرکانس پتانسیل عمل ۱۱/۷ درصد افزایش یابد (جدول ۱).

1.Par-oxysmal Depolarization Shift
2. Headstage
3. (N-[2-Hydroxyethyl] piperazine-Né-[2-ethanesulfonic acid])

جدول ۱: تاثیر PTZ بر فعالیت الکتریکی سلول DS، با تزریق جریان ۱+ نانوآمپر، در دو زمان متفاوت، ۳ و ۶ دقیقه، در مقایسه با رینگر استاندارد

| | فرکانس پتانسیل عمل (هرتز) | پتانسیل استراحت سلول (میلی ولت) | دامنه‌پتانسیل‌عمل (میلی ولت) | مدت‌پتانسیل‌عمل (میلی ثانیه) | دامنه‌هیپرپلاریزاسیون متعاقب (میلی ولت) | آستانه‌پتانسیل‌عمل (میلی ولت) | تأخیرآستانه (میلی ثانیه) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| رینگر استاندارد | ۵/۸۱±۰/۶۹ | -۳۷/۶۷±۱/۵۸ | ۶۲/۱۶±۲/۵۱ | ۲/۹۲±۰/۲۶ | -۱۸/۶±۱/۶۵ | -۲۸/۶۱±۱/۵۷ | ۵۳/۶۶±۱۸/۵۴ |
| PTZ پس‌از ۳ n=13 | ۶/۴۹±۰/۵۸ | -۴۱/۴±۱/۸۹ | ۶۰/۰۸±۳/۷۴ | ۳/۰۷±۰/۷۲ | -۱۴±۱/۴۵ | -۲۸/۳±۱/۱۵ | ۳۷/۹۳±۸/۸۶ |
| رینگر استاندارد | ۵/۴۵±۵/۷۵ | -۳۷/۴۳±۱/۸۴ | ۶۳/۴۸±۲/۴۲ | ۲/۶۴±۰/۱۶ | -۱۹/۷±۱/۷۱ | -۲۷/۹۰±۱/۶۲ | ۵۷/۷۲±۱۹/۸۲ |
| PTZ پس‌از ۶ n=11 | ۵/۶۵±۰/۶۹ | -۱۴/۷۸±۲/۴۷ | ۶۲/۱۶±۳/۸۹ | ۳/۰۱۶±۰/۲۰ | -۱۳/۳۲±۱/۵۳ | -۲۸/۹۵±۱/۷۵ | ۶۵/۵±۱۱/۶ |

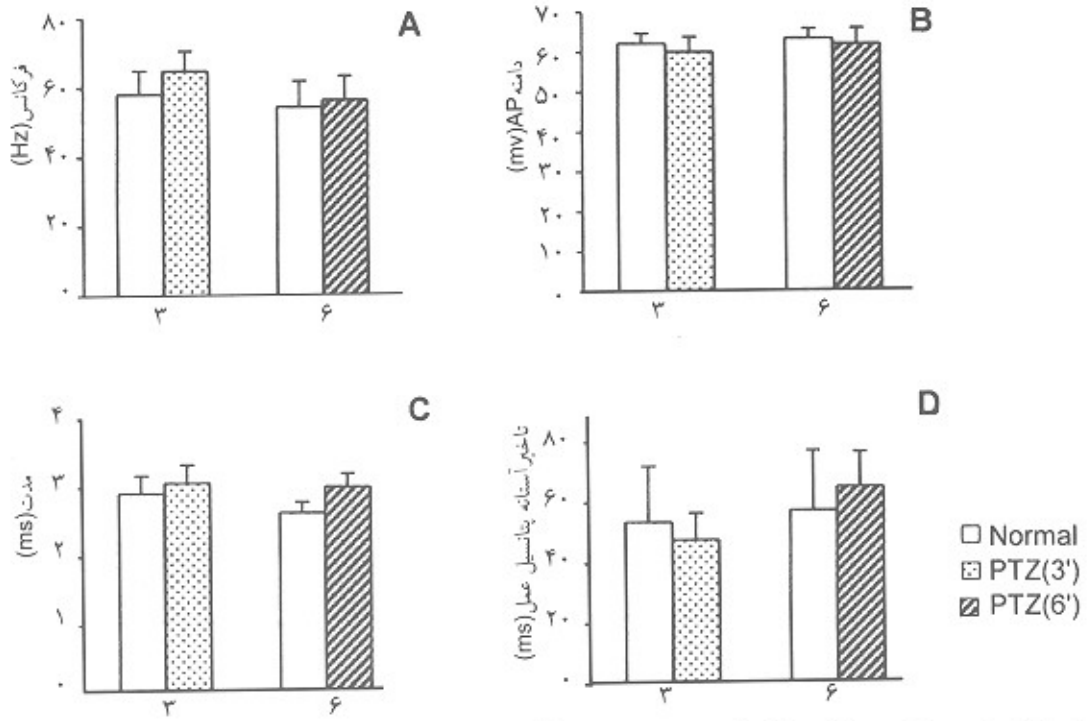



شکل ۱: فعالیت الکتریکی برانگیخته شده سلول، پس از تزریق جریانهای دپلاریزه ۱، ۵ و ۱۰ نانومتر در رینگر استاندارد، (A-C) و ۵ دقیقه پس از به کار بردن PTZ، (D-F)

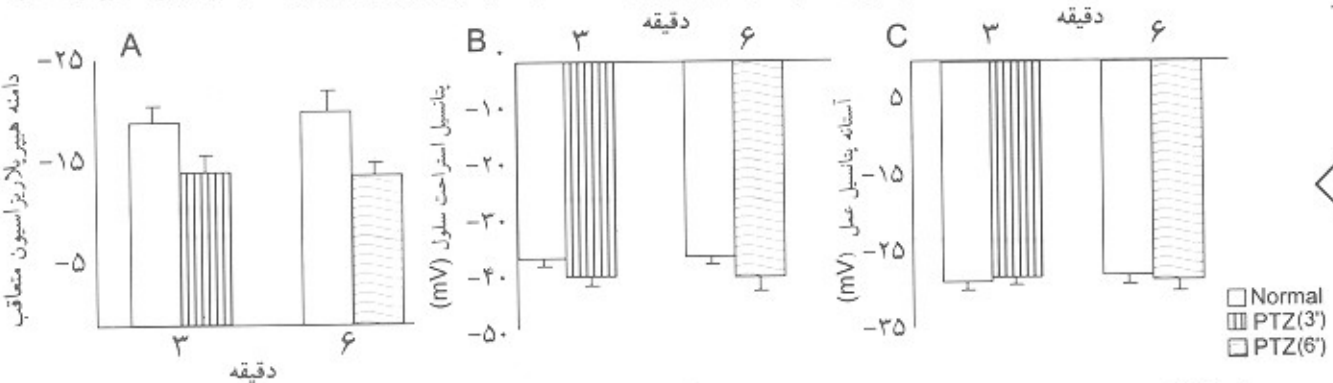
با تزریق جریانهای دپلاریزه بزرگتر (۵ و ۱۰ نانوآمپر) شکل پتانسیلهای عمل تغییر کرد به‌گونه‌ای‌که قلهٔ برخی از آنها زیر صفر شد (شکل ۱: E و F).

در پاره‌ای موارد تزریق جریان ۱۰+ نانوآمپر موجب تولید تعدادی پتانسیل نیزه (Spike) شد که به یک کفه طولانی ختم شده بود (شکل ۱: F). با گذشت زمان، فرکانس پتانسیلهای عمل مقداری کاهش نشان داد.

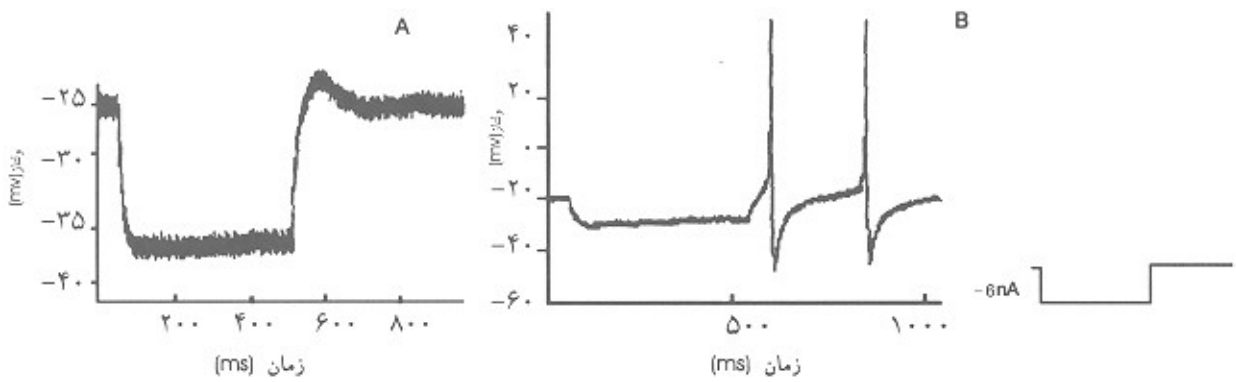
دامنه پتانسیل عمل با تزریق جریانهای دپلاریزه کننده بین ۳-۲ میلی‌ولت کاهش یافت (شکل ۲: B). دامنه هیپرپلاریزاسیون متعاقب کم شده و پس از گذشت ۶ دقیقه و تزریق جریان ۱+ نانوآمپر با ۳۲/۳ درصد کاهش، از ۱۹/۷±۱/۷۱- به ۱۳/۳۲±۱/۵۳- میلی ولت رسید (شکل ۳: A)؛ اما طول مدت پتانسیل عمل به تدریج افزایش یافت و پس از گذشت ۶ دقیقه با ۱۴ درصد افزایش از ۲/۶۴±۰/۱۶ به ۳/۰۱±۰/۲۰ میلی‌ثانیه رسید (شکل ۲: C).




شکل ۲: تأثیر PTZ، بر فرکانس (A)، دامنه (B)، مدت (C) و تأخیر استانه پتانسیل عمل (D)، پس از گذشت سه دقیقه، شش دقیقه و پس از تزریق جریان ۱۰ نانو امپر در مقایسه با رینگر استاندارد




شکل ۳: تأثیر PTZ، بر دامنه هیپرپلاریزاسیون (A)، پتانسیل استراحت سلول (B) و آستانه پتانسیل عمل (C)، پس از گذشت سه دقیقه، شش دقیقه و پس از تزریق جریان ۱۰ نانو آمپر در مقایسه با رینگر استاندارد




شکل ۴: تأثیر جریان هیپرپلاریزه کننده ۶- نانوآمپر بر فعالیت الکتریکی سلول D5 در رینگر استاندارد (A)، رینگر حاوی PTZ پس از ۵ دقیقه (B)

اگر چه آستانهٔ شلیک پتانسیل عمل چندان تغییر نکرد (شکل ۳: C)، اما زمان تأخیر آستانه در حضور PTZ تا ۳ دقیقه اول، حدود ۱۰ درصدکاهش یافته و از ۱۸/۵۴±۵۳/۶۶ به ۸/۸۶±۴۷/۹۳ میلی‌ثانیه رسید اما پس از گذشت ۶ دقیقه و پس از تزریق ۱+ نانوآمپر، ۱۳/۴ درصد افزایش یافته و از ۱۹/۸۲±۵۷/۷۲ به ۱۱/۶±۶۵/۵ میلی‌ثانیه رسید (شکل ۲: D).همچنین پتانسیل استراحت سلول پس از

تزریق جریان دپلاریزه، هیپرپلاریزه‌تر شد. مقدار این هیپرپلاریزاسیون با تزریق ۱+ نانوآمپر حدود ۴ میلی‌ولت است و پس از ۶ دقیقه این مقدار به ۲/۴۷±۴۱/۷۸- میلی‌ولت رسید (شکل ۳: B).

تزریق جریانهای هیپرپلاریزه کننده، در حضور PTZ، بر خلاف شرایط کنترل، در برخی از سلولها موجب تولید پتانسیل تیزه بعد از پایان موج تحریک شد، این گونه پتانسیلهای عمل را اصطلاحاً RA[1] می‌نامند. حداقل جریان هیپرپلاریزه کننده لازم برای تولید RA، ۴- نانوآمپر است (شکل ۴: B).

## بحث

همان گونه که نتایج این تحقیق نشان داد، PTZ موجب افزایش فرکانس پتانسیل عمل (در دقایق اولیه)، کاهش دامنه پتانسیل عمل و هیپرپلاریزاسیون متعاقب و افزایش طول مدت پتانسیل عمل می‌شود. نتایج مشابهی توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (۶، ۷، ۱۴).

تغییرات ایجاد شده در پتانسیل عمل تحت تأثیر PTZ، حاصل تغییر در هدایت یونهاست (۶، ۷). چنانکه Walden و همکاران با روش ولتاژ کلمپ نشان دادند که PTZ، در پتانسیلهای نگهدارنده مثبت‌تر از ۳۰- میلی‌ولت موجب القای یک جریان رو به داخل و پس از آن یک جریان روبه‌خارج و در نهایت موجب جریان روبه‌داخل طولانی مدت[2] در نورونهای *Helix pomatia* می‌شود که این جریانها به ترتیب عبارتند از:

۱- مخلوطی از جریان روبه داخل سدیمی و کلسیمی
۲- یک جریان روبه‌خارج پتاسیمی وابسته به کلسیم
۳- کاهش هدایت پتاسیم (۴).

تزریق جریانهای دپلاریزه کننده با دامنه زیاد در حضور PTZ، موجب تولید کفه طولانی بعد از Spikeها می‌شود. Williamson و Crill این اثر را با تزریق جریانهای کوچک ۱+ نانوآمپر و در پاره‌ای از سلولها به‌طور خود به خودی مشاهده کردند (۷). اختلافی که بین نتایج این تحقیق با نتایج دو محقق مذکور وجود دارد به خاطر اختلاف در دوز PTZ مورد استفاده است. در این تحقیق PTZ با دوز ۲۵ میلی‌مولار استفاده شد ولی آنها از دوز ۱۴۰- ۱۲۰ میلی‌مولار استفاده کرده بودند. PTZ اثرهای خود را به طور وابسته به دوز اعمال می‌کند (۹، ۱۰).

ایجاد کفه طولانی بعد از پتانسیلهای تیزه می‌تواند به دلیل افزایش بیش از اندازه کلسیم درون سلولی باشد (۱). در جسم سلولی نورون D5 در حضور PTZ (۲۵ میلی‌مولار)، ایجاد حالت کفه‌ای بدون تزریق جریانهای بزرگ امکان‌پذیر نیست. به نظر می‌رسد تزریق جریانهای بزرگ موجب تشدید آثار PTZ می‌شود.

دومین جریان القا شده در حضور PTZ که توسط Walden و همکاران گزارش شده بود، جریان روبه‌خارج پتاسیمی وابسته به کلسیم است. به نظر می‌رسد این جریان موجب کاهش دامنه پتانسیل عمل شود. چنان که Crest و Gola نشان دادند، در نورونهایی که دارای الگوی شلیک پتانسیل عمل مکرر هستند، شلیکهای پشت سرهم موجب ورود کلسیم اضافی و فعال شدن بیشتر جریان روبه‌خارج پتاسیمی وابسته به کلسیم می‌شود و در نتیجه دامنه شلیکهای پشت سر هم با گذشت زمان کاهش می‌یابد (۱۵).

مهار جریانهای رو به خارج پتاسیمی ($I_A$ و $I_K$) توسط PTZ، با یک الگوی وابسته به ولتاژ صورت می‌گیرد. اثر PTZ روی جریان $I_A$ با افزایش ولتاژ شدیدتر می‌شود اما مهار جریان $I_K$ با افزایش ولتاژ کاهش می‌یابد و مهار جریانهای روبه‌خارج پتاسیمی موجب کاهش سرعت رپلاریزاسیون می‌شود. از طرفی ورود یون کلسیم نیز در کاهش سرعت رپلاریزاسیون بی‌تاثیر نیست (۶). این عوامل موجب افزایش طول مدت پتانسیل عمل توسط PTZ می‌شوند. مهار جریانهای پتاسیمی توسط PTZ می‌تواند، کاهش پیشرونده AHP[3] با تزریق جریانهای دپلاریزه کننده را نیز توجیه کند.

افزایش جریانهای رو به داخل کاتیونی و مهار جریانهای وابسته به ولتاژ پتاسیمی در دقایق اولیه در حضور PTZ موجب کاهش زمان تأخیر آستانه پتانسیل عمل می‌شود؛ اما به نظر می‌رسد که با گذشت زمان این اثر کمتر شده و زمان تاخیر آستانه پتانسیل عمل افزایش یابد. احتمالاً یکی از دلایل آن، فعال شدن کانالهای رو به خارج پتاسیمی وابسته به کلسیم به دلیل ورود بیش از اندازه کلسیم به داخل سلول یا احتمالاً دخالت پیامبرهای ثانویه است. همین موضوع می‌تواند موجب کاهش فرکانس پتانسیل عمل در حضور PTZ با گذشت زمان شود.

دسته دیگری از کانالهای پتاسیمی که تحت تاثیر PTZ قرار می‌گیرند، کانالهای پتاسیمی حساس به ATP هستند. فعال شدن این کانالها وابسته به کاهش ATP درون سلولی است. از آنجا که در طی فعالیت تشنجی انرژی زیادی مصرف می‌شود، فعال شدن این کانالها می‌تواند پتانسیل غشا سلول را تحت تاثیر خود قرار دهد. از طرفی شواهدی مبنی بر نفوذ PTZ به داخل سلول وجود دارد. بنابراین PTZ یا به طور مستقیم از داخل سلول، کانالهای $K_{ATP}$ را تحت تاثیر قرار می‌دهد یا ممکن است بر ذخیره‌های ATP درون سلولی اثر کرده و با نقصان این ذخیره‌های به طور غیر مستقیم این کانالها را فعال کند (۹). فعال شدن این کانالها می‌تواند هیپرپلاریزه شدن غشا را تحت تاثیر PTZ با گذشت زمان، توجیه کند. همین عامل نیز می‌تواند در تاخیر آستانه پتانسیل عمل و کاهش فرکانس فعالیت سلول بعد از گذشت چندین دقیقه دخیل باشد. همان‌گونه که در نتایج مشاهده شد، تزریق جریانهای هیپرپلاریزه کننده نسبتاً بزرگ (۴- nA ≤) در حضور PTZ موجب تولید RA در برخی از سلولها می‌شود. بروز RA پس از تزریق جریانهای هیپرپلاریزه بیانگر افزایش تحریک‌پذیری سلول در حضور PTZ است.

نتایج حاصل از ولتاژ کلمپ نشان داده است که PTZ در نورونهای *Helix pomatia* در پتانسیلهای منفی موجب ایجاد یک جریان رو به داخل غیر انتخابی می‌شود که بروز دپلاریزاسیون را تسهیل می‌کند (۴). به محض خاتمه هیپرپلاریزاسیون سلول، احتمالاً همین جریان رو به داخل، حضور خود را به صورت بروز Spike نشان می‌دهد. نکته قابل توجه اینکه، در این تحقیق خصوصیات بیوالکتریکی سلول D5 در ارتباط با سایر نورونها مطالعه شد و چون PTZ به رینگر خارج

1. Rebound action potential
2. Long lasting
3. After-hyperpolarization

سلولی اضافه گشت مسلماً بر سایر سلولهای گانگلیون هم اثر نمود. برخی از این سلولها ورودیهای تحریکی یا مهاری خود را بر سلول D5 می‌فرستند. احتمال دیگر برای مکانیسم تولید RA این است که هیپرپلاریزه کردن سلول با تزریق جریانهای منفی موجب پنهان شدن ورودیهای تحریکی و برداشتن مهار موجب خودنمایی این ورودیها و تولید RA می‌شود.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که داروی صرع‌زای PTZ با تأثیر بر هدایت کانالهای یونی موجب تغییر پتانسیلهای عمل و افزایش تحریک‌پذیری سلول در شرایط صرع می‌شود.

## تقدیر و تشکر

نویسندگان بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که هزینه انجام این پروژه را تامین نمودند قدردانی می‌نمایند.

## References

1. Sugaya E, Sugaya A: Cellular physiology of epileptogenic phenomena and its application to therapy againts intractable epilepsy. Comp Biochem Physiol 1991; 98C(1): 246-270

2. Lucke A, Speckmann EJ, Altrup U, Lehmenkuhler A, Walen J: Decrease of free calcium concentration at the outer surface of identified snail neurons during paroxysmal depolarization shifts. Neurosci Let 112: 1990; 190-193

3. Sugaya E, Goldring S, O'Leary JL, Intracellular potentials associated with direct cortical response and seizure discharge in cat. Electroencephalogr. Clin Neurophysiol 1964; 17: 661-669

4. Walden J, speckman EJ, Witte W: Membrane currents induced by pentylenetetrazol in identified neurons of Helix pomatia. Brain Res 1988; 437: 294-305

5. Sugaya E, Sugaya A, Kajiwara K, Tsuda Y, Kubota N, Yuyama N, Motoki M, Takagi T, Takagi H, Ookura T, Nagasawa H: Cellular physiology of epileptogenic phenomena (a hint for future therapy by a herbal mixture). Neurochemistry in Clinical application. Plenum Press, New York, 1994, pp 165-179

6. Feher O, Erdelyi L, Papp A: The effect of pentyleneterazol on the metacerebral neuron of Helix pomatia. Gen Physiol Biophys 1988; 7: 505-516

7. Williamson TL, Crill WE: The effects of pentylenetetrazol on molluscan neursons. I. Intracellular recording and stimulation. Brain Res 1976; 116: 217-229

8. Papp A, Feher O, Erdelyi L. Properties of the slow inward current induced by pentylenetetrazol in Helix neurons. Epilepsy Res 1990; 6: 119-125

9. Klocker N, Mubhff M, Speckman EJ, Madeja M: Activation of ATP- sensitive potassium channels in follicle-enclosed
Xenopus oocytes by the epileptogenic agent pentylenetetrazol. Pflugers Arch Eur J Physiol 1996; 431: 736-740

10. Madeja M, Stocker M, Mubhoff U, Pongs O, Speckmann EJ: Resarch report potassium currents in epilepsy: effect of the epileptogenic agent pentylenetetrazol on a cloned potassium channel. Brain Res 1994; 656: 287-294

11. Pellmar TC, Wilson WA: Synaptic mechanism of pentylenetetrazol: Selectivity for chloride conductance. Science 197: 1977; 912-913

12. Kerkut GA, Lambert JDC, Gayton RJ, Loker JE, Walker RJ: Mapping of never cells in the sub-oesophageal of Helix aspersa. Comp Biochem Physiol 1975; 50A: 1-25

13. Taylor PS, Selectivity and measurement of A-current in Helix aspersa neurones. J Physiol 1987; 388: 437-4476

14. Faugier S, Willows AOD: Behavior and never cell membrane effects of an epileptic agent (Metrazol) in a mollusk. Brain Res 1973; 52: 243-260

15.Crest M, Gola M: Large conductance $Ca^{2+}$-activated $k^+$ channels are involved in both spike shaping and firing regulation in helix neurones . J Physiol 1993; 465: 265-287