

اثرات نوروتوکسیک سیلر Roth 801 بر فعالیت بیوالکتریک خود به خودی نورونهای F1 حلزون باغی (*Helix aspersa*) با استفاده از تکنیک ثبت داخل سلولی (Current clamp)

حبیب خلیل خانی^{DDS.MS*}، سعید عسگری^{DDS.MS*}، مهیار جان احمدی^{Ph.D.*}

^{*} دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده دندانپزشکی، بخش اندودانتیکس

^{*} دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

[‡] آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۸۱-۱۹۸۳۵، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی،

دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

*** هدف:** بعضی از سیلرهای مورد استفاده اندودانتیک دارای اثرات نوروتوکسیک بر بافتهای عصبی هستند. به نظر می‌رسد که این اثرات از طریق کانالهای یونی موجود در غشاء سلولها اعمال می‌گردد. با توجه به اینکه تاکنون مکانیسم و نحوه ایجاد اثرات سمی سیلرها در سطح سلولی و به ویژه بر روی سلولهای عصبی مشخص نشده است در بررسی حاضر با کمک تکنیک ثبت داخل سلولی مکانیسم یونی، تاثیرات نوروتوکسیک سیلر Roth 801 بررسی شده است.

*** مواد و روشها:** آزمایشها روی غشاء جسم سلولی نورون F1 در گانگلیون کناری راست حلزون، *Helix aspersa* انجام شد و با استفاده از روش Current Clamp تک میکروالکترودی، ویژگیهای غشا سلولی و پتانسیل عمل تحت تاثیر سیلر Roth 801 مورد بررسی قرار گرفت.

*** یافته‌ها:** در آزمایشهای ثبت داخل سلولی، برخی پارامترها از جمله پتانسیل استراحت غشاء (RMP)، دامنه قله، طول مدت، فرکانس پتانسیل عمل و نیز قله پتانسیل متعاقب منفی (AHP) بررسی شده است. در هر دو روش تهاجمی و تدریجی افزودن سیلر Roth 801 به محیط خارج سلولی، منجر به کاهش دامنه قله و فرکانس پتانسیل عمل و افزایش طول مدت (Duration) پتانسیل عمل گردید. افزودن Roth نیز در روش تهاجمی باعث کاهش AHP و دپلاریزه شدن پتانسیل غشاء گردید. اما در روش تدریجی، ابتدا هیپرپلاریزه و سپس دپلاریزه شد.

*** نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که سیلر Roth 801 احتمالاً از طریق مهار کانالهای یونی غشاء سلولهای عصبی بر روی پتانسیل غشاء، شکل و فرکانس پتانسیلهای عمل تاثیر می‌گذارد.

کل واژگان: Roth 801، ثبت داخل سلولی، نوروتوکسیسیته، *Helix aspersa*

مقدمه

علیرغم پیشرفت‌هایی که طی چند دهه گذشته در توانایی علمی و عملی دندانپزشکی به صورت عام و رشته اندودانتیکس به صورت خاص حاصل گردیده است، تاکنون هیچ یک از فنون مورد استفاده در Obturation کانال‌های دندانی از کمک سیلرها برای دستیابی به Seal کامل کانال بی‌نیاز نبوده‌اند (۱). در عین حال سیلرها نیز با توجه به خواص ترکیبات شیمیایی خود می‌توانند موجب بروز پارهای عوارض و اثرات نامطلوب شوند که گاه در روند درمان و مراحل پس از آن اختلالاتی را ایجاد می‌نمایند (۲، ۳). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که بسیاری از سیلرها دارای اثرات سیتوتوکسیک، موتاژنیک، آلرژیک و نورووتوکسیک بوده و بر روی انتقال پیام‌های عصبی در فیبرهای عصبی اثر مہاری دارند (۲، ۳، ۴). اغلب سیلرها دارای خواص سمی بوده به طوری که برخی در مخلوط اولیه و در حین سخت شدن و برخی دیگر برای سالها این خاصیت را حفظ می‌کنند (۳). از نظر بالینی تمام سیلرهای با اساس (Zinc Oxide, ZOE) سیتوتوکسیک بوده و واکنش‌های التهابی در بافت همبند ایجاد می‌کنند که این التهاب تا زمان جذب تمام بقایای اژنل یا ZOE آزاد شده از سیلر توسط ماکروفاژها وجود خواهد داشت. هم اژنل و هم اکسید روی از سیلرهای با ساختمان ZOE به محیط و بافت‌های اطراف آزاد می‌شوند که البته درصد آزاد شدن اژنل به صورت تصاعدی با گذشت زمان کاهش می‌یابد. در بررسی‌های صورت گرفته نشان داده شده است که ZOE برای ماکروفاژها بسیار سمی است (۵). از طرف دیگر اژنل نیز فعالیت اعصاب حسی را مهار و نفس سلولی را مختل می‌کند (۶). با این حال مکانیسم اثر سیلرها در سطح غشاء سلول‌های عصبی به خوبی روشن نشده است.

به همین منظور تحقیق حاضر با استفاده از تکنیک ثبت داخل سلولی (Current Clamp)، مکانیسم اثرات نورووتوکسیک سیلر Roth 801 که کاربرد نسبتاً شایعی در دندانپزشکی دارد، بر روی فعالیت بیوالکتریک خود به خودی نوروون F1 حلزون باغی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق، آزمایشها روی جسم سلولی نوروون (F1 n=10) جدا شده از گانگلیون حاشیه‌ای طرفی راست (Right Parietal Ganglion) حلزون باغی با وزن تقریبی ۶ گرم، که از مناطق شمال ایران جمع آوری شده بودند، انجام گرفت. حیوانات در شرایط مناسب زیستی از لحاظ نور، دسترسی به غذا، آب و درجه حرارت مناسب (۲۳-۲۰ درجه سانتیگراد) نگهداری می‌شدند.

گانگلیون زیر مری حیوان به محض خارج شدن از بدن در محلول رینگر مخصوص تحت درجه حرارت اتاق در محفظه ثبت داخل سلولی که کف آن با Sylgard 184 (Dow Corning) پوشیده شده بود به وسیله سوزنهای ظریف ثابت گردید. بافت‌های پیوندی اطراف سلولها در زیر میکروسکوپ تشریح و بدون استفاده از آنزیمهای پرتولیتیک و ساکسکک پنهان‌های ظریف برداشته شد.

با نمایان شدن سلولها از چندین شاخص برای شناسایی سلول F1 مانند محل قرار گرفتن سلول، اندازه، رنگ، موقعیت آن نسبت به اعصاب و فعالیت الکتریکی استفاده (۷) و ثبت داخل سلولی با استفاده از یک میکروالکتروود با مقاومت تقریبی ۹-۵ مگا اهم انجام شد.

میکروالکتروود از لوله‌های موئنه بروسیلیکات دارای فیلامان داخلی (Clark electromedical instruments UK) تهیه و جهت ثبت تغییرات ولتاژ به کار گرفته شد. میکروالکتروودها در داخل نگهدارنده Perspex قرار گرفته و مستقیماً به پری آمپلی فایر متصل شدند. در داخل میکروالکتروود شیشه‌ای، سیم نقره‌ای به قطر ۰/۴ میلی‌متر قرار می‌گرفت که بخشی از آن پوشش Ag/AgCl داشت. میکروالکتروود با محلول کلرید پتاسیم سه مولار پر شده و به آمپلی فایر (Axoclamp2B Axon instruments-Inc) با قدرت تقویت X10 متصل می‌گردید.

الکتروود دیگری به نام الکتروود مرجع (پلی آنگاری) حاوی کلرید پتاسیم ۳ مولار و آنگار حل شده در رینگر استاندارد نیز خارج از سلول و نزدیک گانگلیون قرار داده می‌شد. به کمک آمپلی فایر مزبور و به کارگیری نرم‌افزار Pulse تغییرات خود به خودی ولتاژ غشا سلول ثبت گردید که این امر به کمک یک مبدل دیجیتال به آنالوگ (D/A) و آنالوگ به دیجیتال (Labmaster, Scientific Solution A/D) و در نهایت به کمک نرم‌افزار MATLAB آنالیز گردید.

* محلول مورد استفاده آزمایش

ترکیب رینگر استاندارد خارج سلولی بر حسب میلی‌مولار به صورت HEPES (۵)، گلوکز (۱۰) KCl (۴)، MgCl (۵)، CaCl₂ (۱۰) و NaCl (۸۰) بود (۸).

اسمولاریته محلولها به کمک اسمومتر (Osmomat 030, Gonotec Col) اندازه‌گیری و PH محلولهای مورد استفاده نیز به کمک Hydrochloride و یا Trizma base در حد ۷/۶ تا ۷/۸ تنظیم می‌شد.

* آماده سازی سیلر Roth 801

سیلر مطابق دستور کارخانه سازنده و تا رسیدن به یک قوام خامه‌ای مخلوط و آماده می‌گردید. سپس با توجه به آزمایش Pilot معادل ۲/۵ میلی‌لیتر از رینگر استاندارد (معادل حجم محفظه حاوی سلولها) به مدت نیم ساعت در مجاورت ۰/۲ میلی‌لیتر از سیلر آماده شده قرار می‌گرفت.

سپس به دو روش تهاجمی که با افزودن ۰/۵ ml از سیلر Roth 801 تهیه شده با قوام خامه‌ای به محیط خارج سلولی و در فاصله‌ای دور از گانگلیون و روش تدریجی که از بخش محلول حاصل از مجاورت سیلر با رینگر استاندارد (Sealer's Extract) مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در فواصل زمانی معین (۱۰ دقیقه) به محیط رینگر اضافه می‌گردید.



اول کاربرد خارج سلولی سیلر با ۷۲ درصد افزایش نسبت به طول مدت پتانسیل عمل در رینگ استاندارد به $(9/3 \pm 0/8)$ میلی ثانیه رسید، و پس از ۱۵ دقیقه شلیک پتانسیل عمل مهار و تنها پتانسیل‌های پس سیناپسی تحریکی (ESPS) ثبت گردید (شکل ۱). دامنه پتانسیل عمل، در طی یک روند کاهشی پیوسته پس از ۱۰ دقیقه با ۲۸ درصد کاهش از $(10/6 \pm 1/5)$ میلی‌ولت به $(7/6 \pm 1/8)$ میلی‌ولت رسید و فله پتانسیل عمل نیز در روندی مشابه از $(42/25 \pm 3)$ میلی‌ولت در رینگ استاندارد با ۳۸ درصد کاهش پس از ۱۰ دقیقه به $(26/3 \pm 4)$ میلی‌ولت رسید (نمودار ۱).

پتانسیل غشا نیز بیشتر دپلاریزه گردید و پس از ۱۰ دقیقه از $(-43/5 \pm 2/5)$ میلی‌ولت به $(-38/4 \pm 2/5)$ میلی‌ولت رسید (شکل ۱).

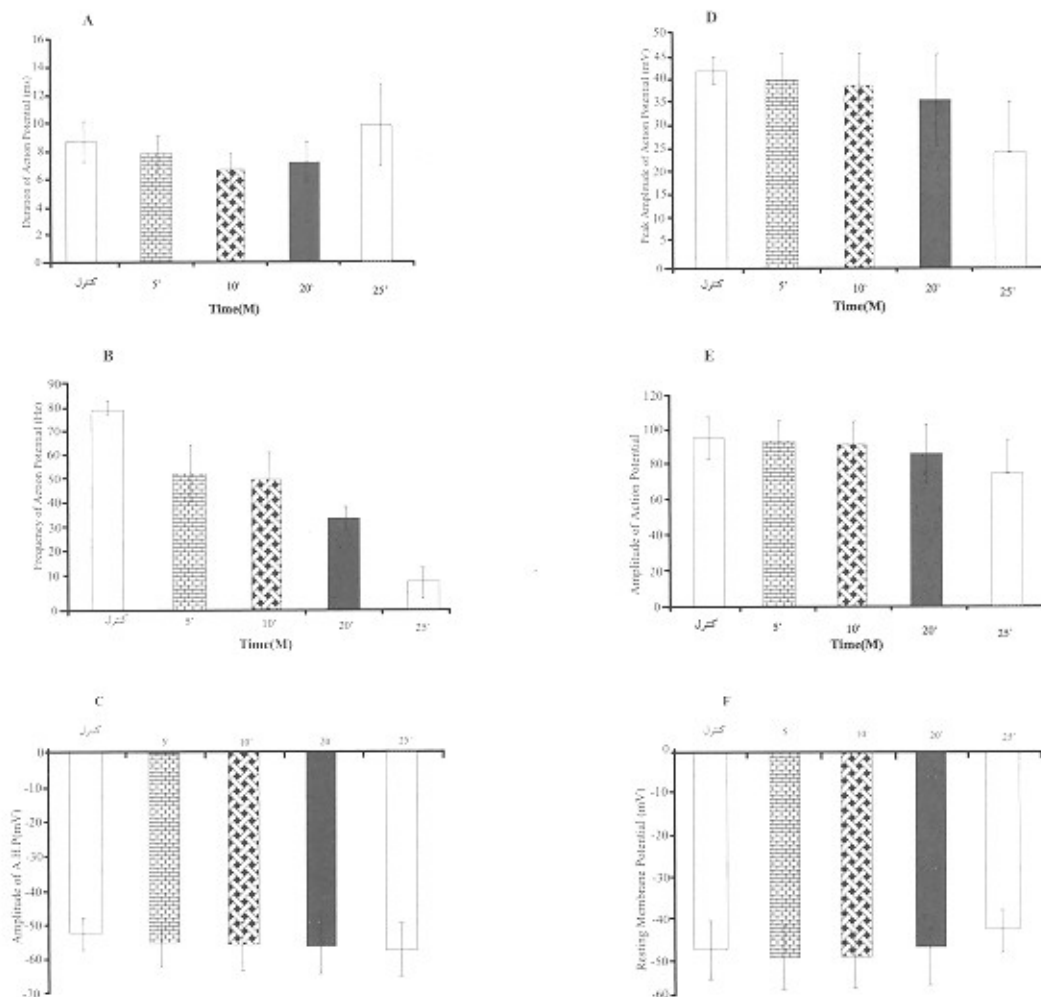
AHP نیز با افزایش تدریجی دپلاریزه و پس از ۱۰ دقیقه از (-61 ± 1) میلی‌ولت با ۱۷ درصد تغییر در جهت افزایش بیشتر به $(-5/05 \pm 2/5)$ میلی‌ولت رسید (نمودار ۱).

استفاده از روش تهاجمی و تدریجی، به منظور بازسازی شرایط واقعی انجام شد. به ترتیبی که در صورت Overextension سیلر به ورای فضای کانال ریشه و تماس مستقیم با نزدیک سیلر با فیبر عصبی شرایطی مشابه فرم تهاجمی و در صورت نشت مایع بین سلولی به فضای کانال ریشه، تاثیر پذیری احتمالی در اثر مجاورت با سیلر بررسی گردید، اثرات غیر مستقیم سیلر نیز با افزودن تدریجی محلول مورد مطالعه فرار گرفت.

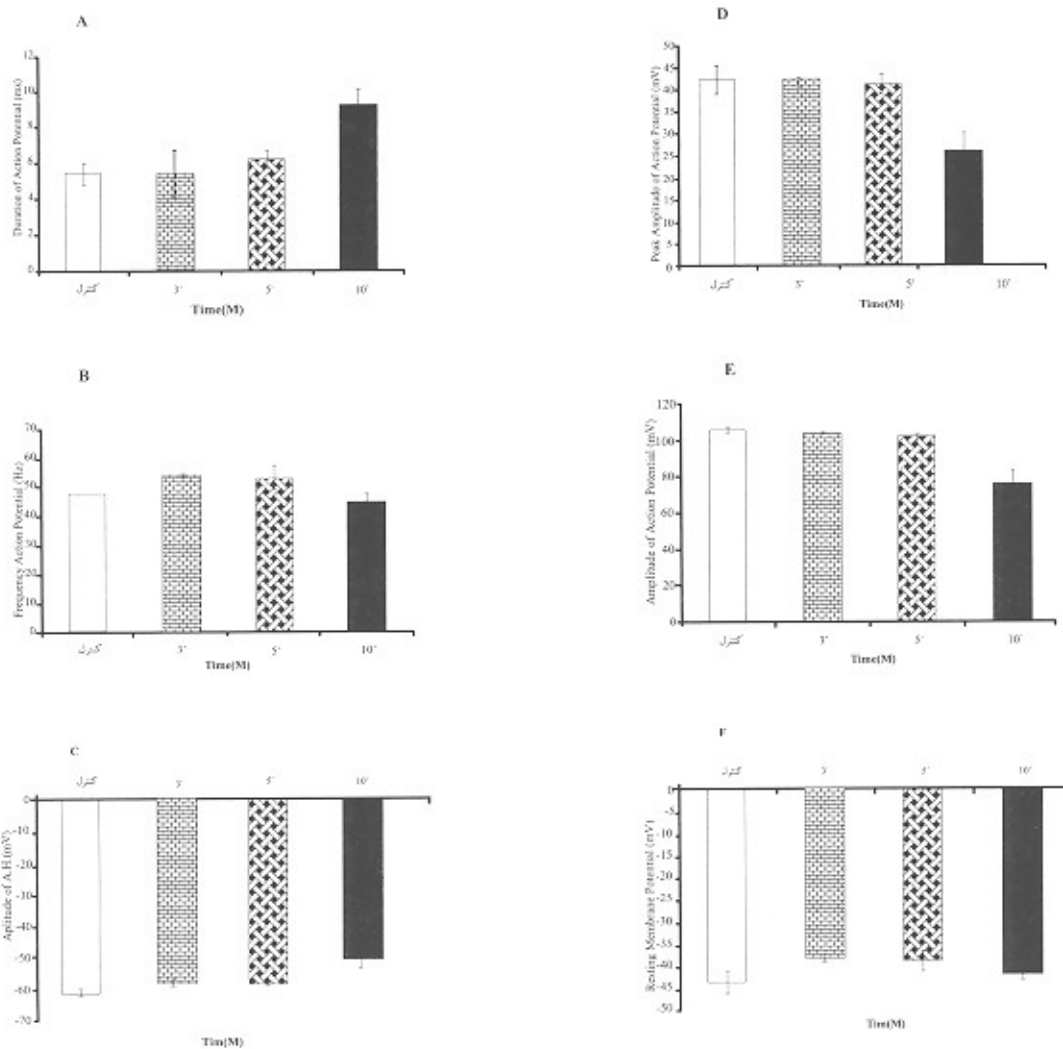
جهت محاسبه میانگین و انحراف معیار داده‌ها و رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شده و داده‌ها به صورت (میانگین انحراف استاندارد) ارائه شده‌اند.

یافته‌ها

* الف) اثرات سیلر Roth 801 (تهاجمی) بر پتانسیل عمل خود به خودی سلول F1 در این شرایط مدت زمان شلیک پتانسیل عمل در طی ۱۰ دقیقه



نمودار ۱: تاثیر افزودن Roth 801 به رینگ استاندارد، به روش تهاجمی، بر خصوصیات پتانسیل عمل خود به خودی سلول F1. ۵ و ۱۰ دقیقه پس از افزودن سیلر در مقایسه با رینگ استاندارد (A) مدت پتانسیل‌های عمل، (B) فرکانس پتانسیل عمل، (C) دامنه هیپرپلاریزاسیون متعاقب (AHP)، (D) فله پتانسیل عمل، (E) دامنه پتانسیل عمل، (F) پتانسیل استراحت غشاء (RMP)



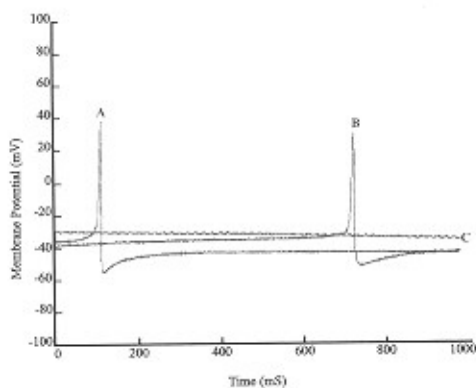
۱۱۶

شماره ۲: تاثیر افزودن سیلر Roth 801 به رینگ استاندارد به روش تدریجی بر خصوصیات پتانسیل عمل خود به سلول F1. ۲۰، ۵، ۱۰ و ۲۵ دقیقه پس از افزودن سیلر در مقایسه با رینگ استاندارد (A) مدت پتانسیل عمل، (B) فرکانس پتانسیل عمل، (C) دامنه هیپرپلاریزاسیون متعاقب (AHP)، (D) تله پتانسیل عمل، (E) دامنه پتانسیل عمل، (F) پتانسیل استراحت غشاء (RMP)

* اثرات سیلر Roth 801 (تدریجی) بر پتانسیل عمل خود به خودی سلول F1

افزودن تدریجی رینگ حاوی عصاره مخلوط قرام یافته Roth 801 به محیط سلول، باعث بروز اثرات ذیل گردید. مدت زمان پتانسیل عمل در ابتدا کاهش یافت که در دقیقه دهم حداکثر این کاهش قابل مشاهده بود به ترتیبی که مدت زمان پتانسیل عمل از $(8/78 \pm 1/45)$ میلی ثانیه در شرایط کنترل به $(6/95 \pm 1/33)$ میلی ثانیه رسید و سپس با روند افزایشی در دقیقه بیست و پنجم با $20/5$ درصد افزایش نسبت به شرایط کنترل به $(10/55 \pm 2/9)$ میلی ثانیه رسید (نمودار ۲).

فرکانس صدور پتانسیل عمل به طور پیوسته کاهش یافته و از (81 ± 3) هرتز در شرایط کنترل پس از ۲۵ دقیقه با 85 درصد کاهش به $(12/6)$ هرتز رسید و در دقیقه ۳۰ تنها EPSP مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱: اثر افزودن سیلر Roth 801 به صورت تدریجی بر فعالیت خود به خودی نورون F1 (A) کنترل، (B) ۱۵ دقیقه، (C) ۲۵ دقیقه، (D) ۳۰ دقیقه بعد از افزودن سیلر Roth 801

است (۹، ۱۱، ۱۲). اما مکانیسم و جایگاه اثر نوروتوکسیتی سیلرها در سطح غشا سلولی به خوبی مشخص نمی‌باشد و به همین منظور در تحقیق حاضر با به کارگیری تکنیک ثبت داخل سلولی (Current-Clamp) نحوه اثر سیلر Roth 801 بر روی فعالیت الکتریکی خود به خودی و نیز تحریک پذیری سلول عصبی F1 حلزون باغی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که تحت تاثیر سیلر Roth 801 مدت پتانسیل عمل افزایش می‌یابد. مدت پتانسیل عمل به وسیله تعادل بین جریانهای یونی رو به داخل (سدیمی و کلسیمی) و رو به خارج (پتاسیمی) تعیین می‌گردد. در واقع کاهش مدت پتانسیل عمل نتیجه وقوع سریع مرحله رپلاریزاسیونی است که متعاقب افزایش هدایت یونی کانالهای پتاسیمی به وجود می‌آید (۱۳).

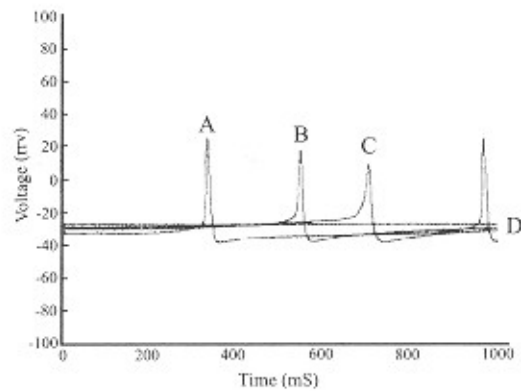
از آنجا که افزایش مدت پتانسیل عمل حاصل مهار کانالهای پتاسیمی رو به خارج، حاصل کاهش یا مهار وقوع مرحله رپلاریزاسیون است (۱۳، ۱۴) به نظر می‌رسد که تحت تاثیر سیلر Roth 801 کانالهای پتاسیمی مهار شده و با کاهش شیب فاز رپلاریزاسیون، مدت پتانسیل عمل افزایش می‌یابد. همچنین AHP که به دنبال پتانسیل عمل به وجود می‌آید با تاثیر شایان در ایجاد الگوی شلیک و فرکانس پتانسیل، به عنوان یک مکانیسم فیدبک منفی مهم در کنترل تحریک پذیری در حضور سیلر Roth 801 کاهش می‌یابد (۱۵).

بررسیهای الکتروفیزیولوژیک نشان داده است: یکی از کانالهای پتاسیمی رو به خارج که در ولتاژهای هیپرپلاریزه تر از پتانسیل استراحت غشاء، فعال می‌شود، از آنجا که فعالیت و عدم فعالیت آن سریع اتفاق می‌افتد آنها را کانالهای پتاسیمی نوع سریع (Transient) می‌نامند. این کانال نقش مهمی در تعیین فرکانس شلیک پتانسیل عمل در پاسخ به دپلاریزاسیون غشاء دارد و نیز در تعدیل انتقال تحریکات سیناپسی در شروع مرحله رپلاریزاسیون حائز اهمیت است (۱۳، ۱۴).

در حضور سیلر Roth 801 به صورت تهاجمی و حتی تدریجی فرکانس شلیک عمل کم می‌شود، به نحوی که پس از حدود ۱۵ دقیقه در فرم تهاجمی و بیست و پنج دقیقه در فرم تدریجی پتانسیل عمل مهار و فقط ESPS ثبت می‌گردد، به نظر می‌رسد سیلر مزبور با مهار جریان پتاسیمی رو به خارج از طریق کانالهای پتاسیمی سریع (نوع T) باعث کاهش فرکانس و در نهایت مهار شلیک پتانسیل عمل می‌گردد (۱۳). هم چنین تحت تاثیر این سیلر قله پتانسیل عمل نیز کاهش می‌یابد، در هر شرایط کنترل قله پتانسیل عمل حاصل ورود جریانهای رو به داخل سدیمی و یا کلسیمی است (۱۳، ۱۴) که در این شرایط پتانسیل غشاء تا نزدیکی پتانسیل تعادل سدیمی (+۵۵mV) دپلاریزه می‌گردد، لیکن به دلیل غیر فعال شدن سریع کانالهای سدیمی و فعال شدن کانالهای پتاسیمی هیچ گاه به آن نخواهد رسید. کاهش قله پتانسیل عمل، تحت تاثیر سیلر Roth 801، احتمال مهار کانالهای سریع سدیمی و یا تا حدودی کانالهای کلسیمی را مطرح می‌سازد (۱۳، ۱۴، ۱۵).

مکانیسم دقیق تاثیر نوروتوکسیک سیلر Roth 801 بر ویژگیهای الکتروفیزیولوژیک جریانهای رو به داخل سدیمی و یا کلسیمی و نیز جریانهای رو به خارج نیاز به بررسی بیشتر توسط تکنیک Voltage-Clamp دارد.

دامنه پتانسیل عمل نیز از (۹۵/۵±۱۲) میلی ولت در شرایط کنترل پس از بیست و پنج دقیقه با ۱۶ درصد کاهش به (۸۰/۳۵±۱/۸) میلی ولت رسید. همچنین قله پتانسیل عمل از (۴۱/۸۵±۳/۱) میلی ولت در شرایط کنترل با گذشت بیست و پنج دقیقه با ۳۸ درصد کاهش به (۲۶/۱±۱) میلی ولت کاهش یافت (نمودار ۲ و شکل ۲).



شکل ۲: اثر افزون سیلر Roth 801 به صورت تدریجی بر فعالیت خود به خودی نورون F1 کنترل (A)، ۵ دقیقه (B)، ۱۵ دقیقه پس از افزون سیلر Roth 801 (C)

با گذشت زمان AHP به سمت پتانسیلهای منفی تر تغییر و از (۵/۲۵±۵) میلی ولت در شرایط کنترل با گذشت ۲۵ دقیقه به میزان ۴/۳ درصد کاهش و به (۵/۵±۷/۵) میلی ولت رسید (نمودار ۲). هیپرپلاریزه شدن پتانسیل غشاء ابتدا افزایش یافته به (۷/۲۵±۴۸) میلی ولت در دقیقه دهم رسید، سپس به سمت پتانسیلهای دپلاریزه تغییر جهت داد و در دقیقه بیست و پنج با ۱۴ درصد افزایش نسبت به شرایط کنترل به (۷/۲۵±۵/۴۰) میلی ولت رسید (نمودار ۲ و شکل ۲).

بحث

مواد پرکننده ریشه دندان از جمله سیلرها، با توجه به ترکیبات شیمیایی خاص خود می‌توانند موجب بروز پاره‌ای عوارض و اثرات جانبی نامطلوب شوند که گاه در روند درمان و مراحل پس از آن اختلالاتی را باعث می‌گردند (۲، ۳، ۴).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که گسترش (Overextension) سیلرها به ورای ریشه دندان موجب بروز واکنشهای التهابی خفیف یا شدید آلرژیک (۲) و اثرات نوروتوکسیک (۲، ۳، ۴) می‌گردد. Brodin و همکاران در سال ۱۹۸۱ با تکنیک ثبت خارج سلولی نشان دادند، نوروتوکسیتی شیمیایی سیلرها، باعث مهار انتقال پتانسیلهای عمل برانگیخته در عصب فرنیک موش صحرایی می‌شود، و تماس فیزیکی و فشار مکانیکی ناشی از آن در این امر مؤثر نمی‌باشد (۹).

هم چنین Meryon در سال ۱۹۹۰ اثرات سمی ZOE را به واسطه وجود یونهای روی (۲+Zn) دانسته است (۱۰).

در عین حال احتمال اینکه، آزاد شدن اژنل یا اکسید روی از ZOE به محیط بافتی اطراف بتواند موجب بروز اثرات سیتوتوکسیک از جمله توقف فعالیت اعصاب حسی گردد نیز مورد بررسی قرار گرفته

References

1. Branstetter J, Von Fraunhofer: The Physical properties and sealing action of endodontic sealer cements. JOE 1982; 8: 312-316
2. Serpar A, Ucer O, Onur R, Etikan I: Comparative neurotoxic effects of root canal filling materials on rat sciatic nerve JOE 1998; 24: 592-594
3. Spangberg L: Biological effects of root canal filling materials, Odontol. Revy 1969; 20: 1-17
4. Tai kW, Huang FM, Huang MS, Chang YC: Assessment of the genotoxicity of resin and ZOE-based root canal sealers using an in vitro mammalian test system. J Biomed Mater Res 2002; 59(1): 73-7
5. Hendry JA, Jeansone BG, Burrell W: Comparison of calcium hydroxide and ZOE Pulpectomies in primary teeth of dogs. Oral Surg 1982; 54: 445-451
6. Hume WE: Effect of eugenol on constrictor responses in blood vessels of rabbit ear. J Dent Res 1983; 62: 1013-1020
7. Kerkut GA, Gardner DR: The role of Calcium ions in the action potential of *Helix aspersa* neurons, Comp. Biochem. Physiol 1967; 20: 147-152
8. Taylor RC: Membrane currents and intracellular Sodium changes in snail neuron during extrusion of injected Sodium. J Physiol 1969; 201: 495-500
9. Brodin P, Roed A, Orstavik D: Neurotoxic effects of root filling materials on rat phrenic nerve in vitro. J Dent Res 1982; 61: 1020-1023
10. Meryon SD, Brook AM: In vitro, Comparison of the cytotoxicity of twelve endodontic materials using a new technique. Int Endodont J 1990; 23: 203-209
11. Ozeki M: The effects of eugenol on the nerve and muscle in crayfish. Comp Biochem Physiol 1975; 50: 183-189
12. Trowbridge H, Edwall L, Panopoulos P: Effect of ZOE and Calcium hydroxide on intradental- nerve activity. J Endodont 1982; 8: 403-409
13. Meech RW, stander NB: Potassium in *Helix aspersa* neurons under voltage clamp: A component mediated by calcium influx. J Physiol 1975; 29: 211-214
14. Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts J, Squire LR: Fundamental Neuroscience. Academic Press 1999; 1: 129-137
15. Alexander A, Ve lumian L, Peter L, Carlen B: Differential control of three after hyperpolarizations in rat hippocampal neurons by intracellular Calcium buffering. J Physiol 1999; 1: 201-206

