

LİNOPİRDİN'İN SIÇANLARDA ZORLU YÜZME TESTİNDE GÖZLENEN ETKİLERİ

Barış Uzunok¹, Nevzat Kahveci², Güldal Güleç Süyen³, M. Çağatay Büyükuysal⁴

¹Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Uşak

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Zonguldak

ÖZET

Bu çalışmada, Kv7 tipi voltaj kapılı potasyum kanalı blokörü olan linopirdinin sıçanlarda zorlu yüzme testindeki (ZYT) etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Sıçanlara yüzme testinin ikinci gününde, testten 15 dakika önce intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak %0,9 NaCl (4 µl) veya linopirdin (0,1, 1, 10 µg/4 µl) uygulandı.

Bulgular: Linopirdin 0,1 µg/4 µl; i.c.v. dozunda kontrol grubuna göre ZYT'de hareketsizliği anlamlı olarak azaltırken ($p=0,003$), yüzmeyi anlamlı olarak artırdı ($p<0,01$). Linopirdin 1 µg/4 µl ve 10 µg/4 µl; i.c.v. dozlarında ise kontrol grubuna göre

hareketsizliği anlamlı olarak azaltırken (p değerleri $<0,001$), yüzme (sırasıyla, $p=0,003$ ve $p=0,021$) ve tırmanma hareketini (sırasıyla, $p=0,009$ ve $p=0,006$) anlamlı olarak artırdı.

Sonuç: Elde ettiğimiz sonuçlar i.c.v. yoldan uygulanan linopirdinin ZYT modelinde antidepresan ilaçların oluşturduğuna benzer etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Dolayısıyla Kv7 tipi voltaj kapılı potasyum kanallarını bloke eden ilaçların antidepresan ilaç hedefi olarak değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Linopirdin, depresyon, potasyum kanalları, zorlu yüzme testi. **Nobel Med 2019; 15(1): 41-46**

EFFECT OF LINOPIRDINE ON FORCED SWIMMING TEST IN RATS

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to investigate the effect of Kv7 type voltage-gated potassium channel blocker linopirdin in Forced Swimming Test (FST) in rats.

Material and Method: For this purpose, on the second day of the swimming test, rats received %0.9 NaCl (4 µl) or a Kv7 type voltage-gated potassium channel blocker linopirdine (0.1, 1, 10 µg/4 µl) intracerebroventricularly (i.c.v.), 15 min before the test.

Results: Linopirdine at a dose of 0.1 µg/4 µl significantly decreased immobilisation (p=0.003) and significantly

increased swimming (p<0.01) with respect to the control grup. Linopirdine at the doses of 1 µg/4 µl and 10 µg/4 µl; i.c.v., significantly decreased immobilisation (p values< 0.001) and significantly increased swimming (p=0.003 and p=0.021, respectively), and climbing (p=0.009 and p=0.006, respectively) with respect to the control grup.

Conclusion: The results we obtained shows that linopirdine applied through i.c.v way produces similar effects as the anti-depressant drugs in the FST model. Therefore, we believe that drugs that block Kv7 type voltage-gated potassium channels can be considered as antidepressant drug targets.

Keywords: Linopirdine, depression, potassium channels, forced-swim test. Nobel Med 2019; 15(1): 41-46

GİRİŞ

Depresyon insanların yaşamları boyunca %16,6'sını etkileyen ciddi bir hastalıktır.¹ Dünya Sağlık Örgütü'ne göre depresyon fiziksel, duygusal, toplumsal ve ekonomik sorunlara yol açan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer almaktadır. Sıklığı ve süresi yaşla giderek artan bu bozukluk yineleyici bir hastalıktır ve uzun süreli tedavisi gerekmektedir. 2020 yılında, depresyonun dünyayı en çok etkileyecek hastalıklar arasında ikinci sırada yer alacağı öngörülmektedir. Dünya genelinde ise 2015 yılı için yaklaşık 300 milyondan fazla insanın depresif olduğu bildirilmiştir.²⁻³

Depresyon tedavisinde, ilk farmakolojik yaklaşımların ortaya çıktığı 1950'li yıllardan günümüze çok gelişmeler olmuştur. Tedaviye yanıt vermeyen hasta oranının yüksek olması, yanıt alınması için gereken sürenin uzunluğu, bu alanda yeni, daha güçlü ve hızlı etkili tedavi arayışının devam etmesini gerektirmektedir. Deney hayvanı modelleri yeni ilaç geliştirmenin en önemli basamaklarından biridir. Hayvanlarda bu amaçla çeşitli modeller geliştirilmiştir. Bu modeller arasında antidepressanların etki yolları ve depresyonun altında yatan nörobiyolojik faktörleri açıklamak için en sık kullanılanlardan biri "zorlu yüzme testi"dir (ZYT).^{4,5} Antidepressan özellik gösterebilecek ilaçlar için bir tarama testi olarak Porsolt ve ark. tarafından 1977 yılında tanımlanmış, daha sonra çeşitli modifikasyonlarla kullanılmaya devam edilmiştir.⁶ Modifiye ZYT'de hayvanın çıkamayacağı şekilde su dolu bir kaptaki yüzme (yatay düzlemdeki hareketi), tırmanma (ön pençelerin yukarı doğru hareket ettiği zaman) ve hareketsizlik (en az üç pençesinin hareketsiz olduğu zaman) davranışları kaydedilmekte

ve beş saniyelik periyotlarla hakim olan hareket tipi değerlendirilmektedir.^{4,7,8} Hayvanı suyla dolu kaba yerleştirirken, ilk önce kaçmak için çaba sarf eder, ancak sonunda davranışsal umutsuzluğun bir ölçüsünü yansıttığı düşünülebilecek hareketsizlik davranışını sergiler.⁹ Antidepressan ajan kullanımlarında total hareketsizlik süresi kısalmışken yüzme ve tırmanma gibi aktif kaçış davranış sürelerinde artış olmaktadır. Ayrıca bu modifiye model ile birlikte, katekolaminerjik antidepressanlar tırmanma davranışını seçici olarak artırırken, serotonerjik ajanlar yüzme davranışını seçici olarak artırmaktadır. Bu nedenle, modifiye edilmiş FST, yeni bir farmakolojik maddenin baskın olarak bu nörotransmitter sistemlerinden birini aktive edip etmediğini belirlemenin ek yararına sahiptir.¹⁰

Potasyum (K⁺) kanalları uyarılabilir ve uyarılamayan hücrelerde gösterilmiş membran kanallarıdır. Bu kanallar, kalbin çalışma hızı, sentezlenen hormonların kana salınması, kas kontraksiyonu, insülin sekresyonu, epitelyal elektrolit transportu, hücre volüm düzenlenmesi, hücre profilyasyonu ve santral sinir sistemindeki sinyal iletiminde rol oynayan elektriksel stimulusların oluşumunu sağlarlar.¹¹

Nöronal K⁺ kanalları, nöronal aktivitenin kontrolünde ve sinir sistemi boyunca sinyal iletiminin yayılmasında anahtar role sahiptir.¹²⁻¹⁵ Nöronal K⁺ kanallarının blokajı K⁺'nin hücreden çıkışını engelleyerek nöronun uzun süreli depolarizasyonuna ve sonuç olarak nörotransmitter salınımında artışa yol açmaktadır.¹⁶ Depresyon için çeşitli terapiler geliştirilmiştir ve bunlar çoğunlukla monoamin nörotransmitterlerini hedef almaktadır.¹⁷ Antidepressan olarak kullanılan ilaçların bir fonksiyonu da K⁺ kanallarını modüle

etmektedir. Bu kanalların modülasyonu da antidepresan etkilerinden sorumlu olabilir.¹⁸⁻²²

Linopirdin (DUP-996), heteroarilmetil derivativesinden (3,3-bis(4-piridinmetil)-1-fenilindolin-2-bir) elde edilen ve nörotransmitter salınımında artışa neden olan, K⁺ kanal blokörü bir ajandır.²³⁻²⁴ Linopirdin selektif Kv7 kanal blokörü bir ajandır.²⁵

Bu çalışmada, sıçanlarda ZYT ile oluşturulan depresyon benzeri modelde linopirdinin etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Hayvanlar

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 56 adet 230-290 gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney hayvanları merkezinden alınarak sıcaklığı 18-24 °C ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde ışığı ayarlanmış odada 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakılarak tutuldular. Deneyler etik ve deney hayvanları konusunda sertifikalı araştırmacılar tarafından yürütüldü ve Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (Karar no: 2008-3/5).

Deney Planı

5 dakikalık yüzme testinden 15 dakika önce sıçanlar gruplara ayrılarak enjeksiyonları yapıldı:

- Kontrol grubu %0,9 NaCl 4 µl;
İntraserebroventriküler (i.c.v.), n=14
- Linopirdin 0,1 µg/4 µl; i.c.v., n=14
- Linopirdin 1 µg/4 µl; i.c.v., n=14
- Linopirdin 10 µg/4 µl; i.c.v., n=14

Cerrahi İşlem

İntraserebroventriküler (i.c.v.) enjeksiyonlar için, eter anestezisi altındaki sıçanların kafatasına orta hattın 1,5 mm sağ yanında ve bregmanın 1,5 mm arkasında olacak şekilde bir delik açılarak bu delikten sağ lateral ventriküle, dik olarak ve alt ucu kafatası yüzeyinden 4,5 mm kadar derinliğe incek şekilde 10 mm uzunluğunda bir kanül (20 numara hipodermik paslanmaz çelik iğneden kesilerek hazırlanan) dik olarak yerleştirilip üstte kalan kısım dental akrilik ile kafatasına tutturuldu. Cerrahi işlemler sonunda, hayvanlar tek tek kafeslere yerleştirildi.

İlaçlar

Çalışmada Kv7 kanal blokörü olarak linopirdin (Sigma-RBI, USA) kullanıldı. Linopirdin %2,5 dimetil sülfoksit, %47,5 polietilen glikol ve %50 %0,9 NaCl içinde çözülerek enjeksiyondan hemen önce hazırlandı. Tüm maddeler 4 µl'lik hacimlerde Hamilton enjektörü kullanılarak yaklaşık 20 saniyede 1 µl hızında yapıldı.

İkinci gün gerçekleştirilen 5 dakikalık yüzme testinden 15 dakika önce sıçanlar gruplara ayrılarak enjeksiyonları yapıldı. Tüm deneyler tamamlandıktan sonra kanül aracılığı ile metilen mavisi verilerek, eter anestezisi altında iken servikal dislokasyon uygulanmıştır. Beyin dokusu incelenerek sadece lateral ventriküllerin boyanıp boyanmadığı kontrol edilmiştir.

Zorlu Yüzme Testi

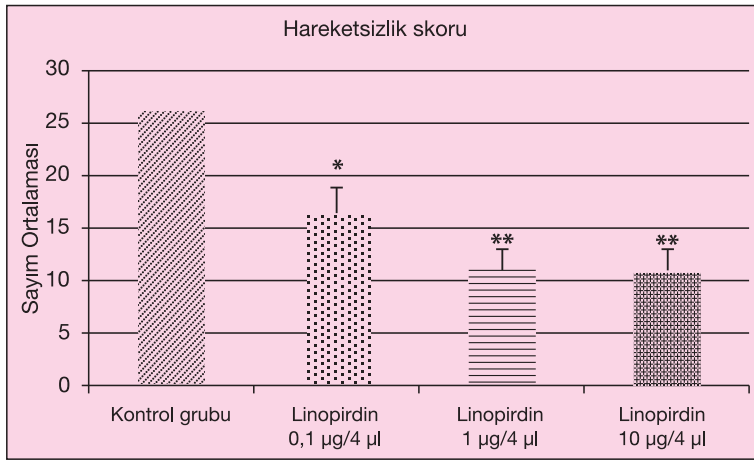
Saçtan yapılmış silindirik şekilde, 50 cm yüksekliğinde ve 27 cm çapında konteynirin içi 30 cm'ye kadar su ile dolduruldu. Suyun sıcaklığı 23-25°C arasında tutuldu.

Bu testte sıçan ilk kez suya konulduğunda ortamdaki kurtulmak için çabalar ve özellikle sürenin sonuna doğru hareketsiz kalmaya başlar. Test 24 saat sonra tekrar edildiğinde öğrenilmiş çaresizliğe giren sıçanın çabalama süreleri kısılırken, hareketsiz kalma süreleri uzamaktadır.^{6,26}

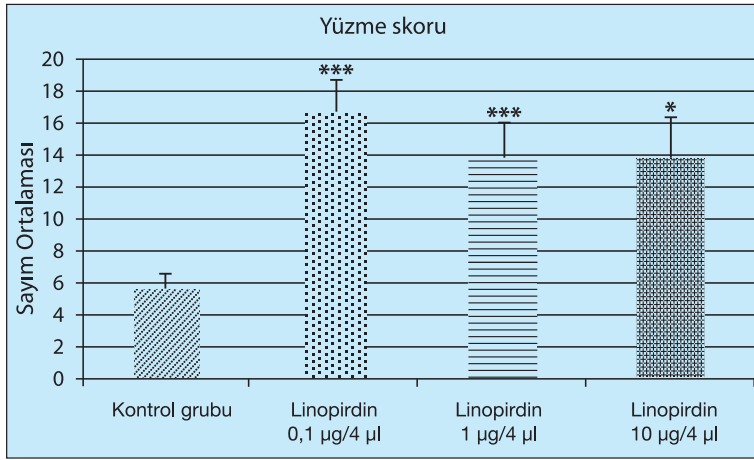
Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda sıçanlar ilk gün 15 dk yüzmeye bırakıldı ve sonrasında kurutularak tekrar kafeslerine yerleştirildi. Öğrenilmiş çaresizlik bulgularını saptamak üzere 24 saat sonra denekler 5 dk süresince yüzmeye bırakıldı. Toplam süre boyunca hayvanların hareketsizlik (yalnız baş kısmının su üstünde olduğu ancak hareketsiz kaldığı dönemler), yüzme ve tırmanma parametrelerini hesaplayabilmek için video kaydı yapıldı. Kayıtlar tarafsız iki gözlemci tarafından beş saniyelik aralıklarla skorlama (yüzme, tırmanma ve hareketsizlik) yapılarak hesaplandı.⁹

İstatistiksel Analiz

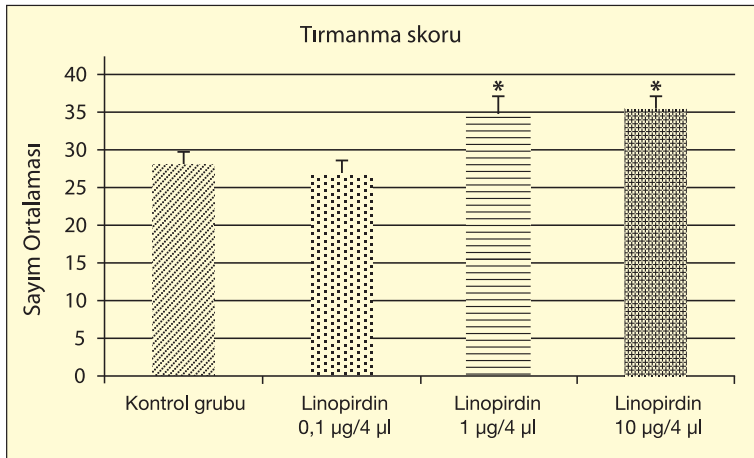
Veri setinde yer alan ölçümle belirtilen değişkenler ortalama ve standart hata ile birlikte gösterilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılım gösteren değişkenlerin 4 grup karşılaştırmaları için ANOVA testi kullanılmıştır. Anlamlı farklılık bulunan değişkenlerde kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık Dunnett testi ile test edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin



Şekil 1. Linopirdinin intraseroventriküler enjeksiyonunun hareketsizlik skoru üzerine etkisi (ortalama±standart hata). Kontrol grubuna göre, * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ / Dunnett post-hoc testi



Şekil 2. Linopirdinin intraseroventriküler enjeksiyonunun yüzme skoru üzerine etkisi (ortalama±standart hata). Kontrol grubuna göre, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ / Bonferonni düzeltilmeli Mann Whitney U testi



Şekil 3. Linopirdinin intraseroventriküler enjeksiyonunun tırmanma skoru üzerine etkisi (ortalama±standart hata). Kontrol grubuna göre, * $p < 0,01$ / Bonferonni düzeltilmeli Mann Whitney U testi

4 grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, ikili karşılaştırmalar için Bonferonni düzeltilmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmanın istatistiksel analizlerinde 1. tip hata 0,05 ($p < 0,05$) alınmıştır.

BULGULAR

Hareketsizlik skoru 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($F=12,781$; $p < 0,001$). Post hoc Dunnett testi linopirdinin tüm dozlarında (0,1, 1 ve 10 µg/4 µl) hareketsizlik skorunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığını göstermiştir ($p < 0,01$, Şekil 1).

Yüzme skoru 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,001$). Post hoc Bonferonni düzeltilmeli Mann Whitney U testi linopirdinin tüm dozlarda (0,1, 1 ve 10 µg/4 µl) yüzme skorunu, kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttırdığı gözlenmiştir ($p < 0,05$, Şekil 2).

Tırmanma skoru 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($Ki-kare=15,865$; $p < 0,001$). Post hoc Dunnett testi linopirdinin sadece 1 µg/4 µl ve 10 µg/4 µl dozlarında tırmanma skorunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırdığı gözlenmiştir ($p < 0,01$, Şekil 3).

TARTIŞMA

K^+ kanalları nöronal uyarılmanın kontrolünde önemli bir role sahiptir. K^+ kanallarının blokajı nörondan K^+ çıkışını engelleyerek depolarizasyona ve bunun sonucunda da nörotransmitter salıverilmesinde artışa neden olmaktadır.¹²

Li ve ark. Kv7.4 kanallarının dopamin salınımı ile ilişkisini gösterip, bunun depresyon tedavisine alternatif bir yol olabileceğini vurgulamıştır.²⁷ Dawson ve Routledge farklı K^+ kanallarının striatal dopamin ve serotonin düzeyleri üzerine etkilerini incelemiştir. Buna göre Ca^{2+} ile aktive olan K^+ kanallarından biri olan SK_{Ca} (küçük geçişgenli kalsiyum bağımlı potasyum kanalı) kanallarını selektif olarak açan apamin isimli peptid santral sinir sisteminde serotonin artışı yaparken, voltaj bağımlı K^+ kanal blokörü dendrotoksin dopamin artışına, TEA doz-bağımlı dopamin ve doz-bağımsız olarak serotonin artışına, 4-AP ise dopamin konstrasyonunda artışa neden olmaktadır.¹⁹ Sıçan hipokampal dilimlerinde yapılan bir başka çalışmada da, 4-AP doz bağımlı olarak noradrenalin düzeyinde artış yaparken, asetilkolin salınımında değişikliğe neden olmamıştır.²⁰ Farklı K^+ kanal blokörleri ve açıcılarıyla yapılan bir başka çalışmada ise, farelerde ZYT ile oluşan hareketsizlik süresinin düzenlenmesinde K^+ kanallarının önemi gösterilmiştir.²¹ Ayrıca sıçanlarda SK_{Ca} kanallarının bloke edilmesiyle dorsal rafe nöronlarında direkt bir serotonin artışı olduğu gösterilmiştir.²⁸ Selektif GABAA reseptör analogu olan nitrazepam ile yapılan bir hayvan çalışmasında ise gösterilen antidepresan

benzeri etkiden K⁺ kanalları sorumlu tutulmuştur.²⁹ Sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada ise ATP duyarlı K⁺ kanallarının antidepresan benzeri etkiden sorumlu olduğu gösterilmiştir.³⁰

Santral sinir sistemi üzerinde yapılan çalışmalarda linopirdinin Kv kanallarına olan selektif blokajı sonucu depolarizasyona ve bunun sonucunda da asetilkolin ve noradrenalin salıverilmesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir.³¹⁻³³ Linopirdin sıçan beyinde asetilkolin salıverilmesini artırması nedeniyle özellikle öğrenme ve bellek performansının değerlendirildiği modellerde çalışılmıştır.^{33,34}

Depresyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan trisiklik antidepresan ve seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) antidepresan etkilerinde G protein aracılı K⁺ kanallarının etkili olabilir.³⁵⁻³⁶ Ayrıca noradrenalin gerilim inhibitörleri ZYT modelinde "tırmanma" davranışını artırırken, SSRI'lar yüzme davranışını arttırmaktadırlar.^{4,37} Noradrenalin ve serotoninin her ikisini birden artıran ilaçlar ise hem tırmanma hem de yüzme davranışını arttırmaktadır.³⁷

Biz de çalışmamızda tek bir K⁺ kanalının etkisini gösterebilmek için Kv7 kanallarına selektif bir ajan olan linopirdini kullandık. Düşük kan-beyin bariyeri geçişi ve yarı ömrünün kısa olması nedeniyle ajani i.c.v. olarak kullanmayı tercih ettik. Günlük olarak

%2,5 dimetil sülfoksit, %47,5 polietilen glikol ve %50 %0,9 NaCl içinde çözerek hazırladığımız linopirdin çözeltisi için literatürle uyumlu dozlar referans alınmıştır.³⁸ Depresyon mekanizmasında linopirdinin benzer şekilde uygulandığı çalışma olmamasına rağmen; elde ettiğimiz sonuçlar genel K⁺ kanalları ile yapılan çalışmaların sonuçlarına benzer bulunmuştur. Tüm dozlarda hareketsizlik süresi kısalmışken, yüzme ve tırmanma süreleri uzamıştır. Ayrıca tırmanma hareketinde doz bağımlı bir etki de saptanmıştır. Literatür bilgileri ışığında K⁺ kanallarının serotonin ve noradrenalin düzeyleri üzerindeki etkileri ve bu nörotransmitterlerin artan kan düzeylerinin yüzme ve tırmanma davranışlarını artırıcı etkisi göz önüne alındığında çalışmamızın sonuçları linopirdinin de benzer bir yol ile etkili olabileceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular, linopirdinin sıçanlarda ZYT'de antidepresan ilaçlara benzer bir etkinliğinin olabileceğini ve bu etkinliğin de olasılıkla noradrenerjik ve serotonerjik sistem üzerinden gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

*Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmiştir.



C	İLETİŞİM İÇİN: Barış Uzunok Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Uşak, Türkiye baris.uzunok@usak.edu.tr
✓	GÖNDERİLDİĞİ TARİH: 20 / 03 / 2018 • KABUL TARİHİ: 18 / 06 / 2018

KAYNAKLAR

1. Neavin DR, Joyce J, Swintak C. Treatment of major depressive disorder in pediatric populations. *Diseases* 2018; 4: 6.
2. Chapman DP, Perry GS. Depression as a major component of public health for older adults. *Prev Chronic Dis* 2008; 5: 1-9.
3. World Health Organization (WHO). Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: World Health Organization; 2017; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
4. Başar K, Ertuğrul A. Depresyon araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *J Clin Psy* 2005; 8: 123-134.
5. Stepanichev M, Dygalo NN, Grigoryan G, Shishkina GT, Gulyaeva N. Rodent models of depression: neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. *Biomed Res Int* 2014; 932757.
6. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266: 730-732.
7. Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* 1997; 8: 523-532.
8. Sanchez C, El Khoury A, Hassan M, Wegener G, Mathé AA. Sex-dependent behavior, neuropeptide profile and antidepressant response in rat model of depression. *Behav Brain Res* 2018; pii: S0166-4328 (18) 30017-2.
9. Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *J Vis Exp* 2015; 2: 97.
10. Slattey DA, Cryan JF. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc* 2012; 7: 1009-1014.
11. Shieh CC, Coghlan M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M. Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 557-594.
12. Brandsgaard R, Barrett JE, Rosenzweig-Lipson S. Pharmacological characterization of the discriminative stimulus effects of the potassium channel blocker 4-aminopyridine in rats. *J Pharmacol and Exp Ther* 2000; 295: 382-391.
13. Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K. Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channels by various antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 1841-1851.
14. MacKinnon R. Potassium channels. *FEBS Letters* 2003; 555: 62-65.
15. Wu YJ, Dworetzky SI. Recent developments on KCNQ potassium channel openers. *Curr Med Chem* 2005; 12: 453-460.
16. Glover WE. Cholinergic effect of 4-aminopyridine and adrenergic effect of 4-methyl-2-aminopyridine in cardiac muscle. *Eur J Pharmacol* 1981; 71: 21-31.

17. M Borsotto, J Veyssiere, H Moha ou Maati, et al. Targeting two-pore domain K⁺ channels TREK-1 and TASK-3 for the treatment of depression: a new therapeutic concept. *Br J Pharmacol* 2015; 172: 771-784.
18. Schechter LE. The potassium channel blockers 4-aminopyridine and tetraethylammonium increase the spontaneous basal release of [3H]5-hydroxytryptamine in rat hippocampal slices. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 262-270.
19. Dawson LA, Routledge C. Differential effects of potassium channel blockers on extracellular concentrations of dopamine and 5-HT in the striatum of conscious rats. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 3260-3264.
20. Hu P-S, Fredholm BB. 4-Aminopyridine-induced increase in basal and stimulation-evoked [3H]-NA release in slices from rat hippocampus: Ca²⁺ sensitivity and presynaptic control. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 764-768.
21. Galeotti N, Ghelardini C, Caldari B, Bartolini A. Effect of potassium channel modulators in mouse forced swimming test. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1653-1659.
22. Lee HM, Chai OH, Hahn SJ, Choi BH. Antidepressant drug paroxetine blocks the open pore of Kv3.1 potassium channel. *Korean J Physiol Pharmacol* 2018; 22: 71-80.
23. Zaczek R, Chorvat RJ, Brown BS. Linopirdine: pharmacology of a neurotransmitter release enhancer. *CNS Drug Reviews* 1997; 3: 103-119.
24. Börjesson A, Karlsson T, Adolfsson R, Rönnlund M, Nilsson L. Linopirdine (DUP 996): cholinergic treatment of older adults using successive and non-successive tests. *Neuropsychobiology* 1999; 40: 78-85.
25. Nassoiy SP, Babu FS, LaPorte HM, Byron KL, Majetschak M. Effects of the Kv7 voltage-activated potassium channel inhibitor linopirdine in rat models of haemorrhagic shock. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2018; 1-11.
26. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978; 47: 379-391.
27. Li Li, Hui Sun, Jie Ding, et al. Selective targeting of M-type potassium Kv7.4 channels demonstrates their key role in the regulation of dopaminergic neuronal excitability and depression-like behaviour. *Br J Pharmacol* 2017; 174: 4277-4294.
28. Rouchet N, Waroux O, Lamy C, et al. SK channel blockade promotes burst firing in dorsal raphe serotonergic neurons. *Eur J Neurosci* 2008; 28: 1108-1115.
29. Nikoui V, Ostadhadi S, Azhand P, et al. The effect of nitrazepam on depression and curiosity in behavioral tests in mice: The role of potassium channels. *Eur J Pharmacol* 2016; 791: 369-376.
30. Esmaili MH, Bahari B, Salari AA. ATP-sensitive potassium-channel inhibitor glibenclamide attenuates HPA axis hyperactivity, depression- and anxiety-related symptoms in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 2018; 137: 265-276.
31. Aiken SP, Lampe BJ, Murphy PA, Brown BS. Reduction of spike frequency adaptation and blockade of M-current in rat CA1 pyramidal neurones by linopirdine (DuP 996), a neurotransmitter release enhancer. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 1163-1168.
32. Dzhura EV, He Wenjuan, Currie KPM. Linopirdine modulates calcium signaling and stimulus-secretion coupling in adrenal chromaffin cells by targeting M-type K⁺ channels and nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1165-1174.
33. Lamas JA, Selyanko AA, Brown DA. Effects of a cognition-enhancer, linopirdine (DuP 996), on M-type potassium currents (I_{K(M)}) and some other voltage- and ligand-gated membrane currents in rat sympathetic neurons. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 605-616.
34. Camerino DC, Tricarico D, Desaphy JF. Ion channel pharmacology. *Neurotherapeutics* 2007; 4: 184-198.
35. Takahashi T, Kobayashi T, Ozaki M, et al. G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channel inhibition and rescue of weaver mouse motor functions by antidepressants. *Neurosci Res* 2006; 54: 104-111.
36. Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K. Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channels by different classes of antidepressants. *PLoS One* 2011; 6: e28208.
37. Page ME, Detke MJ, Dalvi A, Kirby LG, Lucki I. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacol* 1999; 147: 162-167.
38. Schnee ME, Brown BS. Selectivity of linopirdine (DuP 996), a neurotransmitter release enhancer, in blocking voltage-dependent and calcium-activated potassium currents in hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 709-717.