

УДК 612.592.3.019:59

## ВЛИЯНИЕ НИФЕДИПИНА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

<sup>1</sup>Абдурахманов Р.Г., <sup>1,2</sup>Пиняскина Е.В., <sup>1</sup>Гитиномагомедова М.М.

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет», Махачкала, e-mail: radik72@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБУН «Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра»  
Российской академии наук, Махачкала, e-mail: elpin1@rambler.ru

Исследовано влияние блокатора кальциевых каналов L-типа нифедипина на электрическую активность мозга крыс при гипотермии. Показано, что мере снижения температуры тела частота и амплитуда колебаний закономерно снижаются, а при последующем согревании происходят обратные изменения. Согревание животного восстанавливает электрическую активность мозга, но это восстановление происходит при более высокой температуре тела по сравнению с температурой прекращения электрической активности, т.е. имеет место гистерезис. Нифедипин заметно снижает гистерезис. В спектре мощности ЭЭГ при низких температурах доминируют низкие частоты. Диапазон частот, в котором появляется доминирующая полоса в спектре мощности, соответствует тета-ритму. При температуре тела 15°C ЭЭГ становится изоэлектрической. Нифедипин снижает температуру исчезновения электрической активности до 15°C.

**Ключевые слова:** гипотермия, электрическая активность, ЭЭГ, нифедипин, спектральная плотность, температурная зависимость, крысы, мозг

## INFLUENCE OF NIFEDIPINE ON ELECTRICAL BRAIN ACTIVITY DURING HYPOTHERMIA RATS

<sup>1</sup>Abdurahmanov R.G., <sup>1,2</sup>Pinyaskina E.V., <sup>1</sup>Gitinomagomedova M.M.

<sup>1</sup>Dagestan State University, Makhachkala, e-mail: radik72@mail.ru;

<sup>2</sup>Precaspian Institute of Biological Resources of Dagestan Scientific Center RAS,  
Makhachkala, e-mail: elpin1@rambler.ru

Influence of nifedipine – a calcium channel blocker of L-type on the electrical activity in rat brain during hypothermia was investigated. It is shown that the decrease in body temperature and the frequency of the oscillation amplitude naturally reduced and the subsequent warming reverse changes occur, but it has hysteresis. Warming of the animal recovers electrical activity of the brain, but this reduction occurs at a higher body temperature compared with the temperature of termination of electrical activity, i.e. there is a hysteresis. Hysteresis in the cycle «cooling – warming» for the brain's electrical activity points to significant change water and salt balance in the system of «neurons – extracellular space» with deep hypothermia. Nifedipine significantly reduces hysteresis. In the EEG power spectrum at low temperatures, low frequencies dominate. Range of frequencies in which there is a dominant band in the power spectrum corresponds to the theta rhythm. At body temperature, 15°C it becomes isoelectric. Nifedipine reduces the temperature of the disappearance of electrical activity of up to 15°C.

**Keywords:** hypothermia, electric activity, EEG, nifedipine, spectral density, temperature dependence, rats, brain

Исследование электрической активности мозга млекопитающих при общей гипотермии имеет важное значение для выяснения механизмов работы мозга при низких температурах тела [7]. Электроэнцефалограмма (ЭЭГ) представляет собой результат суммации большого числа постсинаптических потенциалов большого числа нейронов. В мозге существует множество различных химических синапсов, отличающихся друг от друга природой нейротрансмиттера. Но выделение нейротрансмиттеров в химических синапсах в ответ на потенциал действия, поступающий в аксонную терминаль, инициируется потенциал-зависимыми кальциевыми каналами. В мозге существует много различных типов кальциевых каналов, отличающихся своими кинетическими свойствами, вольтамперной характеристикой и реакцией на изменения мембранного потенциала. В частности, в мозге существуют так называемые кальциевые каналы L-типа, которые реагиру-

ют на деполяризацию мембраны нейронов и участвуют в фазинге нейронов. Эти каналы медленно инактивируются и, соответственно, пропускают большое количество ионов кальция [5]. Специфическим блокатором кальциевых каналов L-типа является нифедипин – производное дигидропиридина [10]. Нифедипин используется в качестве лекарства при гипертензии, и этот лечебный эффект обусловлен блокированием нифедипином кальциевых каналов L-типа. Ранее нами систематически исследовалась электрическая активность мозга крыс при гипотермии [1]. Нами было показано, что под тиопенталовым наркозом ЭЭГ крыс становится плоской при температуре тела 18–20°C. Однако если перед охлаждением ввести животному мочевины в дозе 3 мМ на 100 г веса тела, то критическая температура тела, при которой ЭЭГ становится плоской, снижается до примерно 15°C [2]. Механизм этого эффекта мочевины не известен. Некоторые структурные аналоги мочевины

(например, ацетамид) также снижают критическую температуру [3]. Было предположено, что мочевины могут отчасти блокировать кальциевые каналы, тем самым, предотвращая перегрузку нейронов кальцием при глубокой гипотермии.

В недавно опубликованной работе было показано, что нифедипин – блокатор кальциевых каналов L-типа – при введении в организм крысы увеличивает выделение глутамата в мозге крыс. Причём оказалось, что этот эффект не связан с влиянием нифедипина на кальциевые каналы L-типа. Глутамат является основным возбуждающим нейротрансмиттером в головном мозге [4]. Поэтому можно было ожидать, что введение нифедипина крысам перед общим охлаждением тела снизит критическую температуру для ЭЭГ.

### Материалы и методы исследования

*Животные.* Опыты проведены на 12 крысах-самцах линии Вистар весом 180–200 г, содержащихся на обычном рационе в условиях вивария. *Наркоз.* Все опыты проведены на животных наркотизированных тиопенталом в дозе 40 мг на кг веса тела. *Гипотермия.* Снижение температуры тела осуществляли с помощью полиэтиленовых мешков, наполненных битым льдом. Наркотизированное животное помещали на мешки со льдом и периодически измеряли температуру тела в прямой кишке с помощью ртутного термометра. Время охлаждения составляло около 1,5 часа, а время согревания до нормотермии – около 1 часа. *Электроды.* ЭЭГ регистрировали с помощью никромовых электродов диаметром 0,3 мм. Электроды имплантировали в соматосенсорную кору в область (примерные координаты (AP + 1, D2) и (AP + D3), у поверхности коры. Заземляющий электрод вживляли в носовую кость. *Введение нифедипина.* Нифедипин (фармацевтический препарат) вводили внутривенно в дозе 5 мг на 100 г веса тела.

*Регистрация ЭЭГ.* Регистрация ЭЭГ осуществлялась с помощью четырёхканального усилителя биопотенциалов, собранного в лаборатории биофизики биологического факультета ДГУ. Сигнал с выхода усилителя подавался на аналого-цифровой преобразователь (АЦП) LA-И24USB фирмы Руднев-Шилев. С АЦП сигнал подавался на компьютер и записывался на жёстком диске. Частота оцифровки составляла 800 Гц. Длина записи 33 с (около 20 000 точек). Регистрацию производили по мере снижения температуры тела через каждые два градуса. После достижения критической температуры тела, когда ЭЭГ становилась изоэлектрической, охлаждение прекращали и начинали согревание. Для этого под тело животного подкладывали грелку с тёплой водой. ЭЭГ регистрировали по мере повышения температуры тела через каждые два градуса. *Анализ ЭЭГ.* После конвертирования данных их сохраняли в формате пакета STATISTIKA. Далее использовались программы опции «анализ временных рядов». Строили графики самой ЭЭГ (2,5-секундные (2000 точек) отрезки ЭЭГ и её спектр мощности. Спектральная плотность выражалась в процентах от общей мощности в диапазоне частот от 0 до 15 Гц, принятой за 100%.

### Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 приведены электроэнцефалограммы крыс с введением нифедипина в дозе 5 мг/100 г веса тела. По мере снижения температуры тела амплитуды колебаний на ЭЭГ уменьшаются. Спектр мощности ЭЭГ закономерно изменяется (рис. 2). При температуре тела 32°C появляется полоса в области 6–7 Гц. При дальнейшем снижении температуры тела она смещается в область низких частот. При температуре тела 15°C ЭЭГ становится практически плоской. Таким образом, введение нифедипина существенно снижает температуру исчезновения электрической активности. При согревании животного после глубокой гипотермии ЭЭГ восстанавливается при температуре тела 21–23°C. Однако колебания на ЭЭГ нерегулярные, амплитуда низкая.

При температуре тела 36°C колебания регулярные, амплитуды колебаний примерно такие же, как и до начала охлаждения. Спектр мощности ЭЭГ имеет примерно такой же вид, как и до начала охлаждения. Хотя и видно, что эти спектры отличаются друг от друга. Например, мощность колебаний в области частот от 0 до 3 Гц в начале эксперимента заметно выше, чем после согревания, хотя температура тела в обоих случаях одинакова.

Диапазон частот, в котором появляется доминирующая полоса в спектре мощности, соответствует тета-ритму. Это значит, что при поверхностной (mild) гипотермии в коре головного мозга доминирует тета-ритм. Одной из причин такой картины может быть подавление активности большого числа корковых нейронов. Известно, что несинхронизированная активность большого числа нейронов приводит к высокочастотной низкоамплитудной картине ЭЭГ. Соответственно, спектр мощности будет содержать широкий набор частот. Известный эффект возникновения альфа-ритма в зрительной коре при закрывании глаз объясняется именно синхронизацией активности нейронов. Но синхронизация невозможна при активности большого числа нейронов. Поскольку нейроны образуют сеть взаимосвязанных генераторов потенциалов действия. Когда сенсорная информация блокируется, импульсация в соответствующие проекции коры перестаёт поступать и большое число нейронов перестаёт генерировать потенциалы действия. Тогда становится возможной синхронизация работы «опорных нейронов», генераторов ритма. Тогда высокочастотные колебания на ЭЭГ исчезают, а ритм пейсмейкера становится доминирующим.

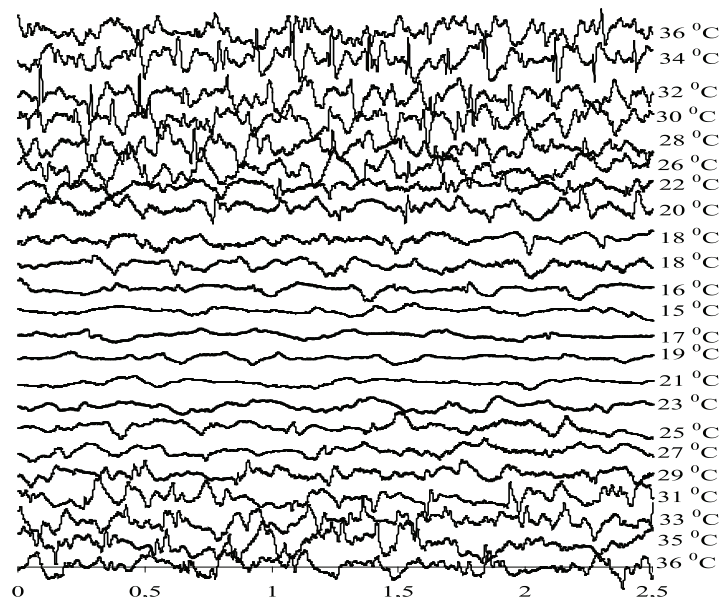


Рис. 1. ЭЭГ крысы при охлаждении и последующем согревании при введении нифедипина. Масштаб по вертикали 400 мкВ, по горизонтали – 1 с

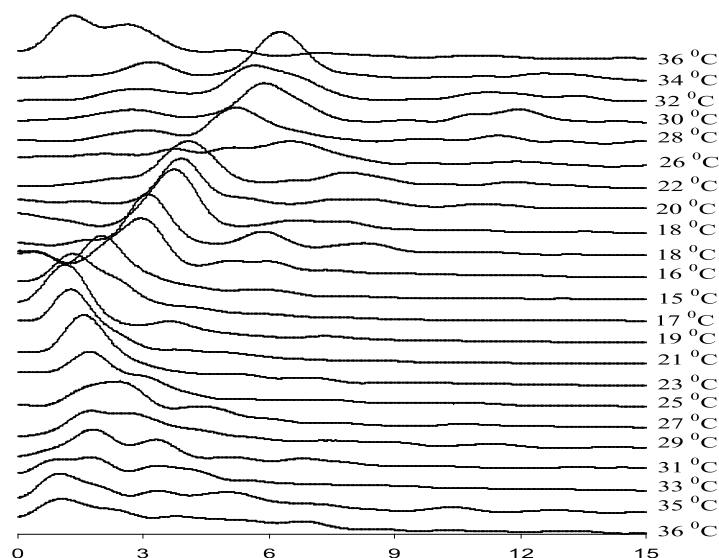


Рис. 2. Спектральные плотности ЭЭГ крысы при охлаждении и последующем согревании при введении нифедипина. По оси абсцисс – частота в Гц, по оси ординат спектральная плотность в процентах от общей плотности в диапазоне от 0 до 15 Гц

Известно, что амплитуда постсинаптического ответа существенно зависит от количества медиатора, выделяющегося в щель в ответ на приходящий в терминаль потенциал действия [9]. В свою очередь, количество выделяющегося в синаптическую щель медиатора определяется вероятностью наступления событий, ведущих к образованию поры, через которую медиатор поступает из синаптического пузырька в синаптическую щель. Известно, что ионы кальция играют важную роль в процессе выделения медиатора в синаптическую щель. В ответ на приходящий в терминаль потенциал действия ионы кальция через

потенциалзависимые кальциевые каналы поступают из экстраклеточного пространства в терминаль, где связываются с белками специализированного комплекса, осуществляющего процесс образования поры в пресинаптической мембране и выделения медиатора в синаптическую щель. Исследование зависимости количества выделившегося в синаптическую щель медиатора от концентрации экстраклеточного кальция указывает на то, что по крайней мере четыре иона кальция должны связаться с медиаторвыделяющим белковым комплексом для того, чтобы запустить процесс сплавления мембраны синаптического пузырька с пре-



синаптической плазматической мембраной и выделения медиатора в синаптическую щель [6]. Это означает, что количество выделяющегося в ответ на ПД медиатора существенно зависит от концентрации кальция в месте локализации медиаторвыделяющего комплекса. Например, если вероятность выделения медиатора зависит в четвертой степени от концентрации кальция, то изменение эффективной концентрации кальция всего лишь на 20% изменит количество выделяемого медиатора в два раза. Поэтому реакции, влияющие на эффективную концентрацию кальция, будут существенно влиять на количество выделяющегося медиатора и на амплитуду постсинаптических потенциалов. Эффективная концентрация кальция в месте локализации медиатор выделяющего комплекса зависит:

- 1) от концентрации экстраклеточного кальция;
- 2) проводимости и времени открытого состояния кальциевого канала;
- 3) емкости кальциевого буфера в окрестности пресинаптических пузырьков, адсорбированных на пресинаптической мембране.

Все эти величины зависят от температуры, но надо полагать, что наибольшей чувствительностью к температуре обладают константы скорости открытия и закрытия кальциевого канала. В работе [8] показано, что  $Q_{10} \sim 2,5$ , если предположить, что эта закономерность имеет общий характер, то снижение температуры должно увеличивать количество кальция проходящего через канал в ответ на ПД, а следовательно, и амплитуду постсинаптического потенциала. Увеличение амплитуды ПСП увеличивает вероятность генерации ПД в районе аксонного холмика, а следовательно, и генерации последующего ПСП. Предельная частота, которую может пропустить синапс, зависит от концентрации экстраклеточного кальция: чем меньше эта концентрация, тем выше предельная частота [9]. Можно предположить, что введение нифедипина увеличивает предельные частоты для синаптических контактов и тем самым увеличивает среднюю частоту ЭЭГ.

Возможно, введение нифедипина уменьшает эффективную концентрацию кальция в экстраклеточном пространстве или уменьшает вход кальция в пресинаптическую терминаль в ответ на потенциал действия. Это, в свою очередь, уменьшит количество выделяющегося медиатора в ответ на потенциал действия. Таким образом, каждый потенциал действия будет расходовать меньше «ресурсов» по выражению Цодька и Маркрана.

#### Список литературы

1. Абдурахманов Р.Г. Влияние гипотермии на электрическую активность мозга крыс // Проблемы развития АПК региона. – 2012. – № 1 (9). – С. 52–57.
2. Гитиномагомедова М.М., Пиняскина Е.В., Абдурахманов Р.Г. Влияние тиомочевинны на электрическую актив-

ность мозга крыс при гипотермии // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11 (7). – С. 1357–1360.

3. Рабаданова З.Г., Абдурахманов Р.Г., Мейланов И.С. Влияние ацетамида на электрическую активность мозга крыс при гипотермии // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2010. – № 5. – С. 65–69.

4. Alexej Verkhatsky, Richard K Orkand, Helmut Kettenmann. Glial Calcium: Homeostasis and Signaling Function // J. Physiol. Rev. –1998. – Vol. 78. – № 1. – P. 100–130.

5. Bell D.C., Butcher A.J. Berrow N.S., Page K.M., Brust P.F., Nesterova A., Stauderman K.A., Seabrook G.R., Urnberg B.N. and Dolphin A.C. Biophysical Properties, Pharmacology, and Modulation of Human, Neuronal L-Type (a1D,CaV1.3) Voltage-Dependent Calcium Currents // J Neurophysiol. – 2001. – Vol. 85. – P. 816–827.

6. Bertram R., Smith G.D., Sherman A. Modeling Study of the effects of overlapping Ca<sup>2+</sup> microdomains on neurotransmitter release // Bioph. J. – 1999. – Vol. 76. – P. 735–750.

7. Massopust L.C., Alsin M.S., Barnes A.W., Meder R., Kretschmer H.W. Cortical and subcortical responses to hypothermia // Exp. Neurol. – 1964. – Vol. 9. – P. 249–261.

8. Steles J.R., Kovyasina I.R., Salpeter M.M. The temperature sensitivity of miniature endplate currents is mostly governed by channel gating: evidence from optimized Recordings and Monte Carlo simulations // Bioph. J. – 1999. – Vol. 77, № 2. – P. 1177–1187.

9. Tsodyks V.M., Markram H. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability // Neurobiology. – 1997. – Vol. 94. – P. 719–723.

10. Hirasawa M., Pittman Q.J. Nifedipine facilitates neurotransmitter release independently of calcium channels // PNAS. 2003. – Vol. 100. – P. 6139–6144.

#### References

1. Abdurahmanov R.G. Vlijanie gipotermii na jelektricheskuju aktivnost' mozga krysv // Problemy razvitiya APK regiona, 2012. no. 1 (9), pp. 52–57.

2. Gitinomagomedova M. M., Pinjaskina E.V., Abdurahmanov R.G. Vlijanie tiomocheviny na jelektricheskuju aktivnost' mozga krysv pri gipotermii // Fundamental'nye issledovaniya, 2013. no. 11 (7), pp. 1357–1360.

3. Rabadanova Z.G., Abdurahmanov R.G., Mejljanov I.S. Vlijanie acetamida na jelektricheskuju aktivnost' mozga krysv pri gipotermii // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki. 2010. no. 5, pp. 65–69 Alexej Verkhatsky, Richard K Orkand, Helmut Kettenmann. Glial Calcium: Homeostasis and Signaling Function // J. Physiol. Rev. 1998. Vol. 78, no.1. pp. 100–130.

4. Alexej Verkhatsky, Richard K Orkand, Helmut Kettenmann. Glial Calcium: Homeostasis and Signaling Function // J. Physiol. Rev. 1998. Vol. 78. no. 1. pp. 100–130.

5. Bell D.C., Butcher A.J. Berrow N.S., Page K.M. Brust P.F., Nesterova A., Stauderman K.A., Seabrook G.R., Urnberg B.N. and Dolphin A.C. Biophysical Properties, Pharmacology, and Modulation of Human, Neuronal L-Type (a1D,CaV1.3) Voltage-Dependent Calcium Currents // J Neurophysiol. 2001. Vol. 85. pp. 816–827.

6. Bertram R., Smith G.D., Sherman A. Modeling Study of the effects of overlapping Ca<sup>2+</sup> microdomains on neurotransmitter release // Bioph. J. 1999. Vol. 76. pp. 735–750.

7. Massopust L.C., Alsin M.S., Barnes A.W., Meder R., Kretschmer H.W. Cortical and subcortical responses to hypothermia // Exp. Neurol. 1964. Vol. 9. pp. 249–261.

8. Steles J.R., Kovyasina I.R., Salpeter M.M. The temperature sensitivity of miniature endplate currents is mostly governed by channel gating: evidence from optimized Recordings and Monte Carlo simulations // Bioph. J. 1999. Vol. 77, no. 2. pp. 1177–1187.

9. Tsodyks V.M., Markram H. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability // Neurobiology. 1997. Vol. 94. pp. 719–723.

10. Hirasawa M., Pittman Q.J. Nifedipine facilitates neurotransmitter release independently of calcium channels // PNAS. 2003. Vol. 100. pp. 6139–6144.

#### Рецензенты:

Омаров К.З., д.б.н., профессор, зав. лабораторией экологии животных, ФГБУН ПИБР ДНЦ РАН, г. Махачкала;

Габитов М.М., д.б.н., профессор, зав. кафедрой анатомии, физиологии, гистологии, ГОУ ВПО ДГУ, г. Махачкала.

Работа поступила в редакцию 28.05.2014.