

УДК 547.857:543.632.512:57084[616-005.98-02:547.281.1]-06:616.89-008.447

Л. В. Лукьянова

*Харьковский национальный медицинский университет*

## ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ КОФЕИНА, КАРБАМАЗЕПИНА И ИХ КОМПОЗИЦИЙ В УСЛОВИЯХ ФОРМАЛИНОВОГО ОТЕКА У КРЫС

*В эксперименте на лабораторных животных проведены исследования влияния нитрогенсодержащих органических соединений (карбамазепина, кофеина) и их композиции на эмоционально-поведенческие реакции в условиях формалинового отека. Анализ результатов экспериментальных исследований показывает, что кофеин потенцирует действие карбамазепина относительно горизонтальной и вертикальной двигательной активности крыс.*

*Ключевые слова:* кофеин; карбамазепин; тест «открытое поле»; формалиновый отек; лекарственная композиция

### ВСТУПЛЕНИЕ

Основой проявления любых поведенческих реакций животных является ориентировочный рефлекс, одной из характеристик которого является установочная реакция, отражающая деятельность целого организма [4]. Способ определения ориентировочной реакции физиологичен, в основу его положен «норковый рефлекс» грызунов. Метод «открытое поле» рекомендуется в качестве интегрального показателя.

В медицинской практике часто применяется комбинированная фармакотерапия с целью повышения эффективности лекарственного средства [12, 13, 15, 18]. Возможность получения более сильной фармакологической активности от композиции в сравнении с каждым отдельным препаратом стала основой для создания лекарственной комбинации [14, 17, 18]. Из анализа литературных источников было выявлено, что довольно часто в состав комбинированных противоболевых средств входит кофеин [12, 16, 21, 22, 24, 25, 26, 28, 29], а карбамазепин является вторичным анальгетиком [7, 8]. Карбамазепин – производное иминостильбена с карбамоильной группой в 6-м положении (5-карбамил-5-Н-добензазепин), близкое к трициклическим антидепрессантам.

Данные относительно лекарственной композиции кофеина с карбамазепином отсутствуют.

*Цель данной работы* – исследование влияния карбамазепина, кофеина и их композиции на эмоционально-поведенческие реакции (ЭПР) у крыс при тестировании в «открытом поле» на фоне формалинового отека.

Согласно поставленной цели решались следующие задачи: исследовать и проанализировать уровень ЭПР крыс в тесте «открытое поле» при моноведении карбамазепина, кофеина и их композиции на фоне формалинового отека.

### МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ

Экспериментальное исследование проводили на 30 крысах обеих полов линии WAG средней массой 210-230 г. Источник получения и место пребывания лабораторных животных – виварий Харьковского национального медицинского университета (ХНМУ) (температура воздуха – 23-25 °С, освещение – в помещении 100 люкс, в клетке – 20-40 люкс). Продолжительность пребывания лабораторных животных – 1,5 месяца; период акклиматизации – 2 недели; основной рацион – овощи, кормовая свекла; источник воды – отстоявшаяся водопроводная вода.

Оценку влияния препаратов и их композиции на характеристики поведения животных проводили путем сравнения групп 3-5 в условиях формалинового отека (3 группа – кофеин (0,6 мг/кг), 4 группа – карбамазепин (6,25 мг/кг), 5 группа – композиция карбамазепина (6,25 мг/кг) с кофеином (0,6 мг/кг)) с положительным контролем (группа 1-3 % крахмальная слизь, 2 мл на 200 г крысы) и с отрицательным

© Лукьянова Л. В., 2016

контролем (группа 2-3 % крахмальная слизь, 2 мл на 200 г крысы в условиях формалинового отека) через 4 часа после его моделирования (на фоне максимального развития отека) [2]. Исследуемые препараты вводились однократно внутривентриально в виде суспензии на 3 % крахмальной слизи за 1 час до развития максимального отека, 3 % крахмальная слизь вводилась аналогично. Поведение животных в тесте «открытое поле» [1] оценивали по общепринятым поведенческим актам: двигательная активность, ориентировочно-исследовательская реакция и эмоциональная реактивность по общепринятой методике [10]. С целью интегральной оценки поведенческих реакций подсчитывали сумму всех видов активности.

Метод «открытое поле» позволяет относительно быстро оценить целостную физиологическую реакцию на новую обстановку, выявить динамику изменений при различных состояниях, получить многостороннюю информацию о двигательной, исследовательской и эмоциональной активности животного.

Животное помещают в центр площадки, одновременно включают секундомер. В течение 3-х минут фиксируют количество действий, характеризующих двигательную и эмоциональную активность животных [6, 8, 20]. Одновременно с двигательным компонентом ориентировочно-исследовательской реакции учитывается вегетативная деятельность – количество дефекаций, уриаций и умываний, которые расцениваются как проявление эмоциональной активности.

При оценке поведенческих реакций и отдельных компонентов двигательной активности в эксперименте значимыми считают сдвиги на 30 % по сравнению с контролем. Наиболее чувствительным считают вертикальный компонент двигательной активности и интегральную величину  $\Sigma$  (сумму видов активности) [9].

Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86/609/ЕЕС). Опыты проведены на лабораторных животных из экспериментально-биологической клиники ХНМУ с учетом норм хранения, ухода и кормления, утвержденных согласно принципам «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986) [23] и постановления Первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2007) [19]. Опыты проводились в первой половине дня, что по данным литературы согласовывается с зависимостью основных исследуемых параметров и фармакологической активностью принятых к исследованию препаратов от циркадных ритмов [3]. Полученный цифровой материал обрабатывали статистически с помощью современных методов статистического анализа [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Регистрировали следующие показатели: горизонтальная двигательная активность (ГДА) (число пересеченных квадратов в «открытом поле»), вертикальная двигательная активность (ВДА) (число стоек), заглядывание в норки, грумминг, число уриаций и дефекаций. По соотношению и интенсивности этих актов судили об эмоциональности, двигательной и исследовательской активности животного [9, 20].

*Влияние карбамазепина, кофеина и их композиции на ГДА и ВДА крыс.* Анализ ориентирующе-исследовательской деятельности (ОИД) крыс в тесте «открытое поле» по показателям ГДА и ВДА раскрывает мотивационную составляющую характеристики животных.

Моделирование формалинового отека (группа 2) способствовало статистически достоверному увеличению ГДА в 1,4 раза у крыс относительно контрольной группы. При моноведении кофеина (группа 3) наблюдалось уменьшение как ГДА в 1,4 раза, так и ВДА в 1,2 раза относительно группы 2, полученные данные почти достигли контрольных величин. Моноведение в условиях формалинового отека карбамазепина (группа 4) способствовало статистически достоверному уменьшению и ГДА (в 5,6 и 8 раз), и ВДА (в 2,8 и 3,8 раза) относительно животных группы 1 и 2 соответственно. При введении композиции кофеина с карбамазепином (группа 5) наблюдалось статистически достоверное уменьшение и ГДА, и ВДА у крыс как относительно групп 2 и 3, так и относительно контрольной (группа 1) (таблица).

*Количество обследованных отверстий (познавательная активность крыс).* Разновидностью ОИД крыс является количество обследованных отверстий – показатель норкового рефлекса, свидетельствующий о способности животного исследовать «открытое поле».

Моделирование формалинового отека способствовало незначительному уменьшению познавательной активности животных (на 10,2 %) относительно группы контроля. Моноведение кофеина не влияло на познавательную активность животных в условиях формалинового отека. Введение карбамазепина и его композиции с кофеином статистически достоверно уменьшало познавательную активность крыс как относительно группы 1, так и относительно группы 2 (таблица).

*Косметическое поведение крыс (грумминг крыс)* является важной характеристикой поведения животных в «открытом поле». Грумминг тесно коррелирует с двигательной активностью. Поэтому при исследовании лекарственных препаратов эта характеристика поведения особенно интересна.

При моделировании формалинового отека наблюдалось (в 1,3 раза) статистически недостоверное уменьшение количества умываний относительно контроля. При введении на фоне формалинового

**ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ФОРМАЛИНОВОГО ОТЕКА  
ПО МЕТОДУ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ» (n = 6)**

Группы животных	Двигательная активность		Ориентировочные исследования	Эмоциональная активность			Сумма всех видов активности			
	ГДА	ВДА		познавательная активность	количество			количество	% к группе 1	% к группе 2
					умываний (груминг)	уринаций	дефекаций			
Контроль	40,33 ± 1,74	5,67 ± 0,17	1,67 ± 0,21	6,67 ± 1,38	0,67 ± 0,26	4,17 ± 0,40	59,18	-	-	
Отек формалиновый	57,17 ± 1,25 *	7,50 ± 1,77	1,50 ± 0,22	5,17 ± 0,65	1,00 ± 0,00	2,17 ± 0,31 *	74,51	25,9	-	
Кофеин	42,33 ± 7,61 ****	6,17 ± 2,01	1,50 ± 0,50	7,83 ± 1,82	1,33 ± 0,33	2,17 ± 0,65 *	61,33	17,68	3,63	
Карбамазепин	7,17 ± 2,50 */**/**	2,00 ± 0,80 */**	1,00 ± 0,00 */**	12,67 ± 8,76	1,00 ± 0,00	1,33 ± 0,33 *	25,17	57,46	66,22	
Карбамазепин+ кофеин	25,17 ± 8,04 **	2,33 ± 1,03 */**	1,00 ± 0,00 */**	9,00 ± 6,11	1,17 ± 0,17	2,33 ± 0,49 *	41,00	30,71	44,97	

Примечания (средние ± ошибка средней): \* – достоверность результатов по отношению к контрольной группе,  $p < 0,05$ ; \*\* – к группе 2 (формалиновый отек),  $p < 0,05$ ; \*\*\* – к группе 3 (моновведение кофеина),  $p < 0,05$ ; \*\*\*\* – к группе 4 (моновведение карбамазепина),  $p < 0,05$ ; \*\*\*\*\* – к группе 5 (введение композиции карбамазепин + кофеин),  $p < 0,05$ .

отека кофеина, карбамазепина, и их композиции наблюдалась лишь тенденция к увеличению груминга относительно группы 2 (таблица).

Диурез, дефекация. В качестве показателя эмоционального статуса крыс значимость имеют количество уринаций и дефекаций. Уровень эмоционального состояния крыс оценивается по количеству этих показателей. Моделирование формалинового отека (группа 2) способствовало статистически достоверному уменьшению дефекаций в 1,9 раз относительно контрольной группы, а количество уринаций незначительно увеличилось. При моновведении кофеина, карбамазепина и их композиции не наблюдалось статистически достоверных изменений количества уринаций и дефекаций относительно группы 2.

Интегральная величина  $\Sigma$  (сумма видов активности) при введении кофеина была менее 30 %, при введении карбамазепина составила 57,46 % относительно контрольной группы и 66,22 % относительно группы 2, а при введении фармакологической композиции карбамазепина и кофеина – 30,71 % и 44,97 % соответственно.

### ВЫВОДЫ

Анализ результатов экспериментальных исследований показал:

1. В условиях формалинового отека кофеин нормализовал ГДА и ВДА крыс.
2. Введение в условиях формалинового отека карбамазепина статистически достоверно уменьшало ГДА (на 87,5 %) и ВДА (на 73,3 %) относительно группы отрицательного контроля (группы 2).
3. Введение в условиях формалинового отека композиции кофеина и карбамазепина статистически достоверно уменьшало ГДА (на 91 %) и ВДА (на 69 %) и познавательную активность относительно группы 2.
4. Интегральная величина  $\Sigma$  (сумма видов активности) при введении кофеина составляла менее 30 %, при введении карбамазепина составила 57,46 % относительно контрольной группы и 66,22 % относительно группы 2, а при введении фармакологической композиции карбамазепина и кофеина – 30,71 % и 44,97 % соответственно.

Фармакологіческая композиция кофеина и карбамазепина перспективна для изучения токсичности.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон / Под ред. проф. А. С. Батуева. – М., 1991. – 400 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. НАМН О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
3. Западнюк И. П. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. – К.: Вища шк., 1983. – С. 243-297, 342-376.
4. Исмаилова Х. Ю. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы) / Х. Ю. Исмаилова, Т. М. Агаев, Т. П. Семенова. – Баку: Нурлан, 2007. – 228 с.
5. Коросов А. В. Компьютерная обработка биологических данных / А. В. Коросов, В. В. Горбач. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2007. – 76 с.
6. Кулагин Д. А. Исследование эмоциональности у крыс линии Вистар и Крушинского-Молодкиной методом «открытого поля» / Д. А. Кулагин, В. Н. Федоров // Генетика поведения. – Ленинград: Наука, 1969. – С. 35-42.
7. Лікарські препарати України 1999-2000 / Кол. авторів. – У 3-х т. – Т. 1. – А-К. – Х.: Прапор, 1999. – С. 532-534.
8. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М.: ООО «Новая Волна», 2007. – Т. 1. – С. 42-43, 120-121.
9. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсических исследованиях для гигиенического нормирования. – К., 1980. – 47 с.
10. Родина В. И. Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс / В. И. Родина, Н. А. Крупина, Г. Н. Крыжановский, Н. Б. Окнина // Высшая нервная деятельность. – 1993. – № 43 (5). – С. 1006-1017.
11. Сирова Г. О. Вивчення впливу диклофенаку натрію, кофеїну та їх композиції на емоційно-поведінкові реакції щурів в умовах формалінового набряку / [Г. О. Сирова, Є. Р. Грабовецька, Р. О. Бачинський та ін.] // Запорозький мед. журн. – 2012. – № 6 (75). – Запорозьке, ЗГМУ. – С. 5-7.
12. Сирова Г. О. Вивчення потенціуючих протибольових властивостей кофеїну в експерименті / Г. О. Сирова, Т. В. Звягінцева // XII конгр. Світової федерації укр. лікарських товариств. – Івано-Франківськ, 2008. – С. 454.
13. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення антиексудативної дії композицій диклофенаку натрію та ібупрофену з кофеїном / [Г. О. Сирова, Є. Р. Грабовецька, Л. Г. Шаповал та ін.] // Експеримент. і клін. медицина. – 2011. – № 2 (51). – С. 53-55.
14. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення протибольової дії карбамазепіну, парацетамолу і кофеїну та їх композицій / Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський // УБФЖ. – 2014. – № 6. – С. 8-12.
15. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення специфічної дії диклофенаку натрію та його композиції з кофеїном / [Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський, Є. Р. Грабовецька та ін.] // УБФЖ. – 2012. – № 5-6 (22-23). – С. 67-72.
16. Сирова Г. О. Квантово-фармакологічне обґрунтування потенціовальних протибольових властивостей кофеїну / Г. О. Сирова, Т. В. Звягінцева, І. С. Чекман, Т. Ю. Небесна // Фармац. журн. – 2008. – № 6. – С. 85-91.
17. Сирова Г. О. Пат. України на корисну модель № 95253 «Спосіб підсилення аналгетичної дії периферичного генезу карбамазепіну» / Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський, В. С. Шапошник // МПК 2014.01. – № у 2014 08577. Заявл.: 28.07.2014. Опубл.: 10.12.2014. – Бюл. № 23.
18. Сирова Г. О. Пат. України на корисну модель № 95254 «Спосіб підсилення аналгетичної дії периферичного генезу парацетамолу» / Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський, В. С. Шапошник // МПК 2014.01. – № у 2014 08579. Заявл.: 28.07.2014. Опубл.: 10.12.2014. – Бюл. № 23.
19. Сучасні проблеми біоетики / Відп. ред. Ю. І. Кундієв. – К.: «Академперіодика», 2009. – 278 с.
20. Трахтенберг И. М. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей / И. М. Трахтенберг, Л. А. Тимофиевская, И. Я. Квятковская, отв. ред. И. М. Трахтенберг. – Рига: Зинатне, 1987. – 172 с.
21. Чекман І. Кофеїн: фізіологічні, біохімічні та квантово-фармакологічні властивості / [І. Чекман, Н. Горчакова, Т. Звягінцева та ін.] // Вісник фармакол. та фармації. – 2009. – № 6. – С. 2-7.
22. Diaz-Reval M. I. Effect of caffeine on antinociceptive action of ketoprofen in rats / M. I. Diaz-Reval, R. Ventura-Martinez, G. P. Hernandez-Delgadillo, A. M. Dominguez-Ramirez // Arch. Med. Res. – 2001. – Vol. 32, № 1. – P. 13-20.
23. European convention for the protection of vertebrate animals used experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 51 p.
24. Goldstein J. Caffeine and headache: Friendly fire or enemy fire? / J. Goldstein // National Headache Foundation. – 2007. – № 189. – P. 2310.
25. Schachatel B. P. Caffeine as analgetic adjuvant. A double-blind study comparing aspirin with caffeine to aspirin and placebo in patients with sore throat / [B. P. Schachatel, J. M. Fillingim, A. C. Lane et al.] // J. Clin. Pharmacol. – 2007. – № 47. – P. 860-870.

26. Seymour D. Ibuprofen plus caffeine in the treatment of tension – type headache / D. Seymour // Clin. Pharmacol. & Therapeutics. – 2000. – № 68. – P. 312-319.
27. Vinegar R. E. Potentiation of the anti-inflammatory and analgesic activity of aspirin by caffeine in the rat / R. E. Vinegar, J. F. Erikson, J. L. Selph, R. M. Welch // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1976. – Vol. 151. – P. 556-560.
28. Yuan R. Evaluation of cytochrome P450 probe substrates commonly used by the pharmaceutical industry to study in vitro drug interactions / R. Yuan, S. Madani, X. Wei, K. Reynolds // Drug Metab. Dispos. – 2002. – Vol. 30. – P. 1311-1319.
29. Zhang W. Y. Do codeine and caffeine enhance the analgesic effect of aspirin? A systematic overview / W. Y. Zhang, A. L. Po // J. Clin. Pharm. Ther. – 1997. – № 22 (2). – P. 79-97.

**УДК 547.857:543.632.512:57084[616-005.98-02:547.281.1]-06:616.89-008.447**

**Л. В. Лук'янова**

**ВИВЧЕННЯ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ПРИ ВВЕДЕННІ КОФЕЇНУ, КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙ В УМОВАХ ФОРМАЛІНОВОГО НАБРЯКУ У ЩУРІВ**

В експерименті на лабораторних тваринах проведено дослідження впливу нітрогеновмісних органічних сполук (карбамазепіну, кофеїну) та їх композиції на емоційно-поведінкові реакції в умовах формалінового набряку. Аналіз результатів експериментальних досліджень вказує на те, що кофеїн потенціює дію карбамазепіну відносно горизонтальної і вертикальної рухової активності щурів.

**Ключові слова:** кофеїн; карбамазепін; тест «відкрите поле»; формаліновий набряк; лікарська композиція

**UDC 547.857:543.632.512:57084[616-005.98-02:547.281.1]-06:616.89-008.447**

**L.V. Lukyanova**

**STUDYING OF BEHAVIOURAL REACTIONS AT INTRODUCTION CAFFEINE, CARBAMAZEPINE AND THEIR COMPOSITIONS IN THE CONDITIONS OF THE FORMALIN EDEMA IN RATS**

Researches of behavioral-emotional reactions are carried out in experiment on laboratory animals at introduction nitrogen-containing organic compounds (carbamazepine, caffeine) and their compositions under conditions of a formalin edema. The analysis of results of experimental researches shows, that caffeine potentiates the action of carbamazepine relative to the horizontal and vertical impellent activity in rats.

**Key words:** caffeine; carbamazepine; test "open field", formalin edema, drug composition

Адреса для листування:

61022, м. Харків, пр. Науки, 4.

Тел.: (057) 707 73 77. Моб. (066) 22 62 437.

E-mail: larluk@inbox.ru.

Харківський національний медичний університет

Надійшла до редакції 16.12.2015 р.