



Л.В. Лук'янова<sup>1</sup>, Г.О. Сирова<sup>1</sup>, Є.Р. Грабовецька<sup>1</sup>, Р.О. Бачинський<sup>1</sup>, О.В. Шаповал<sup>2</sup>

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДИКЛОФЕНАК-НАТРІЮ, КОФЕЇНУ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙ НА ЕМОЦІЙНО-ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ В УМОВАХ ФОРМАЛІНОВОГО НАБРЯКУ

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет,

<sup>2</sup>Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

**Ключові слова:** кофеїн, диклофенак-натрію, фармакологічна композиція, «відкрите поле», формаліновий набряк.

**Ключевые слова:** кофеин, диклофенак-натрия, фармакологическая комбинация, «открытое поле», формалиновый отек.

**Key words:** caffeine, diclofenac sodium, pharmacological combination, «open field», formalin edema.

Досліджено вплив диклофенак-натрію, кофеїну та їх композицій на емоційно-поведінкові реакції щурів в умовах формалінового набряку. Аналіз результатів вказує, що кофеїн посилює дію диклофенак-натрію. Введення диклофенак-натрію, кофеїну та їх композицій підвищує пізнавальну активність щурів, але додавання кофеїну до диклофенак-натрію не сприяє статистично вірогідному підвищенню пізнавальної активності в умовах формалінового набряку.

Исследовано влияние диклофенак-натрия, кофеина и их композиции на эмоционально-поведенческие реакции крыс в условиях формалинового отека. Анализ результатов показывает, что кофеин усиливает действие диклофенак-натрия. Введение диклофенак-натрия, кофеина и их композиций повышает познавательную активность у крыс, но добавление кофеина к диклофенак-натрию не способствует статистически достоверному повышению познавательной активности в условиях формалинового отека.

Experimental research of influence of diclofenac sodium, caffeine and their compositions on the emotional and behavioral responses in rats with formalin-induced edema was carried out. Analysis of results shows that caffeine increases diclofenac sodium action. Introduction of diclofenac sodium, caffeine and their compositions increases cognitive activity in rats, but addition of caffeine to diclofenac sodium does not promote statistically significant increase of cognitive activity of rats with formalin-induced edema.

В основі взаємодії тварини з навколишнім середовищем лежать механізми нервової, гуморальної та імунної регуляції. Залежно від генетично детермінованих особливостей цих процесів, тварини по-різному реагують на зміну умов навколишнього середовища. Це дозволяє виділяти у них різні індивідуально-типологічні властивості [1]. Крім того, індивідуальні особливості тварин визначаються їх загальним станом на момент потрапляння в екстремальні умови, попереднім досвідом вирішення стресової ситуації та іншими ознаками, набутими протягом життя.

У вивченні механізмів дії фармакологічних препаратів важливим є вивчення їх впливу на характеристики поведінки тварин. Відсутність вербального контакту з тваринами обмежує діапазон можливих тестів. Найпоширенішим та найінформативнішим тестом при вивченні впливу лікарських засобів на емоційно-поведінкові реакції (ЕПР) є тест «відкрите поле».

У медичній практиці часто застосовується комбінована фармакотерапія з метою підвищення ефективності лікарського засобу [2]. Можливість отримання сильнішої фармакологічної активності від композиції у порівнянні з кожним окремим лікарським засобом стало підґрунтям для створення лікарської комбінації [3,4]. З аналізу даних наукової літератури виявлено, що досить часто до складу комбінованих протибольових засобів входить кофеїн [5–9]. Але дані відносно існуючої фармацевтичної композиції кофеїну з диклофенак-натрієм відсутні. Експериментальні дані, отримані в попередніх дослідженнях, показали доцільність такої комбінації [10–12].

### МЕТА РОБОТИ

Дослідження впливу диклофенак-натрію, кофеїну при моно введенні і при введенні їх композиції на ЕПР у щурів при тестуванні у «відкритому полі» на фоні формалінового набряку.

Відповідно до поставленої мети вирішували наступні задачі: дослідити та проаналізувати рівень ЕПР щурів у тесті «відкрите поле» при моно введенні диклофенак-натрію, кофеїну та їх композиції на фоні формалінового набряку.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне дослідження проводили на 30 щурах обох статей лінії WAG середньою масою 210–230 г. Джерело отримання і місце перебування лабораторних тварин – віварій ХНМУ (температура повітря – 23–25°C, освітлення в приміщенні – 100 люкс, у клітці – 20–40 люкс). Тривалість перебування лабораторних тварин – 1,5 місяці; період акліматизації – 2 тижні; основний раціон – овочі, кормовий буряк; джерело води – відстояна водопровідна вода.

Тварини розподілені на 5 груп по 6 щурів у кожній. Тварини 1 групи були контролем, їм однократно перорально внутрішньошлунково вводили 3% крохмальний слиз (2 мл на 200 г щура). Тваринам 2 групи моделювали формаліновий набряк шляхом субплантарного введення 2% розчину формаліну у задню лапу, вводили 3% крохмальний слиз [13]. Тваринам 3–5 груп однократно внутрішньошлунково у вигляді суспензії на 3% крохмальному слизу вводили досліджувані препарати та їх композицію: тваринам 3 групи вводили диклофенак-натрію (5 мг на 1 кг ваги тварини), 4 групи – кофеїн (0,6 мг на 1 кг ваги тварини), 5 групи – комбінацію диклофенак-натрію (5 мг на 1 кг ваги тварини) з кофеїном (0,6 мг на 1 кг ваги тварини). Максимальний розвиток формалінового набряку спостерігали через 4 години після його моделювання [13], тому лікарські засоби, а також 3% крохмальний слиз вводили за 1 годину до цього моменту.

Оцінку впливу препаратів та їх комбінації на характеристики поведінки тварини проводили шляхом порівняння груп 3–5 з контролем (група 1), з формаліновим набряком (група 2), а також при моно введенні досліджуваних



препаратів (групи 3, 4) на фоні максимального розвитку формалінового набряку. Спостереження параметрів орієнтовно-дослідницької діяльності щурів у тесті «відкрите поле» [14] і багатопараметрового методу оцінки тривожно-фобічних станів за загальноприйнятою методикою проводили протягом 3 хвилин [15].

Установка «відкрите поле» – це камера діаметром 120 см з металічними стінками 28 см заввишки, з білого пластику, дно якої розкреслено на 25 рівних квадратів зі стороною 20 см. Освітлення здійснювалось лампами (6 ламп по 60 Вт), на висоті 80 см від підлоги. Тварину поміщали в центральний квадрат і спостерігали за її поведінкою. Візуально підраховували кількість окремих поведінкових актів [16].

Усі процедури з тваринами виконували відповідно до міжнародних правил і норм (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86/609/EEC). Досліди проведені на лабораторних тваринах з експериментально-біологічної клініки ХНМУ з урахуванням норм зберігання, догляду і годування, затверджених у «Європейській Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) [17], і ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007) [18]. Досліди проводили в першій половині дня, що, за даними наукової літератури, узгоджується з залежністю основних фармакологічних параметрів і фармакологічної активності досліджуваних препаратів від циркадних ритмів [19].

Отриманий цифровий матеріал обробляли загальноприйнятими методами статистичного аналізу (середня, помилка середньої, критерій вірогідності Фішера-Стьюдента) на комп'ютері за допомогою програм MS Excel і StatGraphics Plus 2.1 [20,21].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Параметр орієнтовно-дослідницької діяльності щурів у тесті «відкрите поле» характеризується рядом величин: кількістю перетнутих квадратів (горизонтальна рухова активність (ГРА)), вертикальних стійок (вертикальна рухова активність (ВРА)), обстежених отворів, умивань (грумінг), уринацій і дефекацій за загальноприйнятою методикою [17,18].

*Вплив диклофенак-натрію, кофеїну при моноведенні та їх композиції на ГРА та ВРА щурів.* Аналіз орієнтовно-дослідницької поведінки щурів у тесті «відкрите поле» за показниками ГРА і ВРА розкриває мотиваційну складову характеристики тварин. При цьому вони намагаються

ввійти в непрямий контакт з предметами, розташованими на відстані: шури принохувалися до предметів, розташованих за межами «відкритого поля».

Моделювання формалінового набряку (група 2) сприяло статистично вірогідному зменшенню ГРА у двічі і ВРА у 4 рази у щурів відносно аналогічних показників контрольної групи (табл. 1).

Моноведення в умовах формалінового набряку диклофенак-натрію (група 3) сприяло статистично вірогідному збільшенню ГРА у 1,6 рази, ВРА – у двічі відносно до показників тварин групи 2, але отримані дані не досягли контрольних величин. При моноведенні кофеїну спостерігали збільшення ГРА у 1,5 рази, ВРА – у двічі відносно до показників групи 2, отримані дані також не досягли контрольних величин. При введенні композиції кофеїну з диклофенак-натрію (група 5) спостерігали статично вірогідне збільшення ГРА і ВРА у щурів як відносно групи 2, так і відносно груп 3, 4 і навіть контрольної (група 1) (табл. 1).

*Кількість обстежених отворів.* Різновидом орієнтовно-дослідницької поведінки щурів є кількість обстежених отворів – показник ніркового рефлексу, що свідчить про здатність тварини досліджувати «відкрите поле», зокрема, заглядати в отвори. Кількість обстежених отворів характеризує пізнавальну активність щурів. Моделювання формалінового набряку призводило до статистично вірогідного зменшення пізнавальної активності тварин у 14 разів відносно групи контролю (табл. 1).

При моноведенні диклофенак-натрію, кофеїну та їх композиції спостерігали статистично вірогідне збільшення пізнавальної активності щурів у 6–7 разів (групи 3–5) відносно групи 2. Однак отримані дані не досягали контрольних величин, хоча і збільшувались.

*Косметична поведінка щурів.* Грумінг (косметична поведінка) щурів є важливою характеристикою поведінки тварин у «відкритому полі». Традиційно шури більшу частину часу приділяють вичісуванню свого тіла, у порівнянні з переміщенням у просторі. Грумінг тісно корелює з руховою активністю.

Тому при дослідженні лікарських препаратів ця характеристика поведінки особливо цікава.

При моделюванні формалінового набряку спостерігали статистично вірогідне зменшення кількості умивань у 7 разів відносно до контролю. При введенні на фоні формалінового набряку диклофенак-натрію, кофеїну та їх композиції

Таблиця 1

Показники поведінкової активності щурів в умовах формалінового набряку за методом «відкрите поле» (n=6)

Групи тварин	Кількість перетинань	Кількість стійок	Кількість заглядань в отвори	Кількість умивань (грумінг)	Кількість уринацій	Кількість дефекацій
Контроль	93,00±0,37	17,50±0,99	7,00±0,77	24,50±0,43	1,67±0,21	6,00±0,73
Набряк формаліновий	41,50±0,50'	4,50±0,72'	0,50±0,32'	3,50±0,56'	0,33±0,37'	0,50±0,32'
Диклофенак-натрію	66,00±0,63 <sup>***</sup>	8,50±0,76 <sup>***</sup>	3,17±0,54 <sup>***</sup>	8,33±0,49 <sup>***</sup>	0,83±0,57 <sup>**</sup>	1,33±0,87'
Кофеїн	52,00±0,86 <sup>****</sup>	7,50±0,67 <sup>***</sup>	3,00±0,85 <sup>***</sup>	7,50±0,43 <sup>***</sup>	3,50±0,34 <sup>****</sup>	8,00±0,95 <sup>****</sup>
Диклофенак-натрію +кофеїн	123,00±0,93 <sup>****</sup>	13,00±0,73 <sup>****</sup>	3,33±0,67 <sup>***</sup>	10,50±0,62 <sup>****</sup>	1,17±0,49 <sup>****</sup>	3,17±0,31 <sup>****</sup>

*Примітки* (середнє ± помилка середнього): \* – вірогідність результатів відносно до контрольної групи, p<0,05; \*\* – до щурів з формаліновим набряком, p<0,05; \*\*\* – до щурів з моноведенням диклофенак-натрію, p<0,05; \*\*\*\* – до щурів з моноведенням кофеїну, p<0,05.



спостерігали статистично вірогідне збільшення грумінгу відносно групи 2 у двічі-тричі (групи 3–5) (табл. 1).

*Діурез, дефекація.* Необхідно зауважити, що в якості показника емоційного статусу шурів важливе значення має кількість уринацій і дефекацій. Рівень емоційного стану шурів оцінюється за кількістю уринацій і дефекацій (табл. 1).

Моделювання формалінового набряку (група 2) сприяло статистичному вірогідному зменшенню діурезу у 5 разів, дефекацій – у 12 разів відносно контрольної групи.

При моноведенні диклофенак-натрію не визначено статистично вірогідних змін у шурів (уринацій і дефекацій) відносно до групи 2.

Введення в умовах формалінового набряку кофеїну сприяло статистично вірогідному збільшенню досліджуваних показників відносно до тварин групи 2: кількість уринацій збільшилась в 11 разів, дефекацій – у 16, що статистично вірогідно відрізняється від всіх дослідних груп.

Введення композиції диклофенак-натрію з кофеїном сприяло нормалізації діурезу, що статично вірогідно не відрізнялось від контрольної групи, збільшенню дефекацій відносно до груп 2 і 3 і зменшенню відносно до 1 і 4 груп.

## ВИСНОВКИ

Досліджено вплив НПЗЗ похідного оцтової кислоти диклофенак-натрію, кофеїну та їх композиції на ЕПР шурів в умовах формалінового набряку.

Кофеїн потенціює дію диклофенак-натрію відносно ГРА, ВРА і грумінгу у шурів в умовах формалінового набряку.

Введення кофеїну диклофенак-натрію, та їх композиції підвищує пізнавальну активність шурів в умовах формалінового набряку, але додавання кофеїну до диклофенак-натрію не сприяє статистично вірогідному підвищенню пізнавальної активності шурів у дослідних умовах.

Введення композиції диклофенак-натрію з кофеїном нормалізує діурез і має тенденцію до нормалізації дефекацій у шурів в умовах формалінового набряку.

Фармакологічна комбінація диклофенак-натрію з кофеїном доцільна та перспективна щодо вивчення центрального компоненту протибольової дії.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Исмаилова Х.Ю.* Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы) / *Исмаилова Х.Ю., Агаев Т.М., Семенова Т.П.* – Баку: Нурлан, 2007. – 228 с.
2. Комбинированное применение индометацина и тиапризолина – возможность повышения хондробезопасности НПВС / *Е.А. Подплетняя, И.А. Мазур, Л.А. Каменская, Л.И. Кучеренко* // Фармакология – практическому здравоохранению: Мат. III съезда фармакологов России. – СПб, 2007. – Т. 7, ч. 2. – С. 1900.
3. Новая комбинация фармакологически активных веществ на гелевой основе для использования при инструментальных урологических вмешательствах / *Л.П. Ларионов, В.Д. Бурда, В.Н. Журавлев и др.* // Фармакология – практическому здравоохранению: Мат. III съезда фармакологов России. – СПб, 2007. – Т. 7, ч. 1. – С. 1762.
4. Фармакология церебропротекторов в виде фиксированных комбинаций / *В.И. Мамчур, В.И. Жилюк, С.Н. Дронов и др.* // Фармакология – практическому здравоохранению: мат. III съезда фармакологов России. – СПб, 2007. – Т. 7, ч. 2. – С. 1847.
5. Кофеїн: фізіологічні, біохімічні та квантово-фармакологічні властивості / *І. Чекман, Н. Горчакова, Т. Звягінцева, Г. Сирова, Н. Небесна* // Вісник фармакології та фармацевції. – 2009. – №6. – С. 2–7.
6. *Сирова Г.О.* Вивчення потенціюючих протибольових властивостей кофеїну в експерименті / *Г.О. Сирова, Т.В. Звягінцева* // XII конгрес Світової федерації українських лікарських товариств. – Івано-Франківськ, 2008. – С. 454.
7. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства / *М.Д. Машковский.* – М.: ООО «Новая Волна», 2007. – Т. 1. – С. 42–43, 120–121.
8. Caffeine as an 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.
9. *Goldstein J.* Caffeine and headache: Friendly fire or enemy fire? / *J. Goldstein* // *National Headache Foundation.* – 2007. – №189. – P. 2310.
10. *Сирова Г.О.* Експериментальне вивчення антиексудативної дії композицій диклофенаку натрію та ібупрофену з кофеїном / *Г.О. Сирова, С.Р. Грабовецька, Л.Г. Шаповал, С.П. Бойко* // Експериментальна і клінічна медицина. – 2011. – №2 (51). – С. 53–55.
11. Пат. № 59396, Україна МПК А61К31/00. Застосування композицій нестероїдних протизапальних засобів з кофеїном як препаратів з антиексудативною активністю / *Г.О. Сирова, С.Р. Грабовецька, Л.Г. Шаповал, Н.В. Вакуленко, С.П. Бойко*; заявник і патентовласник Харківський Національний медичний університет (Україна). – № 201013704; заявл. 18.11.2010.; опубл. 10.05.2011., бюл. №9.
12. Пат. № 56451, Україна А61К31/519. Спосіб підсилення анальгетичної дії периферичного генезу нестероїдних протизапальних і протиревматичних засобів, похідних оцтової та пропіонової кислот / *Г.О. Сирова, Р.О. Бачинський, В.М. Петюніна, О.В. Савельєва, С.П. Бойко*; заявник та патентовласник Харківський Національний медичний університет (Україна). – № 201009656; заявл. 02.08.2010.; опубл. 10.01.2011., бюл. № 1.
13. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. / За редакцією член-кор. АМП *О.В. Стефанова.* – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
14. *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.
15. *Родина В.И.* Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс / *В.И. Родина, Н.А. Крушина, Г.Н. Крыжановский, Н.Б. Окнина* // Высшая нервная деятельность. – 1993. – №43 (5). – С. 1006–1017.
16. *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.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – №123. – 51 p.
18. Сучасні проблеми біоетики / Відп. ред. *Ю.І. Кундієв.* – К.: «Академперіодика», 2009. – 278 с.
19. *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.
20. *Коросов А.В.* Компьютерная обработка биологических данных / *А.В. Коросов, В.В. Горбач.* – Петрозаводск: изд-во ПетрГУ, 2007. – 76 с.
21. *Плохинский Н.А.* Биометрия / *Н.А. Плохинский.* – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.

## Відомості про авторів:

Лук'янова Л.В., к. фарм. н., асистент каф. медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.

Сирова Г.О., к. фарм. н., доцент, зав. каф. медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.

Грабовецька С.Р., к. біол. н., доцент каф. медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.

Бачинський Р.О., асистент каф. медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.

Шаповал О.В., к. мед. н., ст. викладач каф. загальної та клінічної патології медичного факультету ХНУ ім. В.Н. Каразіна.

Поступила в редакцію 18.09.2012 г.