

УДК 615.214:159.944.4:577.112.6

<https://doi.org/10.24959/ubphj.19.210>

К. В. ЦЕМЕНКО, І. В. КІРЕЄВ, О. М. КОШОВИЙ

Національний фармацевтичний університет

ОЦІНКА ЕМОЦІЙНО-ПОВЕДІНКОВОЇ РЕАКТИВНОСТІ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСУ БРУСНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ В КОМБІНАЦІЇ З АРГІНІНОМ

Актуальність. Побічні ефекти після прийому лікарських засобів у вигляді стимулюючої дії на ЦНС або, навпаки, пригнічуючої дії на ЦНС зумовили необхідність вивчення оцінки емоційно-поведінкової реактивності у щурів після введення комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном.

Метою даної роботи було вивчення емоційно-поведінкової реактивності у щурів після введення комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стала модифікована фітосубстанція, яка представляє собою комплекс фенольних сполук листя брусниці звичайної з аргініном. Для вивчення емоційно-поведінкової реактивності були використані 2 тести – «Відкрите поле» (ВП) та «Піднятий хрестоподібний лабіринт» (ПХЛ). У тесті ВП досліджували орієнтовно-дослідницьку реакцію, рівень прихованого емоційного напруження, в тесті ПХЛ – рівень тривожності. Дослідження та аналіз експериментальних даних здійснювали в порівнянні з препаратом Седафітон (виробник Фітофарм, Україна) в дозі 0,25 мг/кг. Контрольна група отримувала тільки воду в дозі, аналогічній в групі, тварини якої отримували комплекс брусниці з аргініном у дозі 100 мг/кг. Впродовж 3-4 год перед введенням досліджуваної речовини або розчинника тварин утримували без їжі з вільним доступом до води. Після введення досліджуваної фітосубстанції через 30 хвилин починали дослідження.

Результати та їх обговорення. В тесті «Відкрите поле» орієнтовно-дослідницька діяльність у тварин в основній групі тварин, які отримували комплекс брусниці з аргініном, не відрізнялась у групі контролю, але у групі, де щури отримували препарат-референт, орієнтовно-дослідницька діяльність у тварин збільшувалась у декілька разів. У результаті нашого дослідження в тесті «Піднятий хрестоподібний лабіринт» було виявлено, що у тварин, яким вводили фітосубстанцію комплекс брусниці з аргініном, зберігалось почуття страху відкритого простору, тому латентний час виходу тварин у відкритий рукав ПХЛ не відрізняється від значень контрольної групи.

Висновки. В роботі проведено вивчення емоційно-поведінкової реактивності щурів у тестах «Відкрите поле» та «Піднятий хрестоподібний лабіринт» після внутрішньошлункового введення комплексу з листя брусниці звичайної в комбінації з аргініном у дозі 100 мг/кг. Встановлено, що амінокислоти в комплексі з фенольними сполуками листя брусниці звичайної не впливають на рівень тривоги та резистентності до стресу.

Ключові слова: *фітосубстанція; листя; брусниця звичайна; емоційно-поведінкова реактивність*

K. Tsemenko, I. Kireyev, O. Koshoviy

Evaluation of emotional-behavioral reactivity in rats after the introduction of cranberries common complex in combination with arginine

Topicality. Side effects after taking medicines in the form of stimulatory action on the central nervous system or, on the contrary, depressing action on the central nervous system led to the need to study the evaluation of emotional and behavioral reactivity in rats after the introduction of cranberries common complex in combination with arginine.

Aim. To study the emotional-behavioral reactivity in rats after the introduction of cranberries common complex in combination with arginine.

Materials and methods. The object of the study was a modified phytosubstance, which is a complex of phenolic compounds of *Vaccinium vitis-idaea* leaves in combination with arginine. To study emotional-behavioral reactivity, tests used: Open Field (OP) and Elevent Cross-like Labyrinth (PCL). In the OP test, an approximate research response, a level of latent emotional stress, and anxiety levels in the PCL test investigated. Analysis of experimental data performed in comparison with the preparation Sedafiton (producer Phytopharm, Ukraine) at a dose of 0.25 mg/kg. The control group received only water at a dose similar to that in the group receiving a complex of cranberries with arginine at a dose of 100 mg/kg. For 3-4 hours prior to the introduction of the test substance or solvent, the animals kept free of food with free access to water. After the introduction of the investigated phytosubstance, after 30 minutes, studies began.

Results and discussion. In the Open Field test, routine-research activity in animals in the main group receiving a complex *Vaccinium vitis-idaea* common with arginine did not differ in the control group, but in the group receiving the referral drug, the approximate research activity in animals increased several times. A result of our study in the "Lift Cross-Labyrinth" test, it found that in animals fed with a phytosubstance complex of cowberry and arginine, the fear of open space preserved, therefore the latent time of release of animals in the open sleeve of PCL does not differ from the values of the control group.

Conclusions. In the work, the study of the emotional-behavioral reactivity of rats in the tests "Open field" and "Crossed labyrinth raised" after the intragastric introduction of cranberries common leaves complex in combination with arginine in a dose of 100 mg/kg. It has been established that amino acids in combination with phenolic compounds leaves of cranberries commonly do not affect the level of anxiety and resistance to stress.

Key words: *phytosubstance; leaves; *Vaccinium vitis-idaea*; emotional-behavioral reactivity*

К. В. Цеменко, И. В. Киреев, О. Н. Кошевой

Оценка эмоционально-поведенческой реактивности у крыс после введения комплекса брусники обыкновенной в комбинации с аргинином

Актуальность. Побочные эффекты после приема лекарственных средств в виде стимулирующего действия на ЦНС или, наоборот, угнетающего действия на ЦНС обусловили необходимость изучения оценки эмоционально-поведенческой реактивности у крыс после введения комплекса брусники обыкновенной в комбинации с аргинином.

Целью данной работы было изучение эмоционально-поведенческой реактивности у крыс после введения комплекса брусники обыкновенной в комбинации с аргинином.

Материалы и методы. Объектом исследования стала модифицированная фитосубстанция, которая представляет собой комплекс фенольных соединений листьев брусники обыкновенной с аргинином. Для изучения эмоционально-поведенческой реактивности были использованы 2 теста – «Открытое поле» (ОП) и «Поднятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). В тесте ОП исследовали ориентировочно-исследовательскую реакцию, уровень скрытого эмоционального напряжения, в тесте ПКЛ – уровень тревожности. Исследования и анализ экспериментальных данных осуществляли по сравнению с препаратом Седафитон (производитель Фитофарм, Украина) в дозе 0,25 мг/кг. Контрольная группа получала только воду в дозе, аналогичной в группе, получавшей комплекс брусники с аргинином в дозе 100 мг/кг. В течение 3-4 ч перед введением исследуемого вещества или растворителя животных удерживали без пищи со свободным доступом к воде. После введения исследуемой фитосубстанции через 30 минут начинали исследования.

Результаты и их обсуждение. В тесте «Открытое поле» ориентировочно-исследовательская деятельность у животных в основной группе, получавшей комплекс брусники с аргинином, не отличалась в группе контроля, но в группе, получавшей препарат-референт, ориентировочно-исследовательская деятельность у животных увеличивалась в несколько раз. В результате нашего исследования в тесте «Поднятый крестообразный лабиринт» было выявлено, что у животных, которым вводили фитосубстанцию комплекс брусники с аргинином, сохранялось чувство страха открытого пространства, поэтому латентное время выхода животных в открытый рукав ПХЛ не отличается от значений контрольной группы.

Выводы. В работе проведено изучение эмоционально-поведенческой реактивности крыс в тестах «Открытое поле» и «Поднятый крестообразный лабиринт» после внутрижелудочного введения комплекса из листьев брусники обыкновенной в комбинации с аргинином в дозе 100 мг/кг. Установлено, что аминокислоты в комплексе с фенольными соединениями листья брусники обыкновенной не влияют на уровень тревоги и резистентности к стрессу.

Ключевые слова: фитосубстанция; листья; брусника обыкновенная; эмоционально-поведенческая реактивность

ВСТУП

Тривожно-депресивні розлади, будучи досить частими ускладненнями сучасної фармакотерапії, характеризуються трьома основними ознаками: порушенням настрою, зміною процесів мислення і руховими розладами, а також великою кількістю форм і варіантів. Епідеміологічні дані свідчать про клінічні неоднорідності депресивних станів [1, 2]. Для сучасної фармакології актуальною проблемою є пошук нових високоєфективних та безпечних лікарських засобів синтетичного походження, але й серед лікарської рослинної сировини. На сьогодні в клінічній практиці особливе місце посідають фітопрепарати, які чинять седативний ефект та надають загальну заспокійливу дію на центральну нервову систему. Седативний (заспокійливий) ефект проявляється в зниженні реакції на різні зовнішні подразники і зменшенні денної активності. Група рослинних седативних препаратів включає в себе велику кількість рослин різних родин, але над сучасними синтетичними седативними засобами вони мають істотні переваги: мають безрецептурний відпуск, досить добре переносяться організмом, не схильні викликати сонливість, загальмованість, звикання та інші побічні ефекти.

На кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом завідувача кафедри професора О. М. Кошового були одержані мо-

дифіковані галенові та новогаленові субстанції з листя брусниці звичайної. Найбільш ефективною фітосубстанцією згідно з попередніми дослідженнями виявилась субстанція, яка представляє собою комплекс фенольних сполук з аргініном, тому подальше вивчення специфічної активності сполуки-лідера є обґрунтованим.

Метою роботи стало вивчення емоційно-поведінкової реактивності у щурів після введення комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження стала модифікована фітосубстанція, яка представляє собою комплекс фенольних сполук з аргініном. Амінокислоти впливають на розчинність, біодоступність та загальний фармако-терапевтичний ефект екстрактів, тому до брусниці, екстрагованої 50 % спиртом, було додано аргінін у трикратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук та отримано комплекс фенольних сполук з аргініном.

У нашому дослідженні для вивчення емоційно-поведінкової реактивності були використані 2 тести – «Відкрите поле» (ВП) та «Піднятий хрестоподібний лабиринт» (ПХЛ). У тесті ВП досліджували орієнтовно-дослідницьку реакцію, рівень прихованого емоційного напруження, в тесті ПХЛ – рівень тривожності.

Методика «відкрите поле» (ВП) дозволяє досліджувати вроджені особливості орієнтовно-дослідницької поведінки і резистентності до стресу по Холу [2].

У ВП оцінювали: 1) орієнтовно-дослідницьку реакцію (ОДР) по числу пересічених квадратів по периметру, по числу заглядань у дірки, по числу вертикальних стійок (вертикальна рухова активність, ВРА); 2) емоційну реакцію – по числу пересічених квадратів у центрі поля, часу знаходження в центральних квадратах (Тц); про яскраве вираження пасивного страху судили за частотою грумінгу і кількістю болюсів.

За 90 хвилин до тестування тварин поміщали в тиху, слабо освітлену кімнату. Установка «ВП» являє собою квадратний майданчик розмірами 80 × 80 см, обмежений бортами висотою 60 см. Майданчик розділений розміткою на 25 рівних квадратів, на перетині яких 16 отворів $d = 3$ см, а також виділена центральна зона поля, освітленість майданчика – 90 Лк. При тестуванні тварину поміщали в центр поля. Реєстрували такі параметри: горизонтальна рухова активність (пересічені сегменти), вертикальна рухова активність (кількість стійок), обстежені нірки, число переходів через центр, латентний період виходу з центру, число актів короточасного грумінгу і фекальних болюсів. Час спостереження за твариною складав 3 хвилини.

Піднесений хрестоподібний лабіринт (ПКЛ) дозволяє оцінити ступінь тривожності, що виникає в результаті стресу, викликаного висотою і незвичністю ситуації – переміщенням на відкритий освітлений простір [3, 4].

Установка представляє собою 4 рукави, які перетинаються один з одним під прямим кутом: 2 відкритих (потенційно небезпечних) і 2 закритих (виступають у якості нори) рукави. Лабіринт розміщується на висоті 1 метра від підлоги. Щура поміщали мордою в бік центрального майданчика до відкритого рукава, після чого впродовж 5 хвилин фіксували час перебування в закритих і відкритих рукавах, кількість відвідувань закритого та відкритого рукавів, латентний період заходу в темний рукав. Час, проведений на відкритому просторі, визначають як суму часу перебування в відкритому рукаві та в центрі. Марке-

ром тривожності служить сумарний час, проведений на відкритому просторі, та кількість відвідувань відкритого рукава. Вибір закритого рукава обумовлений стресом, тоді як відкритий рукав вибирається при низькій тривожності тварини.

Дослідження проводилось на 36 безпородних лабораторних щурах масою 180-220 г, яких утримували у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету в стандартних умовах [4]. Тварини утримувались у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ в стандартних умовах за температури повітря 22-24 °С та відносної вологості 50-70 % з вільним доступом до їжі та води. Всі дослідження проводили із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 року, Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин [5, 6]. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав 7 діб. Тварини були розділені на 3 групи по 6 щурів у кожній. Дослідження та аналіз експериментальних даних здійснювали в порівнянні з препаратом Седафітон (виробник Фітофарм, Україна) в дозі 0,25 мг/кг. Контрольна група отримувала тільки воду в дозі, аналогічній у групі, тварини якої отримували комплекс брусниці з аргініном у дозі 100 мг/кг. Впродовж 3-4 год перед введенням досліджуваної речовини або розчинника тварин утримували без їжі з вільним доступом до води. Після введення досліджуваної фітосубстанції через 30 хвилин починали дослідження.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням параметричного t-критерію Стьюдента. Достовірною вважали різницю показників при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані в ході дослідження результати вивчення емоційно-поведінкової реактивності після введення комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном у тесті «Відкрите поле» представлені в табл. 1.

З представлених у табл. 1 даних видно, що орієнтовно-дослідницька діяльність у тварин в основній

Таблиця 1

ЕМОЦІЙНО-ПОВЕДІНКОВА РЕАКТИВНІСТЬ У ТЕСТІ «ВІДКРИТЕ ПОЛЕ»

Показник	Комплекс брусниці з аргініном	Седафітон	Контроль
ГРА кількість перетнутих квадратів	3,50 ± 1,05	16,33 ± 1,03*	3,67 ± 1,21
ВРА Кількість вертикальних стійок, шт.	2,83 ± 0,75*	6,17 ± 0,75*	2 ± 0,63
Час грумінгу, с	9,17 ± 1,17*	13,67 ± 1,51*	8,33 ± 1,21
Т в центрі, с	5,33 ± 1,21	10 ± 1,41*	5,50 ± 1,38
Кількість дефекацій, шт.	1,67 ± 0,52	0,33 ± 0,52*	1,67 ± 0,52
Кількість уринацій, шт.	2 ± 0,63*	0,33 ± 0,52*	2,33 ± 0,52
Кількість заходів у нірки, шт.	4,17 ± 0,98*	2,33 ± 0,52*	3,83 ± 0,75

Примітка: 1 ГРА – число пересічених горизонтальних квадратів; 2 – ВРА – число вертикальних стійок; 3 – Т в центрі; с – час знаходження тварин у центральній частині відкритого простору, *, * – $p \leq 0,05$ по відношенню до контрольних тварин.

Таблиця 2

ЕМОЦІЙНО-ПОВЕДІНКОВА РЕАКТИВНІСТЬ У ТЕСТІ «ПІДНЯТИЙ ХРЕСТОПОДІБНИЙ ЛАБІРИНТ»

Фітосубстанція	Час в закритому рукаві, с	Час, проведений на відкритому просторі, с	Кількість відвідувань закритого рукава	Кількість відвідувань відкритого рукава
Комплекс брусниці з аргініном	256,20 ± 2,76*	43,80 ± 2,76*	4,60 ± 0,55*	1,40 ± 0,55*
Седафітон	43,17 ± 2,22*	256,88 ± 3,17*	1 ± 0,02*	5,33 ± 0,52*
Контроль	266,88 ± 1,81	32,79 ± 1,81	4,17 ± 1,17	1 ± 0,02

Примітка: * - $p \leq 0,05$ по відношенню до контрольних тварин.

групі, тварини якої отримували комплекс брусниці з аргініном, не відрізнялась у групі контролю, але у групі, де щури отримували препарат-референт, орієнтовно-дослідницька діяльність у тварин збільшувалась у декілька разів. Так, збільшення рухової активності було дуже значимим – кількість пересічених горизонтальних квадратів і стійок була в 4 рази більше, ніж в основній групі. Група щурів, які отримували препарат Седафітон, показала виражену стійкість нервової системи, помірний рівень емоційної і вегетативної поведінки. Емоційна реакція (дефекація та уринація) в основній групі була в 2 рази сильнішою, ніж у групі, яка отримувала препарат-референт (табл. 2).

У результаті нашого дослідження в тесті «Піднятий хрестоподібний лабіринт» було виявлено, що у тварин, яким вводили фітосубстанцію комплекс брусниці з аргініном, зберігалось почуття страху відкритого простору, тому латентний час виходу тварин у відкритий рукав ПХЛ не відрізняється від значень контрольної групи.

Також було вивчено загальну кількість виходів тварин у світлий рукав ПКЛ. Одним з найбільш значущих критеріїв оцінки при вивченні анксиолітичної активності в установці ПХЛ є час знаходження тварин у відкритому рукаві, що вказує на наявність або відсутність природних фобій відкритих і освітлених просторів у лабораторних тварин.

Так, при введенні тваринам фітосубстанції брусниці з аргініном показник часу перебування у відкритому

рукаві достовірно не відрізнявся від показників контрольних тварин. У групі тварин, яким вводили препарат порівняння Седафітон, прояв тривожності знижувався приблизно в 5 разів. Показники кількості відвідувань закритого та відкритого рукавів теж мали суттєві відмінності та відрізнялися в бік збільшення кількості відвідувань відкритого рукава. Тобто група щурів, які отримували рослинний седативний препарат Седафітон, показує виражену стійкість нервової системи, помірний рівень вегетативної та емоційної поведінки в тесті «ВП» і низький рівень тривожності в незнайомій ситуації в тесті «ПХЛ».

ВИСНОВКИ

1. У роботі проведено вивчення емоційно-поведінкової реактивності щурів у тестах «Відкрите поле» та «Піднятий хрестоподібний лабіринт» після внутрішньошлункового введення комплексу з листя брусниці звичайної в комбінації з аргініном.
2. Встановлено, що амінокислоти в комплексі з фенольними сполуками листя брусниці звичайної не впливають на рівень тривожності та резистентності до стресу.
3. Фітосубстанція, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук з аргініном, рекомендується для проведення подальших поглиблених досліджень з вивчення специфічної активності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Маляров, С. А. Пациент с депрессией и симптомами тревоги: вопросы дифференциальной диагностики и терапии / С. А. Маляров // Нейронews. – 2010. – Available at : <https://neuronews.com.ua/ru/issue-article-278/Patient-s-depressiey-i-simptomami-trevogi-voprosy-differencialnoy-diagnostiki-i-terapii#gsc.tab=0>
2. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat / S. Pellow, P. Chopin, S. E. File, M. Briley // J. Neurosci. Methods. – 1985. – Vol. 14 (3). – P. 149-167.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Фролова, Г. А. Оценка изменения уровня тревожности у крыс в условиях снижения содержания серотонина в головном мозге / Г. А. Фролова // Світ медицини та біол. – 2009. – № 1. – С. 92-96.
5. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей [Електронний ресурс]. – 1986. – Режим доступу до ресурсу : http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/994_137.
6. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ / Т. А. Воронина, С. Б. Середенин // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.

REFERENCES

1. Maliarov, S. A. (2010). *Neuronews*. Available at: <https://neuronews.com.ua/ru/issue-article-278/Pacient-s-depressiy-i-simptomami-trevogivoprosy-differencialnoy-diagnostiki-i-terapii#gsc.tab=0>
2. Pellow S., Chopin P., File S. E., Briley M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*, 14 (3), 149–167.
3. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv: Metod. rekomendatsii*. Kyiv: Avitsena, 528.
4. Frolova, G. A. (2009). *Svit medytsyny ta biolohii*, 1, 92–96.
5. *European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. (1986). Council of Europe, Strasbourg. Available at: http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/994_137
6. Voronina, T. A., Seredinin, S. B. (2005). (2005). *Metodicheskie ukazaniia po izucheniiu trunkviliziruiushchego (anksioliticheskogo) deistviia farmakologicheskikh veshchestv*. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniiu novikh farmakologicheskikh veshchestv. Moscow: Meditsina, 832.

Відомості про авторів:

Цеменко К. В., асистент кафедри фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет. E-mail: k-cemenko@ukr.net

Кіреєв І. В., д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: ivkireev@ukr.net

Кошовий О. М., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: oleh.koshovyi@gmail.com

Information about authors:

Tsemenko K., assistant of the Department of Pharmacotherapy, National University of Pharmacy. E-mail: k-cemenko@ukr.net

Kireyev I., Doctor of Medical Sciences, Professor, head of the Department of Pharmacotherapy, National University of Pharmacy.

E-mail: ivkireev@ukr.net

Koshoviy O., Doctor of Pharmacy (Dr. habil), Professor, head of the Department of Pharmacognosy, National University of Pharmacy.

E-mail: oleh.koshovyi@gmail.com

Сведения об авторах:

Цеменко К. В., ассистент кафедры фармакотерапии, Национальный фармацевтический университет. E-mail: k-cemenko@ukr.net

Киреев И. В., д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакотерапии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: ivkireev@ukr.net

Кошевой О. Н., д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: oleh.koshovyi@gmail.com

Надійшла до редакції 08.02.2019 р.