

**ВПЛИВ РІЗНОМЕТАЛІЧНОГО КОМПЛЕКСУ
[Cu(DMEN)₂][Fe(CN)₅(NO)]
(DMEN N,N'-ДИМЕТИЛЕТИЛЕНДІАМІН)
НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ**

**Н.О. Карпезо, І.В. Белінська, В.М. Кокозей, О.В. Врещ,
О.В. Линчак, О.М. Гурняк, В.К. Рыбальченко**
Київський Національний університет імені Тараса Шевченка

Вступ

Різнometалічні комплекси, тобто сполуки, які містять кілька різних атомів металів в одній молекулі, можуть проявляти високу біологічну активність. Так, комплекси міді та кобальту з діетаноламіном впливають на штучні ліпідні мембрани [6], на екто-АТФазну та Mg²⁺, Ca²⁺-АТФазні активності плазматичних мембран гепатоцитів щурів [7], на жовчосекреторну функцію печінки [5]. Виявлено антимікробну [9] та протипухлинну активності комплексів міді з кадмієм або цинком [3]. Останні мають невисоку загальну токсичність [1].

Комплекс [Cu(dmen)₂][Fe(CN)₅(NO)] (dmen N,N'-диметилетилендіамін, код KL447), синтезований на хімічному факультеті Київського Національного університету імені Тараса Шевченка, містить одночасно мідь та залізо, що дозволяє вважати ймовірним його вплив на кровотворну систему. Біологічні властивості цього комплексу не досліджені. Не відомий і механізм його токсичної дії, зокрема, на вищу нервову діяльність. Інтегральним показником фізіологічного стану організму [4] та токсичного впливу на нервову систему хімічних сполук [8] є поведінкові реакції.

Метою роботи було вивчення впливу комплексу KL447 на поведінкові реакції щурів при субхронічному пероральному введенні його в організм.

Матеріали та методи досліджень

Досліди проведено на самках щурів з початковою масою 160-190 г. Щурів утримували при стандартному світловому

дні на нормальному харчовому раціоні. KL447, розведений у дистильованій воді, вводили інтрагастрально за допомогою зонду щоденно вранці до годування тварин у дозах 2,5 мг/кг, 25 мг/кг та 100 мг/кг протягом місяця. Контрольні тварини у вищезазначений спосіб отримували дистильовану воду.

Для вивчення впливу KL447 на поведінкові реакції щурів було використано тест "Відкрите поле", запропонований Холлом [11]. Для цього тварин поміщають у велику квадратну камеру розміром 900x900 см з пластмасовими чорними стінками висотою 500 см. Підлогою є лист чорного пластику, поділений на 36 квадратів (15 x15 см). Виділяють периферичні, або зовнішні, квадрати (ті, що розміщені вздовж стінок,) та центральні, або внутрішні, (ті, що не торкаються стінок). Освітлення камери - яскраве рівномірне.

Методика тестування полягає в тому, що щура висаджують у центр установки і спостерігають за його поведінкою протягом 3 хвилин. При дослідженні поведінкових реакцій реєструють такі показники: кількість центральних та периферичних квадратів (окремо), які були перетнуті твариною - горизонтальна рухова активність або локомоція; піднімання на задні лапки (стійки) - вертикальна рухова активність, дослідницька активність; фрізінг (завмирання на дію неспецифічного подразника); грумінг - емоційна активність; дефекація (болоси); уринація. Тест "Відкрите поле" доцільно використовувати для дослідження поведінкових реакцій тварин у нормі та у відповідь на дію різних чинників, зокрема для тестування фармакологічних препаратів, що можуть мати вплив на центральну нервову систему [2].

Статистична обробка результатів була проведена за критерієм Ст'юдента. Для відповідних розрахунків використовували стандартний пакет програм статистичного аналізу Microsoft Excel 97. Достовірною вважалась різниця, якщо значення $p \leq 0,05$.

Отримані результати та їх обговорення

Поміщення тварини в нове оточення веде до виникнення дослідницької поведінки, якій водночас перешкоджає страх. Класична поведінка тварин на початку перебування у камері полягає у тому, що щурі активно обходять периферичні квадрати, піднімаються на задні лапки, відбуваються акти уринації і дефекації.

Після місяця впливу KL447 у поведінці щурів відбуваються помітні зміни. Перш за все зростає горизонтальна рухова активність тварин, тобто щурі перетинають істотно більшу кількість квадратів (табл.1). Максимальну кількість як внутрішніх, так і зовнішніх квадратів щури відвідують після впливу KL447 у найменшій дозі. Так, кількість перетнутих тваринами внутрішніх квадратів зростає у 6,8 разів, а зовнішніх - у 3,7 рази. Препарат у середній та найбільшій дозах викликає збільшення кількості перетнутих квадратів, відповідно, внутрішніх - у 2,5 та 3,2 рази, а зовнішніх - у 2,5 та 2,5 разів. Це свідчить про зростання зацікавленості та зниження фактора боязні тваринами відкритого простору.

Під впливом KL447 у всіх використаних дозах зростає також вертикальна рухова активність щурів, про що свідчить вірогідне збільшення кількості внутрішніх стійок, знову ж таки найбільше при дії KL447 у найменшій дозі (табл. 1).

Активізацію дослідницьких реакцій у тварин, особливо дослідження внутрішніх квадратів, вважають вираженням зменшення у них відчуття страху [12].

Таблиця 1

Показники рухової поведінки щурів після впливу KL447 (M±m)

| Серія досліджу | Кількість перетнутих квадратів | | Стійки | |
|----------------|--------------------------------|------------|-----------|----------|
| | Внутрішні | Зовнішні | Внутрішні | Зовнішні |
| Контроль | 3,3±2,26 | 24,4±6,06 | 0,4±0,33 | 4,0±1,25 |
| 2,5 мг/кг | 22,6±2,89* | 90,6±4,81* | 3,2±0,18* | 7,2±0,97 |
| 25 мг/кг | 8,2±1,35* | 59,8±5,61* | 2,0±0,49* | 4,8±0,82 |
| 100 мг/кг | 10,7±2,64* | 57,8±4,97* | 2,0±0,45* | 4,7±1,58 |

Примітка: - * позначена вірогідна різниця між дослідом і контролем при $P < 0,05$

Щури реагують завмиранням на нові потенційно небезпечні стимули або умови утримання, тому нерухомість розглядають як симптом страху. Під впливом KL447 тривалість фрізінгів зменшується дозозалежно і стає вірогідно меншою при дії найбільшої дози препарату (табл. 2).

Таблиця 2

Зміна поведінкових реакцій самок щурів після впливу KL447 (M±m)

| Серія досліджу | Грумінг (сек.) | Фрізінг (сек.) | Уринація | Дефекація |
|----------------|----------------|----------------|-----------|-----------|
| Контроль | 48,6±6,56 | 9,4±3,24 | 10,8±2,78 | 1,4±0,66 |
| 2,5 мг/кг | 31,6±2,16 | 3,8±1,45 | 8,0±2,23 | 1,8±0,73 |
| 25 мг/кг | 24,5±1,56* | 5,3±1,62 | 7,7±0,66 | 2,2±0,79 |
| 100 мг/кг | 27,2±2,86* | 3,5±0,99* | 10,5±1,22 | 1,0±0,61 |

Примітка: - * позначена вірогідна різниця між дослідом і контролем при $P < 0,05$

Грумінг є специфічною загально визнаною адаптивною реакцією на стрес і в цілому ряді тестів число і тривалість актів грумінгу зростає на фоні зниження рухової активності тварин [10]. У щурів існує певна сукупність поведінкових потернів при грумінгу, яка починається з лизання передніх кінцівок і потирання носа, а потім - умивання усієї мордочки (спочатку серією коротких та швидких горизонтальних рухів з наступним збільшенням розмаху), що переходить в умивання голови, потім - усього тулуба та задніх кінцівок, а на останній стадії - геніталій. Увесь цей комплекс маніпуляцій можна спостерігати при комфортному стані тварин, які перебувають у звичному для них середовищі. Важливим показником є не тільки тривалість грумінгу, а й збереження послідовності стадій умивання.

При дії KL447 зменшується тривалість грумінгу (вірогідно при дії середньої і максимальної доз) (табл. 2). Зменшення тривалості умивань без порушення їх послідовності, як і зменшення тривалості фрізінгів, є ознакою зниження тривожності, спокійного емоційного стану тварин.

Проявами порушення емоційного стану тварин є зміни вегетативних функцій. Такими функціями, які зручно вимірювати, є уринація і дефекація. Їх прийнято вважати формами так званої "неспецифічної поведінки", реєстрація якої, поряд з іншими показниками, може бути досить інформативною. KL447 у всіх використаних дозах не викликає вірогідних змін досліджуваних вегетативних функцій (табл. 2).

KL447 призводить до зниження відчуття страху, проте не можна вважати його анксиолітичним препаратом, оскільки од-

ночасно із заспокійливим впливом, він сприяє підвищенню рухової активності щурів. У цьому полягає особливість впливу даного комплексу на вищу нервову діяльність щурів.

Результати дослідження стану ЦНС за тестом "відкрите поле" свідчать, що при дії KL447 зростає рухова та орієнтовно-дослідницька активність щурів. Одночасно досліджуваній комплекс сприяє зниженню тривожності. Таким чином за тестом "відкрите поле" не виявлено токсичного впливу досліджуваного гетерополіядерного комплексу на ЦНС щурів.

Висновки

1. Під впливом KL447 відбуваються певні зміни у поведінкових реакціях щурів.

2. KL447 викликає активацію дослідницької поведінки у щурів. Зростає горизонтальна та вертикальна рухова активність тварин.

3. Після впливу KL447 тварини перебувають у спокійному емоційному стані, про що свідчить скорочення тривалості грумінгу та кількості фрізінгів, а також відсутність змін вегетативних функцій.

Література

1. Белінська І. Параметри гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном при одноразовому введенні *per os* / І.Белінська, Т.Рибальченко, В.Козей, О.Нестерова // Вісник Київського національного університету. Біологія. - 2008. - Вип. 52-53. - С. 70-71.

2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я.Буреш, О.Бурешова, Д.П.Хьюстон - М.: Медицина 1991. - 399 с.

3. Дослідження протипухлинної активності *in vitro* гетеробіметалічних комплексів міді з цинком або кадмієм / Л.В.Гарманчук, Н.В.Яворська, О.М.Перепелиціна [та ін.] // IV Міжнародна наукова конференція "Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і паталогії" присвячена 90-річчю від дня народження П.Г.Богача. - Київ - 2008. - Тези доповідей. - С. 59.

4. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. - Киев, 1980. - 47 с.

5. Біохімічні параметри жовчосекреторної функції печінки за умов дії гетерополіядерних сполук міді (II) і кобальту (III) з диетаноламіном / Т.Б.Синельник, Т.В.Рибальченко, О.М.Філінська [та ін.] // IX З'їзд Укр. біохім. то-ва, 24-27 жовтня 2006 р. -Харків, 2006. - С. 223.

6. Вплив гетерополіядерних сполук міді (II) та кобальту (III) з диетаноламіном на штучні ліпідні мембрани / О.М.Філінська, А.В.Бичко, Т.В.Рибальченко [та ін.] // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. праць. - 2004. - Вип. 10 (63). - С.35-41.

7. Екто-АТФазна та Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФазна активності плазматичних мембран гепатоцитів щурів за умов дії гетерополіядерних $Cu(II)/Co(III)$ комплексів з диетаноламіном / О.М.Філінська, Т.В.Рибальченко, Г.В.Островська [та ін.] // Доповіді НАН України. - 2006. - № 3. - С. 173-175.

8. К использованию показателей поведенческих реакций в токсикологическом эксперименте / А.Д.Фролова, Э.А.Дворкин, М.Б.Лисман [и др.] // Гигиена и санитар. - 1980. - № 8. - С. 53-57.

9. Яворська Н. Антимікробні властивості новосинтезованих гетеробіметалевих Cu/M ($M=Zn, Cd$) комплексів з етилендіаміном / Н.Яворська, Т.Фурзікова, О.Нестерова, В.Позур // Вісн. КНУ ім. Т. Шевченка, серія Біологія. - 2006. - №47-48. - С.45-47.

10. Celis E.M. Measurement of grooming behaviour / E.M.Celis, E.Torre // Methods in Neurosciences (V.14, Paradigms for the Study of Behavior) / Eds. Conn P.M., 1995. - P. 377-378.

11. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. The relationship between emotionality and ambulatory activity / C.S.Hall // J. Comp. Physiol. Psychol. - 1936. - Vol. 122 - P 345-352.

12. Santasana M.P. Effect of the lesion of the mamillary bodies on the performance in the open field / M.P.Santasana, R.Alvares Pelaez, P.Tejedor // Physiol. Behav. - 1972. - Vol. 9. - P. 501-504.

Резюме

Карпезо Н.О., Белінська І.В., Козозей В.М., Врещ О.В., Линчак О.В., Гурняк О.М., Рибальченко В.К.

Вплив різнометалічного комплексу $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-диметилетилендіамін) на поведінкові реакції щурів.

Досліджено вплив різнометалічного комплексу $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-диметилетилендіамін, код KL447), на поведінкові реакції щурів при субхронічному пероральному введенні його в організм. Встановлено, що KL447 стимулює дослідницьку поведінку у щурів, ознакою чого є зростання горизонтальної та вертикальної рухової активності тварин. Показано, що після впливу KL447 тварини перебувають у спокійному емоційному стані, про що свідчать скорочення тривалості грумінгу та кількості фрізінгів, а також відсутність змін вегетативних функцій.

Ключові слова: різнометалічний комплекс Cu/Fe, нервова система.

Резюме

Карпезо Н.А., Белинская И.В., Козозей В.Н., Врещ О.В., Линчак О.В., Гурняк О.Н., Рибальченко В.К. *Влияние разнометаллического комплекса $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-диметилэтилендиамин) на поведенческие реакции крыс.*

Исследовано влияние разнометаллического комплекса $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-диметилэтилендиамин) на поведенческие реакции крыс при субхроническом пероральном введении его в организм. Установлено, что KL447 стимулирует исследовательское поведение у крыс, показателем чего является возрастание горизонтальной и вертикальной двигательной активности животных. Показано, что после влияния KL447 животные пребывают в спокойном эмоциональном состоянии, о чем свидетельствуют сокращение продолжительности груминга и количества фризингов, а также отсутствие изменений вегетативных функций.

Исследовано влияние разнометаллического комплекса $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-диметилэтилендиамин) на поведенческие реакции крыс при субхроническом пероральном введении его в организм. Установлено, что KL447 стимулирует исследовательское поведение у крыс, показателем чего является возрастание горизонтальной и вертикальной двигательной активности животных. Показано, что после влияния KL447 животные пребывают в спокойном эмоциональном состоянии, о чем свидетельствуют сокращение продолжительности груминга и количества фризингов, а также отсутствие изменений вегетативных функций.

Ключевые слова: разнометаллический комплекс Cu/Fe, нервная система.

Summary

Карпезо Н.О., Byelinska I.V., Kozozay V.M., Vreshch O.V., Lynchak O.V., Gurniak O.M., Rybalchenko V.K. *The mixed-metal complex $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-dimetiletetilendiamin) influence on the rat behavior reactions of rats.*

There were investigated the mixed-metal complex $[Cu(dmen)_2][Fe(CN)_5(NO)]$ ($dmen$ N,N'-dimetiletetilendiamin, code KL447), influence on the rat behavior after subchronic peroral introduction during a month. It was established, that KL447 stimulated the exploratory behavior of the rats. Signs of this are the increasing of the horizontal and vertical moving activities. It was shown, that KL447 lead to quiet emotional state of the rats. The grooming and freezing shortening and the absence of the visceral function changes indicate that.

Key words: mixed-metal complex Cu/Fe, nervous system.

Рецензент: д.біол.н., проф. Б.П. Романюк

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

УДК 581.8:582.734.4

АНАТОМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ *Geum urbanum* L.

С.А. Козира, Л.М. Сіра, А.Г. Сербін, М.А. Кулагіна
Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Незважаючи на достатню кількість сучасних високоефективних лікарських засобів синтетичного походження, не змінюється інтерес до рослинних препаратів. Рослинні лікарські засоби займають значну питому вагу в загальному об'ємі лікарських препаратів сучасної медицини.

Природна сировина залишається одним з основних джерел отримання лікарських препаратів, які широко використовуються в медичній практиці, а при лікуванні ряду захворювань є незамінними. Вони часто менш токсичні і мають більш сприятливу фармакологічну дію на організм [11]. Тому дослідження вітчизняної флори, а саме, ідентифікація лікарської рослинної сировини має велике теоретичне і практичне значення.

Необхідність комплексного використання рослин і наявність достатньої сировинної бази пояснює інтерес до вивчення такого представника флори України, як *Geum urbanum* (гравілат міський). *Geum urbanum* відноситься до родини Rosaceae підродини Rosoideae, зростає по всій території України на засмічених місцях, у світлих лісах, по чагарниках [9].

Наявність в траві *G. urbanum* різних груп біологічно активних речовин, а саме: поліфенольних сполук [1, 13], полісахаридів [6], амінокислот і жирних кислот [4], мікроелементів та вітамінів [3] передбачає його різнопланову фармакологічну дію. Фітозасоби з трави цієї рослини використовують в народній медицині при проносах, дизентерії, гарячці, як заспокійливий засіб [7, 8], при пухлинах обличчя [14]. До лікувально-профілактичного раціону корисно включати салати з молодого листя [2].

Раніше було встановлено морфологічні ознаки вегетативних органів *G. urbanum* [5]. Виходячи з широкого спектра

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики