

ИТОГОВЫЙ ОТЧЕТ
о проделанной работе обладателей грантов
Государственного Совета Республики Крым молодым ученым
Республики Крым имени Н. Я. Данилевского

«ВАЗО- И СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ КООРДИНАЦИОННЫХ
СОЕДИНЕНИЙ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ
С ЦИНКОМ И МАГНИЕМ»

Номинация «Естественные науки»

Миронюк Ирина Сергеевна

кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и
животных и биофизики

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского
Институт биохимических технологий, экологии и фармации

1. Краткое описание научного проекта, победившего в конкурсе на назначение грантов Государственного Совета Республики Крым молодым ученым Республики Крым имени Н. Я. Данилевского.

Актуальным направлением научных исследований является создание на основе ацетилсалициловой кислоты (АСК) комплексных соединений, например, с одно- и двухвалентными металлами для получения эффективных лекарственных препаратов нового поколения, что требует дополнительных исследований их свойств. Уменьшить побочные эффекты салицилатов и снизить их токсичность возможно применением координационных соединений, в которых кроме лиганда (химического соединения, образующего комплекс с той или иной биомолекулой), обладающего биоактивными свойствами, присутствует переходный металл-микроэлемент, способный снизить раздражающее действие кислоты. Именно такой синтетический подход к созданию соединений АСК с металлами выбран на кафедре общей химии Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

На кафедре физиологии человека и животных и биофизики Института биохимических технологий, экологии и фармации в период с 2021 по 2023 г.г. проведены комплексные исследования биологической активности новосинтезированных координационных соединений АСК с металлами кобальта, цинка, никеля, марганца, лития, калия, кальция и магния и выявлены вазо- и кардиотропные эффекты, зависящие от входящего в комплексное соединение с АСК металла, дозы и продолжительности введения тестируемых соединений на здоровых крысах самцах линии Wistar [Чуян Е.Н. и др., 2020, 2021, 2023].

Сведения о биоактивности координационных соединений АСК с металлами позволили определить решающий набор признаков, необходимых для целенаправленного синтеза соединений, а также определены наиболее перспективные координационные соединения АСК (салицилат цинка и магния). Поскольку в клинической практике АСК и ее соединения применяются для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, то целесообразно оценку вазотропных эффектов тестируемых салицилатов цинка и магния провести не только *на интактных животных*, но и у крыс, *находящихся в условиях хронического гипокинетического стресса (гипокинезия (ГК)) и острого стресса (ОС)*, которые вызывают выраженные нарушения со стороны ССС в целом и ее микроциркуляторного звена.

Таким образом, полученные нами ранее данные открывают перспективы дальнейшего исследования вазо- и стресс-протекторных эффектов координационных соединений АСК с цинком и магнием, а в будущем – создания на их основе высокоэффективных лекарственных препаратов для комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

2. Заявленные цели и задачи научного проекта, предлагаемые методы, подходы, идеи, рабочие гипотезы, которые предлагались для решения задач научного проекта.

Цель исследования: выявление вазо- и стресс-протекторных эффектов новосинтезированных координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием.

Задачи исследования:

1. Выявить динамику изменений показателей кожной микроциркуляции, артериального давления, частоты сердечных сокращений под влиянием многократного введения координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в дозе 10 мг/кг у крыс, находящихся в условиях комбинированного действия хронического и острого стресса.

2. Выявить изменения поведенческих реакций животных в тесте «открытое поле» под влиянием многократного введения координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в дозе 10 мг/кг у крыс в условиях комбинированного действия хронического и острого стресса.

3. Оценить влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием на гистологические показатели слизистой оболочки желудка экспериментальных животных в условиях стресса.

4. Провести сравнительный анализ выраженности вазо- и стресс-протекторных эффектов координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в условиях стресса.

Исследование будет проведено на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» и кафедры физиологии человека и животных и биофизики Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Экспериментальные исследования будут проводиться на крысах-самцах линии Wistar массой 180 – 200 грамм («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»), животные будут содержаться в стандартных условиях вивария (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур») с естественным 12-часовым свето-темновым циклом (яркость освещения не более 250 люкс) при температуре 18–22°C на гранулированном подстиле на основе початков кукурузы со свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму, соответствующему требованиям ГОСТ Р-50258-92. Помещение для содержания животных оснащено приточно-вытяжной вентиляцией.

Содержание и проводимые с животными манипуляции будут соответствовать общепринятым нормам экспериментальной этики в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и правилами Директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

План исследования составлен таким образом, чтобы там, где это возможно, избегать экспериментов на животных, сократить их количество и ограничить вред, причиняемый животным во время экспериментов до минимума, а для эксперимента будут отобраны только самцы со средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью, у которых, как показали наши и другие исследования, развивается типичная реакция на действие факторов разной природы, в том числе химические агенты, что позволяет минимизировать количество животных в экспериментальной группе. В работе будет использован комплекс методов: электрофизиологические (лазерная доплеровская флоуметрия, осциллометрия), поведенческие (тест «Открытое поле», тест «Порсолта») гистологические и статистические.

3. Все запланированные научные результаты достигнуты: "Да".

4. Сведения о фактически проделанной работе, полученные результаты (дать описание методов проведения исследований, кратко изложить основные результаты, полученные в ходе проведения исследований, выводы и заключение по результатам исследований; привести научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы).

Структура и объем отчета. Отчет включает обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Работа изложена на 87 страницах, содержит 35 рисунков и 15 таблиц. Список литературы содержит 71 источник.

РАЗДЕЛ I

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

1.1 Биологические эффекты ацетилсалициловой кислоты

Широкий спектр действия ацетилсалициловой кислоты (АСК) как противовоспалительного, жаропонижающего и обезболивающего вещества объясняется тем, что одним из основных механизмов действия АСК является угнетение синтеза простаноидов (простациклинов, простагландинов и тромбоксанов – метаболитов арахидоновой кислоты), что вызывает целый ряд биологических реакций в организме [Gasowska-Bajger et al., 2023].

В настоящее время ни у кого не вызывает сомнения, что все известные механизмы действия АСК делятся на две категории: связанные и не связанные с функционированием циклооксигеназ (ЦОГ) [Fijałkowski et al., 2022].

ЦОГ представляют собой гомодимерные ферменты, катализирующие превращение арахидоновой кислоты в циклические простагландины (PG) G₂ и H₂, которые в дальнейшем превращаются в PGE₂, PGD₂, PGI₂ и тромбоксаны посредством соответствующих синтаз (рисунок 1.1).

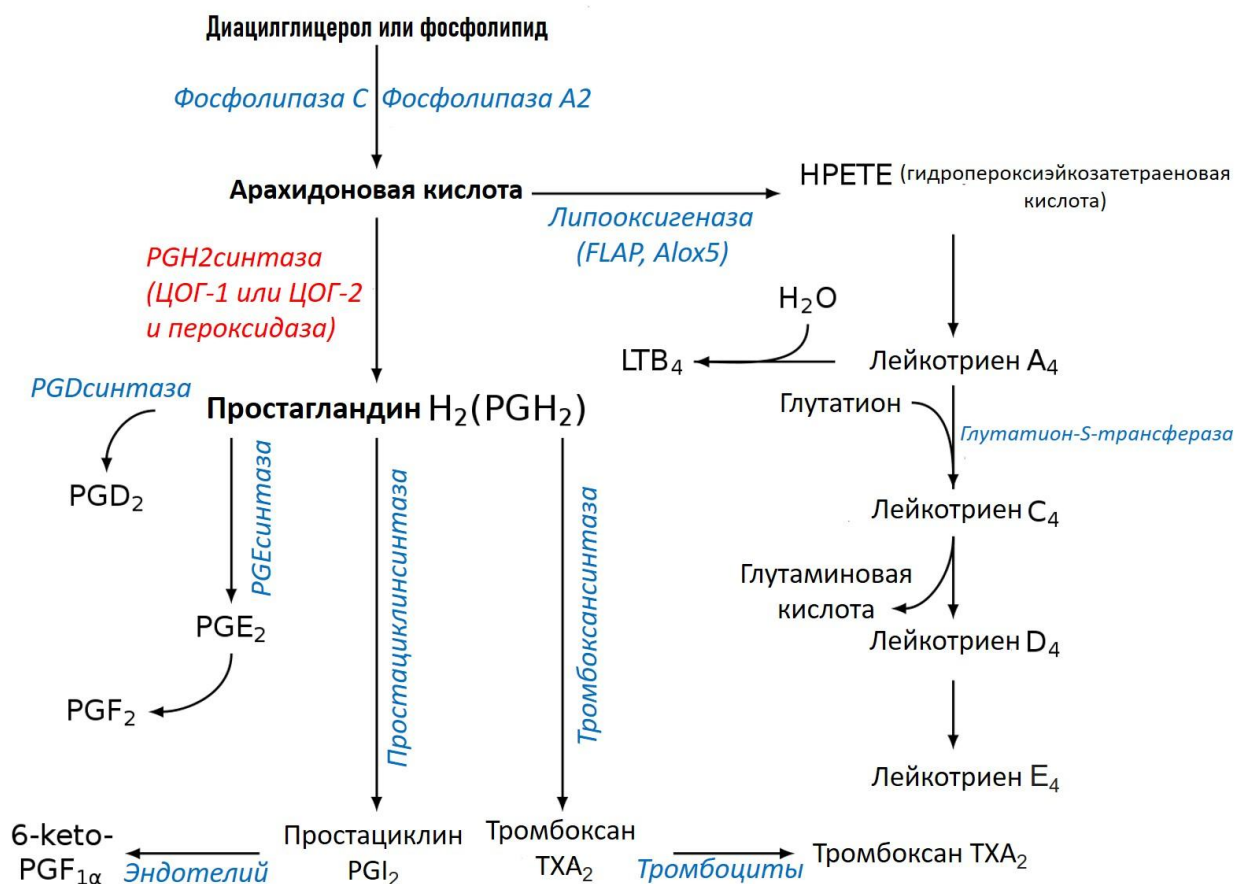


Рисунок 1.1 – Синтез эйкозаноидов [de Wolff, 2007]

Активная изоформа ЦОГ-1 отвечает за синтез PG практически во всех тканях человека. Помимо активации тромбоцитов, влияния на репродукцию и регуляции периферического сосудистого сопротивления, PG, являющиеся производными ЦОГ-1, очень важны для поддержания защитной слизистой оболочки желудка в нормальном состоянии.

Вторая короткоживущая изоформа ЦОГ-2 экспрессируется только в центральной нервной системе, почках и женских органах репродукции. ЦОГ-2 стимулируется цитокинами, эндотоксинами и митогенами при патофизиологических процессах, способствуя развитию воспалению через специфическую продукцию PG [Obermoser et al., 2018]. Когда заходит речь о действии нестероидных противовоспалительных средств, зачастую, ограничиваются упоминанием двух изоформ ЦОГ. Однако, существует и ЦОГ-3, которая представляет собой сплайсинговый вариант ЦОГ-1, сохранивший интрон-1 во время трансляции, и она обнаруживается в тканях человека в полиаденилированной форме. Разработка селективных ингибиторов ЦОГ-3 может привести к открытию новых мощных анальгетических и жаропонижающих средств [Nowaczyk et al., 2022].

АСК – единственное нестероидное противовоспалительное средство, которое ковалентно модифицирует ферменты ЦОГ [Fijałkowski et al., 2022]. ЦОГ-1 и ЦОГ-2 являются изоферментами (60% идентичности), и структура их активного сайта также сходна. Экспрессия ЦОГ-2 усиливается простагландинами, которые синтезируются ЦОГ-1 в тромбоцитах и эпителиальных клетках.

Ингибирование или изменение активности ЦОГ является результатом ацетилирования активным ацетатом, высвобождающимся из молекулы АСК, а не салицилатом. Это было показано в исследованиях на тромбоцитах, где применялась низкая концентрация АСК, достаточная для необратимого ингибирования ЦОГ-1, в то время как салицилат неактивен. У людей в просвете кишечника, портальном кровообращении и печени деацетилирование происходит настолько интенсивно, что около 50% дозы АСК достигает системной циркуляции в неизмененном виде. Низкие дозы АСК селективно и клеточно-специфически ингибируют ЦОГ. Другие НПВС не обладают такими уникальными фармакокинетическими и фармакодинамическими особенностями и обычно не достигают такой степени стойкого ингибирования ЦОГ-1 в тромбоцитах, как при использовании низких доз АСК [Fijałkowski et al., 2022] Однако не все точные механизмы действия АСК до сих пор известны и понятны [Fijałkowski et al., 2022] (таблица 1.1, рисунок 1.2).

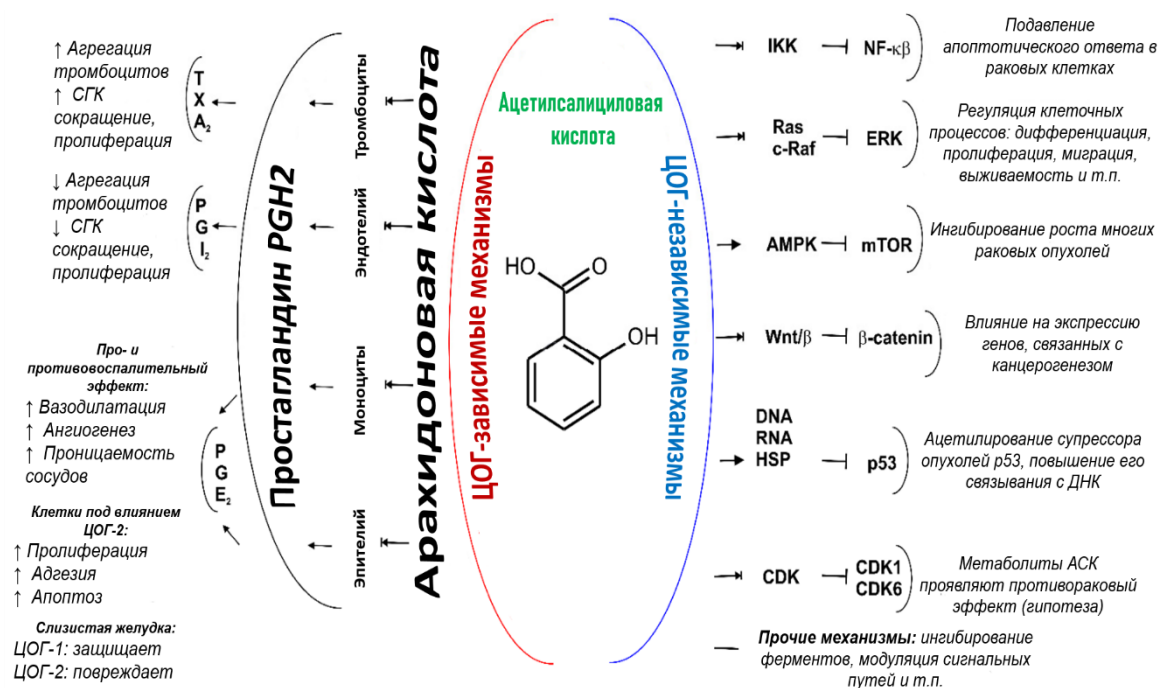


Рисунок 1.2 – Эффекты АСК [Fijałkowski et al., 2022]

Примечание: СГК – сосудистая гладкомышечная клетка

Таблица 1.1 – ЦОГ-зависимые эффекты при разных дозах АСК [Fijałkowski et al., 2022]

Доза АСК	ЦОГ	Мишень	Эффект
70-150 мг/день	ЦОГ-1	Тромбоцит	Антиагрегантный
325-600 мг/4-6 ч	ЦОГ-1 и ЦОГ-2	Мегакариоцит	Анальгетический
1,2 г/4-6 ч	ЦОГ-2	Эндотелий и слизистая желудка	Противовоспалительный
500 мг/день	ЦОГ-1 и ЦОГ-2	Тромб, тромбоцит	Фибринолиз, антиагрегантный

Антитромботический эффект. Взаимодействие тромбоцитов с коллагеном и субэндотелиальным фактором фон Виллебранда вызывает их адгезию к сосудистой стенке в месте повреждения эндотелия. Связывание фактора фон Виллебранда с гликопротеиновыми рецепторами мембраны тромбоцитов Ib вызывает экспрессию гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa на мембране тромбоцитов. Активированные гликопротеиновые рецепторы IIb/IIIa обладают повышенным сродством к молекулам адгезивных белков (фибриногена, фибронектина, фактора Виллебранда), которые создают белковые мостики между клетками, в результате чего образуется агрегат тромбоцитов. В активированных тромбоцитах увеличивается содержание

ионов кальция, что потенцирует секрецию АДФ, серотонина и образование тромбоксана ТХА₂ [Alyavi et al., 2020].

АСК блокирует активацию тромбоцитов путём ингибирования циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1), в результате чего нарушается превращение арахидоновой кислоты в простагландин H₂, что препятствует образованию тромбоксана ТХА₂. Полное подавление выработки тромбоксана у людей достигается при хроническом приёме АСК в дозе ≥ 75 мг/сутки [Alyavi et al., 2020].

АСК также оказывает ингибирующее действие на образование фибрина, подавляя образование тромбина (FII>FIIa) и превращение фибриногена в функциональное состояние FI, блокируя лизин в молекулах фибриногена. В то же время АСК способна активировать фибринолиз за счёт высвобождения активаторов плазминогена, который «разрыхляет» волокна фибрина [Alyavi et al., 2020]. Впрочем, не всё так однозначно. [Ni et al., 2018] сообщают, что АСК в дозе выше 80 мг/кг может снижать антитромботическое действие препаратов вроде клопидогреля, путём подавления выработки PGI₂, и авторами обсуждается гипотеза, что низкие дозы АСК, в том числе в комплексе с другими препаратами, могут иметь серьёзный терапевтический потенциал (рисунок 1.2).

Противовоспалительный эффект. Противовоспалительные свойства АСК проистекают из ингибирования ЦОГ [Obermoser et al., 2018]. АСК усиливает действие эйкозаноидов, производных липоксигеназы, включая противовоспалительный липоксин A₄. АСК также ацетилирует белок ЦОГ-2 до ремоделированного фермента, который превращает неэстерифицированную арахидоновую кислоту в медиаторы, снимающие воспаление, включая 15-эпилипоксин A₄. Ацилированный фермент может также превращать докозагексаеновую кислоту (DHA) в 17-(R)-ОН-DHA, которая, как и её метаболиты резольвин D1 и нейропротектин D1, обладает значительным противовоспалительным действием. Лечение здоровых людей низкими дозами АСК заметно повышает уровни ATL в плазме крови с одновременным ингибированием биосинтеза тромбоксанов, что указывает на то, что ATL могут способствовать биологическим эффектам АСК.

Известно, что ATL действуют как противовоспалительные медиаторы, эффективность которых включает ингибирование задействия и активации нейтрофилов и эозинофилов. LX и ATL также индуцируют гены (включая NAB1), опосредующие разрешение воспаления, и модифицируют активность NF-κB, а также индуцируют поглощение остатков апоптотических клеток макрофагами невоспалительным образом и переводят индуцированные цитокинами макрофаги из воспалительного состояния в противовоспалительный фенотип. Разные дозы АСК (100-300 мг/сут) снижают концентрацию провоспалительных медиаторов, включая C-реактивный белок, IL-6 и TNFα в плазме пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. АСК снижает уровень воспалительных цитокинов, таких как IL-8 и TNFα, но не противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4 и IL-10. Обработка АСК

различных клеток, включая HeLa и фибробласты, значительно подавляла IL-1 и TNF α -вызванную индукцию NF- κ B. АСК также снижает ответы клеток Т-хелперов в мышечных моделях воспаления легких, вызванного липополисахаридом, и ингибирует IL-1 β -стимулируемое образование NO и индуцибельной NO-синтазы [Mohamed et al., 2022], также сообщают о противовоспалительном эффекте АСК, реализуемом через модуляцию NLRP3 и IL-1 β . Однако, есть данные, что АСК в низких дозах (80 мг/день, 14 дней) может оказывать иммуностимулирующее (провоспалительное) действие во время сепсиса, повышая уровень TNF α , IL-6 и IL-8 и снижая уровень IL-10.

Прочие эффекты. Анальгетический и жаропонижающий эффект АСК объясняется ингибированием ЦОГ. При активации ЦОГ высвобождаются простаглицлины и простагландины, которые участвуют в процессе терморегуляции и являются передатчиками болевых импульсов [Gasowska-Bajger et al., 2023].

Ряд исследований сообщает об обнаружении антираковых свойств АСК. Например, [Ausina et al., 2020] получили положительные результаты в лечении меланомы с помощью 10-дневного введения АСК мышам (100 мг/кг/день). Авторы работы отмечают, что такой эффект может быть обеспечен влиянием АСК на работу эндоплазматического ретикулума клеток. АСК приводит к Akt/mTOR/АМПК-зависимой активации синтазы оксида азота 3 (eNOS), что увеличивает выработку оксида азота и активных форм кислорода, вызывая стрессовую реакцию у эндоплазматического ретикулума. Это, в свою очередь, вызывает апрегуляцию проапоптотического транскрипционного фактора С/ЕВР гомологичного белка (СНОР) и приводит к гибели раковых клеток. Эффект был подтвержден *in vivo* и *in vitro*. В то же время, [Obermoser et al., 2018] связывают противораковые эффекты АСК с тем же механизмом, что вызывает и противовоспалительный эффект – ингибирование ЦОГ-2, которое приводит к снижению активности PGE₂, ответственный за подавление апоптоза и увеличение пролиферации опухолевых клеток, а также супрессию иммунитета и ангиогенез в раковых тканях.

Так, Gasowska-Bajger et al., (2023) сообщает об антираковом эффекте АСК, который реализуется через ингибирование фермента миелопероксидазы. Примечательно, что миелопероксидаза также связана с развитием атеросклероза и оказывает негативное влияние на кардиопротективное действие липопротеидов высокой плотности [Gasowska-Bajger et al., 2023]. Возможно, влияние АСК на этот фермент является ещё одним механизмом положительного воздействия на сердечно-сосудистую систему. Впрочем, есть данные и о том, что АСК не влияет на пролиферацию раковых клеток и уровень в них ЦОГ-2 [.

Это далеко не все эффекты АСК. Она обладает широким спектром действия. Известно, что АСК имеет антигликирующий эффект, способна снижать токсическое воздействие алкоголя на ЦНС, в том числе и когнитивные функции [Mohamed et al., 2022], а также уменьшать тягу к алкоголю благодаря влиянию на липоксин А4, производное арахидоновой кислоты. АСК имеет

потенциал для терапии различных психических расстройств, вроде шизофрении и депрессии, а также тревожных расстройств через влияние на NFKB и глутаматергическую систему мозга [Hammad et al., 2023].

1.2 Влияние ацетилсалициловой кислоты на сердечно-сосудистую систему

Помимо противовоспалительного, жаропонижающего и анальгетического действия АСК применяется для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Согласно последним рекомендациям для врачей, АСК по-прежнему настоятельно показана для вторичной профилактики у пациентов с манифестными сердечно-сосудистыми, цереброваскулярными заболеваниями или заболеваниями периферических артерий. Однако, АСК больше не рекомендуют для первичной профилактики лицам, не имеющим в анамнезе симптоматических сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта или заболеваний периферических артерий; вред от ежедневного использования АСК может перевесить пользу [Wein et al., 2020].

Общие терапевтические эффекты. АСК широко используется у пациентов с ишемической болезнью сердца для предотвращения инфаркта миокарда, инсульта и прочих неблагоприятных последствий, связанных с сердечно-сосудистой системой [Alyavi et al., 2020]. Антиишемические эффекты АСК в первую очередь объясняются антиагрегантным (антитромботическим) действием АСК [Gurbel et al., 2020].

Frydrychowski et al, (2022) показал, что АСК оказывает кардиопротекторный эффект на модели ишемии миокарда у свиней, путём снижения маркеров окислительного стресса в крови. Также сообщалось, что АСК снижает риск разрыва аневризмы сосудов головного мозга [Terceño et al., 2021]. По результатам исследований [Helgadóttir et al., 2021] установлено, что АСК обладает дозозависимым вазодилатирующим эффектом и может снижать артериальное давление у беременных крыс. Было определено, что это эндотелий-зависимая вазодилатация в мезентериальных резистентных артериях, которая опосредуется гиперполяризующим фактором эндотелиального происхождения (EDHF) и кальций-активируемыми калиевыми каналами.

Малые дозы АСК часто используются для первичной и вторичной профилактики целого ряда заболеваний благодаря своему противовоспалительному и антикоагулянтному действию. Малые дозы АСК (80-160 мг/день) снижают риск тромбоэмболии, вызванной COVID-19, приводя к снижению уровня ферритина и D-димера, а также повышению уровня аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в крови [Abdelwahab et al., 2021].

Влияние ацетилсалициловой кислоты на микроциркуляцию. Для подавления выработки простаноидов [Berghoff et al., 2002] людям перорально вводили четыре дозы АСК (81, 648, 972 и 1944 мг). Кожные нервные волокна блокировали под местной анестезией. Ингибирование ЦОГ не приводило к

изменению базальной микроциркуляции в сосудах плеча или эндотелий-опосредованной вазодилатации, вызванной ацетилхолином. В тоже время, АСК (972 и 1944 мг) значительно снижал аксонный рефлекс, опосредованный С-волоконными, дозозависимым образом. Блокада функции С-волокон значительно снижала аксон-рефлекторную вазодилатацию, но не влияла на базальную микроциркуляцию или эндотелий-зависимую вазодилатацию. О том, что АСК влияет на нервную регуляцию просвета микрососудов, сообщали также [Ramondou et al., 2021]. Было установлено, что АСК в дозах 1 г и <500 мг в сутки снижает вазодилатацию, вызванную электрическим током.

В своём исследовании [Enajat et al., 2013] установили, что низкая доза АСК (40 мг/день, 6 недель) не снижает риск микрососудистых осложнений (тромбоз, некроз и застой крови) после проведения микрохирургических операций. Однако, повышает риск возникновения гематом. Авторы статьи приходят к выводу, что АСК не подходит для профилактики послеоперационных сосудистых осложнений. В ходе эксперимента на модели ожога у крыс установили, что хотя АСК и приводит к укреплению стенок микрососудов уха и снижает адгезию лейкоцитов, скорость кровотока при этом уменьшается. Для сравнения, введение простагландина PGE1 вызвало существенное улучшение микроциркуляции [Kovacs et al., 1973].

[Kovacs et al., 1973] показали, что АСК в дозах 25 и 100 мг/кг (в/б) приводит к улучшению микроциркуляции в щеке хомяков в модели тромбоза, вызванного лазером. АСК снижает не только количество событий остановки кровотока, но отсрочивает этот негативный процесс во времени на в среднем на 3-7 минут. Эффект АСК [Kovacs et al., 1973] увеличивался дозозависимо.

На крысах удалось продемонстрировать, что АСК обладает уникальным сосудорасширяющим действием, которое, по-видимому, не зависит от ЦОГ. Имеются некоторые доказательства того, что салицилаты опосредуют вазодилатацию посредством ингибирования пути RhoA/Rho-киназы [Ying et al., 2009]. Это послужило основой для эксперимента на людях, где было установлено, что АСК (7 дней, 500 мг/день) приводит к улучшению кожной микроциркуляции, как в норме, так и после ишемии, что выражается в увеличении скорости движения эритроцитов. Важно отметить, что артериальное давление и частота сердечных сокращений при этом не изменялись.

Биологическая роль цинка и магния в организме человека и животных. Металлы участвуют во многих важных биологических процессах, протекающих в организме, включая катализ, стабилизирующее действие на структуру белков, перемещение электронов от доноров к акцепторам, нейтрализацию свободных радикалов, построение ДНК, регуляцию уровня гормонов и не только [Zoroddu et al., 2019]. Процесс гомеостаза металлов обеспечивает распределение металлов в необходимых количествах внутри клеток, тканей и органов в соответствующем временном масштабе. И наоборот, дисгомеостаз металлов на различных уровнях организма является общим знаменателем и причиной многих заболеваний, в том числе сердечно-

сосудистых. Однако, следует также отметить, что дисгомеостаз металлов может быть не только причиной, но и следствием заболеваний.

Цинк – незаменимый микроэлемент, прямо и косвенно влияющий на микроциркуляторное русло у животных. Его эффекты реализуются через участие в ферментативных реакциях, антиоксидантной защите, регуляции сосудистого тонуса и поддержании целостности эндотелия.

Магний является вторым по распространенности внутриклеточным металлом и играет важную роль в функциях сердечно-сосудистой, нервной и мышечной систем. Этот металл является кофактором нескольких сотен ферментов и действует как активатор как минимум 200 ферментов. Магний является природным антагонистом кальция (блокатором кальциевых каналов) и обладает противовоспалительными свойствами. Магний также играет важную роль в передаче электрического сигнала, ответственного за сокращение мышц и сердцебиение. Важная роль магния в функционировании сердца хорошо известна благодаря влиянию на метаболизм миокарда, гомеостаз кальция, сердечный выброс, сосудистое сопротивление и другие важные факторы. Магний имеет решающее значение для регулирования сердечной деятельности, поддерживая правильное функционирование ионных каналов, тем самым напрямую влияя на электрические свойства мембран. Нарушение нормального уровня магния в организме может вызывать аритмию, мышечные спазмы и другие проблемы со здоровьем. Исследования [Heidarianpour et al., 2010] показали, что магний улучшает кожную микроциркуляцию у крыс с сахарным диабетом.

1.3 Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс

Стресс представляет собой базовую адаптационную реакцию организма, играющую ключевую роль в регуляции его психического и соматического состояния. В современных научных исследованиях крысы активно используются в качестве модельных объектов для изучения влияния стресса на центральную нервную систему, поведение, иммунную функцию и другие физиологические процессы. Крысы служат основной моделью в исследованиях стресса благодаря высокой степени сходства физиологических и психоэмоциональных реакций на стрессоры с реакциями, наблюдаемыми у человека.

Для моделирования стресса в лабораторных условиях ученые разработали ряд стандартных протоколов, которые позволяют изучать различные аспекты стрессорного воздействия. Одной из наиболее распространенных моделей является иммобилизационный стресс, который позволяет исследовать нейроэндокринные, иммунные, метаболические и поведенческие реакции. Иммобилизационный стресс приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, повышению уровня кортикостерона, нарушению метаболизма, усилению окислительного стресса

и провоспалительных реакций.

Комбинированное воздействие различных стрессоров в течение длительного времени позволяет смоделировать состояние хронического стресса, сходное с профессиональным выгоранием у людей.

В исследовании [Pujo J.M. et al., 20213] изучалось влияние пролонгированного стресса, моделирующего условия работы медицинских работников. Крысы подвергались трём типам стрессоров в течение 21 дня: депривации пищи и воды, постоянному освещению и принудительному плаванию. Результаты показали значительное снижение подвижности в тесте Порсолта, что свидетельствует о развитии депрессоподобного поведения. Наблюдалось снижение исследовательского поведения в тесте открытого поля и увеличение тревожности в тесте приподнятого крестообразного лабиринта. Эти данные подтверждают, что хронический стресс приводит к стойким изменениям поведения, аналогичным симптомам тревоги и депрессии у человека. Одним из перспективных направлений в коррекции последствий стресса является применение салицилатов — соединений с широким спектром биологической активности. Помимо уже упомянутого анксиолитического эффекта салициловой кислоты, опосредованного через усиление экспрессии GAD67, аспирин проявляет комплексное защитное действие. В исследовании [Zangiabadi et al., 2024] аспирин в дозе 30 мг/кг эффективно снижал маркеры окислительного стресса, способствовал повышению уровня антиоксидантных ферментов и предотвращал гибель нейронов в гиппокампе. Особый интерес представляет синергетический эффект, достигнутый в этом исследовании при комбинировании аспирина с кондиционированной средой, полученной от мезенхимальных стромальных клеток.

Защитный эффект салицилатов распространяется и на системные метаболические нарушения, вызванные стрессом. В исследовании [Cholik et al., 2025] изучалось влияние стресс-фактора в виде ингибирования синтазы оксида азота, что позволило смоделировать у крыс ключевые признаки преэклампсии — повышение артериального давления и нарушение регуляции микроэлементов. Было обнаружено, что индуцированный стресс приводит к значительному снижению уровня гепсидина в сыворотке, что указывает на глубокое нарушение метаболизма железа. Введение же диетических салицилатов и аспирина продемонстрировало модулирующий эффект, нормализуя уровень гепсидина и влияя на распределение микроэлементов в тканях. В частности, салицилаты повышали концентрацию цинка в плаценте и головном мозге, одновременно снижая уровень железа в волосах. Интересно, что лишь низкие дозы аспирина оказались эффективными в нормализации артериального давления до уровня контрольной группы. Выявленные корреляции, такие как положительная связь между уровнем цинка в мозге и концентрацией салицилатов, подчеркивают прямую вовлеченность этих соединений в метаболизм микроэлементов при стрессовом состоянии организма.

В контексте метаболических нарушений изучается и диабетическая кардиомиопатия, как следствие комбинированного действия метаболического стресса и окислительного повреждения. В исследовании [Korkmaz-Icöz et al., 2016] показано, что применение комплекса цинка с ацетилсалициловой кислотой ($Zn (ASA)_2$) снижает уровень глюкозы в крови, уменьшает оксидативный стресс, апоптоз кардиомиоцитов и улучшает функцию сердца.

Перспективность салицилатов подтверждается и разнообразием их природных аналогов, обладающих широким спектром полезных свойств. Перспективность салицилатов подтверждается и данными обзора Yeasmin и Choi (2020), в котором освещается широкий спектр биологической активности природных соединений этого класса. Такие натуральные салицилаты, как аморфрутины, гинкголевая кислота, грифоловая кислота, тетрагидроканнабиноловая кислота и каннабидиоловая кислота, обладают противовоспалительными, антиоксидантными, нейропротекторными и даже противоопухолевыми свойствами. Например, тетрагидроканнабиноловая кислота способна ингибировать циклооксигеназы COX-1 и COX-2, снижая синтез провоспалительных простагландинов, в то время как каннабидиоловая кислота подавляет метастазирование рака молочной железы. Эти разнообразные механизмы действия открывают новые горизонты для применения природных салицилатов в коррекции последствий стресса, хотя их детальное изучение и проведение клинических испытаний остаются задачей будущего.

1.3.1 Гипокинезия, как модель стресса и ее влияние на организм

В последнее время установлено, что ограничение двигательной активности (гипокинезия, ГК) является своеобразным хроническим стрессом и является важнейшим фактором риска развития сердечно-сосудистых и поведенческих расстройств. Как известно организм человека постоянно подвергается влиянию факторов окружающей среды – раздражителей различной природы (физические, химические, эмоциональные, психологические и т.д.), которые вызывают в организме состояние стресса. Это состояние может обернуться как положительными адаптациями, так и болезнями стресса [Меерсон Ф.З., 1988].

Снижение нагрузки на мышцы (гиподинамия) и ограничение общей двигательной активности организма (гипокинезия) являются одними из наиболее распространенных ныне стрессоров, вызывающих развитие гипокинетического стресса, изучение которого является одной из актуальных проблем современной биологии и медицины. Для этого существует ряд физических, физиологических и социальных причин. Гиподинамия возникает в результате малоподвижного образа жизни, что является неудивительным, если учесть явственные изменение условий жизни и труда. Увеличение умственных и уменьшение физических нагрузок, повседневное использование транспорта для передвижения даже на близкие расстояния, возрастания автоматизации и механизации производственных процессов, перегрузка школьников домашними заданиями и соответственно сокращения времени

для игр и спортивных занятий, предпочтение неактивного отдыха за компьютером и телевизором — все это обычные элементы жизни любого современного человека, и они же ведут к снижению двигательной активности.

Гипокинезия является также важной проблемой медицины по причине того, что лечение многих заболеваний требует соблюдения строго постельного режима, сроки которого могут исчисляться неделями или месяцами. Также она может рассматриваться как адекватная модель невесомости, а значит изучение ее влияния актуально для решения проблемы медицинского обеспечения длительных космических полетов [Мамылина Н.В., и др., 2004].

Ограничение подвижности также актуально для ветеринарии в связи со стойловым содержанием скота. Как отмечают ряд авторов, в животноводстве длительное действие гиподинамии является одним из ведущих стресс-факторов, отрицательно влияющим не только на функциональное состояние всех органов и систем, но и на продуктивные и репродуктивные качества животных. Кроме того, длительное действие гиподинамии приводит к снижению резистентности организма животных, нарушению метаболических процессов, сдвигам в иммунной системе [Щербаков Г.Г. и др., 2019].

При воздействии условий, ограничивающих двигательную активность в организме человека, возникает комплекс структурно-функциональных изменения практически во всех органах и системах. Возникшее состояние организма называют гипокинетическим синдромом [Меерсон Ф.З., 1986]. Он проявляется такими физическими эффектами как: снижением весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат и внутренние органы, уменьшение движений в крупных суставах, а также снижение динамической силовой нагрузки на элементы скелета, обычной для нормально функционирующих скелетных мышц в условиях земной силы тяжести. Такое снижение функции мышц обуславливает многогранное отрицательное влияние гипокинезии на организм так как приводит к ограничению потока проприоцептивной импульсации в рефлекторной дуге между мышцами и центральной нервной системой и почти всеми органами [Меерсон Ф.З., 1988].

Итак, при снижении нагрузки на опорно-двигательный аппарат в первую очередь происходят изменения в структуре мышечных волокон, уменьшается масса, как отдельных мышечных групп, так и всей мышечной системы. При антиортостатической гипокинезии [Меерсон Ф.З., 1988] наибольшая потеря массы наблюдается в быстрых локомоторных мышцах. Состояние гипокинезии влечет за собой существенные изменения метаболизма и структурной организации, приводящие к атрофии и частичной гибели мышечных волокон.

Одновременно с уменьшением массы и объема мышц наблюдается снижение их сократимости, а также скорости проведения импульсов по нервам, что в свою очередь снижает силу мышц, статическую и динамическую выносливость, мышечный тонус, координацию движений. Увеличивается продолжительность сократительного акта, особенно процессов расслабления, быстро развивается утомление, изменяется ритм работы и биоэлектрическая

активность. Также следует сказать, что под влиянием гипокинезии происходит снижение потребности организма в энергозатратах, а затем и редукция энергообразующих структур мышечных волокон скелетных мышц и сердца – митохондрий, появляются признаки разобщения процессов окислительного фосфорилирования, нарушается микроциркуляция, создаются условия, способствующие развитию кислородного голодания жизненно важных органов, вследствие чего ухудшается переносимость физических нагрузок.

Гипокинезия также вызывает детренированность сердечно-сосудистой системы. Вследствие резкого снижения нагрузки происходит уменьшение венозного возврата в силу снижения частоты сердечных сокращений, минутного объема кровообращения, удельного сопротивления кровеносных сосудов и мощности насосной функции сердца.

О нарушении метаболических процессов свидетельствует анализ параметров крови, выявивший увеличение в крови недоокисленных продуктов обмена, в частности пирувата и лактата. Известно, что система крови играет большую роль при ответной реакции организма на любое стрессорное воздействие. Так в условиях гипокинетического воздействия наблюдается ее активация в целях формирования новой функциональной системы, обеспечивающей активацию компенсаторно-адаптационного процесса [Камскова Ю.Г. и др., 2004].

Перераспределение активности между компонентами системы крови является необходимым условием компенсации морфофункциональных нарушений в организме, вызванных действующим фактором (гипокинезия). В системе крови наблюдаются гомеостатические сдвиги, указывающие на фазность включения адаптационных процессов. В частности, в острой фазе гипокинетического синдрома увеличивается количество лейкоцитов в периферической крови (достоверно на 40-50%); провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и ткани костного мозга (на 25-70% выше контрольных значений) [Камскова Ю.Г. и др., 2004].

Продолжительная гипокинезия характеризуется наличием в периферической крови нейтрофилеза, моноцитоза, лимфопении и эозинопении. Развитие нейтрофильного лейкоцитоза связано главным образом с увеличенным поступлением в циркуляцию костномозговых нейтрофилов, рекрутирование которых может — потенцироваться глюкокортикоидами и катехоламинами. На некоторых стадиях длительной гипокинезии нейтрофилез может отсутствовать, но в селезенке количество нейтрофилов при этом увеличивается более чем в три раза [Камскова Ю.Г. и др., 2004], сочетаясь при этом с гипоплазией органа. Гипоплазия лимфоидных органов также является глюкокортикоидзависимой, а эозинопения - АКТГ-зависимым процессом и связана с выходом этих клеток из крови в соединительную ткань [Камскова Ю.Г. и др., 2004].

Гипокинезия вызывает развитие общего адаптационного синдрома - стресс-реакции, приводящего либо к адаптации, либо к развитию патологии. Действительно при ограничении подвижности регистрируется активация

стресс-реализующих систем и, в первую очередь, симпатoadренальной системы (САС), что проявляется в повышении концентрации катехоламинов в плазме крови [Коваленко Е.А. и др., 1980].

Интенсивность стресс-реакции определяется соотношением активации стресс-системы и стресс-лимитирующих систем, включающих в себя антиоксидантные ферменты: супероксиддисмутазу, каталазу, церулоплазмин, глутатионредуктазу [Пшенникова М.Г., 2001]. Эти системы ограничивают действия друг друга: так падение активности антиоксидантных систем приводит к повреждению органов и организма, посредством действия тех же стресс-гормонов, к примеру. При гипокинезии наблюдаются повышенные значения показателей обеих систем [Пшенникова М.Г., 2001].

Установлено, что степень активации САС зависит от сроков ограничения подвижности и индивидуальных особенностей [Пшенникова М.Г., 2001]. Здесь важно еще раз указать на то, что гипокинезия — это стрессор, который действует при переходе от состояния движения к обездвиживанию, а его мощность зависит от величины перепада между этими состояниями. В тоже время исследования выявили способность ГК стресса модифицировать уровень болевой чувствительности. Это проявляется в изменении продолжительности поведенческих реакций у крыс при висцеральной боли. Следует уточнить что на уровень болевой чувствительности влияет продолжительность гипокинетического воздействия

Таким образом, ограничение двигательной активности является стрессовым воздействием, активизирующим — стресс-реализующую и стресс-лимитирующую системы [Коваленко Е.А. и др., 1980]. Однако при длительном воздействии стресс-реакция становится повреждающей и приводит к расстройствам со стороны ССС, терминальным звеном которой является система микроциркуляции [Коваленко Е.А. и др., 1980]. Интересным же является то, что при действии не продолжительной, но повторной гипокинезии снижается активность симпатoadренальной системы, т.е. наблюдается адаптационный эффект. Характерной реакцией микрососудов на стресс является вазоконстрикция артериол, прекапилляров, прекапиллярных сфинктеров, посткапилляров, венул, лимфососудов.

Гиподинамия (ГК) является одним из наиболее распространенных в современном мире стрессовых факторов. Она оказывает негативное влияние на большинство систем органов человека и животных, вызывая развитие болезней адаптации. Система микроциркуляции является очень чувствительной к действию ГК, а такой метод как ЛДФ позволяет объективно оценить возникающие изменения микрогемодинамики и состояние различных систем регуляции, что является весьма актуальным для современной биологии и медицины.

РАЗДЕЛ II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Организация проведения экспериментальных исследований

Исследование проводилось на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Института биохимических технологий, экологии и фармации, а также Центра коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Для эксперимента отбирали 50 половозрелых здоровых самцов лабораторных крыс массой 180 – 250 г. линии Вистар, возраст 20 недель (5 месяцев) (рисунок 2.1) («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»), характеризующихся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте «открытого поля» [Hall C.S., 1936], которые составляют большинство в популяции, и поэтому у них развивается наиболее типичная реакция на действие различных факторов, в том числе и химических соединений.



Рисунок 2.1. – Крыса линии Wistar. Фото автора: И. Миронюк, 2025

Лабораторные животные содержались в стандартных условиях вивария при температуре от 18 до 22 С на подстилочном материале, состоящем из початков кукурузы «Рехофикс МК 2000» с естественным 12-часовым светотемновым освещением. Доступ к воде осуществлялся согласно ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными».

Выбор крыс в качестве объекта исследования обусловлен тем, что они являются удобным объектом исследования для проведения массовых хронических экспериментов.

К настоящему времени в литературе накоплен большой фактический материал о структурно-функциональных изменениях различных органов и систем у этих животных при воздействии факторов разной интенсивности и природы, в том числе и химических.

В целях оптимизации исследовательского процесса и избежание повторения данных, исследования биологической активности новосинтезированных координационных соединений АСК с металлами цинка и магния в данном эксперименте на интактных животных не изучались — они всесторонне изучены и описаны нами ранее [Чуян Е.Н. и др., 2020, 2021, 2022].

В настоящем исследовании особое внимание уделено выявлению вазо- и стрессопротекторных эффектов координационных соединений АСК в условиях экспериментального стресса – 10-ти дневного хронического стресса посредством гипокинезии и последовательного 30-ти минутного острого стресса в тесте вынужденного плавания. Полученные данные расширяют представления о фармакологическом потенциале этих соединений.

Для исследования животных после предварительного отбора разделили на 5 групп по 10 крыс в каждой (рисунок 2.2).

1 группа – контрольная (К) – животные, которым производились внутрибрюшинные инъекции физиологического раствора (NaCl, 0,9 %), объем 0,2 мл;

2 группа – животные, которые изолированно находились в условиях 10-тидневного ограничения подвижности, посредством гипокинезии (ГК);

3 группа – животные, которым производились внутрибрюшинные инъекции АСК в дозе 10 мг/кг, объем 0,2 мл, находившиеся в условиях 10-тидневного ограничения подвижности (АСК+ГК);

4 группа – животные, которым производились внутрибрюшинные инъекции $АСZn^{2+}$ в дозе 10 мг/кг, объем 0,2 мл, находившиеся в условиях 10-тидневного ограничения подвижности ($АСZn^{2+}$ +ГК) (рисунок 2.2);

5 группа – животные, которым производились внутрибрюшинные инъекции $АСMg^{2+}$ в дозе 10 мг/кг, объем 0,2 мл, находившиеся в условиях 10-тидневного ограничения подвижности ($АСMg^{2+}$ +ГК).

Следует отметить, что животные 2 - 5 групп подвергались последовательному действию хронического гипокинетического стресса (1-10 сутки эксперимента) и острого стресса (30 минут) (11-е сутки) эксперимента.

Биоскрининг салицилатов проводился через 20 минут после внутрибрюшинного введения соединений в указанной дозе, поскольку в этот период наблюдается максимальная их концентрация в крови.

Для введения исследуемых веществ использовали внутрибрюшинный способ, который является альтернативным при проведении различных экспериментальных исследований. С помощью инсулиновых шприцов проводили инъекции в область апоневроза предварительно отступив 1 см вниз от области пупка под углом 30-40° к брюшной стенке.

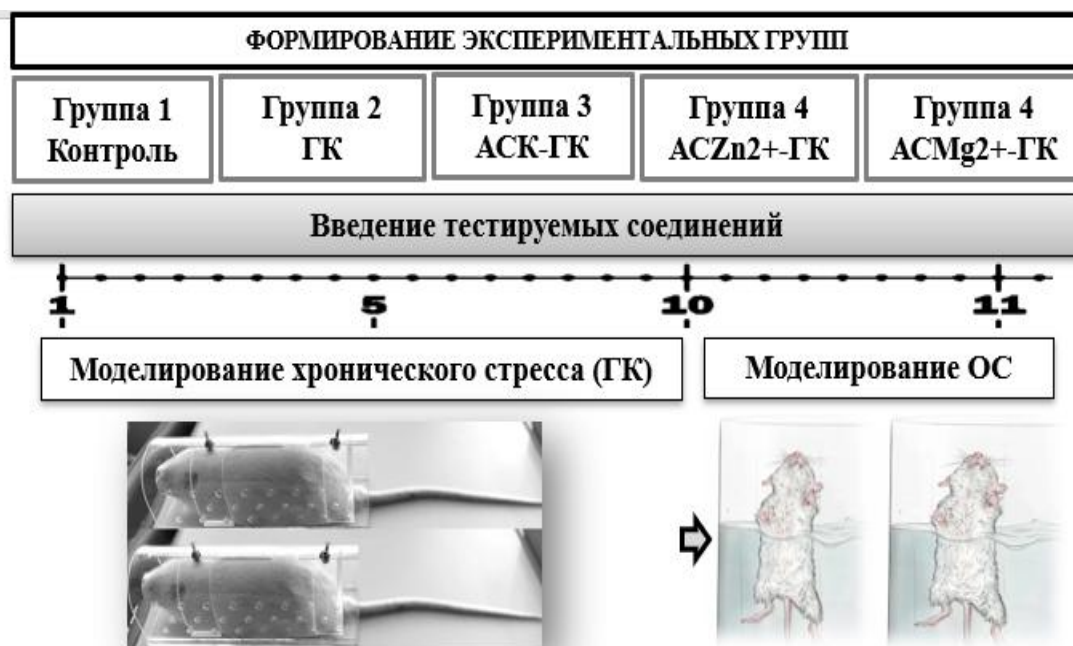


Рисунок 2.2 – Дизайн экспериментального исследования.
Схема автора: И. Миронюк, 2025

Примечание: ГК – моделирование хронического стресса, вызванного ограничением подвижности – гипокинезией; ОС – 30-ти минутный острый стресс в модели вынужденного плавания, АСК – ацетилсалициловая кислота, АСZn²⁺ – салицилат цинка, АСMg²⁺ – салицилат магния.

Выбор доз тестируемых соединений. Эффективность АСК для лечения и профилактики сердечно – сосудистых заболеваний человека установлена для широкого диапазона доз – от 30 – 50 до 1500 мг/сутки [De Boer, 2014]. При длительном применении в настоящее время у людей эффективной признана доза АСК 75 – 100 мг/сутки [Expert Consensus Document on the use of antiplatelet agents, 2004]. Применив коэффициенты пересчета доз для человека и крыс [Хабриев Р.У., 2005], определили, что для крыс массой 200 г терапевтической дозе АСК у человека соответствует доза 10 мг/кг (таблица 2.1).

Регистрация исследуемых показателей кожной микроциркуляции (МЦ), центральной гемодинамики (ЦГ), двигательной активности у крыс проводилась на 1, 5, 10-е сутки наблюдения через 20 минут после внутрибрюшинного введения тестируемых соединений в течение последующих 120 минут, поскольку, именно в этот период наблюдается максимальная концентрация салицилатов в крови [Шилов А.М. и др., 2007].

Таблица 2.1 – Пример пересчета доз ацетилсалициловой кислоты для крыс

Диапазон доз ацетилсалициловой кислоты для лечения и профилактики заболеваний ССС у человека	Пересчет доз для крыс	Пример применения коэффициента пересчета доз согласно (Хабриев Р.У., 2005)
75-100 мг/сутки (терапевтическая)	10 мг/кг	<p>Например, для крысы с массой тела 200 грамм – 10 мг/кг, для человека с массой тела 70 кг доза рассчитывается по формуле:</p> <p><u>10 мг/кг * (коэффициент для крысы) (коэффициент для человека)</u></p>

Ограничивали подвижность животного на время записи показателей с помощью пенала (АЕ1001-Р0, НПК «Открытая Наука», Россия) (рисунок 2.3) с целью свести к минимуму внешние помехи.

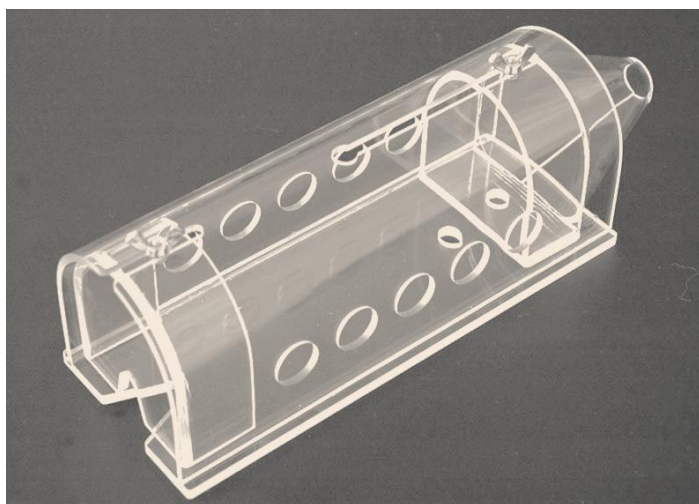


Рисунок 2.3 – Внешний вид пенала-фиксатора для крыс

Гистологические исследования толстой кишки проводились на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» после ежедневного 11- тикратного введения тестируемых салицилатов на 12-е сутки эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии.

2.2 Характеристика тестируемых координационных соединений ацетилсалициловой кислоты

Тестируемые вещества синтезированы на кафедре общей химии Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» под руководством профессора Гусева А. Н. (химическая чистота составляла не менее 98,0 %). Для биологических исследований ключевым фактором является чистота объектов, с помощью рентгенофлуоресцентного анализа в Ресурсном центре «Рентгенодифракционные методы исследования» ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» было показано отсутствие примесей в полученных кристаллических образцах [Gusev A.N. et al., 2021]. По данным элементного анализа комплексы характеризуются соотношением – двухвалентный металл - лиганд 1:2. Более подробно методика получения тестируемых координационных соединений АСК с цинком и магнием описана в публикации Гусева А.Н. [Gusev A.N. et al., 2021].

2.3 Методика формирования однородных групп животных

Одним из объективных методов, позволяющим выделить индивидуальные различия между животными и сформировать однородные экспериментальные группы, является тестирование по методике «открытого поля» [Коплик Е.В., 2002] в инфракрасном актиметре (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus» Испания). Для проведения теста использовали специализированную рабочую станцию размером 45 x 45 см с прозрачными полипропиленовыми стенками высотой 20 см, представляющую собой инфракрасный актиметр (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus» Испания) с двумя инфракрасными рамками, выполняющими роль датчиков движений (рисунок 2.4). Эксперименты проводили через 2 – 3 недели после предварительного отбора животных и формирования однородных групп.

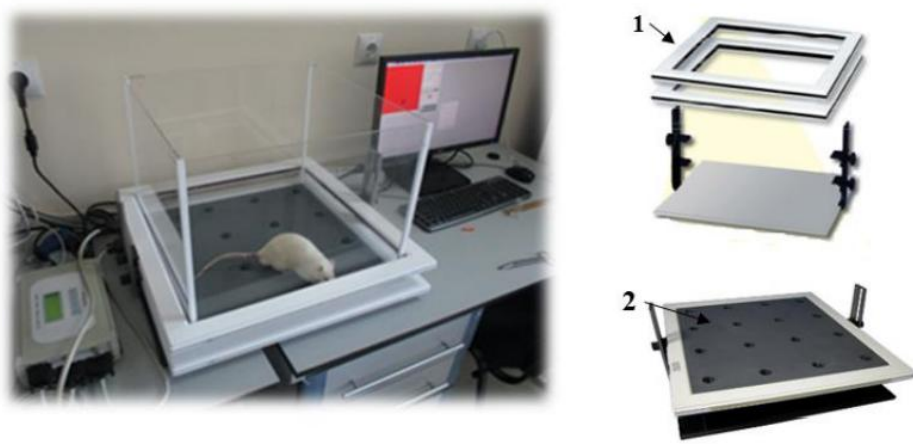


Рисунок 2.4 – Внешний вид установки инфракрасного актиметра (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus» Испания). Фото: И. Миронюк, 2025
Примечание 1 – инфракрасные рамки, роль датчиков; 2 – сменный пол с отверстиями.

2.4 Методика моделирования хронического стресса посредством гипокинезии

Гипокинезия (ГК) моделировалась путем помещения крыс в специальные пеналы из оргстекла (АЕ1001-R0, НПК «Открытая Наука», Россия) (рисунок 2.5). Специализированные пеналы-фиксаторы обеспечивают существенное ограничение подвижности животных по всем направлениям.

Стенки и дно каждого пенала-фиксатора снабжены отверстиями для обеспечения вентиляции и выведения отходов жизнедеятельности животных. В пеналах крысы находились 10 суток по 20 часов, в течение 4-х остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными (таблица 2.2). Ограничение подвижности (ГК) крыс в клетках пеналов вызывает стрессовую реакцию, которая зависит от степени жесткости ГК [Коваленко Е.А. и др., 1980].

Представленная модель позволила создать одинаковую-умеренную степень «жесткости» ГК для всех животных (относительно данных стандартизации, представленных в литературе [Коваленко Е.А. и др., 1980]).

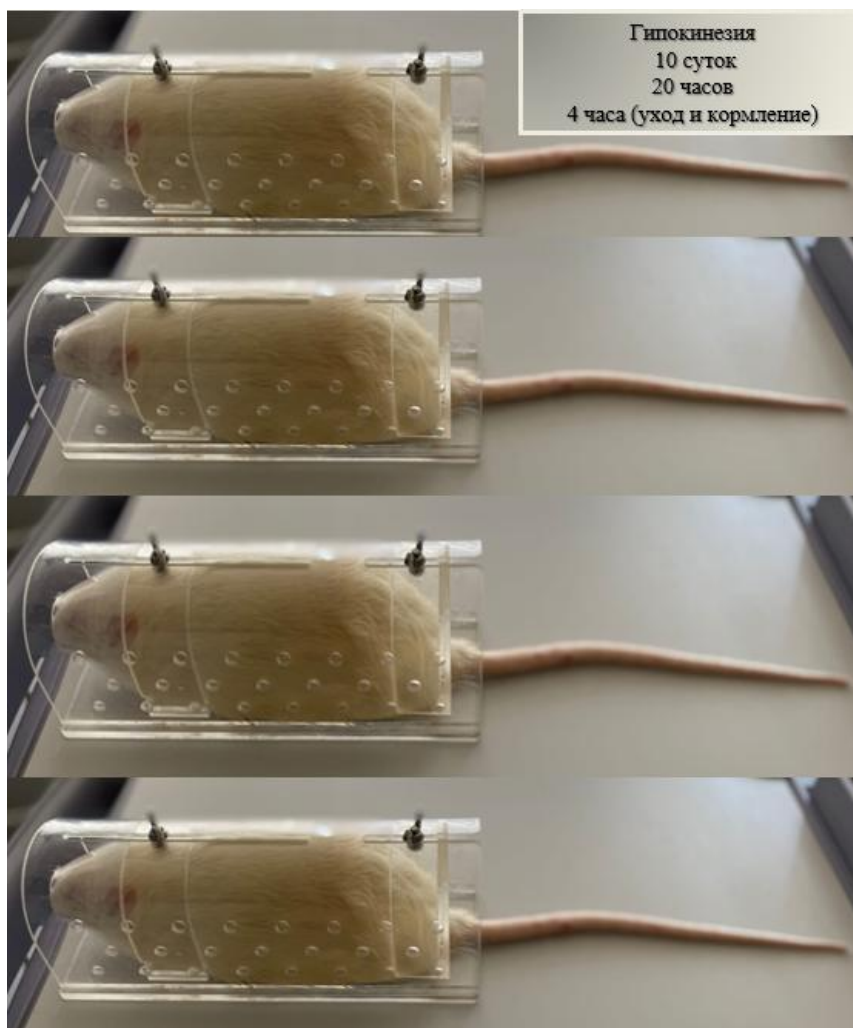


Рисунок 2.5 – Моделирование гипокинезии путем помещения крыс в специальные пеналы из оргстекла. Фото автора: И. Миронюк, 2025.

Таблица 2.2 – Схема экспериментального воздействия хронического стресса посредством 10-ти дневной гипокинезии

Группы / сутки эксперимента		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	К	П ФР	ФР	ФР	ФР	П ФР	ФР	ФР	ФР	ФР	П ФР	П ФР
2	ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	П ОС
3	АСК-ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	П ОС
4	АСZn ²⁺ - ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	П ОС
5	АСMg ²⁺ - ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	ГК	ГК	ГК	ГК	П ГК	П ОС

Примечание: П – регистрация исследуемых показателей, ФР – физиологический раствор, ГК – гипокинезия, ОС – 30-ти минутный последовательный острый стресс в тесте вынужденного плавания, АСК – ацетилсалициловая кислота, АСZn²⁺- салицилат цинка, АСMg²⁺ - салицилат магния.

2.5 Методика моделирования последовательного острого стресса в тесте вынужденного плавания

Стресс реакция была индуцирована в модели вынужденного плавания.

Тест принудительного плавания проводили на 11-й дни эксперимента. Для тестирования были использованы 3 цилиндра из оргстекла ($d = 20$ см; $h = 45$ см), которые были заполнены водой (температура воды $24 \pm 1^\circ\text{C}$) до глубины 30 см. Цилиндры были отделены друг от друга непрозрачными перегородками, не позволяющими животным видеть друг друга во время теста (рисунок 2.6).



Рисунок 2.6 – Внешний вид экспериментальной установки для теста вынужденного плавания. Фото: И. Миронюк, 2025

После каждого теста проводили замену воды и мытье цилиндра, поскольку было показано, что вторичное использование воды может влиять на поведение животных из-за наличия «сигналов тревоги» [Abel E.L. et.al, 1990].

2.6 Методика регистрации показателей центральной гемодинамики

У животных для регистрации показателей центральной гемодинамики: частоты сердечных сокращений (ЧСС, ударов в минуту); систолического артериального давления (САД, мм рт. ст.); диастолического артериального давления (ДАД, мм рт. ст.), использовали систему NIBP200A («Biorac Systems, Inc.», США) (рисунок 2.7). Данное оборудование представляет собой

неинвазивный усилитель артериального давления в хвосте мелких животных, в данном случае у крыс. Прибор NIBP200A включает в себя встроенный насос, который автоматически накачивает манжету артериального давления для закупорки сосуда в хвосте крысы. Когда в процессе работы насос достигает предельной точки накачивания, он медленно спускает воздух из манжеты, обеспечивая линейное падение давления. Одна кнопка управляет циклами накачивания и спуска воздуха, что делает систему очень удобной для использования.



Рисунок 2.7 – Внешний вид системы NIBP200A («Biopac Systems, Inc.», США) для неинвазивной регистрации показателей артериального давления и частоты сердечных сокращений у мелких животных. Фото: И. Миронюк, 2025

Перед тем, как начать регистрацию показателей АД и ЧСС крысу помещали в специализированный пенал-фиксатор из оргстекла, предварительно отрегулировав подходящий размер и длину пенала, что позволяло существенно ограничить движение животного: крыса не могла двигаться вперед и назад, вращаться вокруг своей оси и т.д. При этом хвост крысы должен оставаться снаружи и свободно выходить из задней части пенала. Для наиболее точного неинвазивного измерения артериального давления животное или его хвост необходимо прогреть до температуры 32°C (рисунок 2.8).

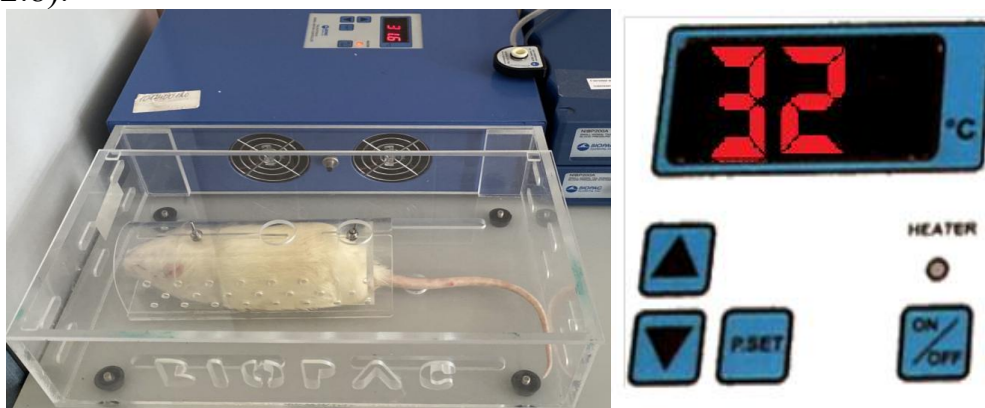


Рисунок 2.8 – Крыса в пенале-фиксаторе, помещённая в блок подогрева для неинвазивного измерения артериального давления NIBP200A («BiopacSystems, Inc.», США). Фото: И. Миронюк, 2025

Артериальное давление и частоту сердечных сокращений регистрировали с хвостовой артерии путём наложения манжеты на основание хвоста животного. Для этого необходимо было установить датчик IRCUFFSENSOR на хвост крысы, убедившись, что он плотно облегает хвост. Датчик должен находиться между серединой и концом хвоста (рисунок 2.9).

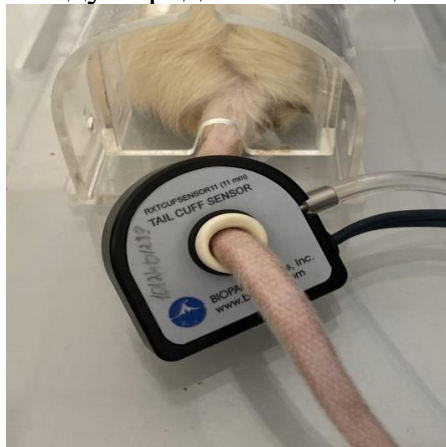


Рисунок 2.9 – Внешний вид установленной хвостовой манжеты системы неинвазивного измерения кровяного давления NIBP200A («Biopac Systems, Inc.», США). Фото: И. Миронюк, 2025

Для обработки регистрируемых показателей АД и ЧСС использовалась программа «AcqKnowledge 5.0».

При наличии хорошей записи, необходимо продолжать измерять давление (рисунок 2.10). Среднестатистическое значение регистрируемых параметров рассчитывалось после того, как каждый параметр измерялся 4-5 раз. В ходе измерений важно было избегать обстоятельств, которые являются причиной движения животного и мешают измерять его давление: громкие звуки и резкие движения.

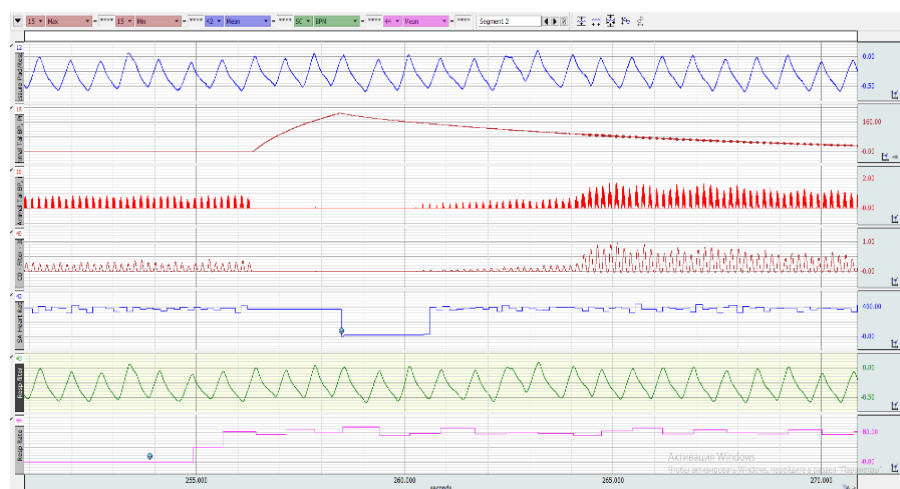


Рисунок 2.10 – Скриншот записи измерения артериального давления и частоты сердечных сокращений с помощью программы «AcqKnowledge 5.0» в контрольной группе крыс. Фото автора: И. Миронюк, 2025

Систолическое (САД, мм рт. ст) и диастолическое (ДАД, мм рт. ст) артериальное давление и частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин) – это гемодинамические параметры, характеризующие работу кровеносной системы, были основными для наблюдения в работе.

2.7 Методика исследования кожной микроциркуляции

Показатели тканевого микроциркуляторного русла у животных изучали с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на аппарате «Лазма-МЦ» (производство НПП «Лазма», Россия) (рисунок 2.11), с использованием программы LDF 2.20.0.507WL. Исследования проводили в соответствии с существующими рекомендациями в работах В.И Козлова и А.И. Крупаткина и др.

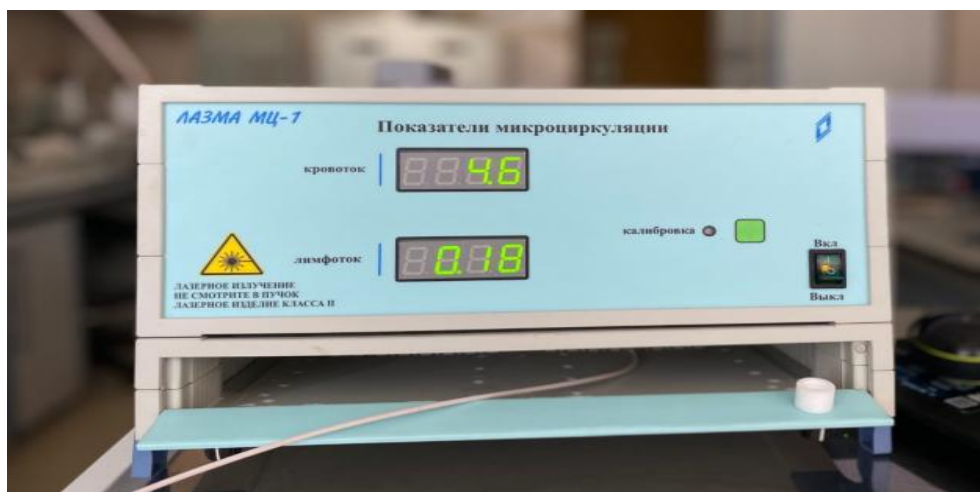


Рисунок 2.11 – Внешний вид анализатора кровотока «Лазма-МЦ». Фото автора: И. Миронюк, 2025

Так как метод ЛДФ является высокочувствительным, то для сведения к минимуму внешних помех крысу на время записи помещали в прозрачный пенал из оргстекла, ограничивающий подвижность животного. Размер пенала подбирался так, чтобы крыса могла свободно дышать, и ни одна часть тела не была плотно зажата. Хвост животного фиксировали на ровной поверхности на одной линии с телом в горизонтальном положении тканевым пластырем. Запись сигнала, осуществлялась, когда животное было неподвижным и спокойным. Оптоволоконный зонд прибора «Лазма-МЦ» фиксировался тканевым пластырем перпендикулярно у основания хвоста [Козлов В.И., 2012; Крупаткин А.И., 2007; Крупаткин А.И., 2013] (рисунок 2.12).

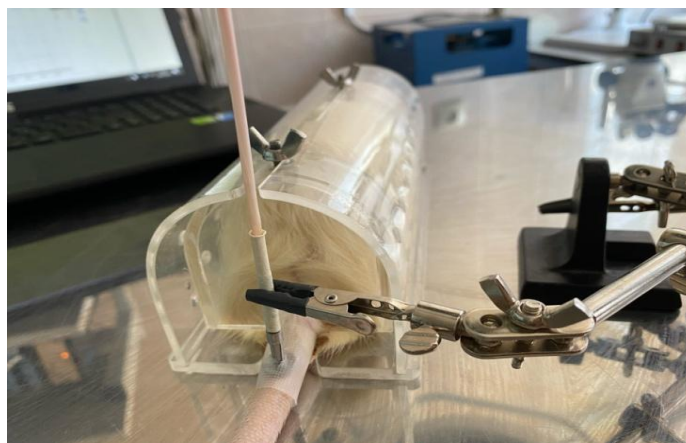


Рисунок 2.12 – Установка оптоволоконного зонда прибора «Лазма-МЦ» на основание хвоста крысы. Фото автора: И. Миронюк, 2025

Метод ЛДФ является неинвазивным и основан на эффекте Допплера, так как эритроциты движутся относительно «неподвижной» стенки сосуда. Суть метода заключается в том, что от датчика прибора расположенного перпендикулярно поверхности исследуемого участка отходит лазерный луч, который проникает вглубь тканей, а сигнал фиксируется от движущихся эритроцитов, в результате чего возникает доплеровское смещение частоты относительно зондирующего сигнала (рисунок 2.13).

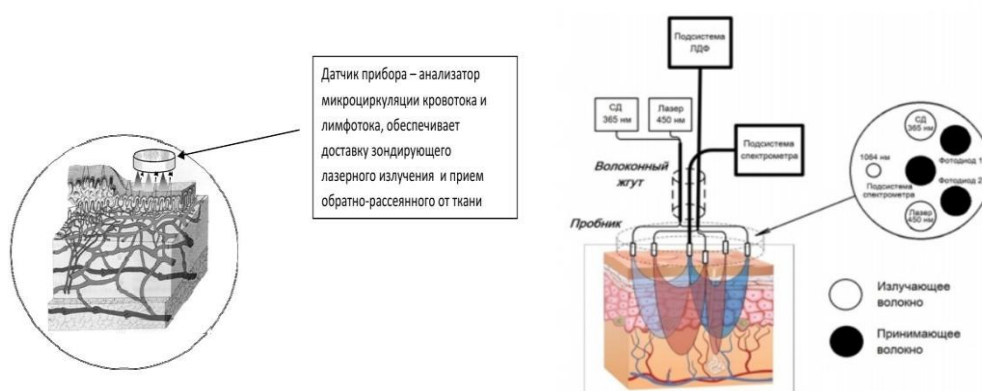


Рисунок 2.13 – Принцип метода лазерной доплеровской флуометрии [Крупаткин А.И., 2013]

Лазерное излучение, отражённое от статистических компонентов ткани не изменяет своей частоты, а лазерное излучение, которое отражается от подвижных эритроцитов имеет доплеровское смещение частоты по отношению к зондирующему сигналу», это помогает выявить скорость передвижения эритроцитов в зондируемом участке ткани.

Так как сосудистые стенки, благодаря наличию в них гладкой мускулатуры имеют свойство попеременно сокращаться и расслабляться, в результате этого в микрососудах может изменяться поток эритроцитов, так же это зависит и от наличия пульсовой волны. О достоверности методики можно

судить исходя из того, что мы фиксируем сигнал с объёма ткани в 1 мм^3 , а это свидетельствует о том, что в зондируемом участке находится большое количество эритроцитов.

Основными параметрами МЦР, анализируемыми после введения тестируемых соединений методом ЛДФ, «являлись следующие показатели базального кровотока:

– ПМ (перф. ед.) – показатель микроциркуляции, характеризующий общую (капиллярную и внекапиллярную) усредненную стационарную перфузию микрососудов за время исследования;

– СКО (σ , перф. ед.) – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения ПМ, именуемое в микрососудистой семантике как флукс («*flux*»), отражает среднюю модуляцию кровотока во всех частотных диапазонах;

– Кв (%) – коэффициент вариации, отражает выраженность вазомоторной активности сосудов МЦР и вычисляется по формуле»:

$$K_v = (\text{СКО} / \text{ПМ}) * 100\%. \quad (2.1)$$

В работе А. И. Крупаткина и др. указано: «расчётные параметры М, СКО, Кв дают общую оценку состояния МЦ крови. Более детальный анализ функционирования МЦР можно провести на втором этапе обработки ЛДФ-грамм при исследовании структуры ритмов колебаний кровотока в МЦР. Интенсивность потока крови при этом является результатом суперпозиции основных гемодинамических ритмов [Schmid – Schonbein H., 1997].

Вейвлет-преобразование позволяет точно и корректно проводить анализ нормированных характеристик ритмов колебаний кровотока: эндотелиального, нейрогенного, миогенного, дыхательного и пульсового компонентов» [Крупаткин А.И., 2005; Козлов В.И., 2012].

Амплитудно-частотные характеристики осцилляций кожного кровотока приведены в работе [Крупаткин А.И., 2005], однако у крыс имеются определенные особенности частотных диапазонов основных регистрируемых ритмов [Humeau A., 2004].

Амплитуда колебаний перфузии в эндотелиальном диапазоне (Аэ) – обусловлены секреторной активностью эндотелия, а именно выбросом вазодилататора оксида азота (NO), частотный диапазон у крыс составляет (0,01–0,076 Гц).

Амплитуда колебаний перфузии в нейрогенном диапазоне (Ан) – обусловлены симпатическими адренергическими влияниями на гладкие мышцы артериол, частотный диапазон у крыс составляет (0,076–0,2 Гц).

Амплитуда колебаний перфузии в миогенном диапазоне (Ам) – обусловлены внутренней активностью прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол, частотный диапазон у крыс составляет (0,2–0,74 Гц).

Амплитуда колебаний перфузии в дыхательном диапазоне (Ад) – связаны с респираторными влияниями со стороны вегетативной деятельности сердечной мышцы и дыхательной модуляцией веноулярного кровообращения, частотный диапазон у крыс составляет (0,74–2,0 Гц).

Амплитуда колебаний перфузии в пульсовом диапазоне (A_c) – отражают перфузионное давление в микрососудах, связаны с перепадами систолического и диастолического давления, частотный диапазон у крыс составляет (2,0–5,0 Гц).

Регистрируемые амплитуды осцилляций кровотока нейрогенного и миогенного эндотелиально-независимого происхождения прямо связаны с величинами просвета микрососудов, а, следовательно, и с мышечным тонусом» [Козлов В.И., 2012; Крупаткин А.И., 2007].

Нейрогенный тонус (НТ) резистивных микрососудов, отображающий активность α -адренорецепторов мембраны гладкомышечных клеток рассчитывали по формуле»:

$$HT = (\sigma * A_{Dcp.}) / (A_n * PM), \quad (2.2)$$

где σ - среднее квадратичное отклонение показателя микроциркуляции, $A_{Dcp.}$ – среднее артериальное давление, A_n – значение амплитуды колебаний перфузии в нейрогенном диапазоне; PM – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции.

Миогенный тонус (МТ) метартериол и прекапиллярных сфинктеров обратно пропорционален амплитуде осцилляций миогенного диапазона (A_m) и определяется следующим образом:

$$MT = (\sigma * A_{Dcp.}) / (A_m * PM), \quad (2.3)$$

где A_m – значение амплитуды колебаний перфузии в миогенном диапазоне.

Среднее артериальное давление у животных ($A_{Dcp.}$, мм рт. ст.) рассчитывается по формуле:

$$A_{Dcp.} = DAD + 1/3(SAD - DAD), \quad (2.4)$$

где DAD – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); SAD – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.).

Показатель шунтирования (ПШ) определяли по формуле [Крупаткин А.И., 2013]:

$$PSh = MT/HT = A_n/A_m. \quad (2.5)$$

Таким образом, увеличение амплитуды нейрогенных колебаний (НТ понижен) на фоне уменьшения амплитуды миогенных колебаний (МТ – повышен) указывает на увеличение ПШ и наоборот.

О величине нутритивного кровотока ($M_{нутр.}$) судили по формуле [Крупаткин А.И., 2007]:

$$M_{нутр.} = PM/PSh. \quad (2.6)$$

Общую мощность спектра флуксуций (M) определяли, как сумму квадратов показателей амплитуд ритмических составляющих по формуле [Крупаткин А.И., 2013]:

$$M = A_c^2 + A_n^2 + A_m^2 + A_d^2 + A_s^2. \quad (2.7)$$

Вклад каждого компонента (X_i , %) в общую мощность спектра рассчитывали по формуле [Крупаткин А.И., 2013]:

$$X_i = (A_i^2/M) * 100 \%, \quad (2.8)$$

где A_i – амплитуда колебаний перфузии в искомом диапазоне.

Сумму A_{max} в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном и пульсовом частотных диапазонах расценивали как мощность механизмов, обеспечивающих приток крови в микроциркуляторное русло по формуле [Крупаткин А.И., 2005; Krupatkin A.I., 2006]:

$$\Sigma A_{max} = A_{\Sigma} + A_n + A_m + A_c. \quad (2.9)$$

Соотношение притока крови к венозному оттоку (С) рассчитывали по формуле [Крупаткин А.И., 2005; Krupatkin A.I., 2006]:

$$C = \Sigma A_{max} / A_d. \quad (2.10)$$

2.8 Методика регистрации показателей двигательной активности в тесте «Открытое поле»

Для проведения теста использовали специализированную рабочую станцию размером 45 x 45 см с прозрачными полипропиленовыми стенками высотой 20 см (IR Actimeter, PanLab Harvard Apparatus» Испания) с двумя инфракрасными рамками – датчиками движений (рисунок 2.14).

Для управления компьютеризированной системой использовали с программное обеспечение Actitrack 2.0 (PanLab Harvard Apparatus» Испания)».

Животное помещается у стенки «Актиметра» и проводится регистрация поведения на протяжении 3 минут. Данный тест основан на возникновении двух антагонистических тенденций: новизна среды приводит к развитию у животного комплекса противоречивых поведенческих реакций, отражающих тревожность с одной стороны и стремление исследовать новую территорию с другой.



Рисунок 2.14 – Внешний вид установки теста «открытое поле». Фото автора: И. Миронюк, 2025.

Основные показатели двигательной активности крыс представлены в таблице (таблица 2.3).

Таблица 2.3 – Основные показатели двигательной активности крыс в тесте «Открытое поле»

Показатель	Значение
Общая активность (кол-во актов)	Количественная мера физической активности животного (сумма стереотипов и двигательной активности).
Средняя скорость (см/с)	Мера средней интенсивности физической активности в течение заданного временного интервала.
Общая дистанция (см)	Предоставляет информацию о масштабе двигательной активности и может быть полезна для оценки физической формы.

2.9 Методика подсчёта лейкоцитарной формулы в периферической крови крыс

Методика подсчёта лейкоцитарной формулы в периферической крови крыс включает несколько ключевых этапов: забор крови, подготовку мазка, его окраску и микроскопическое исследование.

Гематологический анализ, или общий анализ крови, направленный на оценку качественного и количественного состава крови, позволяет учитывать широкий спектр показателей.

Хронический стресс посредством гипокинезии и комбинированный последовательный острый стресс (тест вынужденного плавания, 30 минут), представляют собой два различных, но в то же время взаимодополняющих подхода к моделированию стрессовых состояний. Эти модели позволяют более детально исследовать механизмы стресс-индуцированных изменений в организме и выявить возможные различия в реакциях на различные типы стрессовых воздействий.

Стресс оказывает значительное влияние на функциональные системы организма, в частности, на систему крови. Изменения показателей крови при стрессе отражаются в лейкоцитарной формуле. Л.Х. Гаркави и Е.Б. Квакина [Квакина Е.Б., 1969; Гаркави Л.Х. и др., 1990] исследовали изменение функций при действии стрессоров, описав неспецифические адаптационные реакции, рассчитав индекс (соотношение числа лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов), который показывает стресс-реакцию.

Кровь отбирали в пробирки с ЭДТА («Impromini», КЗ, Россия) объемом 0,2 мл. Гематологический анализ крови был выполнен в течение 30 мин с момента отбора проб при помощи гематологического анализатора «Mythic 18» (Швейцария) (рисунок 2.15).



Рисунок 2.15 – Внешний вид гематологического анализатора «Mythic 18» (Швейцария). Фото автора И. Миронюк.

Одной из задач явилось изучение состава лейкоцитарной формулы крови крыс. Лейкоцитарная формула – соотношение разных видов лейкоцитов в мазке крови, выраженное в процентах [Кишкун А.А., 2010] (рисунок 2.16).

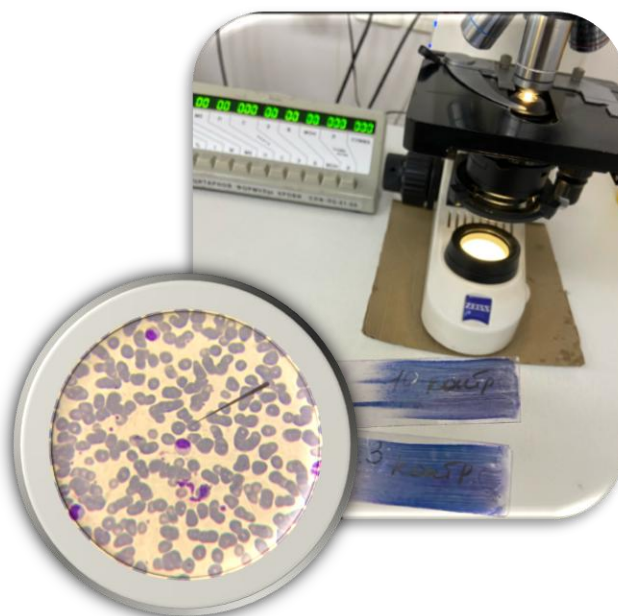


Рисунок 2.16 – Микроскопическая картина. Сегментоядерные нейтрофилы периферической крови лабораторных животных. Окраска по Романовскому-Гимзе. Объектив ($\times 100$). Фото автора: И. Миронюк, 2025

Широкая группа клеток крови, которая делится на две основные подгруппы — зернистые (гранулированные, гранулоциты) и незернистые (негранулированные, агранулоциты) [Кишкун А.А., 2010].

Гранулоциты — это базофилы, эозинофилы, нейтрофилы и агранулоциты — это лимфоциты и моноциты. Изменения, касающиеся морфологии и количества лейкоцитов крови, чаще всего в доклинических исследованиях указывают на физиологические процессы (стресс) и системные заболевания (воспаление) [Сорокина А.В. и др., 2019].

В сравнении с нормами, присущими для человека (37,95–71,44% у мужчин и 38,85–74,57% у женщин) [Казакова М.С. и др., 2012], число сегментоядерных нейтрофилов представленных лабораторных животных меньше в 2–3 раза. Объяснением этого является тот факт, что в норме, в отличие от человека, преобладающим типом форменных элементов крови у рассматриваемых животных являются лимфоциты.

Лимфоциты наиболее распространенный тип лейкоцитов, обнаруживаемых в мазках периферической крови грызунов [O’Connell K.E. et al., 2015]. Моноциты млекопитающих, как правило, являются самыми крупными лейкоцитами периферической крови.

В норме показатели для крови крыс являются следующими (таблица 2.4)

Таблица 2.4 – Норма содержания форменных элементов крови для крыс самцов линии Вистар, % [Мирошников М.В. и др., 2024]

Показатель	лимфоциты	моноциты	нейтрофилы		эозинофилы	базофилы
			палочк.	сегмент.		
Норма	59-97%	0-8%	0-3 %	0-30%	0-4%	0-1,8 %

2.10 Методика проведения гистологического анализа толстой кишки крыс

Гистологический анализ толстой кишки крыс включает несколько ключевых этапов: забор и фиксация материала, подготовка срезов, окрашивание и микроскопическое исследование.

Животных выводили из эксперимента на 12-е сутки эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии.

Во всех группах (контрольной и экспериментальных) декапитация животных и взятие фрагментов толстой кишки были однотипными.

Гистологические препараты готовили в соответствии со стандартными методиками. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином [Коржевский Д.Э., 2010]. Использовался метод световой микроскопии: микроскоп DM2000 (Leica, Германия) с объективами Plan 10x и Plan 40x; камера DFC295 сканер гистопрепаратов Aregio CS2 (Leica, США).

Морфометрические характеристики тканевых структур гистологических препаратов получали, используя систему визуального анализа, а также с помощью программы Image J, калибруя измерения по шкале TS-M1 0.01 mm/100 divstage micrometer [Коржевский Д.Э., 2010]. Данная программа Image J позволяет отображать, редактировать, анализировать и

обрабатывать 8, 16 и 32 - битные изображения и является совершенным инструментом обработки массивов изображений при проведении морфометрических исследований.

Динамика массы крыс в условиях хронического стресса посредством 10-ти дневной гипокинезии. Полученные результаты показали, что изменение массы тела крыс зависела от длительности гипокинезии.

Оценка динамики изменения массы тела крыс в условиях гипокинезии показала устойчивую тенденцию к ее уменьшению (таблица 2.5).

Таблица 2.5– Динамика массы тела крыс при действии гипокинезии (M±m)

Сроки (сутки)	Контроль (n=10)	ГК (n=10)	АСК-ГК (n=10)	АСZn ²⁺ -ГК (n=10)	АСMg ²⁺ -ГК (n=10)
Масса тела, г					
1 сутки	247,50±7,50	250,00±5,41	250,00±5,50	244,50±6,08	247,50±2,50
5 сутки	240,33±4,50	210,75±4,35	218,50±4,52	195,25±5,36	201,25±4,39
10 сутки	236,22±6,50	180,50±5,45	195,00±4,55	167,40±5,00	170,00±3,66

2.11 Статистическая обработка экспериментальных данных

Использованы программы Microsoft Excel и программный пакет Graph Pad Prism10.0 («Graph Pad Software», Inc., США) для статистической обработки и графического оформления полученных в работе данных.

Для управления компьютеризированной системой теста «открытое поле» использовали программное обеспечение Actitrack 2.0 (PanLab Harvard Apparatus» Испания)», для обработки регистрируемых показателей АД и ЧСС использовалась программа «AcqKnowledge 5.0», для обработки показателей микроциркуляции – LDF 2.20.0.507WL. Визуальный анализ гистопрепаратов – программа Image J. Проверку распределения данных на нормальность проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Достоверность различий между группами оценивали с помощью ANOVA с post-hoc тестом Тьюки для множественных сравнений.

РАЗДЕЛ III

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Динамика показателей кожной микроциркуляции крыс в моделях хронического и острого стресса: влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием

Согласно полученным данным, у животных контрольной группы в течение 10-дневного наблюдения осцилляторные и неосцилляторные показатели МЦ оставались в пределах физиологической нормы, что подтверждает результаты наших прошлых исследований [Чуян Е.Н. и др., 2021, Чуян Е.Н. и др., 2022].

У крыс второй группы, которые подвергались изолированному 10-дневному ограничению подвижности (ГК), наблюдались значительные изменения показателей МЦ, причем степень изменений зависела от продолжительности ГК (рисунок 3.2-3.4). Изменения параметров МЦ начались на 5-е сутки ГК и наблюдали более значимые к 10-м суткам, что выражалось в снижении уровня перфузии (ПМ) на 39,82 % ($p \leq 0,05$), амплитуд эндотелиальных ритмов (Аэ), которые обусловлены секреторной активностью эндотелия и синхронизированы с периодическим релизингом оксида азота (NO) эндотелием сосудов [Крупаткин А.И., 2013] на 20,18 % ($p \leq 0,05$), миогенных ритмов (Ам), которые обусловлены периодической активностью гладкомышечных волокон артериол, приводящих к изменению диаметра их просвета [Крупаткин А.И., 2013] на 36,42°% ($p < 0,05$); нейрогенных осцилляций (Ан), которые отражают активность со стороны симпатических адренергических нервных волокон [Крупаткин А.И., 2013] на 51,04°% ($p < 0,05$), на фоне снижения миогенного (МТ на 57,87%; $p < 0,05$) и нейрогенного тонусов (НТ на 105,00%; $p < 0,05$); сердечных (Ас) (пульсовая волна со стороны артерий) на 15,04°%, ($p < 0,05$), и дыхательных (Ад) ритмов (присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен) на 27,13°% ($p < 0,05$) соответственно относительно таковых в контрольной группе (рисунок 3.1 – 3.4).

Таким образом, результаты проведенного исследования подтверждают, что 10-дневное ограничение подвижности (ГК) индуцирует комплексные нарушения регуляции тканевой микроциркуляции на всех уровнях, характеризующиеся вазоконстрикцией.

Результаты настоящего исследования показали, что последовательное действие хронического и острого стрессоров, через 30 минут после экспериментального моделирования острого стресса в модели вынужденного плавания у крыс наблюдалось достоверное увеличение как осцилляторных так и неосцилляторных показателей МЦ по сравнению с контролем: Аэ увеличился на 154,20°%, ($p < 0,05$), Ан – на 86,78°% ($p < 0,05$) на фоне снижения нейрогенного тонуса (НТ на 39,34%; $p < 0,05$), Ам – 147,75°% ($p < 0,05$) на фоне снижения миогенного тонуса (МТ на 54,27%; $p < 0,05$), дыхательных (Ад)

ритмов (присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен) [Крупаткин А.И., 2013] на 123,80% ($p < 0,05$), Ас – на 87,36% ($p < 0,05$), ПМ – на 104,64% ($p < 0,05$), СКО – на 82,35% ($p < 0,05$), Кв на 29,29% ($p < 0,05$), что свидетельствует об адапционных реакциях организма на стресс, направленных на усиление кровоснабжения тканей - развитии вазодилатации.

Таким образом, воздействие 30-ти минутного острого стресса в модели вынужденного плавания на крыс привело к нивелированию вазоконстрикции, развивающейся при 10-тидневной гипокинезии, о чем свидетельствует достоверное увеличение всех исследуемых показателей кожной микроциркуляции.

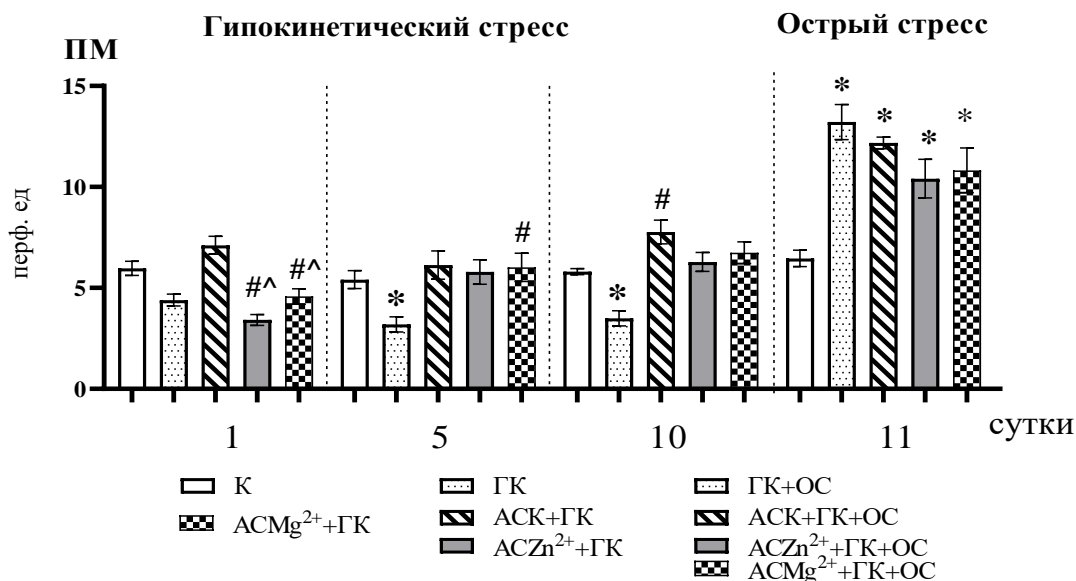


Рисунок 3.1 – Динамика показателя микроциркуляции (ПМ) у животных, получавших ацетилсалициловую кислоту (АСК) и ее координационные соединения с цинком (АСZn²⁺) и магнием (АСMg²⁺) в дозе 10 мг/кг в моделях хронического стресса, вызванного ограничением подвижности (ГК, 1-10 сутки) и острого стресса (ОС) в тесте вынужденного плавания (11-е сутки).

Примечание: * – уровень достоверности различий по post-hoc тесту Тьюки для множественных сравнений относительно значений показателей в контроле; # – уровень достоверности различий по post-hoc тесту Тьюки для множественных сравнений относительно значений показателей в группе ГК; ^ – уровень достоверности различий по post-hoc тесту Тьюки для множественных сравнений относительно значений показателей в группе АСК-ГК.

У животных третьей группы, получавших внутрибрюшинные инъекции АСК и находившихся в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности в течение 10-ти суток наблюдались выраженные изменения показателей МЦ. В частности, степень этих изменений зависела от длительности воздействия ГК, что позволяет говорить о модифицирующем влиянии АСК на механизмы регуляции МЦ в стрессовых условиях. Следует отметить, что наиболее заметные изменения показателей МЦ наблюдались на 1-е и 10-е сутки эксперимента по сравнению со второй группой животных, которые находились в условиях 10-тидневной ГК (рисунок 3.2 – 3.4).

Таблица 3.1 – Динамика показателей кожной микроциркуляции крыс под влиянием ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния в условиях 10-тидневного хронического стресса, посредством гипокинезии

Амплитуды эндотелиальных ритмов (Аэ, перф. ед.)	Сутки исследования	Группа/ номер				
		Контроль (1)	ГК (2)	АСК -ГК (3)	АСZn ²⁺ - ГК (4)	АСMg ²⁺ - ГК (5)
	1	2	3	4	5	6
	1	4,08±0,31	3,28±0,33	6,12±0,39 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	4,26±0,50 p ₃ < 0,001	3,49±0,39 p ₃ <0,001
	5	4,27±0,54	3,55±0,37 p ₁ <0,05	5,25±0,54	5,19±0,56	5,03±0,32
	10	4,26±0,50	3,40±0,37 p ₁ <0,05	7,52±0,79 p ₂ <0,05	4,73±0,72	4,24±0,72
Амплитуды нейрогенных ритмов (Ан, перф. ед.)	1	4,60±0,50	4,09±0,38	5,59±0,60	4,47±00,43	4,28±0,52
	5	4,50±0,62	3,77±0,56 p ₁ <0,05	6,14±0,55	5,37±0,43	4,88±0,88
	10	5,74±0,45	2,81±0,28 p ₁ <0,05	9,79±0,47 p ₂ <0,05	3,71±0,83 p ₃ < 0,001	5,03±0,85 p ₃ < 0,001

Продолжение таблицы 3.1

Амплитуды миогенных ритмов (Ам, перф. ед.)	Сутки исследования	Группа/номер				
		Контроль (1)	ГК (2)	АСК -ГК (3)	АСZn ²⁺ - ГК (4)	АСMg ²⁺ -ГК (5)
	1	2	3	4	5	6
Амплитуды миогенных ритмов (Ам, перф. ед.)	1	4,14±0,39	3,59±0,38	5,67±0,45 p ₂ <0,05	4,23±0,46	4,06±0,45
	5	4,31±0,26	4,12±0,68 p ₁ <0,05	5,98±0,73	5,56±0,49	5,30±0,54
	10	5,49±0,65	3,49±0,62 p ₁ <0,05	8,35±0,64 p ₂ <0,05	4,15±0,97	6,06±0,70
Амплитуды дыхательных ритмов (Ад, перф. ед.)	1	5,44±0,47	4,83±0,34	8,91±0,24 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	5,13±0,39 p ₃ < 0,001	4,70±0,73 p ₃ < 0,001
	5	5,47±0,34	4,46±0,29 p ₁ <0,05	6,16±0,75	6,07±0,75	4,57±0,59
	10	5,97±0,75	4,35±1,22 p ₁ <0,05	7,06±0,76	4,57±0,59 p ₂ <0,05	5,74±0,71
Амплитуды пульсовых ритмов (Ас, перф. ед.)	1	5,44±0,47	3,69±0,49	8,81±0,31 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	5,18±0,27 p ₃ < 0,001	4,88±0,44 p ₃ < 0,001
	5	5,57±0,41	4,01±0,16 p ₁ <0,05	7,44±0,23	6,17±0,64	5,59±0,52
	10	5,85±0,87	4,97±0,57 p ₁ <0,05	6,62±0,34	5,08±0,82	5,33±0,44

Продолжение таблицы 3.1

Показатель микроциркуляции (ПМ, перф. ед.)	Сутки исследования	Группа/номер				
		Контроль (1)	ГК (2)	АСК -ГК (3)	АСZn ²⁺ - ГК (4)	АСMg ²⁺ -ГК (5)
	1	2	3	4	5	6
микроциркуляции (ПМ, перф. ед.)	1	5,97±0,34	4,40±0,29	7,11±0,44	3,41±0,26 p ₂ <0,05 p ₃ <0,001	4,57±0,38 p ₂ <0,05 p ₃ <0,001
	5	5,41±0,44	3,19±0,37 p ₁ <0,05	6,13±0,69	5,79±0,60	6,01±0,69 p ₂ <0,05
	10	5,80±0,14	3,49±0,37 p ₁ <0,05	7,77±0,58 p ₂ <0,05	6,28±0,46	6,74±0,53
СКО	1	2,62±0,13	1,74±0,27	2,95±0,57	1,41±0,15	1,53±0,22
	5	2,63±0,20	1,30±0,18	2,18±0,37	2,11±0,30	1,79±0,26
	10	1,60±0,19	0,88±0,07	1,66±0,20	1,92±0,31	1,86±0,18
Кв	1	45,09±4,19	21,34±3,20	29,76±3,64	39,14±3,32	33,47±5,92
	5	42,41±1,82	32,78±2,47	36,43±2,98	29,36±4,43	30,46±6,98
	10	28,09±4,03	25,79±2,98	37,34±5,09	30,25±3,39	28,33±3,43

Таблица 3.2 – Динамика осцилляторных показателей кожной микроциркуляции крыс под влиянием ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния в условиях 30-ти минутного острого стресса в тесте вынужденного плавания

Острый стресс (30 мин) в тесте вынужденного плавания	Сутки исследования	Показатель				
		Аэ, перф.ед.	Ан, перф.ед.	Ам, перф.ед.	Ад, перф.ед.	Ас, перф.ед.
	1	2	3	4	5	6
Контроль (1)	5,00±0,89	6,43±0,64	4,67±0,67	5,21±0,52	5,70±0,48	
ГК-ОС (2)	12,71±0,80 p ₁ <0,05	12,01±0,65 p ₁ <0,05	11,57±1,10 p ₁ <0,05	11,66±0,61 p ₁ <0,05	10,68±0,72 p ₁ <0,05	
АСК-ГК-ОС (3)	9,63±0,80 p ₁ <0,05	12,39±1,67 p ₁ <0,05	10,10±1,82 p ₁ <0,05	11,59±0,63 p ₁ <0,05	9,48±0,82	
АСZn ²⁺ -ГК-ОС (4)	7,07±0,92	9,20±1,35	8,18±0,70	11,98±0,43 p ₁ <0,05	8,23±0,77	
АСMg ²⁺ -ГК-ОС (5)	8,27±0,95	9,86±1,58	8,28±0,67	13,01±0,69 p ₁ <0,05	9,29±0,58	

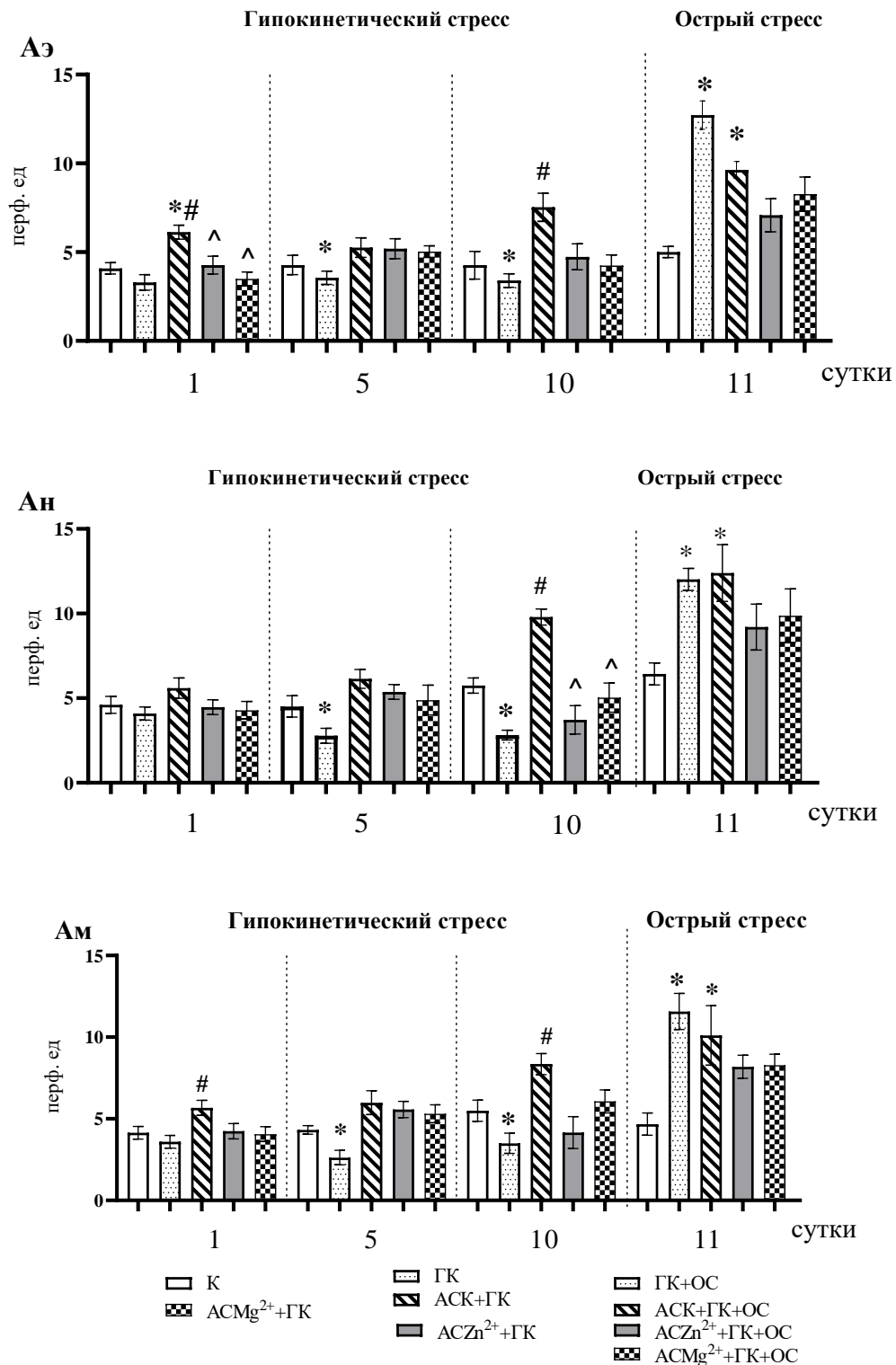


Рисунок 3.2 – Динамика амплитуд эндотелиальных (Аэ), нейрогенных (Ан), миогенных (Ам) ритмов у животных, получавших ацетилсалициловую кислоту (АСК) и ее координационные соединения с цинком (АСZn²⁺) и магнием (АСMg²⁺) в дозе 10 мг/кг в моделях хронического стресса, вызванного ограничением подвижности (ГК, 1-10 сутки) и острого стресса (ОС) в тесте вынужденного плавания (11-е сутки).

Примечания те же, что на рис. 3.1

Введение АСК животным при ГК стрессе в 1-ые сутки исследования сопровождалось статистически значимым увеличением показателя Аэ на 50,00 % ($p < 0,01$) относительно первой группы и на 86,58 % ($p < 0,01$) по сравнению со второй группой животных, находившихся в условиях ГК (рисунок 3.3). Значимое повышение Аэ на 76,52 % ($p < 0,01$) отмечено после 10-кратного введения АСК по сравнению со второй группой в условиях ГК (рисунок 3.3).

Анализ данных показал, что под действием АСК в условиях ГК-стресса наблюдается увеличение значений амплитуды эндотелиальных ритмов как относительно контроля, так и группы животных, находящихся в условиях ГК соответственно. Данное изменение служит маркером увеличения базального уровня секреции оксида азота (NO), индуцирующего вазодилатацию микрососудистого русла.

Повышение амплитуды эндотелиально-независимых колебаний Ан на 248,39 % после 10-кратного введения АСК свидетельствует о развитии вазодилатации, что подтверждается снижением НТ прекапиллярных резистивных микрососудов, наиболее выраженное также после 10-кратного введения АСК (на 79,42%; $p < 0,05$) относительно группы животных, находившихся в условиях ГК стресса.

В ходе 10-дневного эксперимента при введении АСК на фоне ГК-стресса зафиксировано значимое увеличение амплитуды Ам-ритмов (139,25 %; $p < 0,05$) относительно второй группы ГК (рисунок 3.3), что подтверждается снижением МТ на 70,05 % ($p < 0,05$). Подобная динамика свидетельствует об усилении активности миоцитов прекапиллярных сфинктеров и метартериол, увеличении количества функционирующих капилляров.

Учитывая различия в регуляции артериол и артериовенулярных анастомозов (АВА) [Крупаткин А.И., 2013], важно анализировать соотношение шунтового и нутритивного кровотока — показатель шунтирования (ПШ) на ЛДФ-грамме. У животных, получавших АСК при ГК-стрессе, ПШ снижался относительно контроля, оставаясь > 1 . Это исключает спазм шунтов в МЦР животных 3-й группы [Крупаткин А.И., 2013].

В условиях ГК-стресса на фоне введения АСК отмечено возрастание амплитуд как активных (тонусформирующих), так и пассивных компонентов регуляции МЦ, в частности, Ас увеличилась на 61,94 % ($p < 0,05$) и Ад на 63,78 % ($p < 0,05$) в 1-й день эксперимента по сравнению с контролем (рис. 4). Это свидетельствует об усилении притока крови в систему МЦ вследствие пульсового кровенаполнения [Крупаткин А.И., 2013] (рисунок 3.4). В ходе исследования установлено, что у животных, подвергнутых воздействию АСК на фоне ГК-стресса, амплитуды Ас на 138,78 % ($p < 0,05$) и Ад 84,47 % ($p < 0,05$) существенно превышали соответствующие показатели животных второй группы (находившихся исключительно в условиях ГК-стресса). При динамическом наблюдении в последующие дни отмечено сохранение повышенных значений Ас и Ад, как относительно контрольной

группы, так и второй группы при ГК-стрессе. Однако статистический анализ не выявил значимых различий с контролем ($p>0,05$) (рисунок 3.4).

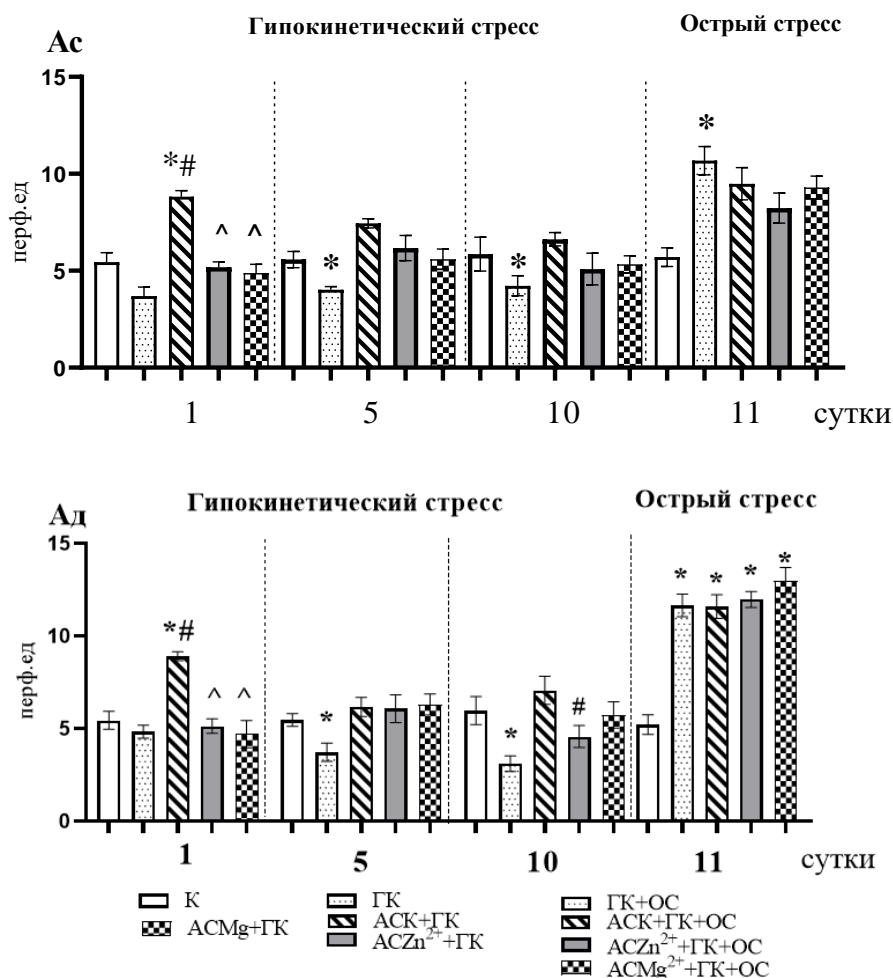


Рисунок 3.3 – Динамика амплитуд пульсовых (Ас) и дыхательных (Ад) ритмов у животных, получавших ацетилсалициловую кислоту (АСК) с металлами цинка (АСZn²⁺) и магния (АСMg²⁺) в дозе 10 мг/кг в моделях хронического стресса, вызванного ограничением подвижности (ГК, 1-10 сутки) и острого стресса (ОС) в тесте вынужденного плавания (11-е сутки).

Примечания те же, что на рис. 3.1.

В результате последовательного действия ГК и ОС введение АСК в условиях ГК стресса на 11-е сутки эксперимента отмечено увеличение Ад на 123,80 % ($p<0,05$) относительно контрольной группы (рисунок 3.4). Примечательно, что сочетание роста амплитуд Ад и Ас с одновременным снижением вазомоторного тонуса и периферического сопротивления указывает на двойственный механизм формирования гиперемии: с одной стороны, вазодилатация артериол усиливает приток крови; с другой — ограничение венозного оттока препятствует её оттоку. Таким образом, гиперемия у животных, получавших АСК в условиях ГК-стресса, является результатом дисбаланса между усиленным притоком и затруднённым оттоком крови в МЦР.

Взаимодействие низкочастотных и высокочастотных компонентов спектра, обуславливают регуляцию в системе МЦ. Поэтому изменение структуры амплитудно-частотного спектра ЛДФ-грамм у животных экспериментальных групп наглядно демонстрирует анализ вклада отдельных его ритмических составляющих в общую мощность спектра (рисунок 3.4).

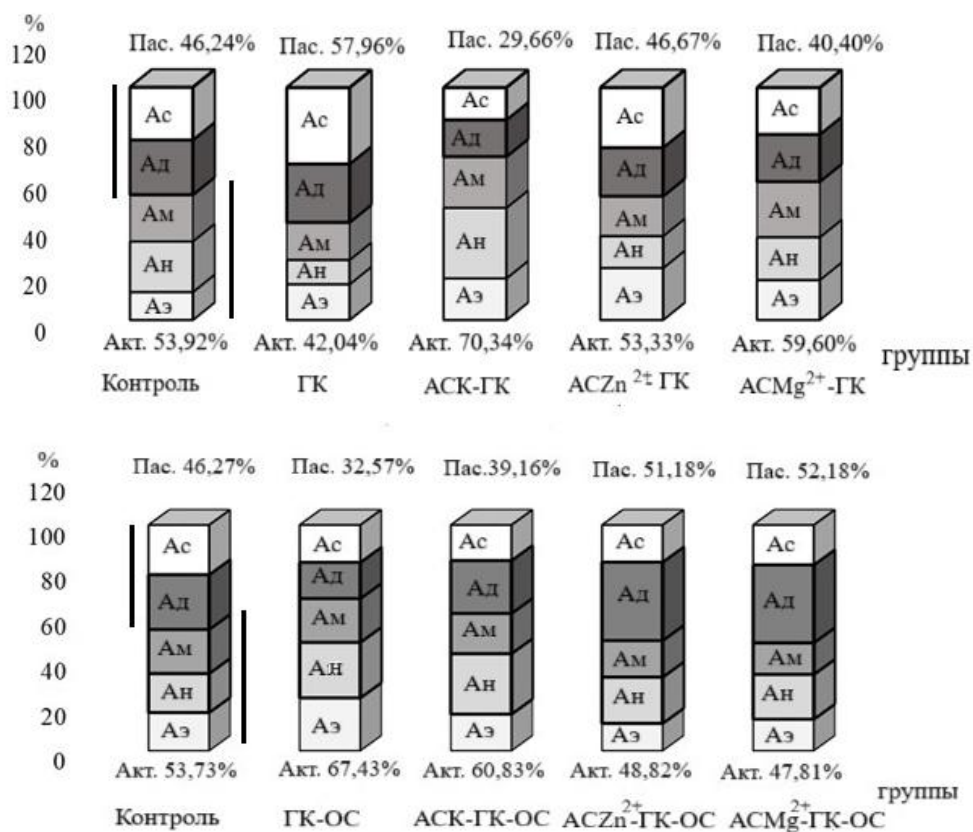


Рисунок 3.4 – Вклад колебаний кровотока в различных частотных диапазонах (в %) в общий спектр модуляции при введении ацетилсалициловой кислоты (АСК) и салицилатов цинка (АСZn²⁺) и магния (АСMg²⁺) в условиях хронического гипокинетического (ГК, 1-10 сутки) и острого стресса (ОС, 11 сутки).

Суммарное соотношение амплитуд эндотелиальных, нейрогенных, миогенных (активных) и дыхательных, пульсовых (пассивных) механизмов контроля МЦ в контрольной группе животных распределилось практически поровну.

Известно, что у крыс выше вклад в общую мощность спектра высокочастотных компонентов, а вклад низкочастотных ниже (рисунок 3.4).

Однако структура общей мощности спектра в других рассматриваемых группах животных имела определенные отличия (рисунок 3.5).

Так, в ЛДФ-граммах животных после введения им АСК при моделировании хронического стресса, вызванного ограничением подвижности, значительно возрос вклад амплитуд волн активных (в большей степени Ан и Ам при ограничении Аэ), тонусформирующих механизмов контроля МЦ за счет уменьшения вкладов пассивных, что еще раз

свидетельствует о снижении тонуса сосудов, дилатацией прекапиллярных сфинктеров, активации нутритивного кровотока и развитии компенсаторной гиперемии. Данные подтверждают **вазопротективный эффект** АСК в условиях стрессорного воздействия.

На 11-е сутки исследования при введении АСК при ГК и ОС отмечен более выраженный вклад амплитуд пассивных (в большей степени Ад) тонусформирующих механизмов контроля, следовательно, МЦР теряет способность к активной вазомоции.

Выявленные изменения со стороны регуляторных механизмов МЦР у животных при введении АСК-ГК привели и к изменению неосцилляторных показателей МЦ, в частности, на 10-е сутки увеличение ПМ на 122,63% ($p < 0,05$) после введения АСК при ГК стрессе относительно второй группы животных, находившихся исключительно в условиях ГК стресса (рисунок 3.2). Поскольку известно, что ПМ отражает усредненную величину перфузии в капиллярах, артериолах и венах [Крупаткин А.И., 2013], то можно сделать вывод об усилении тканевого кровотока при ГК-стрессе.

В результате последовательного воздействия ГК и ОС на 11-е сутки введение АСК при ГК стрессе вызывало рост ПМ – на 88,54 % ($p < 0,05$) относительно значений в контрольной группе (рисунок 3.2).

Известно, что в системе МЦ кровотока регулируется за счёт согласованной работы низко- и высокочастотных осцилляторных компонентов, фиксируемых в спектре ЛДФ-граммы. Как отмечено в [Козлов В.И. и др., 2012], диагностическая ценность ЛДФ-исследования заключается в оценке величины ПМ и анализе колебательных процессов, связанных с артериальным притоком (Ас) и дыхательной модуляцией венозного оттока (Ад). Отношение Ас / Ад в течение 10 суток введения АСК при ГК и на 11-е сутки после введения АСК при ГК-ОС составило ≤ 1 , что подтверждает развитие артериальной гиперемии.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что АСК оказывает выраженное влияние на процессы МЦ крыс в условиях хронической гипокинезии за счет участия, как местных, так и системных механизмов регуляции тонуса сосудов. Различия в выраженности вазодилатации при 10-тидневном введении АСК при ГК связаны с разными механизмами регуляции сосудистого тонуса: АСК при гипокинезии (1-10 сутки) компенсирует нарушения МЦ, тогда как ОС (11-е сутки) вызывает более динамичные изменения, которые сопровождались более выраженной вазодилатацией. Для более точного понимания этих процессов необходимы дополнительные исследования, учитывающие индивидуальные особенности организма и длительность воздействия факторов.

В результате исследования у животных 4-й группы, которым осуществлялось 10-кратное введение координационного соединения АСК с цинком в условиях ГК стресса не было выявлено статистически значимых различий по анализируемым показателям МЦ во все сроки наблюдения (рисунок 3.2 – 3.4).

Необходимо отметить, что однократное введение $ACZn^{2+}$ при ГК стрессе привело к снижению ПМ на 52,03% ($p < 0,05$), Аэ на 30,39% ($p < 0,05$), Ас и Ад в среднем на 41,70% ($p < 0,05$) соответственно относительно третьей группы животных, получавших инъекции АСК при ГК стрессе (рисунок 3.2, 3.4), что может свидетельствовать о быстром вазомодулирующем эффекте соединения $ACZn^{2+}$ при однократном применении. В отличие от группы АСК + ГК-стресс, у животных, получавших $ACZn^{2+}$ (10-тикратно) зарегистрировано выраженное снижение показателя Ан на 62,10 % ($p < 0,05$) (рисунок 3.3), что указывает на избирательное влияние курсового приёма $ACZn^{2+}$ на нейрогенную регуляцию МЦ. Отсутствие кумулятивных изменений при 10-кратном введении позволяет предположить безопасность курсового применения $ACZn^{2+}$ в отношении основных параметров МЦ.

На 11-е сутки исследования последовательное воздействие ГК и ОС при введении $ACZn^{2+}$ вызвало значительное увеличение Ад на 129,94% ($p < 0,05$) и ПМ на 61,14 % ($p < 0,05$) относительно первой группы (рисунок 3.2, 3.4). Так, последовательное воздействие ГК и ОС усиливает перфузию и дыхательный ритм, что может быть связано с адаптивной перестройкой микроциркуляции в условиях комбинирующего действия стресса. Полученные данные указывают на потенциал $ACZn^{2+}$ как соединения с АСК, способного модулировать микроциркуляцию в условиях стресса, однако требуют дальнейшего изучения механизмов его избирательного действия.

Статистически значимых изменений показателей МЦ у крыс 5-й группы ($АСMg^{2+}$) отмечено не было по сравнению с контролем (рисунок 3.2–3.4). Действительно, ПМ и амплитуды как внутрисосудистых, так и внесосудистых компонентов регуляции микрососудистого тонуса были ниже таковых у животных, которым вводили АСК (рисунок 3.2 – 3.4), в частности после однократного введения отмечено снижение ПМ на 35,72 % ($p < 0,05$), Аэ на 42,97 % ($p < 0,05$) и Ас на 44,60% ($p < 0,05$) относительно значений данного показателя у животных, получавших инъекции АСК при ГК стрессе, что может свидетельствовать о том, что в отличие от молекулы предшественницы АСК, соединение $АСMg^{2+}$ не индуцирует выраженной вазодилатации при курсовом применении (рисунок 3.2 – 3.4).

Кроме этого, следует отметить существенное увеличение вклада активных механизмов регуляции МЦР произошло у крыс 4 и 5 групп при введении им салицилатов $ACZn^{2+}$ (за счет Аэ и Ам) и в большей степени $АСMg^{2+}$ (за счет Аэ, Ан и особенно Ам) при 10-тидневном ГК стрессе (рисунок 3.5).

Следует отметить, что на 11-е сутки эксперимента у животных, находившихся в условиях последовательного действия ГК и ОС осцилляторные показатели МЦ оказались статистически незначимыми по сравнению с контрольной группой и группой животных, получавших АСК (рис. 3). Можно заключить, что в условиях ГК + ОС соединение $АСMg^{2+}$ не превосходит АСК по вазоактивному потенциалу. Однако в результате последовательного действия ГК и ОС введение $АСMg^{2+}$ при ГК стрессе на 11-е сутки эксперимента отмечено увеличение Ад на 149,71 % ($p < 0,05$) и ПМ на

67,49 % ($p < 0,05$) относительно таковых в контрольной группе (рисунок 3.2, 3.4). Напротив, на 11-е сутки эксперимента при действии ГК-ОС, следует отметить существенное снижение вклада активных и усиление пассивных механизмов регуляции МЦР у крыс 4 и 5 групп при введении им АС Zn^{2+} и АС Mg^{2+} (за счет Ад) (рисунок 3.5). Можно предположить, что усиление пассивных механизмов регуляции МЦР связано с компенсаторными реакциями, направленными на поддержание активных механизмов (контроля тонуса сосудов).

Таким образом, в условиях последовательного ГК+ОС стресса соединение АС Mg^{2+} поддерживает перфузию на уровне, сопоставимом с АСК, а в отдельных параметрах даже превосходит его, что может быть важно для защиты микроциркуляторного русла при множественных стрессовых факторах.

В ряде исследований, включая работу [Степаничев М.Ю. и др., 2016], было продемонстрировано, что длительное стрессорное воздействие приводит к истощению адаптационных механизмов организма, что, в свою очередь, снижает его способность противостоять последующим стрессорным факторам.

Результаты анализа данных свидетельствуют о том, что 10-тидневное воздействие ГК стресса в сочетании с применением АСК приводит к статистически значимым изменениям параметров МЦ, напротив развитию вазодилатации микрососудов. Так, исследования [Иванов А.Н. и др., 2020] показали, что в условиях стресса, особенно хронического, могут активироваться механизмы, приводящие к вазоконстрикции из-за дисфункции эндотелия и избыточного образования вазоконстрикторов. Однако, АСК, блокируя синтез тромбоксана А₂ и поддерживая уровень простаглицлина в эндотелии, может противодействовать этому эффекту, способствуя вазодилатации.

Как показали результаты исследования, вазодилатирующее действие оказывают и ионы Zn^{2+} посредством взаимодействия с NO-синтазой, пути которых тесно скоординированы [Zalewski P. D. et. al, 2019]. Ионы Zn необходимы для димеризации эндотелиальной синтазы оксида азота и последующего образования NO, в то время как образование NO приводит к быстрой мобилизации эндотелиальных запасов цинка. Имеющиеся данные [Zalewski P. D. et. al, 2019]. подтверждают существование Zn-регуляторного пути в сосудистой стенке, который связан с генерацией и действием NO и который нарушается при дефиците Zn с последующими последствиями для патогенеза и терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Магний известен как естественный антагонист кальция, способный снижать тонус гладких мышц сосудов. Следует отметить, что в составе координационного соединения АСК с АС Mg^{2+} вазодилатирующий эффект, видимо, модулируется лигандом (АСК), что объясняет отсутствие кумулятивной вазодилатации при многократном введении. Резкое увеличение

АД и ПМ на 11-е сутки может быть следствием активации компенсаторных механизмов (например, усиления дыхательной модуляции кровотока).

Полученные данные согласуются с представлениями о роли магния в поддержании энергетического гомеостаза клеток при окислительном стрессе. Согласно литературе [Солодков А.П. и др. 2013], ОС у крыс в тесте вынужденного плавания вызывает вазодилатацию в течение 1 часа после воздействия стрессора — как адаптивную реакцию и реализуется через несколько ключевых механизмов: повышение выработки вазодилататорных медиаторов (NO, простаглицлина), снижение активности симпатических адренергических вазомоторов, падение тонуса прекапилляров.

Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения $ASMg^{2+}$ как средства коррекции микроциркуляторных нарушений в условиях стресса, особенно при необходимости избежать избыточной вазодилатации.

3.2. Динамика показателей артериального давления у крыс в моделях хронического и острого стресса: влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием.

В ходе 11-дневного наблюдения за животными контрольной группы, получавших физиологический раствор, были получены следующие данные по показателям АД: САД от 113,30 до 111,60 мм рт. ст., ДАД от 72,83 до 73,25 мм рт. ст., ПАД от 40,47 до 38,35 мм рт. ст., что согласуется с результатами других экспериментальных исследований (таблица 3.3) [Чуян Е.Н. и др., 2021].

У крыс второй группы, находившихся в условиях 10-тидневной изолированной ГК выявлены статистически значимые изменения компонентов АД на протяжении всей ГК. В ходе исследования у крыс второй группы, подвергавшихся 10-дневной ГК, выявлены статистически значимые изменения в динамике показателей артериального давления: на протяжении 1-10 суток устойчивое повышение САД в среднем на 14,39% ($p < 0,05$); на 10-е сутки исследования ПАД 49,35% ($p < 0,05$) относительно значений этих показателя в контрольной группе (рисунок 3.5). У животных второй группы, подвергавшихся последовательному воздействию 10-дневной гипокинетической нагрузки с последующим острым стрессом (ОС), спустя 1 час после моделирования ОС, зарегистрировано повышение компонентов АД, что выражалось в однонаправленном увеличении САД 24,46% ($p < 0,05$) и ДАД 29,18% ($p < 0,05$) относительно контроля (рисунок 3.5), что указывает на истощение адаптационных резервов после 10-дневного ГК и активацию компенсаторных механизмов, приводящих к гипертензивной реакции.

Таблица 3.3 – Динамика показателей артериального давления крыс под влиянием ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности

Сутки исследования	Группа/ номер				
	Контроль (1)	ГК (2)	АСК - ГК (3)	АСZn ²⁺ -ГК (4)	АСMg ²⁺ - ГК (5)
1	2	3	4	5	6
Систолическое артериальное давление (САД, мм рт. ст)					
1	113,30±1,99	128,70±2,46 p ₁ >0,05	107,70±2,82 p ₂ >0,05	112,20±3,30 p ₂ >0,05	113,00±3,13 p ₂ >0,05
5	117,20±0,79	129,90±2,60 p ₁ >0,05	97,71±2,11 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	100,00±2,58 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	116,20±2,20
10	111,20±0,79	132,30±3,79 p ₁ >0,05	104,20±4,92 p ₂ >0,05	104,30±3,46 p ₂ >0,05	109,30±1,42 p ₂ >0,05
Диастилическое артериальное давление (ДАД, мм рт. ст)					
1	72,83±3,84	78,50±3,04	69,00±2,42	78,00±1,48	79,20±2,72
5	78,22±1,39	85,78±1,78	70,71±1,90	70,00±2,14 p ₂ >0,05	80,50±2,68 p ₂ >0,05
10	72,50±1,84	74,50±1,84	66,83±3,28	67,14±2,83	65,67±2,38

Продолжение таблицы 3.3

	Сутки исследования	Группа/номер				
		Контроль (1)	ГК (2)	АСК - ГК (3)	АСZn ²⁺ -ГК (4)	АСMg ²⁺ - ГК (5)
	1	2	3	4	5	6
Пульсовое артериальное давление (ПАД, мм рт. ст)	1	40,47±4,29	50,20±4,48	38,70±1,60	34,20±4,37	33,80±3,26
	5	38,98±1,90	44,12±2,48	27,00±1,71	30,00±1,66	35,70±2,37
	10	39,39±1,65	58,30±3,67	37,37±4,14	37,16±3,01	43,63±1,41
Частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин)	1	409,10±19,42	332,70±12,90	445,30±34,86	367,00±16,03	356,50±18,70
	5	404,50±12,17	333,80±19,02	363,10±21,61	381,70±18,44	371,80±20,06
	10	363,00±13,37	303,80±14,34	396,20±16,27	388,30±20,43	355,30±30,43

Таблица 3.4 – Динамика показателей артериального давления крыс под влиянием ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния в модели острого стресса в тесте вынужденного плавания

Острый стресс (30 мин) в тесте вынужденного плавания	Сутки исследования	Показатели			
		САД, мм рт. ст	ДАД, мм рт. ст	ПАД, мм рт. ст	ЧСС, уд/мин
	1	2	3	4	5
	Контроль (1)	111,60±1,74	73,25±2,78	38,35±2,34	356,80±14,64
	ГК-ОС (2)	138,90±3,76 $p_1 > 0,05$	94,63±3,32 $p_1 > 0,05$	44,27±5,62	457,40±18,28
	АСК-ГК-ОС (3)	103,60±3,51 $p_2 > 0,05$	74,43±2,66 $p_2 > 0,05$	29,17±4,96	454,10±22,15
	Zn ²⁺ -ГК-ОС (4)	107,90±2,58 $p_2 > 0,05$	80,71±4,43 $p_2 > 0,05$	27,19±6,39	494,70±31,36
	Mg ²⁺ -ГК-ОС (5)	107,90±2,52 $p_2 > 0,05$	65,33±2,04 $p_2 > 0,05$	42,57±3,07	403,90±22,53

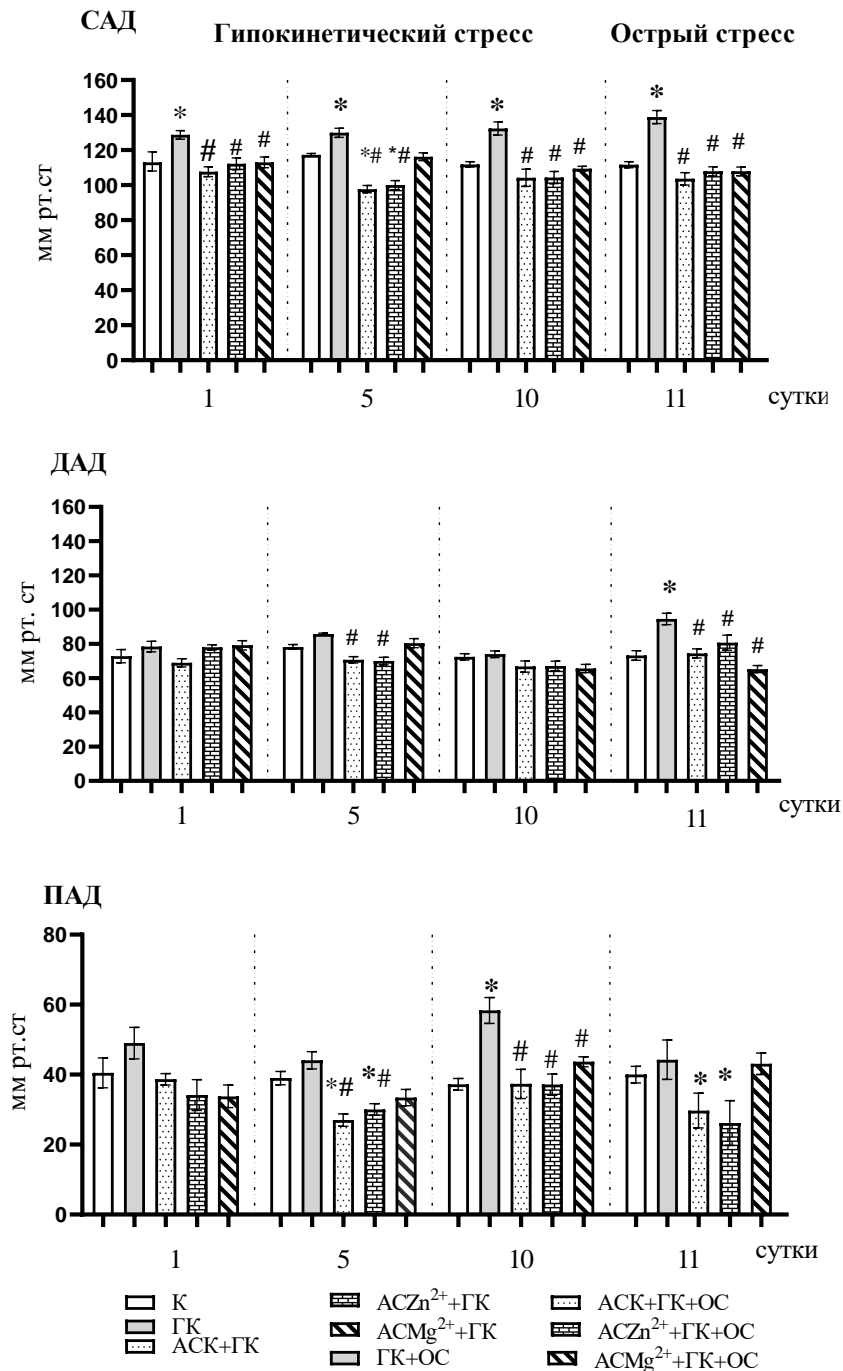


Рисунок 3.5 – Изменения систолического (САД), диастолического (ДАД) и пульсового (ПАД) артериального давления при введении ацетилсалициловой кислоты (АСК) и салицилатов цинка (АСЗn²⁺) и магния (АСМg²⁺) в дозе 10 мг/кг в условиях гипокинетического (ГК, 1-10 сутки) и острого стресса (ОС, 11 сутки).

Примечания: * – уровень достоверности различий по post-hoc тесту Тьюки для множественных сравнений относительно значений показателей в контроле; # – уровень достоверности различий по post-hoc тесту Тьюки для множественных сравнений относительно значений показателей в группе ГК

У животных третьей группы, получавших внутрибрюшинные инъекции АСК и находившихся в условиях ГК, наблюдались изменения показателей АД, при чем степень изменений зависела от продолжительности ГК. После 10-тикратного введения АСК отмечена тенденция к увеличению значений показателей артериального давления, однако статистически значимых различий с контролем не наблюдалось ($p \geq 0,05$), кроме 5-х суток ГК, где отмечено снижение САД на 16,62% ($p < 0,05$) (рисунок 3.5).

В ходе исследования зарегистрированы и определенные отличия изменения показателей АД при введении крысам АСК и группы животных, находящихся в условиях ГК. Так, на протяжении 1-10 суток исследования введения АСК отмечено статистически значимое снижение значений САД в среднем на 20,79 % ($p < 0,05$) и на 5-е сутки ДАД на 17,56 % ($p < 0,05$) и на 5-10 е сутки ПАД в среднем 37,07 % ($p < 0,05$) относительно таковых у животных второй группы при ГК стрессе (рисунок 3.5).

На 11-е сутки исследования при введении АСК при ГК и ОС в отличие от животных с изолированным ГК у крыс отсутствовала гипертензивная реакция, наблюдалась устойчивая тенденция к снижению всех компонентов АД, сохранялась стабильность показателей на протяжении всего периода наблюдения (1–11 сутки).

Таким образом, выявленное снижение компонентов АД крыс указывает на способность АСК подавлять избыточную симпатическую активацию, характерную для ГК-стресса.

Аналогично действию АСК у крыс 4 группы при 10-тикратном введении координационного соединения АСК с цинком происходило достоверное однонаправленное снижение значений показателей АД (рисунок 3.5). На 11-е сутки исследования при введении $АСZn^{2+}$ при ГК и ОС отмечено статистически значимое снижение компонентов АД: САД на 22,31 % ($p < 0,05$) ДАД на 14,70 % ($p < 0,05$) ПАД на 38,58 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой животных, находящихся в условиях ГК (рисунок 3.5). Так, $АСZn^{2+}$ демонстрирует **гипотензивный эффект** при последовательном воздействии ГК и ОС, превосходя по выраженности изменений показатели АД, наблюдаемые при АСК. Снижение САД, ДАД и ПАД на 11-е сутки подтверждает: способность комплекса корректировать гемодинамические нарушения в условиях стресса; синергетическое действие цинка и АСК в регуляции сосудистого тонуса; потенциал $АСZn^{2+}$ для профилактики гипертензивных реакций при стрессорных нагрузках.

Аналогично действию $АСZn^{2+}$ у крыс 5 группы при 10-тикратном введении координационного соединения АСК с магнием происходило снижение значений показателей АД, однако более выраженное, чем при АСК. (рисунок 3). После 10-ти кратного введения животным $АСMg^{2+}$ было зарегистрировано статистически значимое повышение значений САД на 17,38% ($p < 0,05$) и ПАД на 24,51% ($p < 0,05$) соответственно относительно таковых у животных второй группы при ГК стрессе. На 11-е сутки исследования при введении $АСMg^{2+}$ при ГК и ОС отмечено статистически

значимое снижение компонентов АД: САД на 22,31% ($p < 0,05$) и ДАД на 30,96% ($p < 0,05$) относительно таковых во второй группы крыс, находившихся в условиях ГК (рисунок 3.5). Можно заключить, что АСМg²⁺ представляет собой перспективный кандидат для коррекции АД в условиях комбинированного стресса благодаря комплексному механизму действия и выраженному гипотензивному эффекту.

Известно, что гипокинезия вызывает ряд негативных изменений в организме, включая нарушения в работе сердечно-сосудистой системы. В доступных источниках не обнаружено прямых данных о том, что гипокинезия у крыс непосредственно повышает АД. Гипокинезия создает условия и активизирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую и симпатoadреналовую системы, что приводит к повышению уровня катехоламинов в плазме, что потенциально повышает АД.

Полученные данные демонстрируют, что АСК сама по себе не оказывает существенного влияния на системное АД у интактных животных в условиях стрессового воздействия, тогда как её металлокомплексы (цинка и магния) способны модифицировать АД в зависимости от длительности и типа стрессового воздействия.

Необходимо отметить, что АСК у интактных животных как при хроническом (ГК), так и при остром стрессе не вызывает значимых изменений системного АД относительно таковых в контрольной группе животных, что возможно, связано с балансом между: вазодилатирующим эффектом (через подавление синтеза тромбоксана А₂) и отсутствием прямого влияния на центральные механизмы регуляции АД. Противоположное влияние на АД оказала АСК при ГК стрессе по сравнению с группой животных, находившихся в условиях ограничения двигательной активности.

Аналогично действию АСК у крыс 4-5 групп при 10-тикратном введении координационных соединений АСК с цинком и магнием происходило однонаправленное снижение значений показателей АД. Например, в работе Yanagisawa Н., установлено, что чрезмерное потребление цинка повышает системное АД у животных и предположительно связано с окислительным стрессом.

В некоторых исследованиях на животных роль цинка в развитии гипертонии неоднозначна: одни исследования указывают на повышение его уровня, а другие — на его снижение, вызывающее гипертонию. В исследовании Bastola, М.М., было установлено, цинк может влиять на АД через модуляцию эндотелиальной функции и окислительных процессов. Цинк участвует в регуляции активности эндотелиальной NO-синтазы и может влиять на сосудистый тонус, что потенциально связано с реакцией на стресс.

В многочисленных исследованиях изучалась связь между Mg²⁺ и АД, и полученные данные свидетельствуют о том, что дефицит Mg²⁺ способствует развитию гипертонии, другие - нет. Известно, что Mg²⁺ модулирует активность периферической симпатической нервной системы, снижая

кровеное давление. Магний известен своим анксиолитическим действием и способностью снижать чувствительность к стрессу.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что 10-тидневное воздействие ГК стресса приводит к истощению адаптационного резерва и снижению адаптационного потенциала организма крыс. Выявленное снижение компонентов АД крыс указывает на способность АСК и ее $ACZn^{2+}$ и $ACMg^{2+}$ подавлять избыточную симпатическую активацию, характерную для ГК-стресса.

При действии АСК и ее координационных соединений с металлами цинка и магния направленность изменений показателей АД крыс зависит от типа и длительности стрессорного воздействия: при остром стрессе (11-е сутки) выраженное снижение компонентов АД относительно второй группы животных, находящихся в условиях 10-тидневной гипокинезии. $ACZn^{2+}$ и $ACMg^{2+}$ демонстрирует гипотензивный эффект при последовательном воздействии ГК и ОС, превосходя по выраженности изменений показатели АД, наблюдаемые при АСК, что, по-видимому, подтверждает способность комплексов АСК корректировать гемодинамические нарушения в условиях стресса, а также потенциал $ACZn^{2+}$ и $ACMg^{2+}$ для профилактики гипертензивных реакций при стрессорных нагрузках.

3.3. Влияния ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием на частоту сердечных сокращений у крыс в модели хронического стресса: экспериментальное исследование.

В результате проведенного исследования не было выявлено статистически значимых изменений ЧСС у животных, получавших АСК, $ACZn^{2+}$ и $ACMg^{2+}$ в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности и острого стресса в тесте вынужденного плавания (таблица 3.3.).

3.4. Влияния ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием на двигательную активность крыс в модели хронического стресса: экспериментальное исследование.

Результаты проведенного эксперимента по влиянию АСК и её координационных соединений с $ACZn^{2+}$ и $ACMg^{2+}$ на двигательную активность крыс в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности представлены в таблице 3.5.

В тесте «открытое поле» показатели двигательной активности: общая активность, средняя скорость передвижения и общая пройденная дистанция у крыс служат количественными маркерами психоэмоционального состояния и позволяют оценить – уровень тревожности; степень исследовательской мотивации; выраженность стрессовой реакции; функциональное состояние ЦНС под воздействием внешних факторов.

Во второй группе животных, которые находились изолированно в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности, отмечено на 1-ые сутки достоверное увеличение значений показателей общей двигательной активности на 35,90 % ($p<0,05$), средней скорости передвижения на 87,63 % ($p<0,01$), общей пройденной дистанции на 76,56 % ($p<0,05$) по сравнению с контрольной группой (таблица 3.5, рисунок 3.7). На 10-е сутки исследования было зарегистрировано статистически значимое увеличение только общей активности на 50,60 % ($p<0,05$) по сравнению с контролем (таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Показатели двигательной активности крыс в модели хронического стресса при действии ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием

Группа	1-й день	5-й день	10-й день
	<i>Общая активность (у.е.)</i>		
Контроль	430,80±51,47	506,00±59,78	341,50±61,57
ГК	585,50±81,20 ^a	421,50±78,31	514,30±22,46 ^a
ГК - АСК	426,00±33,28 ^c	449,80±36,48	392,80±16,66
ГК - АСZn ²⁺	547,00±37,32	541,00±57,89	439,80±85,75
ГК - АСMg ²⁺	696,30±41,37 ^{bf}	368,80±43,61 ^g	413,00±62,15
	<i>Средняя скорость передвижения (см/с)</i>		
Контроль	3,80±0,20	5,83±0,72	4,40±1,22
ГК	7,13±1,06 ^b	4,63±0,80	5,43±0,79
ГК - АСК	4,83±0,76 ^c	5,10±0,33	4,18±0,27
ГК - АСZn ²⁺	6,08±0,33 ^a	6,65±0,78 ^c	4,85±1,22
ГК - АСMg ²⁺	8,58±0,9 ^{bf}	3,20±0,26 ^{beh}	3,38±0,43
	<i>Общая пройденная дистанция (см)</i>		
Контроль	727,20±9,15	1051,00±127,60	787,60±218,30
ГК	1284,00±191,30 ^a	827,50±147,60	983,30±143,40
ГК - АСК	867,50±137,00 ^c	930,40±60,38 ^c	754,30±49,41
ГК - АСZn ²⁺	1094,00±61,02	1178,00±156,70	872,40±220,80
ГК - АСMg ²⁺	1542,00±161,70 ^{bf}	580,70±28,74 ^{ah}	605,00±75,91

Примечание: a,b – отличия от контрольной группы при $p<0,05$ и $p<0,01$; c,d – отличия от группы «ГК» при $p<0,05$ и $p<0,01$; e,f – отличия от группы «ГК-АСК» при $p<0,05$ и $p<0,01$; g,h – отличия от группы «ГК-АСZn» при $p<0,05$ и $p<0,01$

Полученные результаты исследования демонстрируют, что хронический стресс, вызванный ограничением подвижности у крыс второй группы,

индуцирует выраженные изменения исследуемых показателей двигательной активности, прогрессирующие с 1-х по 10-е сутки. Наблюдаемая динамика согласуется с представлениями о многофазности стрессовой реакции (рисунок 3.6).

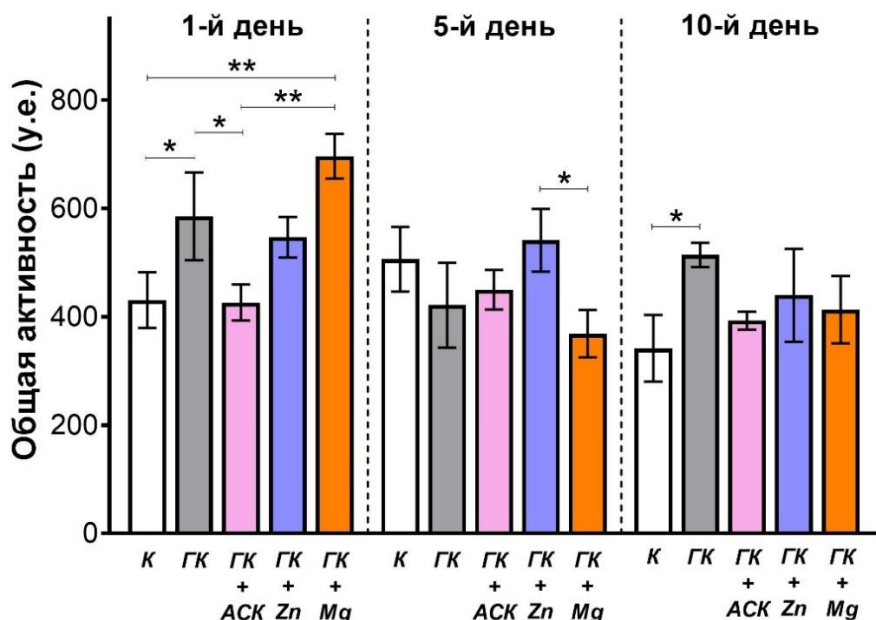


Рисунок 3.6 – Динамика показателя общей активности крыс в тесте «открытое поле» при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты (АСК) с цинком (АСZn²⁺) и магнием (АСMg²⁺) в модели хронического (ГК) стресса.

Полученные данные согласуются и с картиной передвижения крыс (поведенческая активность) в тесте «открытое поле», полученной с помощью программного обеспечения Actitrack 2.0 (рисунок 3.7).

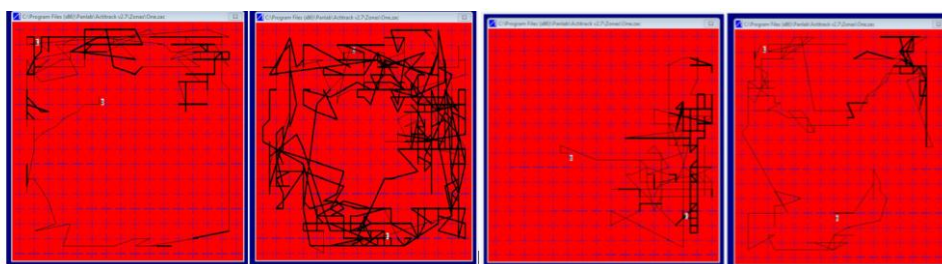


Рисунок 3.7 – Примеры передвижения крыс в тесте «открытое поле» в контроле (1), группе животных, находившихся исключительно в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности 1-е (2), 5-е (3) и 10-е (4) сутки исследований

В третьей группе, где животные в модели хронического стресса получали АСК, на 1-е сутки исследования зарегистрировано снижение показателя общей активности на 27,24 % ($p < 0,05$), средней скорости

передвижения на 32,25 % ($p < 0,05$), пройденной дистанции на 32,43 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению со второй группой (таблица 3.5).

На 5-е сутки исследования ситуация изменилась: дистанция, пройденная животными, увеличилась на 12,43 % ($p < 0,05$) по сравнению со второй группой. В последующие сутки исследования достоверных изменений показателя двигательной активности не наблюдалось (рисунок 3.8).

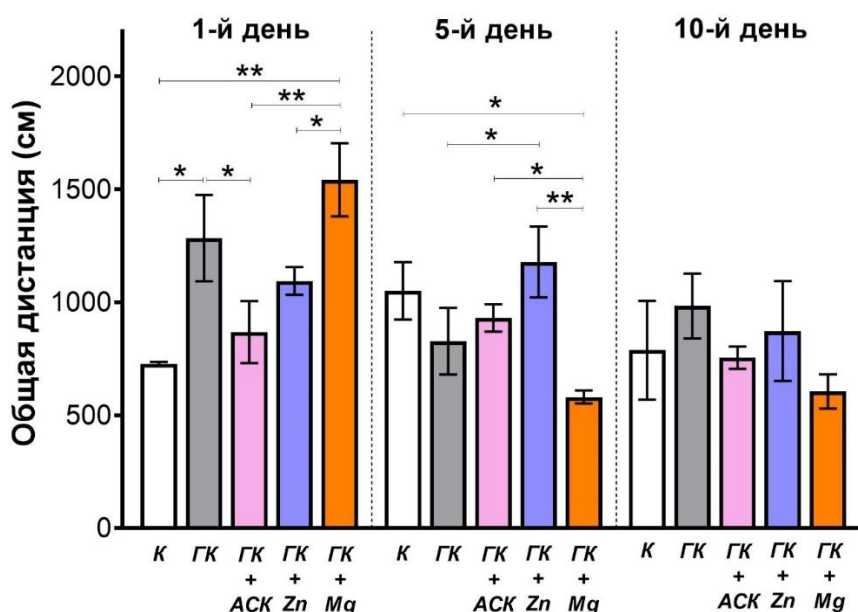


Рисунок 3.8 – Динамика показателя общей дистанции у крыс в тесте «открытое поле» при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты (АСК) с цинком (АСZn²⁺) и магнием (АСMg²⁺) в модели хронического (ГК) стресса

Полученные данные согласуются и с картиной передвижения крыс (поведенческая активность) в тесте «открытое поле», полученной с помощью программного обеспечения Actitrack 2.0 (рисунок 3.9).



Рисунок 3.9 – Примеры передвижения крыс в тесте «открытое поле» в контроле (1), группе животных, находившихся в модели хронического стресса, получавших АСК 1-е (2), 5-е (3) и 10-е (4) сутки исследований

АСК модулирует общую двигательную активность, снижая её избыточное повышение, характерное для второй группы с изолированным стрессовым воздействием.

В четвёртой группе, где животные в модели хронического стресса получали АСЗn²⁺ статистически значимых изменений общей активности и общей пройденной дистанции у крыс как относительно контроля, так и второй группы крыс отмечено не было.

Однако, в 1-ые сутки эксперимента у крыс третьей группы, получавших АСЗn²⁺ в модели хронического стресса, увеличилась средняя скорость перемещения на 60,00 % (p<0,05) и 43,62 % (p<0,05) соответственно как в контрольной группе, так и у крыс второй группы с ограниченной подвижностью (рисунок 3.6, рисунок 3.8).

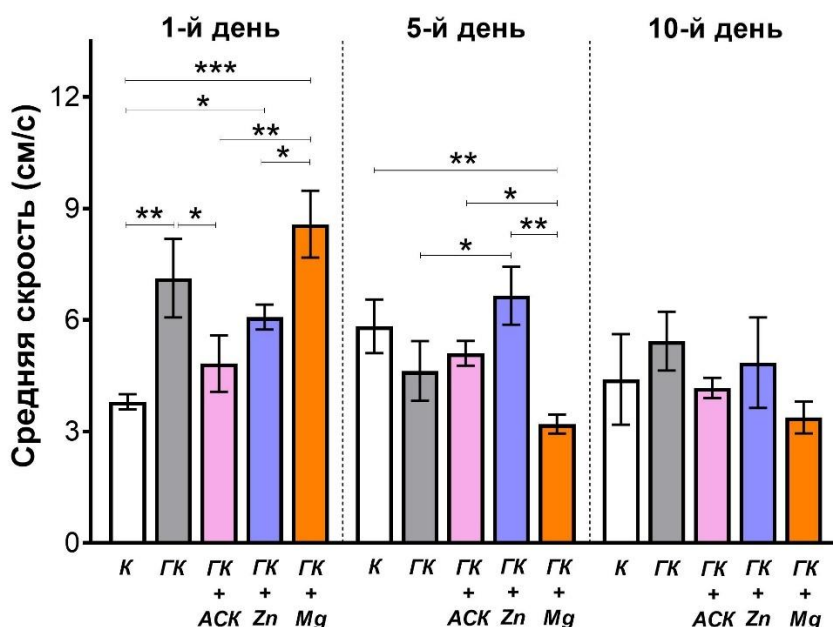


Рисунок 3.10 – Динамика показателя средней скорости крыс в тесте «открытое поле» при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты (АСК) с цинком (АСЗn²⁺) и магнием (АСMg²⁺) в модели хронического (ГК) стресса

В пятой группе, где животные получали АСMg²⁺ в модели хронического стресса на 1-е сутки наблюдается достоверное увеличение общей активности в среднем на 61,62 % (p<0,01), средней скорости передвижения на 125,78 % (p<0,01), общей пройденной дистанции на 112,04 % (p<0,01) соответственно по сравнению с контрольной группой (рисунок 3.10, таблица 3.5), что указывает на стимулирующее действие АСMg²⁺ в модели хронического стресса. На 5-е сутки исследования напротив было зарегистрировано статистически значимое снижение общей активности на 27,11 % (p<0,05), средней скорости передвижения на 45,11 % (p<0,01), общей пройденной дистанции на 44,74 % (p<0,01) соответственно по сравнению с контролем, что указывает на угнетение двигательной сферы за счет истощения компенсаторных возможностей на фоне хронического стресса. В

последующие сутки отмечена тенденция к дальнейшему снижению исследуемых параметров двигательной активности относительно контрольной группы, что может быть связано с кумулятивным эффектом АСМg²⁺.

Таким образом, можно заключить, что АСМg²⁺ демонстрирует двухфазное действие на двигательную активность в модели хронического стресса: стимуляция на ранних сроках (1-е сутки); угнетение при пролонгированном введении (5-е и последующие сутки) относительно таковых в контрольной группе крыс.

Необходимо отметить, что, в отличие от АСК под влиянием АСМg²⁺ у животных на 1-е сутки исследования наблюдалось статистически значимое повышение исследуемых показателей двигательной активности в сравнении с группой, получавшей АСК в модели хронического стресса: общей активности на 63,45 % (p<0,05), средней скорости передвижения на 77,63 % (p<0,01), общей пройденной дистанции на 77,75 % (p<0,01) соответственно. Однако к 5-ым суткам эксперимента наблюдалась противоположная динамика: у животных, получавших АСМg²⁺, отмечено достоверное снижение показателей двигательной активности по сравнению с группой АСК в модели хронического стресса. В частности: снижение средней скорости передвижения и общей пройденной дистанции в среднем на 37,41 % (p<0,01).

Полученные данные согласуются и с картиной передвижения крыс (поведенческая активность) в тесте «открытое поле», полученной с помощью программного обеспечения Actitrack 2.0 (рисунок 3.11).

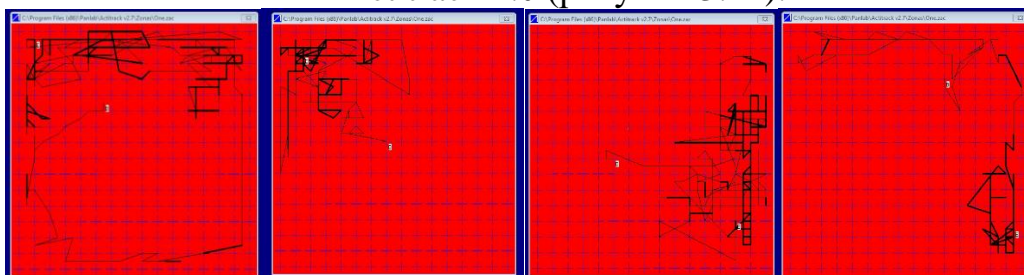


Рисунок 3.11 – Примеры передвижения крыс в тесте «открытое поле» в контроле (1), группе животных, находившихся в модели хронического стресса, получавших АСМg²⁺ на 1-е (2), 5-е (3) и 10-е (4) сутки исследований

В ходе эксперимента выявлены существенные различия в динамике показателей двигательной активности у животных, подвергнутых воздействию АСК и АСМg²⁺ в модели хронического стресса.

Экспериментальные результаты подтверждают, что АСК проявляет стрессопротекторные свойства, сопоставимые с описанными в литературе. В нашем исследовании АСК в модели хронического стресса предотвращала резкое падение общей пройденной дистанции. В исследованиях показано, что цинк усиливает активность антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза), что защищает нейроны от окислительного стресса, часто возникающего при стрессовых нагрузках. В исследованиях Громова О.А. с соавт. магний модулирует простагландиновый метаболизм и влияет на активность ферментов, связанных с реакцией на

стресс. Так, в модели хронического стресса, вызванного ограничением подвижности у животных 2-ой группы на 1 сутки исследования зарегистрирован рост исследуемых показателей двигательной активности в ответ на стрессовый фактор. Введение АСК приводит к значительному снижению этого параметра, а комплексное соединение АСК с цинком вызывает средний уровень движений. Координационное соединение АСК с магнием вызывает наибольшее увеличение значений пройденной дистанции, что может отражать стимулирующее действие. К 5-м суткам наблюдается тенденция к нормализации исследуемых показателей двигательной активности: показатели в группе хронического стресса и группе с АСК приближаются к контролю, в то время как цинк поддерживает повышенный уровень, а магний вызывает значительное снижение, вызывая предположение о развитии функционального истощения. На 10-й день достоверных различий между группами не выявлено, что отражает адаптацию и стабилизацию двигательной активности животных при длительном воздействии гипокинезии и изучаемых координационных соединений АСК.

Таким образом, гипокинезия в первый день приводит к ажитации у крыс: передвигаются быстрее, чем контрольная группа. На 5-й день, напротив, гипокинезия вызывает снижение двигательной активности по сравнению с контролем, а на 10-й день ситуация становится похожей на первый день. Таким образом, гипокинезия влияет на крыс волнообразно, то повышая, то снижая двигательную активность, т.е. наблюдаем адаптацию животных к гипокинезии. АСК модулирует двигательную активность, снижая её избыточное повышение, характерное для второй группы крыс в модели хронического стресса. Координационное соединение $ACZn^{2+}$ не оказывает существенного воздействия на крыс, находящихся в модели хронического стресса, а $ACMg^{2+}$ значительно усугубляет воздействие гипокинезии, что выражалось в угнетение локомоции и замедление адаптации.

Острый и хронический стресс запускают различные уровни реактивности организма. Хронический стресс создаёт базовый фон повышенной чувствительности, а острый стресс накладывается сверху, демонстрируя, как изменяется реакция организма, когда его системы регуляции уже напряжены.

Сочетанное применение двух стрессоров помогает понять, как организм переходит от адаптации к дезадаптации, поскольку длительное стресс-воздействие может истощить его ресурсы, а дополнительный острый стресс-стимул выявляет степень истощения. Такой подход ближе к реальным жизненным условиям, где стрессовые события часто происходят не изолированно, а на фоне долгосрочного воздействия неблагоприятной среды. Комбинация хронического (гипокинезия) и острого (вынужденное плавание, 30 минут) стресса привела к выраженной ажитации у крыс по сравнению с контролем: общая активность повысилась на 156% ($p < 0,05$), пройденная дистанция – на 163% ($p < 0,05$), средняя скорость передвижения – на 79% ($p < 0,05$) (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Влияние ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния на показатели двигательной активности крыс в тесте «открытое поле» при сочетанном применении двух стрессоров

Группа	11-й день
	<i>Общая активность (у.е.)</i>
Контроль	273,50± 48,50
ГК-ОС	702,00±47,77
ГК- ОС -АСК	665,00± 20,50
ГК- ОС -АСZn ²⁺	384,50± 154,50
ГК- ОС-АСMg ²⁺	304,50± 71,50
	<i>Средняя скорость передвижения (см/с)</i>
Контроль	3,80±0,20
ГК- ОС	6,80±0,67
ГК- ОС -АСК	8,10±0,60
ГК- ОС -АСZn ²⁺	4,85±1,75
ГК- ОС -АСMg ²⁺	2,25±0,75
	<i>Общая пройденная дистанция (см)</i>
Контроль	468,45±35,25
ГК- ОС	1230,00±124,54
ГК- ОС -АСК	1463,10±114,15
ГК- ОС -АСZn ²⁺	873,70±308,60
ГК- ОС -АСMg ²⁺	402,05±131,95

Примечание: ОС – острый стресс в тесте вынужденного плавания

В отличие от 10-дневного воздействия хронического стресса, где эффекты ГК снимались АСК, при сочетанном применении двух стрессоров, АСК в дозе (10 мг/кг) уже неэффективен. Однако, при этом повышается эффективность АСZn²⁺ и АСMg²⁺ вплоть до того, что АСMg²⁺ полностью устраняет стресс-вызванную ажитацию – данные в этой группе находятся на уровне контрольных.

Таким образом, можно предположить, что АСMg²⁺ является сильнодействующим веществом, которое при более мягком стрессе, скорее, вредит адаптации организма, однако при сильном стрессе способно снимать гиперактивность, оказывая ярко выраженный седативный эффект. Впрочем, необходимы дальнейшие углублённые исследования для подтверждения или опровержения данной гипотезы.

3.5 Изменения лейкоцитарной формулы крови крыс при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в моделях хронического стресса посредством гипокинезии и острого стресса в тесте вынужденного плавания

В контрольной группе крыс отмечалось следующее соотношение клеток крови: палочкоядерные нейтрофилы – 2%, сегментоядерные нейтрофилы – 26%, эозинофилы – 0%, моноциты – 4%, лимфоциты – 46%. Значение индекса Гаркави составило 1,64 ед. (рисунок 3.12).

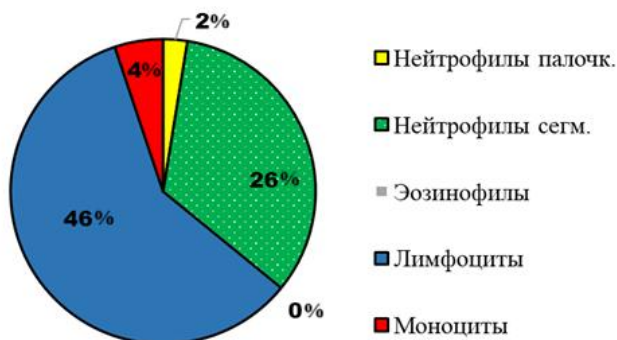


Рисунок 3.12 – Лейкоцитарная формула у животных контрольной группы

У крыс второй группы, которые подвергались 10-дневному ограничению подвижности (ГК) отмечено повышение палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов 4 и 30%, количество лимфоцитов 52,00% соответственно по сравнению с составом белой крови животных контрольной группы (рисунок 3.13). Значение индекса Гаркави составило 1,73 ед., что может свидетельствовать о стрессовой реакции.

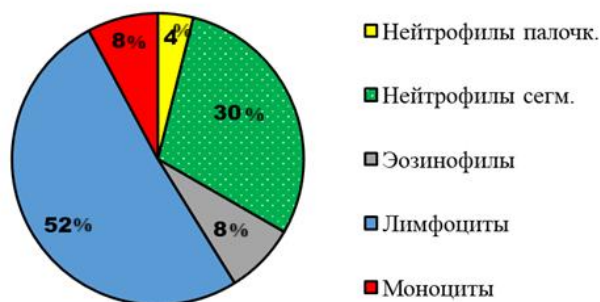


Рисунок 3.13 – Лейкоцитарная формула животных, перенесших хронический гипокинетический стресс

В экспериментальных группах животных, получавших АСК, АС Zn^{2+} , АС Mg^{2+} в условиях 10-ти дневного хронического стресса отмечены следующие изменения в лейкоцитарной формуле крови, так наиболее

выраженные отмечены при действии АСК – влияние на функциональную активность нейтрофилов сегментоядерных – 58%; при действии АС Zn^{2+} и АС Mg^{2+} лимфоциты – 75 и 68% соответственно (рисунок 3.14).

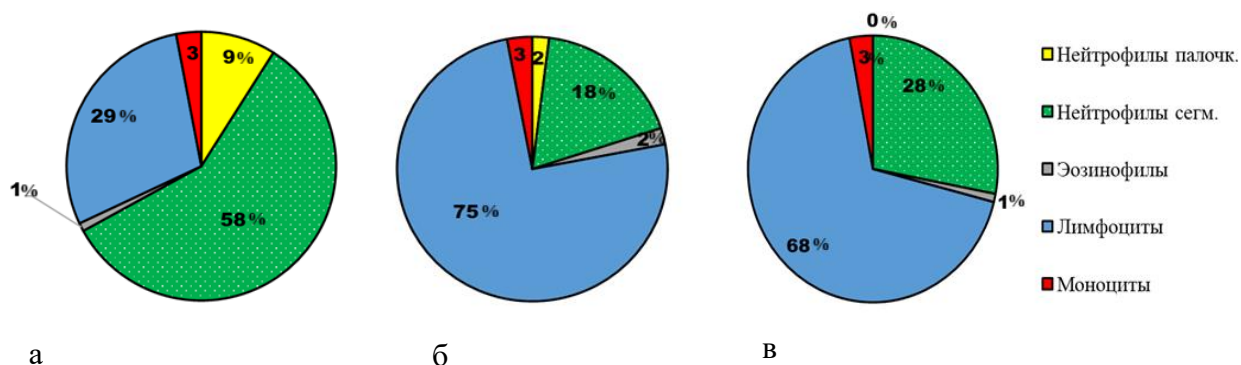


Рисунок 3.14 – Лейкоцитарная формула животных, получавших АСК (а), АС Zn^{2+} (б), АС Mg^{2+} (в) в условиях хронического стресса посредством 10-ти суточной гипокинезии.

Таким образом, АСК скорее модулирует функциональную активность и миграцию нейтрофилов, чем вызывает их количественное увеличение (рисунок 3.14-а). АСК может модифицировать воспалительный ответ, который часто сопровождает стресс.

В четвертой группе животных, получавших салицилат цинка отмечено увеличение лимфоцитов относительно группы животных, находившихся в условиях гипокинезии (рисунок 3.14-б). Известно, что цинк играет ключевую роль в поддержании иммунной системы. Салицилат цинка оказывает модифицирующее влияние стресса благодаря комплексному воздействию на нервную систему и механизмы адаптации организма. Цинк в составе салицилата может усиливать антиоксидантные механизмы, снижая повреждение клеток при стрессе. Магний обладает антиоксидантными свойствами и может уменьшать повреждение клеток, что способствует повышению резистентности организма и снижению силы действия стрессового фактора.

Координационные соединения АСК с металлами (цинком и магнием) имеют модифицированные свойства по сравнению с исходными соединением.

30-ти минутный острый стресс в тесте вынужденного плавания у крыс второй группы характеризуется нейтрофильным лейкоцитозом и лимфоцитоз, что отражает активацию защитных механизмов организма. В результате исследования у животных 4-5-й групп, которым осуществлялось 10-кратное введение координационного соединения АСК с цинком и магнием при моделировании хронического стресса, вызванного гипокинезией и острого стресса в тесте вынужденного плавания отмечены однонаправленные изменения в лейкоцитарной формуле крови крыс.

3.6. Влияние ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния на гистологические показатели толстой кишки крыс в условиях хронического и острого стресса

Как показали результаты ранее проведенного гистологического анализа в рамках диссертационного исследования, многократное введение животным, в частности, АСК и АС Zn^{2+} в дозе 10 мг/кг привело к утолщению слизистой оболочки желудка (СОЖ) пищеводной части за счет гиперкератоза, который связан с ороговением эпителия у животных этих экспериментальных групп. Многократное введение животным тестируемых салицилатов приводит к уменьшению толщины покровного эпителия СОЖ, однако, выраженное в меньшей степени, чем после введения АСК.

В процессе выполнения исследования возникли технические сложности при заборе материала из желудка, а именно сложности с получением достаточного количества качественного материала для гистологического анализа. В таком случае кишечник крыс стал альтернативой для изучения эффектов АСК и ее координационных соединений на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

При визуальной оценке *фрагмент толстой кишки* типичного строения у крыс в контрольной группе (рисунок 3.15). Стенка кишки снаружи покрыта слоем мезотелиальных клеток. Основную толщину стенки кишки составляют мышечный и слизистый слой. Мышечная ткань имеет два слоя гладких мышечных волокон: более тонкого наружного продольного слоя и более толстого циркулярного. Между слоями располагаются множественные ганглиозные клетки межмышечного (ауэрбахова) нервного сплетения.

Клетки ауэрбахова нервного сплетения. Между мышечной и слизистой оболочками расположена хорошо развитая подслизистая основа, состоящая из рыхлой соединительной ткани, густо инфильтрированной лимфоцитами, эозинофилами, в меньшей степени макрофагами. В толще подслизистой проходят кровеносные и лимфатические сосуды.

Подслизистая основа формирует складки, ориентированные перпендикулярно продольной оси кишки.

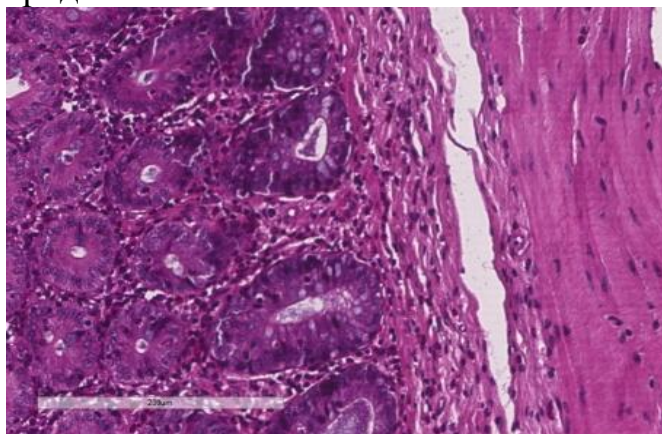


Рисунок 3.15 – Гистологические срезы толстой кишки у крыс контрольной группы. Гематоксилин-эозин. Объектив 40x

Слизистая оболочка представлена мышечной пластинкой, образованной продольно ориентированными гладкомышечными волокнами, и собственной пластинкой, образованной рыхлой волокнистой соединительной тканью, содержащей кровеносные и лимфатические капилляры и часто густо инфильтрированной лейкоцитами, и эпителиального слоя. Эпителиальный слой состоит преимущественно из призматического эпителия. Эпителий образует множественные неглубокие крипты. В стенках крипт между клетками вставлены бокаловидные и эндокринные клетки. Расположены бокаловидные клетки, имеющие крупную вакуоль, содержащую слизь. Количество бокаловидных клеток увеличивается по направлению к дну крипт. Также на дне крипт располагаются недифференцированные эпителиоциты, сохраняющие способность к делению и обеспечивающие постоянное обновление эпителиального слоя кишки.

После 10-тикратного введения животным АСК не было отмечено явных отличий от контрольной группы. Гранулоциты умеренно. После 10-тикратного введения животным АС Zn^{2+} по сравнению с контролем более слабая лейкоцитарная инфильтрация подслизистой основы, гранулоциты единичные. После 10-тикратного введения животным АС Mg^{2+} снижена глубина крипт.

В группах животных, подвергшихся модели хронического стресса (ГК) в течении 10-ти суток и получавших АСК, АС Zn^{2+} , АС Mg^{2+} выявлены изменения при визуальной оценки фрагмента толстой кишки, в частности: АСК-ГК — крипты неглубокие, расширенные, имеются участки уплощения эпителия. АС Zn^{2+} -ГК — небольшая инфильтрация собственной пластинки слизистой. АС Mg^{2+} - ГК — много бокаловидных клеток. Крипты расширены, выстланы уплощённым эпителием, местами деформированы. Эпителий умеренно дистрофичен (рисунок 3.16).

После 10-тикратного введения животным АСК не было отмечено явных отличий от контрольной группы. Гранулоциты умеренно. После 10-тикратного введения животным АС Zn^{2+} по сравнению с контролем более слабая лейкоцитарная инфильтрация подслизистой основы, гранулоциты единичные. После 10-тикратного введения животным АС Mg^{2+} снижена глубина крипт.

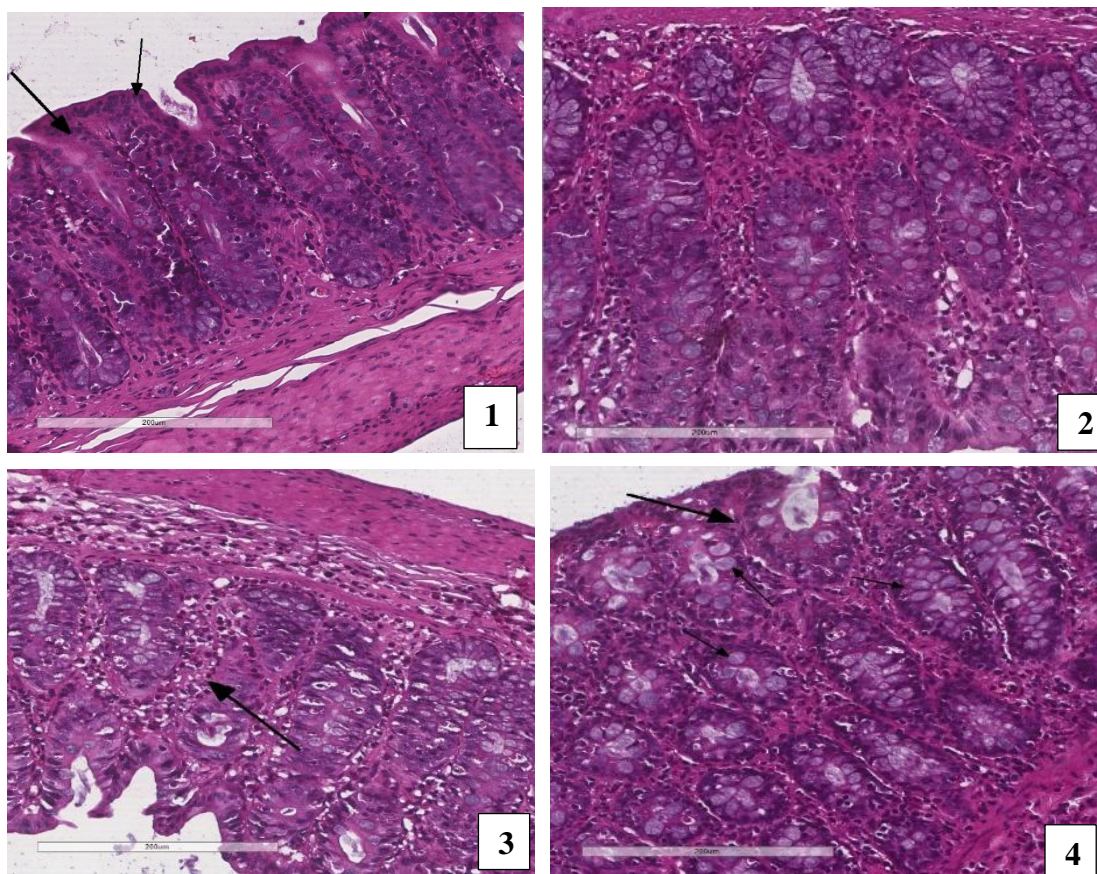


Рисунок 3.16 – Гистологические срезы толстой кишки у крыс, находившихся изолированно в условиях гипокинезии (ГК) (1) и получавших инъекции АСК (2), салицилатов цинка (3) и магния (4) в модели хронического стресса. Гематоксилин-эозин. Объектив 40х.

В группах животных, подвергшихся модели хронического стресса (ГК) в течении 10-ти суток и получавших АСК, $АСZn^{2+}$, $АСMg^{2+}$ выявлены изменения при визуальной оценки фрагмента толстой кишки, в частности: АСК-ГК — крипты неглубокие, расширенные, имеются участки уплощения эпителия. $АСZn^{2+}$ -ГК— небольшая инфильтрация собственной пластинки слизистой. $АСMg^{2+}$ - ГК — много бокаловидных клеток. Крипты расширены, выстланы уплощённым эпителием, местами деформированы. Эпителий умеренно дистрофичен (рисунок 3.17).

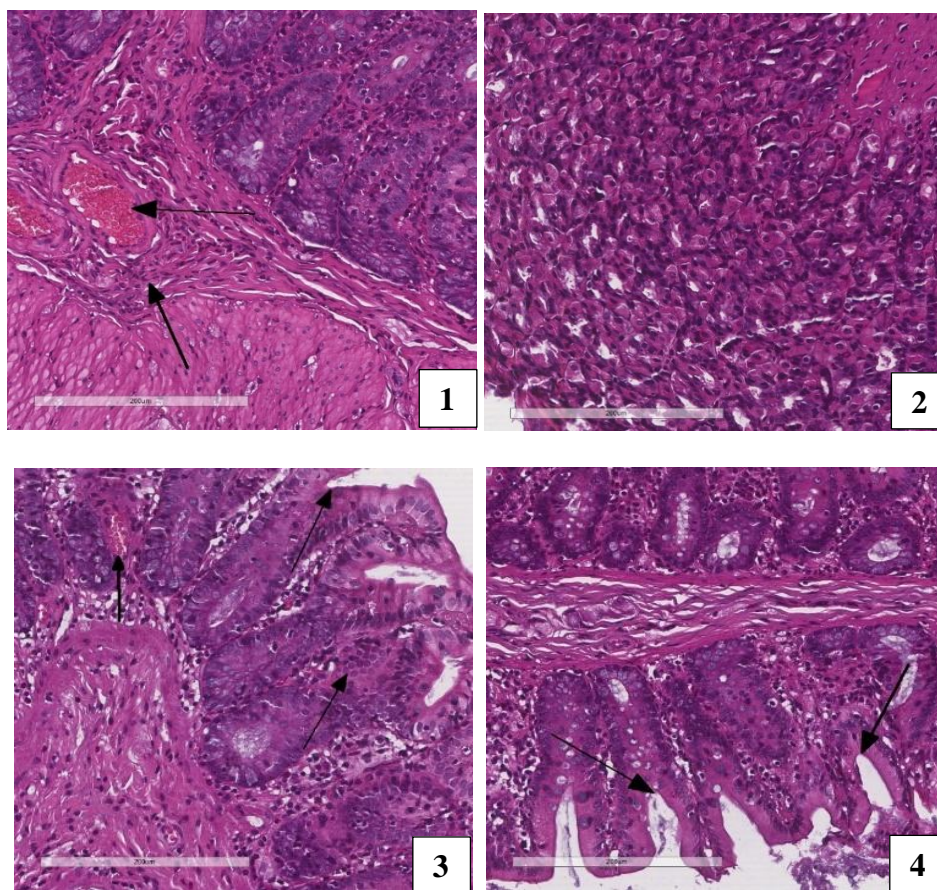


Рисунок 3.17 – Гистологические срезы толстой кишки у крыс, находившихся в условиях последовательного действия 30-минутного острого стресса ГК-ОС (1) и получавших инъекции АСК-ГК-ОС (2), салицилатов $ACZn^{2+}$ -ГК-ОС (3) и $ACMg^{2+}$ -ГК-ОС (4) в модели хронического стресса. Гематоксилин-эозин. Объектив 40х.

В группах животных, подвергшихся 30 минутному острому стрессу (ОС) в тесте вынужденного плавания и получавших АСК-ГК-ОС, $ACZn^{2+}$ -ГК-ОС, $ACMg^{2+}$ -ГК-ОС выявлены следующие изменения при визуальной оценке фрагмента толстой кишки: во второй группе, находившиеся исключительно в модели ГК-ОС— полнокровные сосуды, слабая выраженность инфильтрации подслизистой основы. Крипты глубокие. Имеются отдельные участки с дистрофией. АСК-ГК-ОС. Типичное строение: капилляры полнокровны, сосуды большого калибра. В слизистой пищеварительной части желудка эпителий без особенностей. В слизистой части покровно-ямочные клетки преобладают над основными. $ACMg^{2+}$ -ГК-ОС. Мало железистых бокаловидных клеток. Покровный эпителий без особенностей. $ACZn^{2+}$ -ГК-ОС — крипты невысокие, капилляры полнокровны, много бокаловидных клеток в нижней части крипт.

Проведённый гистологический анализ позволил оценить влияние ацетилсалициловой кислоты (АСК) и её координационных соединений с цинком ($ACZn^{2+}$) и магнием ($ACMg^{2+}$) на морфологическое состояние слизистой оболочки толстой кишки крыс в условиях последовательного

действия хронического (гипокинезия, ГК) и острого (вынужденное плавание, ОС) стресса. АСК и её координационные соединения оказывают дифференцированное влияние на гистологическую структуру толстой кишки, зависящее от: химического состава координационного соединения, типа стресса (хронический/острый) и длительности воздействия. Так, координационное соединение АСК с $ACZn^{2+}$ демонстрирует менее выраженную воспалительную реакцию по сравнению с АСК (снижение лейкоцитарной инфильтрации). $ACZn^{2+}$ проявляет более мягкое воздействие по сравнению с АСК, что делает его перспективным для дальнейшего изучения в контексте защиты слизистой ЖКТ при стрессе. $ACMg^{2+}$ вызывает гиперплазию бокаловидных клеток при ГК и снижение секреторной активности при ГК-ОС. Вероятно, $ACMg^{2+}$ влияет на секреторную функцию и регенеративные процессы в слизистой, но его эффекты зависят от типа и длительности стрессорного воздействия.

Таким образом, полученные данные расширяют представления о гистотропных эффектах АСК и её металлокомплексов с цинком и магнием, открывая возможности для разработки более безопасных стратегий применения салицилатов в условиях стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена оценка влияния координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием на показатели кожной микроциркуляции, артериального давления, частоты сердечных сокращений, двигательной активности (поведенческие реакции) у крыс при моделировании хронического стресса, вызванного ограничением подвижности (гипокинезии) в течение 10-ти суток и последовательного 30-ти минутного острого стресса в модели вынужденного плавания.

Зависимость эффектов от типа и длительности стресса.

Направленность изменений показателей микроциркуляции, артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и двигательной активности у крыс при введении координационных соединений ацетилсалициловой кислоты (АСК) с цинком ($ACZn^{2+}$) и магнием ($ACMg^{2+}$) существенно различается в зависимости от: характера стрессорного воздействия (хронический стресс — гипокинезия, острый стресс — вынужденное плавание); продолжительности воздействия (10-дневная гипокинезия и 30-минутный острый стресс).

Влияние стресса на микроциркуляцию: 10-дневная гипокинезия вызывает вазоконстрикцию — сужение микрососудов. Острый стресс (30-минутное вынужденное плавание) приводит к вазодилатации — статистически значимому увеличению всех показателей микроциркуляции.

Эффекты координационных соединений АСК. $ACZn^{2+}$ проявляет компенсаторный эффект при хроническом стрессе (гипокинезии) и способствует вазодилатации при остром стрессе. Демонстрирует гипотензивный эффект при последовательном воздействии хронического и

острого стресса, превосходя по выраженности изменений показатели АД, наблюдаемые при введении АСК.

АСMg²⁺ снижает вазодилатирующие свойства АСК при 10-дневной гипокинезии. В условиях последовательного хронического и острого стресса поддерживает перфузию на уровне, сопоставимом с АСК, а по отдельным параметрам — превосходит её. При хроническом стрессе может усугублять угнетение локомоции, но при сильном стрессе способен оказывать седативный эффект, снижая гиперактивность. АСК модулирует двигательную активность, предотвращая её избыточное повышение при хроническом стрессе.

Динамика двигательной активности при гипокинезии. В первый день гипокинезия вызывает агитацию (повышение двигательной активности). На 5-й день наблюдается снижение двигательной активности относительно контроля. К 10-му дню активность вновь возрастает, приближаясь к показателям первого дня, что свидетельствует о волнообразном характере адаптации животных к ограничению подвижности.

Сочетание хронического (гипокинезия) и острого (вынужденное плавание) стрессов вызывает выраженную агитацию: общая активность повышается на 156 % ($p < 0,05$); пройденная дистанция — на 163 % ($p < 0,05$); средняя скорость передвижения — на 79 % ($p < 0,05$). Это позволяет моделировать переход от адаптации к дезадаптации и оценивать истощение ресурсов организма при последовательных стрессовых нагрузках.

Научная новизна полученных результатов. Исследования выполнены в рамках гранта Государственного Совета Республики Крым молодым ученым Республики Крым имени Н. Я. Данилевского. Впервые проведено комплексное исследование вазо- и стресс-протекторных эффектов новосинтезированных координационных соединений АСК с металлами цинка и магния в дозе 10 мг/кг при их многократном введении экспериментальным животным в моделях экспериментального стресса. Впервые исследованы изменения показателей кожного МЦР, ЦГ, поведенческих реакций лабораторных животных под влиянием АСК и салицилатов цинка и магния в условиях хронического стресса посредством гипокинезии и последовательного воздействия острого стресса в тесте вынужденного плавания. Получены новые данные, которые расширяют представления о механизмах действия координационных соединений АСК с ACZn²⁺ и ACMg²⁺ в условиях стресса; подтверждают потенциал ACZn²⁺ и ACMg²⁺ для коррекции микроциркуляторных нарушений и профилактики гипертензивных реакций при стрессорных нагрузках; указывают на необходимость дальнейших углублённых исследований для уточнения доз, схем применения и возможных побочных эффектов данных соединений.

ВЫВОДЫ

1. Новосинтезированные координационные соединения АСК с катионами цинка и магния приводят к изменениям показателей кожной микроциркуляции, центральной гемодинамики и двигательной активности, которые зависят как от биметалла, входящего в состав комплексного соединения, так и от характера стрессорного воздействия и его продолжительности.
2. У крыс второй группы, находившихся в условиях 10-тидневной изолированной гипокинезии наблюдалось развитие вазоконстрикции на фоне устойчивого повышения компонентов артериального давления, обусловленное снижением периферического сопротивления вследствие уменьшения тонуса микрососудов, а последовательный острый стресс в модели 30-ти минутного вынужденного плавания у крыс привел к нивелированию вазоконстрикции, развивающейся при 10-тидневной гипокинезии, о чем свидетельствует достоверное увеличение всех исследуемых показателей кожной микроциркуляции.
3. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что АСК оказывает выраженное влияние на процессы МЦ крыс в условиях хронической гипокинезии за счет участия, как местных, так и системных механизмов регуляции тонуса сосудов. Различия в выраженности вазодилатации при 10-тидневном введении АСК при ГК связаны с разными механизмами регуляции сосудистого тонуса: АСК при гипокинезии (1-10 сутки) компенсирует нарушения МЦ, тогда как ОС (11-е сутки) вызывает более динамичные изменения, которые сопровождались более выраженной вазодилатацией.
4. Координационные соединения $АСZn^{2+}$ и $АСMg^{2+}$ в условиях 10-ти суточной гипокинезии не просто воспроизводят эффекты АСК, а качественно изменяют её биологическое действие при стрессе, что подтверждает роль металла-комплексообразователя в модуляции фармакологических свойств.
5. Полученные данные указывают на потенциал $АСZn^{2+}$ как соединения с АСК, способного модулировать микроциркуляцию в условиях стресса. Введение салицилата $АСMg^{2+}$ снижает вазодилатирующие свойства молекулы предшественницы при гипокинезии, в то время как в условиях последовательного хронического и острого стресса $АСMg^{2+}$ поддерживает перфузию на уровне, сопоставимом с АСК, а в отдельных параметрах даже превосходит ее, что может быть важно для защиты микроциркуляторного русла при множественных стрессовых воздействиях.
6. АСК модулирует двигательную активность, снижая её избыточное повышение, характерное для второй группы крыс в модели изолированного хронического стресса. Координационное соединение $АСZn^{2+}$ не оказывает существенного воздействия на крыс, находящихся в модели хронического стресса, а $АСMg^{2+}$ значительно усугубляет воздействие гипокинезии, что выразилось в угнетении локомоции и замедление адаптации. В отличие от 10-дневного воздействия хронического стресса, где эффекты гипокинезии

снимались АСК, при сочетанном применении двух стрессоров, АСК в дозе (10 мг/кг) уже неэффективен. Однако, при этом повышается эффективность $АСZn^{2+}$ и $АСMg^{2+}$ вплоть до того, что $АСMg^{2+}$ полностью устраняет стресс-вызванную ажитацию – данные в этой группе находятся на уровне контрольных.

7. Координационное соединение АСК с $АСZn^{2+}$ демонстрирует менее выраженную воспалительную реакцию по сравнению с АСК (снижение лейкоцитарной инфильтрации). $АСZn^{2+}$ проявляет более мягкое воздействие по сравнению с АСК, что делает его перспективным для дальнейшего изучения в контексте защиты слизистой ЖКТ при стрессе. $АСMg^{2+}$ вызывает гиперплазию бокаловидных клеток при ГК и снижение секреторной активности при ГК-ОС. Вероятно, $АСMg^{2+}$ влияет на секреторную функцию и регенеративные процессы в слизистой, но его эффекты зависят от типа и длительности стрессорного воздействия.
8. Полученные данные расширяют представления о механизмах действия координационных соединений АСК с $АСZn^{2+}$ и $АСMg^{2+}$ открывая возможности для разработки более безопасных стратегий применения салицилатов в условиях стресса.

5. Все планируемые работы выполнены полностью: "Да".

6. Перечень публикаций научных статей в специализированных изданиях, программ и тезисов конференций по результатам выполненного проекта.

1. **Миронюк И.С., Яковенко Я.П., Якушина А.В., Дорош Н.В.** Влияние иммобилизационного стресса на показатели двигательной активности у крыс при действии ацетилсалициловой кислоты и ее комплексных соединений с металлами цинка и магния // Сборник материалов II научно-практической конференции: «Достижения современной науки: биотехнология, химия и фармация»(БТХФ- 2025) / под ред. к.б.н. Ярмолюк Н.С.– 2025. – Симферополь. – С.19-20.\
2. **Миронюк И.С., Чуян Е.Н., Дорош Н.В., Якушина А.В.** Изменение показателей центральной гемодинамики у крыс при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в условиях хронического гипокинетического стресса // Тезисы докладов XVI Международной Крымской конференции – электрон.дан. – Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2025. – С.57-58.
3. **Миронюк И.С., Якушина А.В., Дорош Н.В.** Динамика артериального давления крыс под влиянием курсового введения координационных соединений ацетилсалициловой кислоты в условиях экспериментального стресса // Сборник научных статей по итогам работы Межвузовский международный конгресс «Высшая школа: научные исследования». – 2025. – Т.2. – С. 150-158.
4. **Миронюк И.С., Яковенко Я.П., Якушина А.В.** Влияния ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием на двигательную активность крыс в модели хронического стресса: экспериментальное исследование // Сборник материалов III научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Наука Крыма: от истоков к современности». – 2025. (в печати).
5. **Миронюк И.С., Чуян Е.Н., Якушина А.В., Дорош Н.В., Яковенко Я.П.** Влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием на показатели кожной микроциркуляции крыс в условиях хронического и острого стресса // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия». - 2026. – Т. 12 (78), № 1. – С.190-206 (справка о принятии в печать).

7. В отчетном периоде возникли исключительные права на результаты интеллектуальной деятельности, созданные при выполнении проекта: "Нет".

8. Информация о представлении достигнутых научных результатов на научных мероприятиях (конференциях, семинарах и пр., в том числе форма представления – приглашенный доклад, устное выступление, стендовый доклад).

- Межвузовский международный конгресс «Высшая школа: научные исследования», г. Москва, 13 ноября 2025 г., устное выступление, диплом.

- XVI Международная Крымская конференция «Космос и биосфера», г. Симферополь, 7-10 октября 2025 г., устное выступление.

- V Конгресс молодых ученых, федеральная территория «Сириус», пгт Сириус Краснодарский край, 26-28 ноября 2025 г., устное выступление, приглашение от Российского общества «Знание», благодарность.

9. Информация (при наличии) о публикациях в СМИ, посвященных результатам выполнения научного проекта.

- ознакомление общественности с результатами научного проекта в рамках выставки «Наука в лицах», которая была размещена на центральной улице Крымской столицы с 30.11 по 30.12.2025 гг., организованная Студенческим научным обществом и Советом молодых ученых ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Цель проведения выставки – это популяризация молодежной науки и передовых исследований ученых, повышение престижа и социальной привлекательности научно-исследовательской деятельности. Ссылка на источник: <https://science.cfuv.ru/novosti>.

- рассказ о реализации гранта Государственного совета Республики Крым имени Н. Я. Данилевского в программе от 11.12.2025 г. «Говорите правду» на телеканале Крым 24. Ссылка на источник: <https://crimea24tv.ru/content/krimchanka-poluchila-grant-na-issledov/>

10. Привлекались ли к реализации проекта ученые, добровольцы (волонтеры) и иные специалисты: "Нет".

11. Информация о внедрении результатов научного проекта в практическую деятельность.

Основные результаты научного проекта внедрены в учебный процесс кафедры физиологии человека и животных и биофизики, в частности, элективные курсы «Организация и контроль доклинических исследований», «Введение в фармакологию» и в программы научно-исследовательской и производственной практик обучающихся.

12. Расходование средств обладателя гранта Государственного Совета Республики Крым молодым ученым Республики Крым имени Н. Я. Данилевского:

/п	Направления расходования средств гранта	Сумма расходов (тыс. руб.)
1.	Оплата труда (финансовая поддержка молодого ученого, грантообладателя)	187 500,00
2	Командировочные расходы	10000,00
3.	Расходный материал (перчатки медицинские одноразовые, шприцы одноразовые (инсулиновые), пелёнки медицинские одноразовые (обеспечивали ежедневную замену подстилок для животных и защиту рабочих поверхностей), физраствор (0,9% раствор натрия хлорида), влажные салфетки гигиенические (антибактериальные), кожный антисептик на основе спирта, дезинфицирующие средства (комбинированные).	5000,00
4.	Ацетилсалициловая кислота для синтеза химический соединений	2000,00
5	Расходы на подготовку и размещение материалов (публикации)	2000,00
6.	Приобретение оборудования:	51500,00
7.	Покупка ноутбука для работы над проектом <i>Модель и характеристики: ASUS X1504YA-BQ895</i> Необходим для обработки данных и подготовки отчёта. Типографские расходы	3000,00
	Итого	261 000,00

22.12.2025



СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСК	ацетилсалициловая система
АСZn ²⁺	салицилат цинка
АСMg ²⁺	салицилат магния
АД	артериальное давление
Аэ	амплитуда эндотелиальных колебаний
Ан	амплитуда нейрогенных колебаний
Ам	амплитуда миогенных колебаний
Ад	амплитуда дыхательных колебаний
Ас	амплитуда пульсовых колебаний
ГК	гипокинезия
ДАД	диастолическое артериальное давление
К	контроль
Кв	коэффициент вариации
ЛДФ	лазерная доплеровская флоуметрия
МЦР	микроциркуляторное русло
МЦ	микроциркуляция
МТ	миогенный тонус
НТ	нейрогенный тонус
НПВП	нестероидные противовоспалительные препараты
ОС	острый стресс
ПМ	показатель микроциркуляции (перфузия)
перф.ед.	перфузионные единицы
ПШ	показатель шунтирования
ПАД	пульсовое артериальное давление
ССС	сердечно-сосудистая система
САС	симпатоадреналовая система
СКО	среднее квадратичное отклонение
САД	систолическое артериальное давление
ТХ	тромбоксан
ЦГ	центральная гемодинамика
ЦНС	центральная нервная система
ЦОГ	циклооксигеназа
ЧСС	частота сердечных сокращений
eNOS	эндотелиальная NO-синтаза

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова // Ростов н/Д. : Изд-во Ростовского университета, 1990. – 224 с.
2. ГОСТ 33044-2014 Принципы надлежащей лабораторной практики. – М. : Стандартиформ, 2019. – 12 с.
3. ГОСТ Р 50258-92 Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. – М. : ГОССТАНДАРТ РОССИИ, 1992. – 7 с.
4. ГОСТ Р 51232-98 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества. – М. : ГОССТАНДАРТ РОССИИ, 1999. – 21 с.
5. Иванов А.Н. Вазомоторная функция эндотелия / А.Н. Иванов, Э.Б. Попыхова, Н.Е. Терешкина, Т.В. Степанова, О.В. Злобина, И.А. Норкин // Успехи физиологических наук. – 2020. – Т 51, №4. – 82-104 с.
6. Казакова М.С. Референсные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения / М. С. Казакова, С. А. Луговская, В. В. Долгов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – №6. – С. 43–49.
7. Камскова Ю.Г. Влияние длительной гипокинезии на стресс-лимитирующие системы крови и повышение их церулоплазмином и ГОМК / Ю. Г. Камскова // Вест. ЮУрГУ, – 2004. – С. 90-93.
8. Квакина Е.Б. О различных адаптационных реакциях в зависимости от силы воздействия / Е.Б. Квакина, М.А. Уколова // Материалы II Всесоюз. совещания по влиянию магнитных полей. – М., 1969. – С.107–110.
9. Кишкун А.А. Клиническая лабораторная диагностика : учеб. пос. / А.А. Кишкун // М. : ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 125 с.
10. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.
11. Козлов В.И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В.И. Козлов, Г.А. Азизов, О.А. Гурова, Ф.Б. Литвин // – М.: РУДН – 2012. – 31 с.
12. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу / Е.В. Коплик // Вестник новых медицинских технологий. – 2002. – Т. 9, № 1. – С. 16-18.
13. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники [Текст] / Д.Э. Коржевский, А.В. Гияров – СП.: СпецЛит. – 2010. – 95 с.
14. Крупаткин А.И. Динамический колебательный контур регуляции капиллярной гемодинамики / А.И. Крупаткин // Физиология человека. –2007. – Т. 33, №5. – С. 93–101 с.
15. Крупаткин А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров // рук-во для врачей. – М.: Либроком. – 2013. – 496 с.

16. Мамылина Н.В. Поведение животных в динамике длительного эмоционального стресса и длительной гипокинезии / Н.В. Мамылина, Ю.Г. Камскова, В. И. Павлова // Вестник ЮУрГУ. – 2004. – №6(б). – С.277-284.
17. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма / Меерсон Ф. З. // Руководство по физиологии адаптационных процессов. М.: Наука. – 1986. – С. 521-524.
18. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М. Г. Пшенникова // 1988. – 288 с.
19. Мирошников М.В. Вариабельность гематологических показателей крови и установление референтных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 1: грызуны и кролики. / М. В. Мирошников, М. А. Ковалева, К. Т. Султанова, М. Н. Макарова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2024; – Т.4. – С.35–58.
20. Патологическая физиология системы крови и гомеостаза : учеб.-метод. пособие для студ. лечеб., педиатр., мед.-псих. и мед.-диаг. факультетов /Н.Е. Максимович и [др]. – Гродно : УО «ГрГМУ», 2010. – С.127–138.
21. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. / М. Г. Пшенникова // Пат. физиол. – 2001. – №2. – С. 26-30.
22. Солодков А.П. Изменения эндотелий зависимой дилатации и $\alpha 1$ -адренореактивности аорты крыс, вызванные ингибированием индуцируемой NO-синтазы после ограничения двигательной активности / А.П. Солодков, Н.М. Яцковская // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 7. – С. 859-868.
23. Сорокина А.В. Опыт проведения клинко-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 1: гематологические исследования) / А. В. Сорокина, С. В. Алексеева, Н. В. Еремина, А. Д. Дурнев// Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2019. – Т.9. – №3. – С. 197–206.
24. Степаничев М. Ю. Эффекты хронического комбинированного стресса: изменения поведения крыс с разной реакцией на новизну / М. Ю. Степаничев, А. О. Тишкина, М. Р. Новикова, И. П. Левшина, А. К. Пискунов, Н. А. Лазарева, Н. В. Гуляева // Журнал высшей нервной деятельности. – 2016. – Т. 66, № 5. – С. 611–625.
25. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. / Р. У. Хабриев // М.: Медицина: – 2005. – 832 с.
26. Чуян Е. Н. Вазотропные эффекты координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с металлами лития, калия, магния и кальция / Е. Н. Чуян, И. С. Миронюк, М. Ю. Раваева, З. И. Фахридинова, В. И. Мартынюк, А. С. Гордиенко, И. В. Черетаев // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2022. – Т.8(74). – № 3. – С. 196–210.
27. Чуян Е. Н. Дозозависимые кардиотропные эффекты ацетилсалицилатов / Е. Н. Чуян, И. С. Миронюк, М. Ю. Раваева, И. В. Черетаев, Т. В. Гришина, Р.

- Н. Аблаева // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2020. – Т. 6(72), № 4. – С. 175–196.
28. Чуян Е. Н. Изменение показателей микро- и центральной гемодинамики у крыс при действии ацетилсалициловой кислоты и ее координационных соединений с металлами / Е. Н. Чуян, И. С. Миронюк, М. Ю. Раваева, Т. В. Гришина, И. В. Черетаев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20(4). – С. 75-86.
29. Шилов А.М. Ацетилсалициловая кислота – нестероидный противовоспалительный препарат как антиагрегант в практике лечения сердечно–сосудистых заболеваний / А.М. Шилов, С.А. Князева // «РМЖ» – 2007. – № 6. – С. 550-559.
30. Щербаков Г.Г. Внутренние болезни животных: учебник [текст] / А.В. Яшин, А.П. Курдеко [и др.]; под общей редакцией Г.Г. Щербакова [и др.]. — 3-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2019. — 716 с.
31. Abdelwahab H. W. Acetylsalicylic acid compared with enoxaparin for the prevention of thrombosis and mechanical ventilation in COVID-19 patients: a retrospective cohort study / H. W. Abdelwahab, S. W. Shaltout, H. A. Sayed Ahmed, A. M. Fouad, E. Merrell, J. B. Riley, R. Salama, A. G. Abdelrahman, E. Darling, G. Fadel, M. S. Elfar // *Clinical Drug Investigation*. – 2021. – Vol. 41, № 8. – P. 723–732.
32. Abdulla S. J. Impact of Acute and Chronic Stress on Novel Kidney Injury and CBC-Derived Inflammatory Biomarkers in Rats. / S. J. Abdulla, H. S. Namiq, B. H. Marouf // *Al-Rafidain Journal of Medical Sciences*. – 2025. – Vol.9(1). – P. 6–17
33. Abel E.L. A possible alarm substance in the forced swimming test / E.L. Abel, P.J. Bilitzke *Physiology and Behavior*. – 1990. – 48(2). P. 233-239. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90306-o](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90306-o).
34. Alyavi A. Role of the acetylsalicylic acid in the treatment of coronary artery disease / A. Alyavi, S. Khodjanova, S. Kadirova // *Biomedical Research*. – 2020. – Vol. 31, № 4. – P. 82–85.
35. Ausina P. Acetylsalicylic acid and salicylic acid present anticancer properties against melanoma by promoting nitric oxide-dependent endoplasmic reticulum stress and apoptosis / P. Ausina, J. R. Branco, T. M. Demaria, A. M. Esteves, J. G. B. Leandro, A. C. Ochioni, A. P. M. Mendonça, F. L. Palhano, M. F. Oliveira, W. Abou-Kheir, M. Sola-Penna // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 19617.
36. Azimova S. B. Modern Aspects of Stress-Induced Changes in Immobilization Stress / S. B. Azimova, Y. B. Salikhova, J. D. Khujaknmedov // *American Journal of Medicine and Medical Sciences*. – 2025. – Vol. 15(2). – P. 351–355.
37. Berghoff M. Vascular and neural mechanisms of ACh-mediated vasodilation in the forearm cutaneous microcirculation / M. Berghoff, M. Kathpal, S. Kilo, M. J. Hilz, R. Freeman // *Journal of Applied Physiology*. – 2002. – Vol. 92, № 2. – P. 780–788.
38. Cholik R. S. Impact of Dietary Salicylates on Iron, Zinc, and Copper Status in Preeclampsia Model Rats Induced by L-NAME. / R. S. Cholik, K. Skrypnik, A.

Waškiewicz, M. Karazniewicz-tada, J. Suliburska, // *Biological Trace Element Research*. – 2025.

39. De Boer M.W. Invited review: Systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows/ M.W. De Boer, S.J. Le Blanc, J. Dubuc // *Journal of Dairy Science*. – 2014. – V.97(7). –P. 3983–3999.

40. De Wolff J. F. Eicosanoid synthesis. – 2007. – URL: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/40/Eicosanoid_synthesis.svg/2560px-Eicosanoid_synthesis.svg.png

41. Enajat M. Effect of acetylsalicylic acid on microvascular thrombosis in autologous breast reconstruction / M. Enajat, M. A. Mohammadi, J. Debeij, R. R. van der Hulst, M. A. Mureau // *Journal of reconstructive microsurgery*. – 2014. – Vol. 30, № 01. – P. 065-070.

42. Expert Consensus Document on the use of antiplatelet agents. The Task Force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European Society of Cardiology // *Eur. Heart J*. – 2004. – V. 25. – P.166– 181.

43. Fijałkowski Ł. Acetylsalicylic acid – primus inter pares in Pharmacology / Ł. Fijałkowski, M. Skubiszewska, G. Grześk, F. K. Koech, A. Nowaczyk // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27, № 23. – P. 8412.

44. Frydrychowski P. Cardioprotective effect of acetylsalicylic acid in the myocardial ischemia-reperfusion model on oxidative stress markers levels in heart muscle and serum / P. Frydrychowski, M. Michałek, I. Bil-Lula, E. Chełmecka, A. Kafel, A. Noszczyk-Nowak, D. Stygar // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11, № 8. – P. 1432.

45. Gąsowska-Bajger B. The effect of acetylsalicylic acid as a representative non-steroidal anti-inflammatory drug, on the activity of myeloperoxidase / B. Gąsowska-Bajger, K. Sosnowska, A. Gąsowska-Bodnar, L. Bodnar // *Pharmaceuticals*. – 2023. – Vol. № 16, 7. – P. 1012.

46. Goertz O. Influence of anti-inflammatory and vasoactive drugs on microcirculation and angiogenesis after burn in mice / O. Goertz, A. Ring, B. Buschhaus, T. Hirsch, A. Daigeler, L. Steinstraesser, H. U. Steinau, S. Langer // *Burns*. – 2011. – Vol. 37, № 4. – P. 656–664.

47. Gurbel P. A. Early assessment of the pharmacokinetic and pharmacodynamic effects following acetylsalicylic acid loading: toward a definition for acute therapeutic response / P. A. Gurbel, K. P. Bliden, P. Kundan, D. Kraft, R. Parekh, S. Singh, A. D. Babu, A. P. Shah, R. Chaudhary, U. S. Tantry // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. – 2023. – P. 1–8.

48. Gusev, A. Mn (II), Co(II), Ni(II) and Zn salicylates: Synthesis, structure and biological properties studies / A. Gusev, Y. Baluda, E. Braga, M. Kryukova, M. Kiskin, E. Chuyan, M. Ravaeva, I. Cheretaev, W. Linert // *Inorganica Chimica Acta*. – 2021. – P. 528. Article120606.

49. Hammad A. M. Acetylsalicylic acid reduces cigarette smoke withdrawal-induced anxiety in rats via modulating the expression of NFκB, GLT-1, and xCT / A. M. Hammad, L. F. Alzaghari, M. Alfaraj, W. Al-Qerem, W. H. Talib,

- F. Alasmari, H. Amawi, F. S. Hall // *Frontiers in Pharmacology*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1047236.
50. Heidarianpour A. The influence of oral magnesium sulfate on skin microvasculature blood flow in diabetic rats / A. Heidarianpour, E. Sadeghian, A. Gorzi, F. Nazem // *Biological Trace Element Research*. – 2011. – Vol. 143. – P. 344–350.
51. Helgadóttir H. Endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) mediates acetylsalicylic acid (aspirin) vasodilation of pregnant rat mesenteric arteries / H. Helgadóttir, T. Tropea, S. Gizurarson, M. Mandalà // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 18. – P. 10162.
52. Houben A. J. H. M. Peripheral macro- and microcirculation in short-term insulin-dependent diabetes mellitus: the role of prostaglandins in early haemodynamic changes / A. J. H. M. Houben, A. N. Kruseman, E. Bouhouch, D. W. Slaaf, N. C. Schaper // *European Journal of Clinical Investigation*. – 1993. – Vol. 23, № 10. – P. 662–667.
53. Humeau A. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats/ A. Humeau, A. Kontka, P. Abraham // *Phys Med Biol*. – 2004. – V. 49(5). – P. 843–857.
54. Mochizuki-Kawai H. Environmental restraint: A hidden risk factor for stress-induced depression in rats / H. Mochizuki-Kawai, S. Nakazawa, H. Oike, H. Kimoto, S. Tomita, M. Toyoshima, T. Xiong, K. Yamada // *IBRO Neuroscience Reports*. – 2025. – Vol. 18. – P. 754–758.
55. Mochizuki-Kawai H. Environmental restraint: A hidden risk factor for stress-induced depression in rats / H. Mochizuki-Kawai, S. Nakazawa, H. Oike, H. Kimoto, S. Tomita, M. Toyoshima, T. Xiong, K. Yamada // *IBRO Neuroscience Reports*. – 2025. – Vol.18. – P.754–758.
56. Mohamed D. I. Acetylsalicylic acid suppresses alcoholism-induced cognitive impairment associated with atorvastatin intake by targeting cerebral MiRNA155 and NLRP3: In vivo, and in silico study / D. I. Mohamed, D. Alaa El-Din Aly El-Waseef, E. S. Nabih, O. A. El-Kharashi, H. F. Abd El-Kareem, H. H. Abo Nahas, B. A. Abdel-Wahab, Y. A. Helmy, S. Z. Alshawwaand, E. M. Saied // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. 529.
57. Motaghi S. The anxiolytic effect of salicylic acid is mediated via the GABAergic system in the fear potentiated plus maze behavior in rats / S. Motaghi, H. M. D. Herik, G. Sepehri, M. Abbasnejad, S. Esmaeli-Mahani // *Mol Biol Rep*. – 2021. – Vol.49(2). – P. 1133-1139.
58. Ni R. Effect of different doses of acetylsalicylic acid on the antithrombotic activity of clopidogrel in a mouse arterial thrombosis model / R. Ni, N. Vaezzadeh, J. Zhou, J. I. Weitz, M. Cattaneo, P. L. Gross // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2018. – Vol. 38, № 10. – P. 2338–2344.
59. Nowaczyk A. Overview of first-line and second-line pharmacotherapies for osteoarthritis with special focus on intra-articular treatment / A. Nowaczyk,

D. Szwedowski, I. Dallo, J. Nowaczyk // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, № 3. – P. 1566.

60. O'Connell K.E. Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research // Comparative medicine. – 2015. – Vol. 65. – N.2. – P. 96–113.

61. Obermoser V. Chlorinated cobalt alkyne complexes derived from acetylsalicylic acid as new specific antitumor agents / V. Obermoser, D. Baecker, C. Schuster, V. Braun, B. Kircher, R. Gust // Dalton Transactions. – 2018. – Vol. 47, № 12. – P. 4341–4351.

62. Pujo J.M. The effects of prolonged stress exposure on the brain of rats and insights to understand the impact of work-related stress on caregivers / J.M. Pujo, D.Y. Fitriani, H. Ben Saad, M. Ghariani, A. Dghim, M. Mellouli, A. Burin, R. Mutricy, S. Houcke, A. Roujansky, M Mansyur, F. Nkontcho, B. de Toffol, I. Ben Amara, H. Kallel // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2023. – Vol. 17. – P. 1288814.

63. Ramondou P. Current-induced vasodilation specifically detects, and correlates with the time since last aspirin intake: an interventional study of 830 patients / P. Ramondou, J. Hersant, O. Fouquet, W. Y. Sempore, P. Abraham, S. Henni // Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics. – 2021. – Vol. 26, № 3. – P. 269–278.

64. Schmid – Schonbein H. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations / H. Schmid – Schonbein, S. Ziege, R. Grebe, V. Blazek, R. Spielmann, F. Linzenich // Int. J. Microcir. – 1997. – № 17. – P. 346-359.

65. Shalaginova I. G. Effects of psychogenic stress on some peripheral and central inflammatory markers in rats with the different level of excitability of the nervous system / I. G. Shalaginova, O. P. Tuchina, M. V. Sidorova, A. S. Levina, D. A-A. Khlebaeva, A. I. Vaido, N. A. Dyuzhikova // PLOS ONE. – 2021. – Vol. 16(7). – P. e0255380.

66. Terceño M. Effect of combined acetylsalicylic acid and statins treatment on intracranial aneurysm rupture / M. Terceño, S. Remollo, Y. Silva, S. Bashir, M. Werner, V. A. Vera-Monge, J. Serena, C. Castaño // PLoS One. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. e0247153.

67. Yeasmin F. Natural Salicylates and Their Roles in Human Health / F. Yeasmin, H. W. Choi // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol.21(23). – p. 9049.

68. Ying Z. Salicylates dilate blood vessels through inhibiting PYK2-mediated RhoA/Rho-kinase activation / Z. Ying, F. R. Giachini, R. C. Tostes, R. C. Webb // Cardiovascular Research. – 2009. – Vol. 83, № 1. – P. 155–162.

69. Zalewski P. D. Roles for endothelial zinc homeostasis in vascular physiology and coronary artery disease / P. D. Zalewski, J. F. Beltrame, A. A. Wawer // Critical reviews in food science and nutrition. – 2019. – Vol. 59, № 21. – P. 3511-3525

70. Zangiabadi I. Exploring the impact of acetylsalicylic acid and conditioned medium obtained from mesenchymal cells, individually and in combination, on cognitive function, histological changes, and oxidant–antioxidant balance in male rats with hippocampal injury / I. Zangiabadi, M. Ilaghi, A. Shamsara, S. H. Eftekhar-Vaghefi, M. Saheli, M. Shabani // *Brain and Behavior*. – 2024. – Vol. 14(9). – P. e70010.

71. Zoroddu M. A. The essential metals for humans: a brief overview / M. A. Zoroddu, J. Aaseth, G. Crisponi, S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2019. – Vol. 195. – P. 120–129.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	2
РАЗДЕЛ I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ	5
1.1 Биологические эффекты ацетилсалициловой кислоты.....	5
1.2 Влияние ацетилсалициловой кислоты на сердечно-сосудистую систему .	10
1.3 Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс.....	12
1.3.1 Гипокинезия, как модель стресса и ее влияние на организм.....	14
РАЗДЕЛ II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	18
2.1 Организация проведения экспериментальных исследований.....	18
2.2 Характеристика тестируемых координационных соединений ацетилсалициловой кислоты	22
2.3 Методика формирования однородных групп животных	22
2.4 Методика моделирования хронического стресса.....	23
2.5 Методика моделирования последовательного острого стресса в тесте вынужденного плавания.....	25
2.6. Методика регистрации показателей центральной гемодинамики.....	25
2.7 Методика исследования кожной микроциркуляции.....	28
2.8 Методика регистрации показателей двигательной активности в тесте «Открытое поле».....	32
2.9. Методика подсчёта лейкоцитарной формулы в периферической крови крыс.....	33
2.10 Метод проведения гистологического анализа толстой кишки крыс.....	35
2.11 Статистическая обработка экспериментальных данных.....	36
РАЗДЕЛ III РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	37

3.1. Динамика показателей кожной микроциркуляции крыс в моделях хронического и острого стресса: влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием.	37
3.2. Динамика показателей артериального давления у крыс в моделях хронического и острого стресса: влияние координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием.	50
3.3. Влияния ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием на частоту сердечных сокращений у крыс в модели хронического стресса: экспериментальное исследование.....	57
3.4. Влияния ацетилсалициловой кислоты и её координационных соединений с цинком и магнием на двигательную активность крыс в модели хронического стресса: экспериментальное исследование.....	57
3.5 Изменения лейкоцитарной формулы крови крыс при действии координационных соединений ацетилсалициловой кислоты с цинком и магнием в моделях хронического стресса посредством гипокинезии и острого стресса в тесте вынужденного плавания.....	65
3.6. Влияние ацетилсалициловой кислоты и салицилатов цинка и магния на гистологические показатели толстой кишки крыс в условиях последовательного действия хронического и острого стресса.....	67
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	71
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	78
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	79