



ПОЛОЗОВА АНАСТАСИЯ ВЛАДИМИРОВНА

**Морфоструктурные особенности и функциональное состояние
эритроцитов при моделировании черепно-мозговой травмы и её
экспериментальной коррекции цитопротекторами**

1.5.5 — физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Работа выполнена на кафедре физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

Научный руководитель:	Дерюгина Анна Вячеславовна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»
Официальные оппоненты:	Лопатина Екатерина Валентиновна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной физиологии Научно-образовательного института биомедицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Черныш Александр Михайлович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биофизики мембран клеток при критических состояниях Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии»
Ведущая организация:	ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

Защита диссертации состоится «17» декабря 2021 года в 13 часов на заседании диссертационного совета 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, д 23, корп. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского и на сайте <https://diss.unn.ru/files/2021/1154/diss-Polozova-1154.pdf>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических
наук



Акинчиц Елена Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Известно, что черепно-мозговая травма (ЧМТ) занимает одно из лидирующих мест среди причин смерти и инвалидизации населения разных стран мира (*Лихтерман, 2016; Benedictus, 2010; Nguyen, 2011; McDonald et al., 2016*). Ведущим механизмом нейротравмы является гипоксия, которая формируется на всех звеньях жизнедеятельности организма: системном, органном, клеточном и носит, как правило, смешанный характер (*Montivero et al., 2021; Baker et al., 2021*). При этом чаще всего тканевая гипоксия определяет исход критического состояния (*Пурас и др., 2012; Лихтерман и др., 2016; Царев, 2018; Salehi et al., 2017; Obenaus et al., 2017*).

На степень проявления тканевой гипоксии существенное влияние оказывают эритроциты, поскольку от их функционального состояния зависят реологические свойства крови и микроциркуляция (*Муравьев и др., 2012; Fujino, 2000*). Реципрокное взаимодействие между кровотоком и ишемизированной тканью обуславливает тканевое повреждение. Гипоперфузия тканей ведет к гипоксии сосудистого эндотелия, у которого появляются прокоагулянтные свойства, что сопровождается адгезивно-агрегационной функцией клеток крови. Микроциркуляторные и эндотелиальная дисфункции при травме, в свою очередь, рассматриваются как причина полиорганной недостаточности, состояние которой усугубляется развитием окислительного стресса (*Токмакова и др., 2012; Klijn et al., 2008; Wolin et al., 2009*).

Учитывая, что одним из возможных механизмов развития каскадных реакций, приводящих к полиорганной недостаточности, могут являться поврежденные эритроциты, ответственные за перенос кислорода к тканям, представляется важным понять, какие молекулярные механизмы реализуются в эритроцитах в ответ на дестабилизацию системы гомеостаза при травматическом стрессе, могут ли они иметь адаптивный характер или осуществляются изменения, имеющие необратимый деструктивный характер.

Коррекция морфофункционального состояния эритроцитов при травме, может быть важным фактором в предотвращении ишемии и гипоксии органов и тканей. В настоящее время особое внимание в лечении критических состояний сконцентрировано на исследовании цитопротекторов (*Förster, Reiser, 2016*). К данной группе соединений относится мексикор и цитофлавин, обладающие антиоксидантным и антигипоксическим действием (*Завалий и др., 2018; Павлюченко, Бат, 2018; Kesarev et al., 2017*). Однако

механизмы корректирующего влияния данных цитопротекторов на морфофункциональное состояние эритроцитов при ЧМТ не изучены.

Для оценки состояния живых клеток целесообразно использование неинвазивных методик, вносящих наименьшее количество повреждений и уменьшающих, таким образом, погрешность метода измерений. Перспективным в области исследования состояния эритроцитов является метод лазерной модуляционной интерференционной микроскопии, позволяющий оценивать клетки в режиме реального времени и получать количественную информацию об объемном распределении показателя преломления объекта, зависящем от динамики кооперативных внутриклеточных процессов, протекающих на мембране, примембранной областях и в цитоплазме эритроцитов (*Jiang, Yin, 2016; Butola et al., 2018*).

Цель и задачи работы

Цель – исследовать взаимосвязь морфоструктурных показателей и функционального состояния эритроцитов на модели ЧМТ и выявить их роль в развитии репарационных процессов в посттравматический период при использовании цитопротекторов.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить фазово-интерференционные, электрокинетические, агрегационные, окислительные, метаболические характеристики эритроцитов, состояние системы гемостаза при моделировании ЧМТ и действии цитопротекторов в посттравматический период.
2. Выявить зависимость изменения функциональных показателей эритроцитов в модельных системах окислительного стресса, гипердреналинемии и лактоацидоза *in vitro* при действии цитопротекторов.
3. Оценить морфофункциональное состояние головного мозга, микроциркуляторного русла головного мозга и двигательную активность крыс в динамике посттравматического периода ЧМТ и в ходе цитопротекторной терапии.
4. Обосновать значимость адаптационно-приспособительных процессов в эритроцитах для ограничения вторичных повреждений мозга в посттравматический период при применении цитопротекторов.

Научная новизна

Впервые с использованием комплексного подхода изучены фазово-интерференционные изображения, мембранные и метаболические показатели эритроцитов в посттравматический период ЧМТ и при её коррекции цитопротекторами. Показана зависимость морфоструктурных показателей эритроцитов от их функционального состояния при экспериментальной ЧМТ

и действии цитопротекторов в посттравматический период. Выявлено, что увеличение фазовых характеристик эритроцитов определяется усилением процессов липопероксидации, снижением активности каталазы, содержания гемоглобина и коррелирует с уменьшением ЭФПЭ и усилением агрегации в посттравматический период ЧМТ. При действии цитофлавина и мексикора нормализация морфоструктурных характеристик сопровождается восстановлением окислительно-восстановительного баланса и повышением метаболического статуса эритроцитов.

Впервые в экспериментах *in vivo* и *in vitro* показано непосредственное действие препаратов на эритроциты, так и опосредованное их влияние, обуславливающее повышение энергетического потенциала клеток. Доказана целесообразность использования мексикора и цитофлавина для сохранения морфофункциональных показателей и энергетической стабильности эритроцитов, что является необходимым элементом коррекции гипоксических состояний организма. Установленное улучшение морфофункциональных характеристик эритроцитов в сочетании с восстановлением гемокоагуляции и микроциркуляции при ЧМТ определяет ограничение вторичных повреждений мозга при использовании цитопротекторов.

Научно-практическая значимость

Обоснован подход, основанный на анализе нефиксированных эритроцитов методом фазово-интерференционной микроскопии в визуализации динамики метаболических процессов в эритроцитах при ЧМТ и действии цитопротекторов. Выявлены зависимости морфометрических показателей фазово-интерференционных изображений эритроцитов от активности метаболических и окислительных процессов в посттравматический период ЧМТ, что позволяет существенно дополнить и упростить способы клеточной диагностики функционального состояния эритроцитов.

Полученные данные об изменении морфофункциональных показателей эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора, которые в настоящее время наиболее широко используются в комплексной терапии сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний, позволяют наметить новое направление их использования: в качестве корректора структурно-функциональных показателей эритроцитов при травме и расширить внедрение мексикора и цитофлавина в медицинскую практику.

Основные результаты работы могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций общего курса по физиологии человека и животных, патофизиологии и биомедицине.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Фазово-интерференционные показатели эритроцитов сочетаются с метаболической активностью клеток и содержанием гемоглобина, отражают динамику ЭФПЭ и агрегации эритроцитов, что сопряжено с состоянием гемостаза при ЧМТ и действии цитопротекторов.
2. Действие мексикора и цитофлавина определяет улучшение фазово-интерференционного профиля, электрокинетических, агрегационных, метаболических показателей эритроцитов на фоне восстановления гемостаза и микроциркуляции головного мозга в посттравматический период ЧМТ.
3. Мексикор и цитофлавин снижают уровень ПОЛ, уменьшают агрегацию эритроцитов, концентрацию АТФ и повышают ЭФПЭ в условиях энергодефицита при моделировании окислительного стресса, гипердреналемии и лактоацидоза в экспериментах *in vitro*.
4. Коррекция морфофункциональных показателей эритроцитов и микроциркуляторного русла способствует уменьшению дисфункции вторичных повреждений мозга в посттравматический период при действии цитопротекторов.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в проведении всех экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе и обсуждении, а также совместно с соавторами участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследования на семинарах, конференциях и симпозиумах.

Достоверность полученных результатов

Достоверность научных результатов и выводов, полученных в работе, обусловлена использованием широко применяемых на практике в биологии и медицине методов оптической визуализации биологических объектов. Полученные данные подтверждены общепринятыми методами и соответствуют теоретическим выводам и обоснованиям.

Апробация работы

Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 67-ой ежегодной научной студенческо-аспирантской конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2014), 68 областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2015), II Всероссийской XIII Межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов «Современные решения актуальных научных проблем в медицине» (Нижний Новгород, 2015), XXII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием

«Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2016), 69-ой Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2016), Volga Neuroscience Meeting 2018 (Санкт-Петербург – Нижний Новгород, 2016), III Всероссийской 14-й межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов «Современное решение актуальных научных проблем медицины» (Нижний Новгород, 2017), 70-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2017), Научной сессии молодых учёных и студентов «Медицинские этюды» (Нижний Новгород, 2018), 71-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2018), XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2018), объединенном Международном конгрессе «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis совместно с 9-ой Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии» (Санкт-Петербург, 2018), 72-ой Всероссийской с международным участием школе конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2019), 24-ой Нижегородской сессии молодых ученых (технические, естественные, математические науки) (Нижний Новгород, 2019), VI Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2019), IV Всероссийской с международным участием школе-конференции «Физиология и патология кровообращения» (Москва, 2020), VI Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием "VolgaMedScience" (Нижний Новгород, 2020), Российском Форуме по тромбозу и гемостазу совместно с 10-й (юбилейной) конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (Москва, 2020), 73-ей Всероссийской с международным участием школе конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2020), 25-ой Нижегородской сессии молодых ученых (естественные, математические науки) (Нижний Новгород, 2020), XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021» (Санкт-Петербург, 2021), 74-ой всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2021).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 45 научных работ, из них 12 статей в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), рекомендованных Перечнем ВАК, и 33 тезиса конференций.

Структура и объем диссертации.

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Работа изложена на 115 страницах, содержит 20 рисунков и 13 таблиц. Список литературы содержит 179 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе 1** представлен обзор литературы, посвященный следующим основным темам: структурно-функциональная организация эритроцитов, влияние про-и антиоксидантных систем на мембрану эритроцитов, вклад эритроцитов в реализацию процесса свертывания крови, а также особенности развивающихся патофизиологических и биохимических каскадов повреждения клеток в ответ на ЧМТ.

В **главе 2** перечислены использованные в работе объекты исследований, реактивы, оборудование и описаны методики исследований.

Лабораторные животные. Эксперименты выполнены на 350 белых нелинейных крысах – самках.

Модели исследования. В работе использовались модели *in vivo* и *in vitro*.

1. Для экспериментов *in vivo* крысам, фиксированным на планшете, моделировали закрытую ЧМТ путем свободного падения груза массой 100 г с высоты 80 см на теменно-затылочную область черепа (Цымбалюк, Кочин, 2008). Через 1 час после нанесения травмы, а затем в течение 10 суток ежедневно крысам группы – «мексикор» – вводили мексикор (ООО «ЭкоФармИнвест», г. Москва) в дозе 8.0 мг/кг в сутки, группе – «цитофлавин» – вводили цитофлавин (ООО «НТФФ «Полисан», г. Санкт-Петербург) в дозе 0.2 мл/кг в сутки, группы – «контроль» – вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных. Образцы крови брали из подъязычной вены на 1, 3, 7 и 12 сутки после нанесения травмы.

2. Эксперименты *in vitro* проводили на предварительно отмытых эритроцитах крыс. Каждая серия включала по 20 опытов.

А) Лактатную модель гипоксического состояния моделировали инкубацией эритроцитов при 37°C в течение 30 мин с 10 мМ/л раствором

молочной кислоты, что соответствует концентрации, имитирующей умеренный ацидоз (Boning t.al., 1989).

Б) Окислительный стресс моделировали путем добавления к фракции отмытых эритроцитов 25 мМ раствора $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ с последующей инкубацией 30 мин при 37°C (Rise-Erans C.et al., 1987).

В) Гиперадреналемию осуществляли путем инкубации эритроцитов в течение 30 мин с адреналином (1×10^{-9} г/мл), что соответствует его концентрации в организме при стрессовой реакции.

Во всех сериях проводили исследование действия мексикора (2×10^{-6} г/мл эритроцитов) и цитофлавина (1×10^{-4} мл/мл эритроцитов) на эритроциты, инкубируя их с цитопротекторами в течение 30 мин.

Методы исследования.

Изучение комплексной фазометрии эритроцитов методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии проводили на лазерном микроскопе МИМ-340 (Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова, Россия), лазер с длиной волны 650 нм и объектив с увеличением 30 ($\text{NA}=0.65$), разрешение по поверхности — до 15 нм, разрешение по вертикали — 0.1 нм. Для захвата изображений применяли CCD видеокамеру VS-415U (НПК «Видеоскан», Россия) с разрешением 782x582 пикселей. Обработку полученных изображений проводили в программе MIM Visualizer 1.0 (MIM Software Inc., США).

Для анализа функционально-метаболического состояния эритроцитов исследовали электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) методом микроэлектрофореза с использованием цитоферометра в нашей модификации (Deryugina et al., 2017), агрегацию эритроцитов методом оптической микроскопии путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов (Дерюгина и др., 2006), концентрацию малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Лившиц, 2007), активность каталазы связанной со снижением пероксида (H_2O_2) в пробе (Beers, Sizer, 1952), концентрацию АТФ и 2.3-ДФГ неэнзиматическим методом (Виноградова и др., 1980; Boyarinov et al., 2017) и активность Na-K-АТФазы по приросту неорганического фосфата (Казеннов и др., 1984). Для оценки гематологических показателей крови определяли количество эритроцитов (RBC) и концентрацию гемоглобина (HGB) на гематологическом анализаторе «Abacus Junior» 30ND (Diatron, Австрия).

Состояние системы гемокоагуляции оценивали по показателям свертывающей системы плазмы крови: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), фибриноген (ФБ). Показатели гемостаза определяли на анализаторе АПГ4-01 «Минилаб

704» (ООО «Эйлитон» г. Москва) с помощью стандартных наборов реагентов. Показатели свертывания цельной крови: начало свертывания (тромбопластиновое время), конец свертывания, продолжительность процесса свертывания и время начала ретракции и фибринолиза регистрировали методом коагулографии (Булавкин и др., 2003).

Для микроскопического исследования состояния ангио- и цитоархитектоники коры больших полушарий головного мозга проводили гистологическую обработку и окрашивание образцов по стандартному протоколу. Структуру микроциркуляторного русла, состояние паренхимы, нейронов и глиальных клеток и их морфометрический анализ исследовали с помощью микровизора проходящего света Vizo 103 (Ломо, Санкт-Петербург) на увеличениях 20х и 40х.

Исследование наличия и степени выраженности моторных нарушений крыс проводили по тесту «метод оценки передвижения по бруску» (Saatman, 1996).

Статистический анализ данных.

Полученные экспериментальные данные рассчитывали, как среднее значение (Mean) со стандартным отклонением (SD) или ошибкой среднего (SEM). Сравнительный анализ данных проводили с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0. и Microsoft Excel. Для проверки гипотезы о виде распределения применялся метод Шапиро-Уилка. Изучение статистических закономерностей осуществлялось с применением параметрического (критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони) метода статистики. За величину уровня статистической значимости различий принимали $p \leq 0,05$.

Глава 3 содержит изложение и обсуждение результатов исследования.

1. Исследование морфоструктурного и функционального состояния эритроцитов и системы гемостаза в посттравматический период ЧМТ.

Визуализация эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии показала, что фазовые портреты характеризовались статистически значимым увеличением фазовой высоты, диаметра, площади, объема и периметра эритроцитов относительно значений тех же показателей у интактной группы животных (рис. 1 А, Б, В). Было установлено, что с 1 суток посттравматического периода ЧМТ фазовые портреты эритроцитов характеризовались увеличенной сферичностью и появлением большого количества выпуклостей на поверхности тора (рис. 1 Г, Д).

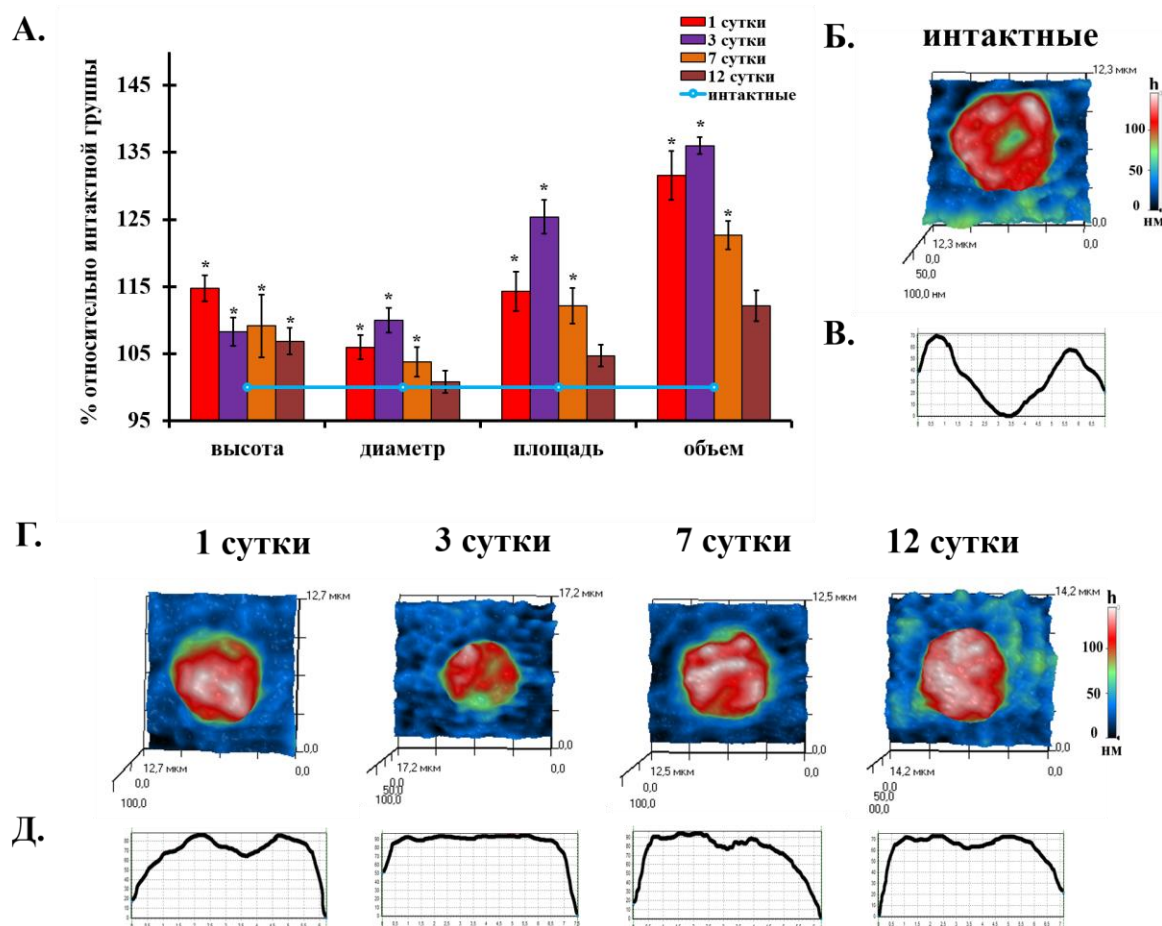


Рис. 1. Динамика морфометрических показателей эритроцитов крыс при ЧМТ (А – гистограмма морфометрических размеров, Б – типичное фазово-интерференционное изображение эритроцита интактных животных, В – фазовый профиль эритроцита интактных животных, Г – типичные фазово-интерференционные изображения эритроцитов крыс в динамике посттравматического периода, Д – профиль эритроцитов крыс в динамике посттравматического периода). Среднее $\pm$ SEM, обсчет проводили по 50 – 75 клеткам для каждой временной точки. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$.

При оценке электрокинетических, агрегационных, метаболических показателей эритроцитов после ЧМТ было выявлено снижение ЭФПЭ, повышение агрегации эритроцитов, увеличение концентрации МДА на фоне снижения активности каталазы, инактивации Na-K-АТФазы, снижения концентрации АТФ и увеличения содержания 2.3-ДФГ относительно интактной группы животных (рисунок 2).

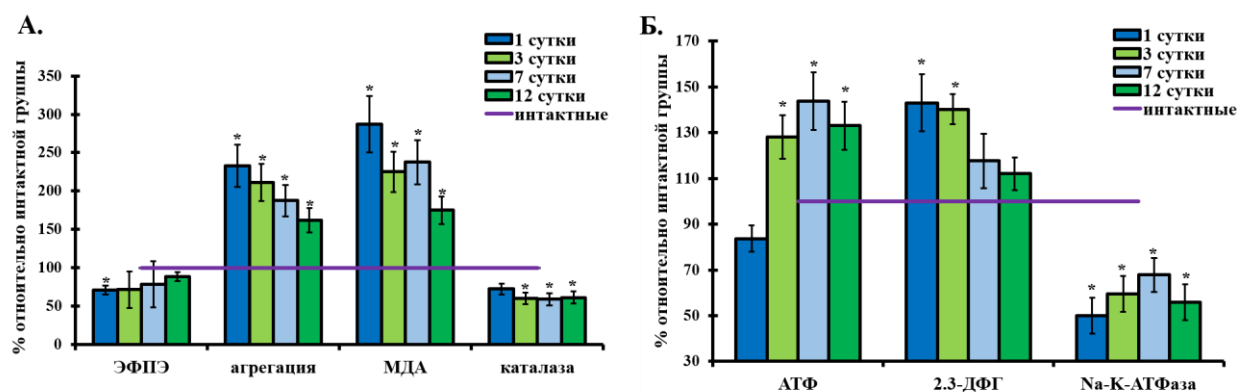


Рис. 2. Динамика функциональных показателей эритроцитов в посттравматический период ЧМТ крыс (А – гистограмма поверхностных, про-и антиоксидантных свойств эритроцитов, Б – гистограмма активности Na-K-АТФазы, содержания АТФ и 2.3-ДФГ эритроцитов). Среднее $\pm$ SD. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p < 0.05$.

Оценка корреляционных зависимостей фазово-интерференционных изображений и динамики функционального состояния эритроцитов выявила взаимосвязь морфометрических показателей эритроцитов с исследуемыми функциональными характеристиками. Увеличение фазовой высоты сочеталось со снижением концентрации АТФ ($r=0.89$), активности Na-K-АТФазы ($r=0.93$), каталазы ($r=0.91$) и с увеличением концентрации МДА ($r=0.84$). В свою очередь, была выявлена высокая корреляционная зависимость ЭФПЭ и агрегации – показателей оказывающих существенную роль на микрореологию крови, от диаметра эритроцитов: для ЭФПЭ $r=0.87$, агрегации $r=0.91$.

Увеличение фазово-интерференционных показателей эритроцитов при ЧМТ сопровождалось уменьшением количества эритроцитов и гемоглобина. Также с первых суток посттравматического периода наблюдали активацию процессов коагуляции (рис. 3). Было зарегистрировано укорочение времени свертывания крови и времени начала ретракции и фибринолиза на 17%, 24%, 33.3% и 13% соответственно ($p \leq 0.05$). Наблюдалось уменьшение АЧТВ на 19% и ПВ на 17.8%, увеличение уровня ФБ в 2.6 раза относительно нормы ($p \leq 0.05$).

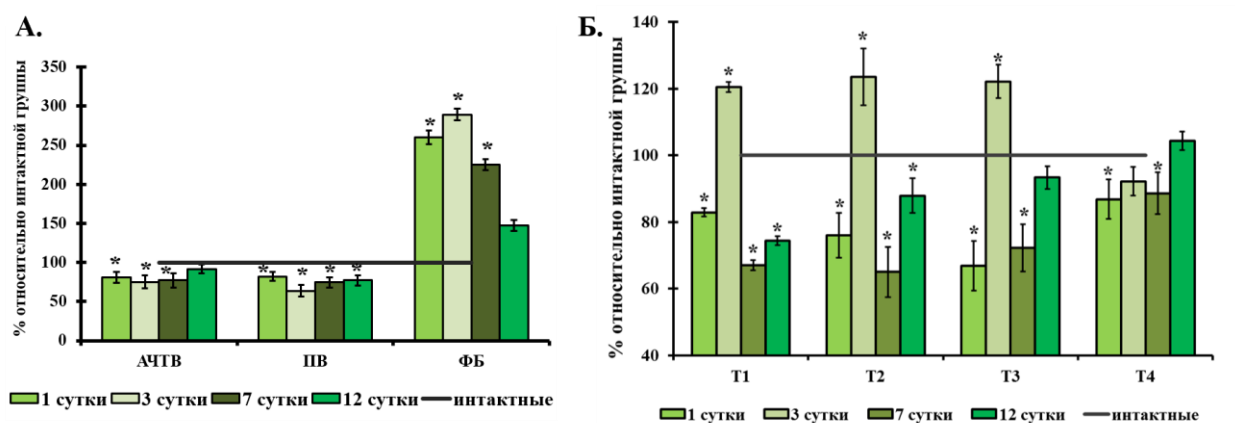


Рис. 3. Динамика изменения гемостатических показателей крови в посттравматический период ЧМТ крыс (А – изменение показателей свертывания плазмы крови; Б – изменение показателей свертывания цельной крови). Среднее $\pm$ SD. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$. Сокращения: АЧТВ – активированное частично тромбопластиновое время, ПВ – протромбиновое время, ФБ – фибриноген, T1 – начало свертывания крови, T2 – конец свертывания крови, T3 – продолжительность свертывания крови, T4 – время ретракции и фибринолиза.

Таким образом, выявлена зависимость морфоструктурных показателей эритроцитов от функционального состояния клеток при ЧМТ. Появление и нарастание морфологически измененных клеток «запускает» патологически порочный круг, приводящий к снижению доставки кислорода к тканям, развитию внутрисосудистого гемолиза с высвобождением большого количества АДФ, способного активировать свертывание крови и гиперкоагуляцию (Чумакова и др., 2018). Это приводит к нарушению микро- и макрореологии крови, и, как следствие, необратимым повреждениям головного мозга при травме (Герасимов и др., 2010; Кармен и др., 2011). Учитывая, важность морфофункциональных показателей эритроцитов в газотранспортной функции крови и тот факт, что клетки, расположенные вокруг очага первичного повреждения, крайне чувствительны к малейшим изменениям доставки кислорода (Крылов, Пурас, 2013) было проведено исследование цитопротекторов – мексикора и цитофлавина на морфоструктурные и функциональные характеристики эритроцитов.

2. Исследование морфоструктурного и функционального состояния эритроцитов и системы гемостаза в посттравматический период ЧМТ при действии мексикора и цитофлавина.

В ходе проведения сравнительной цитопротекторной терапии цитофлавином и мексикором при моделировании ЧМТ с 3-7 суток было выявлено восстановление геометрических размеров клетки до значений интактной группы (рис. 4Д).

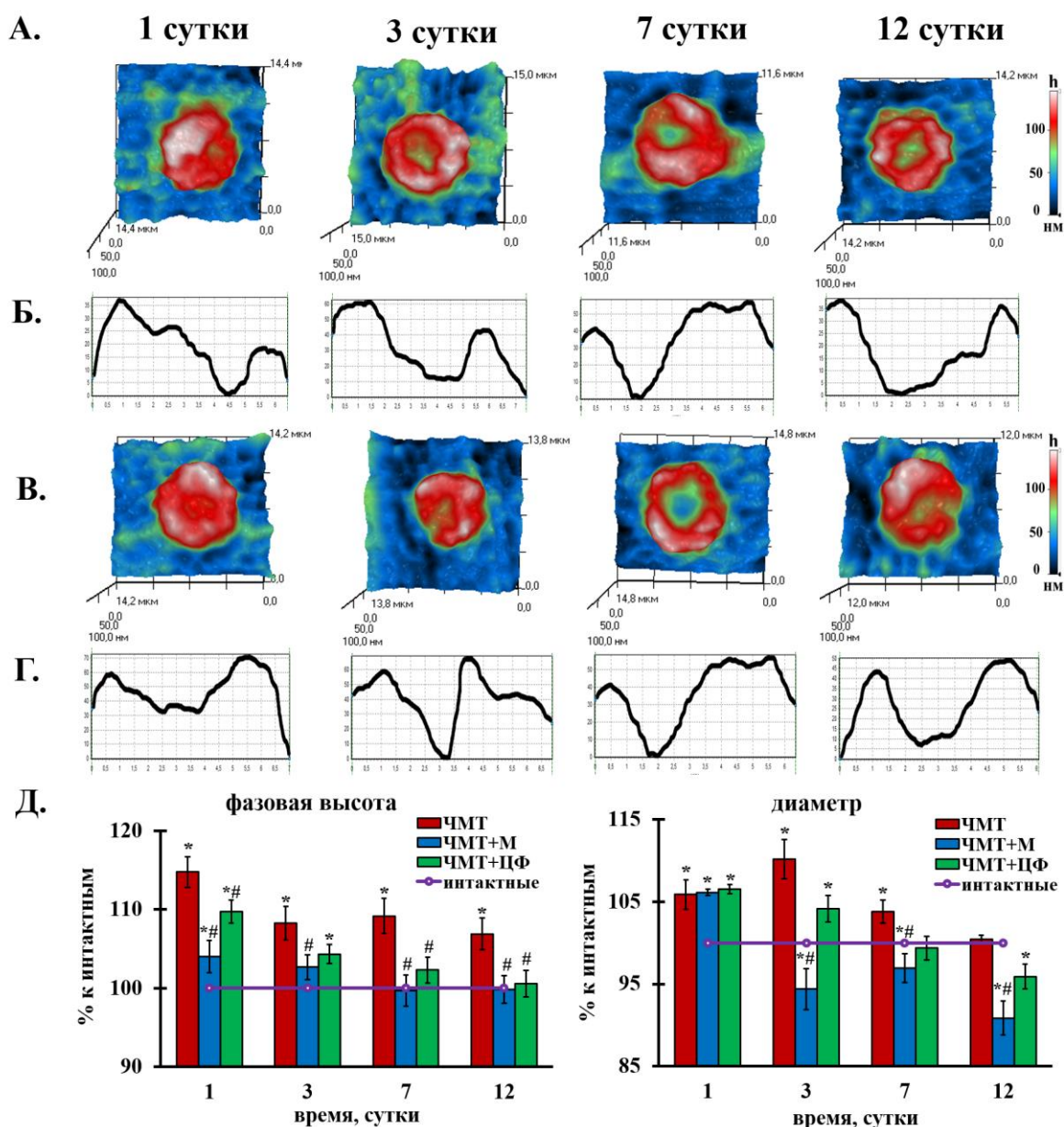
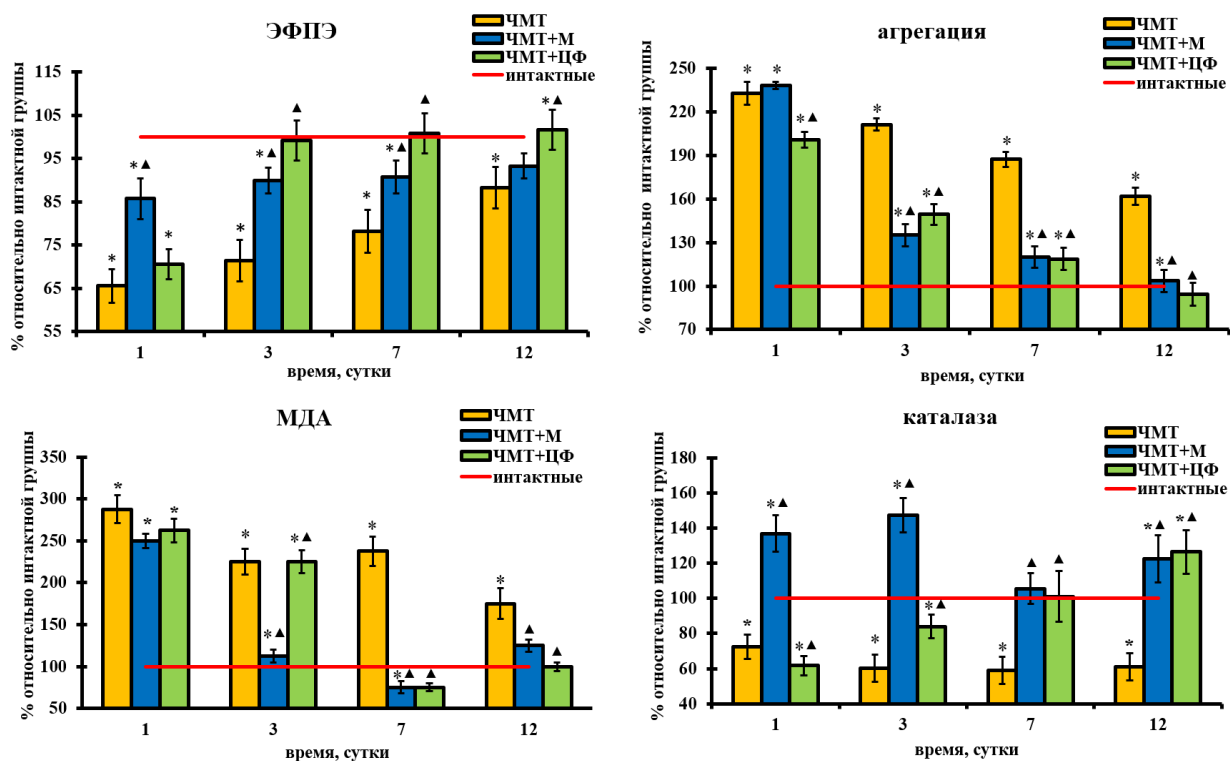


Рис. 4. Динамика морфометрических показателей эритроцитов крыс в посттравматический период ЧМТ при действии цитопротекторов (А – типичные фазово-интерференционные изображения эритроцитов крыс при действии цитофлавина, Б – профиль эритроцитов при действии цитофлавина, В – типичные фазово-интерференционные изображения эритроцитов крыс при действии мексикора, Г – профиль эритроцитов при действии мексикора, Д – диаграммы морфометрических размеров). Среднее $\pm$ SEM, обсчет проводили по 50 – 75 клеткам для каждой временной точки. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$; «#» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p \leq 0.05$. Сокращения: М – мексикор, ЦФ – цитофлавин.

Более активные процессы восстановления геометрических размеров клетки отмечали при действии мексикора начиная с 3 суток (рис. 8 В, Г, Д),

тогда как при действии цитофлавина снижение исследуемых морфометрических характеристик эритроцитов до показателей нормы регистрировали с 7 суток посттравматического периода (рис. 8 А, Б, Д).

Исследование функциональных показателей эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора выявило, что действие препаратов сопровождалось повышением ЭФПЭ, снижением агрегации эритроцитов и концентрации МДА на фоне увеличения активности каталазы, Na-K-АТФазы и концентрации АТФ и 2.3-ДФГ относительно соответствующих показателей контрольной группы животных (рис. 5). Применение мексикора способствовало значительному снижению концентрации МДА с восстановлением данного показателя до значений интактных животных к 3 суткам посттравматического периода, увеличению активности каталазы и Na-K-АТФазы на 1 – 7 сутки после травмы. Применение цитофлавина в большей степени приводило к повышению ЭФПЭ с 3 суток, что характеризовалось восстановлением показателя до значений интактных животных, и пролонгированному увеличению содержания АТФ в эритроцитах с 7 суток посттравматического периода.



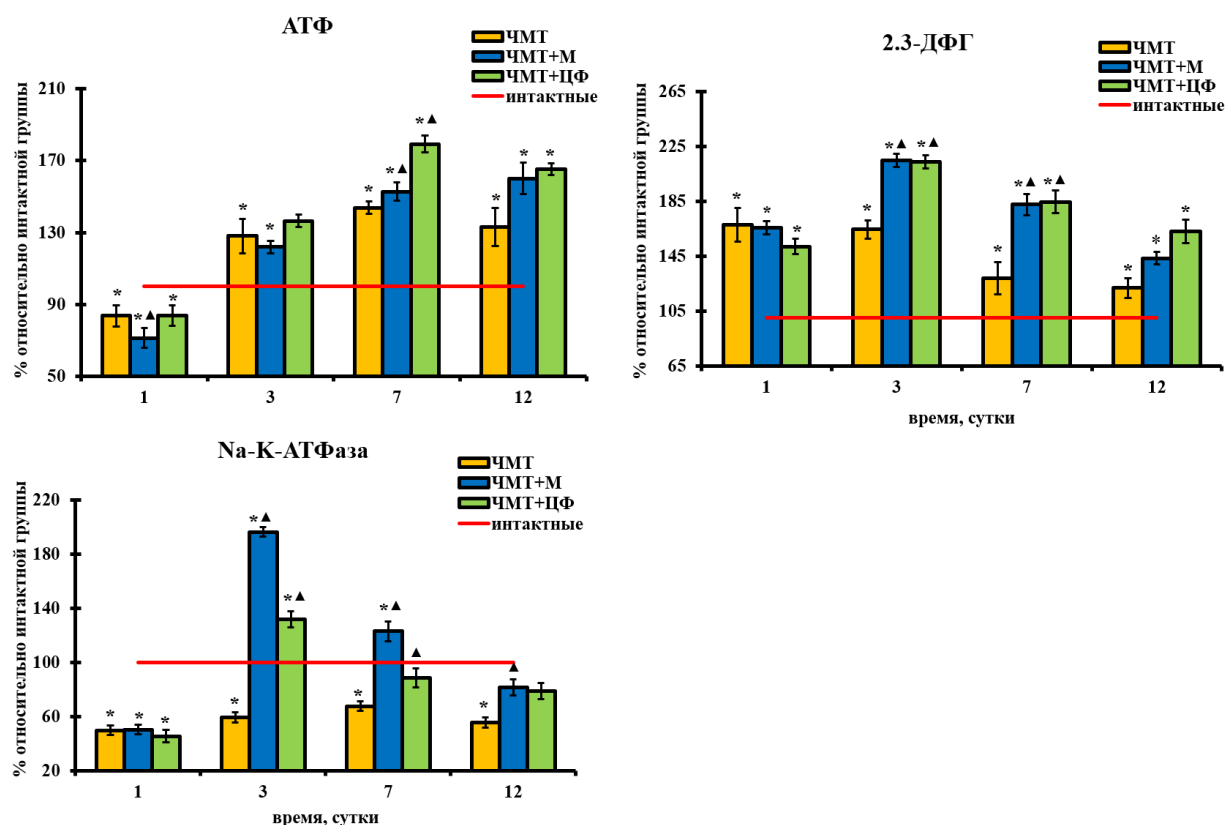


Рис. 5. Изменение функциональных показателей эритроцитов при действии мексикора и цитофлавина в посттравматический период ЧМТ. Среднее $\pm$ SD. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$; «▲» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p \leq 0.05$. Сокращения: М – мексикор, ЦФ – цитофлавин.

Анализ полученных данных свидетельствует, что внутрибрюшинное введение цитофлавина вызывало наиболее выраженное положительное влияние на поверхностно-структурные и метаболические показатели эритроцитов. Данный эффект подтверждается высокой корреляционной зависимостью, связанной с увеличением ЭФПЭ от снижения агрегации эритроцитов ($r=0.91$) и увеличения концентрации АТФ ($r=0.92$) в клетке. Тогда как при действии мексикора отмечали значительное уменьшение концентрации МДА, что коррелировало с повышением электроотрицательности эритроцитов ($r=0.98$) и уменьшением агрегации эритроцитов ($r=0.98$).

На фоне восстановления функционального статуса эритроцитов при действии мексикора и цитофлавина было отмечено снижение интенсивности активации гемостаза, уменьшение количества фибриногена. Внутрибрюшинное введение мексикора увеличивало время свертывания крови в первую фазу гемостаза на протяжении всего периода исследования,

тогда как цитофлавин увеличивал продолжительность свертывания крови как в первую, так и во вторую фазу (рис. 6). Следует отметить, что снижение фибрина в плазме крови коррелировало с уменьшением агрегационной способности эритроцитов при действии цитофлавином ($r=0.95$) и мексикором ($r=0.86$), а снижение гиперсвертываемости крови с восстановлением морфологии клеток.

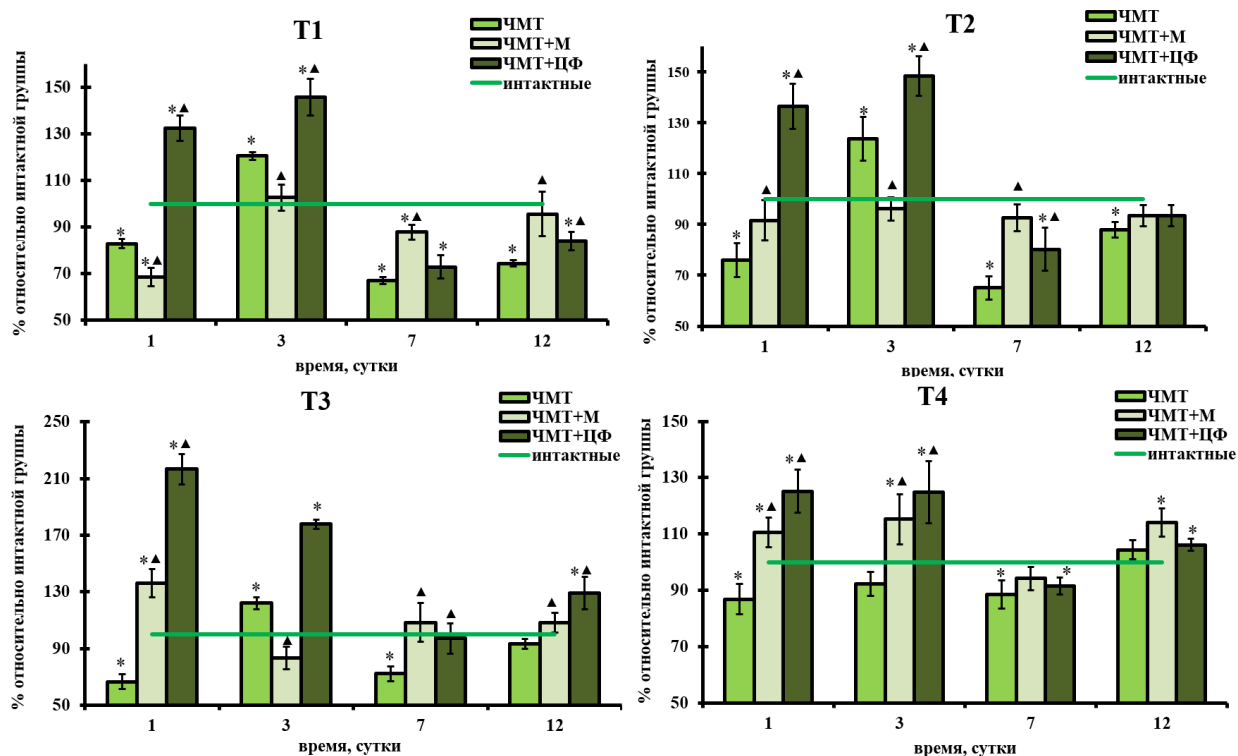


Рис. 6. Динамика изменения гемостатических показателей крови в посттравматический период ЧМТ крыс при действии цитопротекторов (А – изменение показателей свертывания цельной крови при действии мексикора; Б – изменение показателей свертывания цельной крови при действии цитофлавина). Среднее $\pm$ SD. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$; «▲» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p \leq 0.05$. Сокращения: М – мексикор, ЦФ – цитофлавин. Т1 – начало свертывания крови, Т2 – конец свертывания крови, Т3 – продолжительность свертывания крови, Т4 – время ретракции и фибринолиза.

Таким образом, использование цитопротекторов в посттравматическом периоде ЧМТ снижало скорость протекания дезинтеграционных процессов в эритроцитах с последующей компенсацией коагулянтных каскадов. Эффекты действия цитофлавина и мексикора регистрировали на всем протяжении исследования, что позволяет предположить, как непосредственное действие препаратов на эритроциты, так и опосредованное их влияние. Обсуждая выявленные эффекты

сукцинатсодержащих препаратов мексикора и цитофлавина, следует отметить, что антигипоксическое действие сукцината пролонгируется его влиянием на стабильность и активность чувствительного к гипоксии фактора HIF-1 α . Этот фактор является кислород-чувствительным протеиновым комплексом и запускает экспрессию целого ряда пептидов, в том числе эритропоэтина (EPO), белков-транспортёров глюкозы (GLUT 1, 3), ферментов гликолиза (Liu et al., 2020). Кроме того, выявлено наличие сукцинатных рецепторов на эритроидных клетках-предшественниках, действие которых сопряжено с G-белками и определяет повышение концентрации внутриклеточного Ca²⁺ (Grimolizzi, 2018). По всей видимости, введение сукцинатсодержащих препаратов крысам в посттравматическом периоде стимулирует эритропоэз и метаболизм клеток, что отражается на динамике морфоструктурных показателей эритроцитов.

Для выявления возможности непосредственного действия цитофлавина и мексикора на эритроциты далее были проведены эксперименты *in vitro* с моделированием процессов, сопровождающих развитие ЧМТ: гипердреналемии, окислительного стресса и лактоацидоза.

3. Механизмы ответной реакции эритроцитов в условиях гипердреналемии, окислительного стресса и лактоацидоза при действии цитофлавина и мексикора in vitro

Известно, что при ЧМТ увеличение количества адреналина в крови происходит на фоне гипоксии и ацидоза. Моделирование гипердреналемии, окислительного стресса и лактоацидоза сопровождалось снижением ЭФПЭ, увеличением агрегации при усилении липопероксидации и энергодефицита (рис. 7). Истощение АТФ, а также накопление продуктов перекисного окисления липидов снижают вязкоэластические свойства мембраны эритроцита, что существенно уменьшает возможность их прохождения через капилляры и ведет к нарушению микроциркуляции и ухудшению оксигенации тканей (Piagnerelli et al., 2009).

Использование цитофлавина и мексикора вызывало снижение концентрации МДА, что сопровождалось повышением ЭФПЭ и уменьшением агрегации эритроцитов (рис. 7).

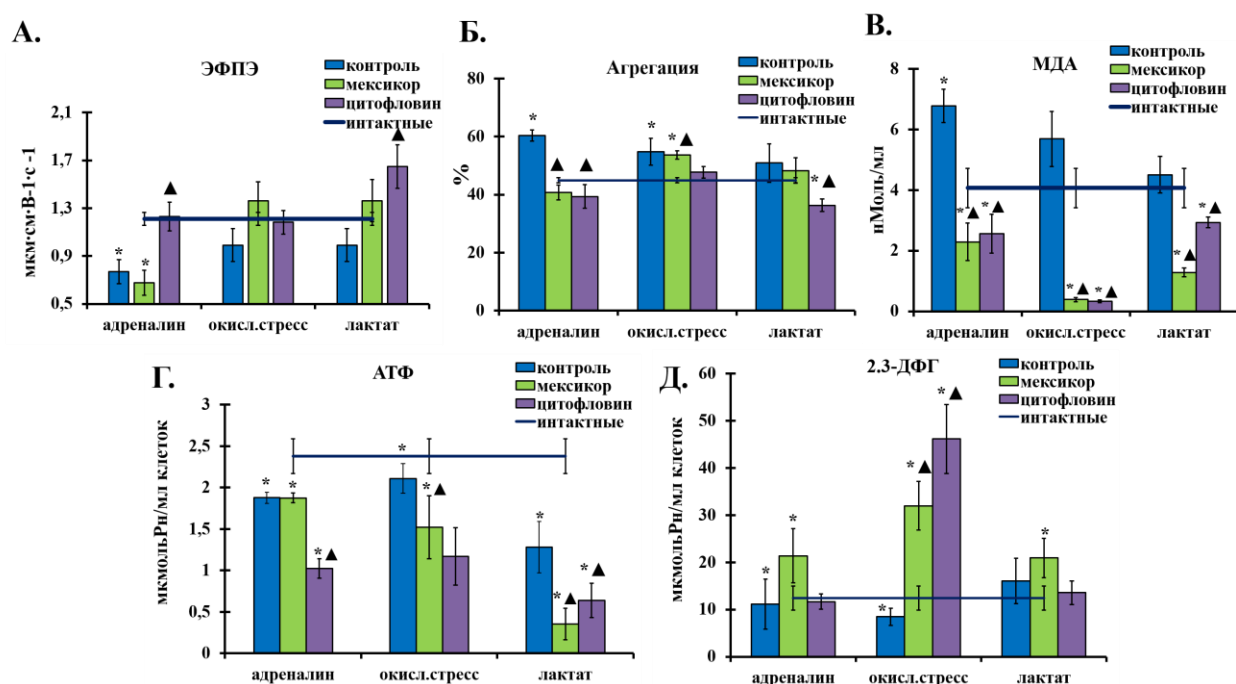


Рис. 7. Динамика изменения функциональных показателей эритроцитов при разных видах стресса на фоне действия цитоплавина и мексикора. Среднее $\pm$ SD. Примечание: «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p \leq 0.05$; «▲» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p \leq 0.05$.

Применение мексикора в большей степени приводило к снижению концентрации МДА (рис. 7 В), тогда как цитоплавин сохранял ЭФПЭ на уровне нормы и сдерживал рост агрегации эритроцитов (рис. 7 А, Б). При этом в исследуемых модельных системах препараты усугубляли энергодефицит в эритроцитах (рис. 7 Г, Д).

Анализ результатов свидетельствует, что цитоплавин и мексикор действуя на эритроциты в условиях гиперadreналемии, окислительного стресса и лактоацидоза вызывают изменения подобные тем, что регистрируются в условиях *in vivo* на начальном этапе ЧМТ, т.е. снижают интенсивность липопероксидации, ЭФПЭ и падение агрегации на фоне энергодефицита. Однако, в динамике посттравматического периода в исследовании *in vivo* действие мексикора и цитоплавина вызывало увеличение энергетического потенциала клеток, что, вероятно, обусловлено наличием цитопротекторной активности мексикора и цитоплавина в обеспечении регенерации эритроидного ростка костного мозга и увеличении в крови количества высокорезистентных эритроцитов.

Таким образом, результаты доказывают целесообразность использования мексикора и цитоплавина в качестве корректора морфоструктурных и функциональных показателей эритроцитов, что

связано, в том числе и с уменьшением восстановительного периода функциональных показателей красной крови. Проведенное экспериментальное исследование цитопротекторов, которые в настоящее время наиболее широко используются в комплексной терапии сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний, позволяет наметить новое направление их использования, в частности, в коррекции ЧМТ.

4. Исследование морфофункционального состояния головного мозга и моторной функции крыс в посттравматический период черепно-мозговой травмы

Для подтверждения эффективности мексикора и цитофлавина при ЧМТ были проведены исследования микроциркуляции, морфофункционального состояния мозга и моторной функции крыс. Закрытая ЧМТ приводила к острому расстройству кровообращения в коре головного мозга, сосудистому полнокровию с проявлениями застоя в сосудах микроциркуляторного русла и венах, уменьшением диаметра капилляров и площади капиллярного русла, диapedезом, тромбами, сладжами и агрегатами из эритроцитов, набуханием ядер эндотелиоцитов, увеличением площади отека (рис. 8). Максимальные изменения отмечались на 1 и 3 сутки после нанесения травмы.

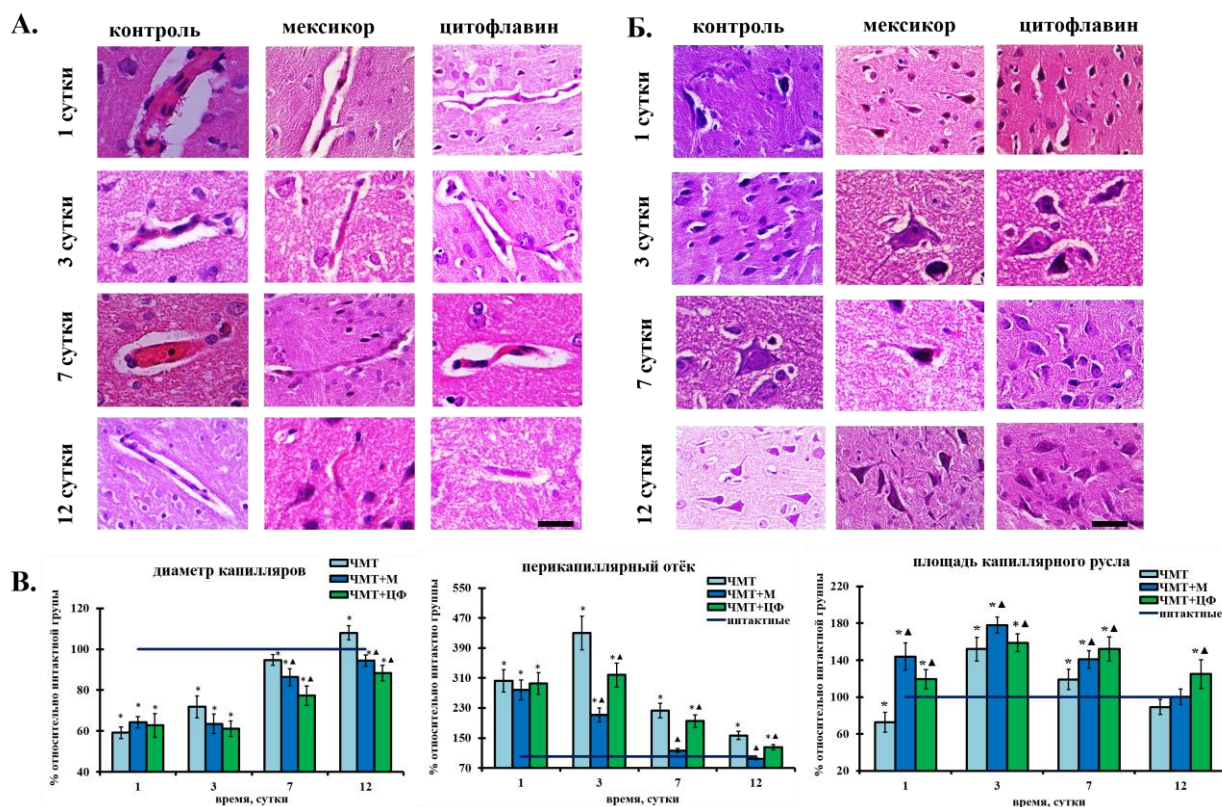


Рис. 8. Морфологические изменения коры головного мозга при действии мексикора и цитофлавина в посттравматический период ЧМТ (А – динамика изменения микроциркуляторного русла, Б – динамика изменения

клеток глии и нейронов, В – гistogramмы изменения морфометрических показателей капиллярного русла). Масштабная линейка 50 мкм, исходное увеличение $\times 400$. Среднее $\pm$ SD, обсчет проводили по 10 полям зрения для каждой временной точки. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p < 0.05$; «▲» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p < 0.05$. Сокращения: М – мексикор, ЦФ – цитофлавин.

Внутрибрюшинное введение мексикора с 3 суток посттравматического периода способствовало увеличению площади капиллярного русла на 20%, уменьшению площади перикапиллярного отека в 2 раза относительно показателей контрольной группы. При внутрибрюшинном введении цитофлавина регистрировали «включение» компенсаторных механизмов, способствующих уменьшению отека и деформации эндотелия на 7 – 12 сутки посттравматического периода, при этом площадь капиллярного русла увеличивалась с 1 суток на протяжении всего периода исследования.

Сдерживание микроциркуляторных нарушений сопровождалось менее выраженными дегенеративно-дистрофическими изменениями в нейронах головного мозга. Об этом свидетельствует сохранность большинства нейронов с хорошо выраженным ядром, ядрышком и длинными отростками с 7 суток эксперимента при действии мексикором, к 12 суткам исследования при действии цитофлавином. Тогда как в контроле определялись нейроны с кариолизисом, в состоянии нейроцитолитического вакуолизированной цитоплазмы, деформированной клеточной мембраной и выраженным перичеселлюлярным отеком.

Улучшение кислородтранспортной функции крови, показателей гемостаза, восстановление ангио-, цитоархитектоники коры головного мозга при действии цитофлавина и мексикора оказывало положительное влияние на восстановление моторной функции крыс в посттравматический период. Положительная динамика показателей двигательной активности наблюдалась уже к 1 суткам применения мексикора и цитофлавина, значительное улучшение двигательных реакций регистрировалось к 3 суткам после введения препаратов и достигало значений интактных животных к 7 суткам эксперимента при терапии мексикором и к 12 суткам при применении цитофлавина (рис. 9).

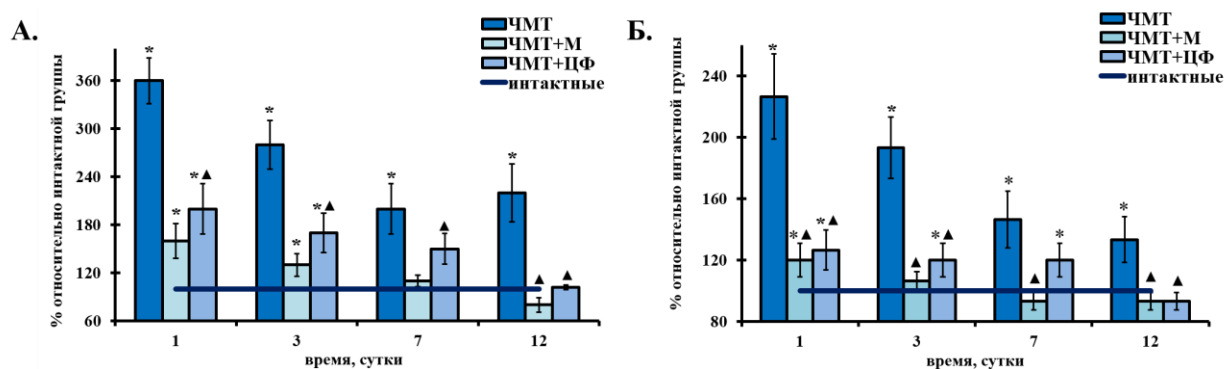


Рис. 9. Динамика изменения двигательной активности крыс в посттравматический период черепно-мозговой травмы (А – динамика времени передвижения по бруску, Б – частоты соскальзывания лап крыс в тесте «метод передвижения по бруску» при действии мексикора и цитофлавина на фоне моделирования черепно-мозговой травмы). Среднее $\pm$ SD. «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, $p < 0.05$; «▲» – статистически значимые различия опыта от контроля, $p < 0.05$. Сокращения: М – мексикор, ЦФ – цитофлавин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании впервые был проведен комплексный анализ морфофункционального состояния эритроцитов, микроциркуляции, гистологический анализ структур головного мозга и двигательной активности крыс при ЧМТ и действии цитопротекторов (мексикора и цитофлавина). С помощью лазерной модуляционной интерференционной микроскопии и анализа функционального состояния эритроцитов выявлено, что в ответ на ЧМТ в эритроцитах запускается процесс дезинтеграции мембран и нарушение метаболизма, и, как следствие, в токе крови в большом количестве появляются морфологически измененные формы клеток. На фоне вовлечения адаптационных систем клеток и организма в целом при действии мексикора и цитофлавина происходит восстановление морфоструктурных показателей эритроцитов с повышением их энергетического потенциала. Восстановление состояния эритроцитов сопровождается улучшением состояния микроциркуляторного русла, снижением вакуолизации межклеточного пространства и отёчности коры головного мозга, восстановлением кровотока в зоне пенумбры, сохранением нейронов и клеток глии в посттравматическом периоде ЧМТ при использовании цитопротекторов.

Таким образом, восстановление морфоструктурного и функционального состояния эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора способствует сохранению морфофункционального состояния микроциркуляторного русла коры головного мозга в посттравматическом

периоде, что может быть отправной точкой для определения компенсаторных механизмов, направленных на увеличение кислородтранспортной функции крови, уменьшение нарушений ангио- и цитоархитектоники коры головного мозга, дефектов двигательной функции и координации движений (рис. 10).

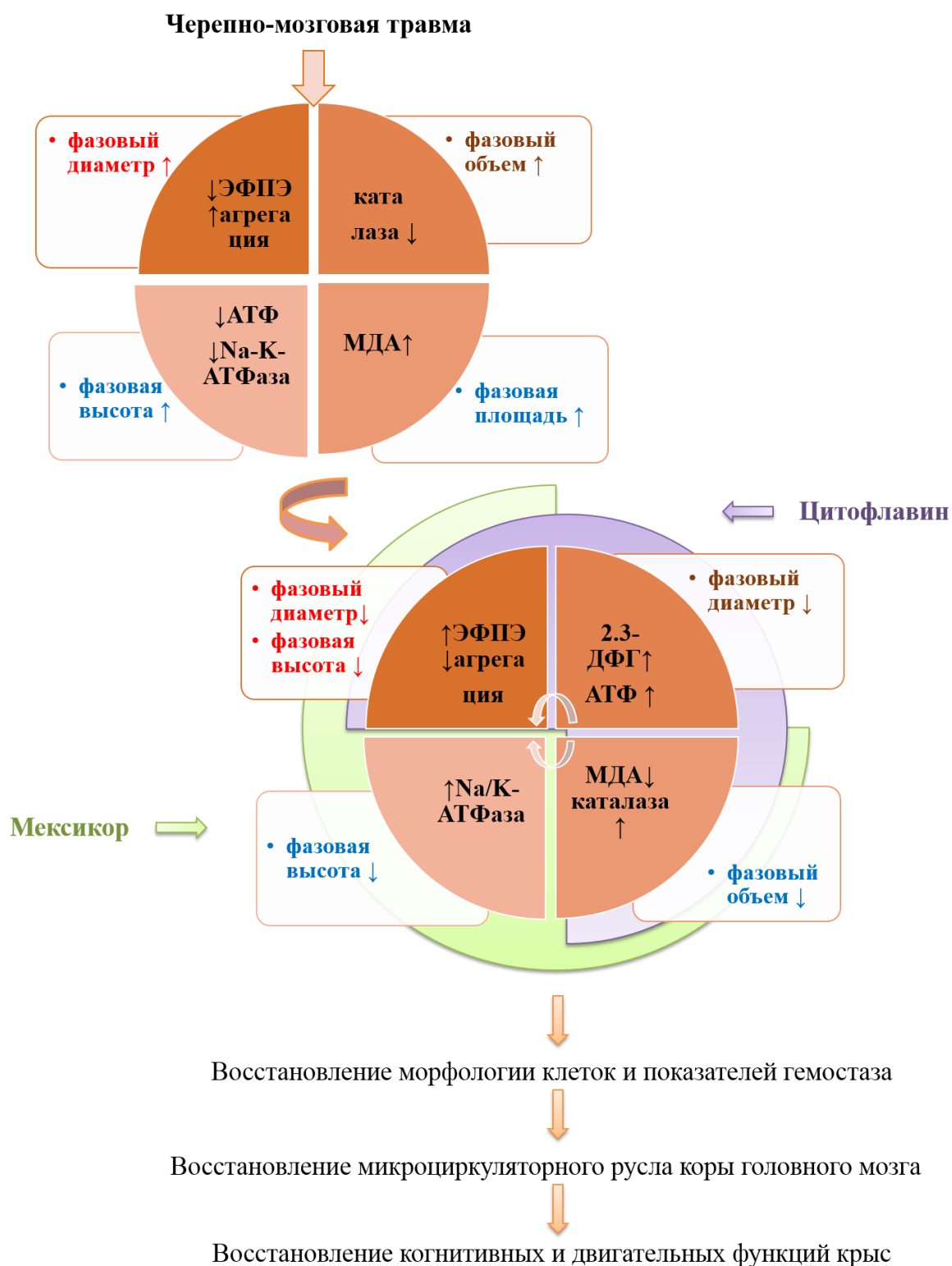


Рис. 10. Взаимосвязь морфоструктурных показателей эритроцитов с их функциональными характеристиками в посттравматический период ЧМТ.

ВЫВОДЫ

1. Усиление процессов липопероксидации, уменьшение содержания АТФ, гемоглобина, снижение активности Na-K-АТФазы и каталазы сочетались с увеличением фазовых параметров эритроцитов, нарушением микроморфологии, вызывая падение ЭФПЭ и увеличение агрегации эритроцитов. Выявленные морфоструктурные и функциональные изменения эритроцитов сопровождались нарушениями в системе гемостаза. Действие мексикора и цитофлавина сохраняло морфологию, снижало скорость протекания дезинтеграционных процессов и вызывало увеличение энергетического потенциала в эритроцитах с последующей компенсацией коагулянтных каскадов.

2. Окислительный стресс, лактоацидоз и гипердреналемия приводили к снижению ЭФПЭ, увеличению агрегации на фоне усиления процессов липопероксидации и развития энергодефицита. Применение мексикора и цитофлавина способствовало повышению ЭФПЭ, снижению концентрации МДА, АТФ и агрегации эритроцитов.

3. Острый период ЧМТ крыс характеризовался выраженными макро- и микроциркуляторными нарушениями коры головного мозга в ответ на возросшую вследствие травмы кислородную потребность. Действие цитопротекторов вызывало уменьшение перикапиллярного и периваскулярного отёка, агрегации и тромбообразования, увеличение среднего диаметра капилляров и сохранение структурной целостности эндотелиальной выстилки при действии мексикора на 3-7 сутки, при действии цитофлавином на 7-12 сутки исследования. Быстрое и своевременное восстановление кровотока в зоне пенумбры обеспечивало сохранение ультраструктуры большинства нейронов.

4. Выявленные механизмы стабилизации и защиты эритроцитов мексикором и цитофлавином в ранние сроки посттравматического периода ЧМТ позволяют сдерживать нарушения двигательных функций и предотвращать развитие вторичных повреждений головного мозга, начиная с 1 суток посттравматического периода.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Deryugina AV, Krylov VN, **Shumilova AV**, Filippenko ES, Boyarinova LV, Solov'eva OD. Using mexicor to correct the functional parameters of red blood cells in rats with traumatic brain injury model // Journal of Experimental and Clinical Pharmacology. 2015. V. 8(78). P. 14-17.

2. Boyarinov GA, Boyarinova LV, Deryugina AV, Solov'eva OD, Zaytsev RR, Voyennov OV, Moshnina EV, **Shumilova AV**. Role of secondary brain damage factors in activation of vascular-platelet hemostasis in traumatic brain injury // General reanimatology. 2016. V. 12(5). P. 42-51.
3. Boyarinov GA, Deryugina AV, Yakovleva EI, Zaitsev RR, **Shumilova AV**, Bugrova ML, Boyarinova LV, Filippenko ES, Solov'eva OD. Pharmacological correction of microcirculation in rats suffering from traumatic brain injury // Cell and Tissue Biology. 2017. V.11(1). P. 65–72.
4. Deryugina AV, **Shumilova AV**. An influence of cytoflavin on oxidative stress and activity of Na/K-ATPase of erythrocytes after brain trauma // Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova. 2017. V. 117(11). P. 51-55.
5. Deryugina AV, **Shumilova AV**, Filippenko ES, Galkina YV, Simutis IS, Boyarinov GA. Functional and Biochemical Parameters of Erythrocytes during Mexican Treatment in Posttraumatic Period after Experimental Blood Loss and Combined Traumatic Brain Injury // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2017. V. 164. C. 26-29
6. **Shumilova AV**, Deryugina AV, Gordleeva, SYu, Boyarinov GA. Cytoflavin action on electro-kinetic and aggregation indices of erythrocytes in the post-traumatic period of cerebrocranial injury in experiment // Journal of Experimental and Clinical Pharmacology. 2018. V. 81(3). P. 20-23.
7. **Shumilova AV**, Deryugina AV, Nikol'skii VO, D'yachkova MS, Serdtseva DV, Boyarinov GA. The effect of cytoflavin on hemostasis during experimental cerebrocranial injury // Journal of Experimental and Clinical Pharmacology. 2018. V. 81(12). P. 15 – 19.
8. **Polozova AV**, Boyarinov GA, Ivashchenko MN, Samodelkin AG, Deryugina AV. Endogenous Intoxication and the Role of Antioxidants in Motion Activity Correction with Traumatic Brain Injury in Rat Model // International Journal of Biomedicine. 2019. V. 9(1). P.61-65.
9. Дерюгина АВ, **Полозова АВ**, Никольский ВО, Бояринов ГА. Функциональные показатели эритроцитов и микроциркуляция головного мозга на фоне действия цитофлавина после черепно-мозговой травмы // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. Т. 83 (1). С. 13 – 18.
10. **Polozova AV**, Boyarinov GA, Nikolsky VO, Ivashchenko MN, Deryugina AV. Morphological Disturbances of Brain Structures in Traumatic Brain Injury and Their Correction with Use of Cytoprotectors // OM&P. 2020. V. 7(4). P. 5 – 12.
11. Дерюгина АВ, **Полозова АВ**, Иващенко МН, Игнатьев ПС, Метелин ВБ. Состояния эритроцитов в посттравматический период черепно-мозговой травмы у крыс при действии цитофлавина. Оценка методом лазерной интерференционной микроскопии // Цитология. 2021. Т. 63(3). С. 300-306.
12. **Polozova AV**, Boyarinov GA, Nikolsky VO, Zolotova MV, Deryugina AV. The functional indexes of RBCs and microcirculation in the traumatic brain injury with the action of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypiridin succinate // BMC Neuroscience. 2021. V. 22 (57).

ТЕЗИСЫ КОНФЕРЕНЦИЙ, НА КОТОРЫХ БЫЛИ ДОЛОЖЕНЫ И ОБСУЖДЕНЫ ОСНОВНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ:

1. **Шумилова АВ**, Филипченко ЕС, Дерюгина АВ. Изменение функциональных показателей эритроцитов при лечении черепно-мозговой травмы мексикором // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 67-ая ежегодная научная студенческо-аспирантская конференция биологического факультета ННГУ им. Лобачевского. Н. Новгород. 17 апреля 2014. С. 38-39.
2. **Шумилова АВ**, Филипченко ЕС, Дерюгина АВ. Изменение электрофоретической подвижности эритроцитов при терапевтическом использовании

Мексикора в посттравматический период у крыс // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 68-ая областная научная конференция студентов и аспирантов. Н. Новгород. 28 – 29 апреля 2015. С. 66.

3. **Шумилова АВ**, Дерюгина АВ. Терапевтическая эффективность мексикора и цитофлавина при сочетанной черепно-мозговой травме у крыс // Актуальные проблемы патофизиологии: XXII Всероссийская конференция молодых ученых с международным участием. Санкт-Петербург. 7 – 8 апреля 2016. С. 99-100.

4. **Шумилова АВ**, Филиппенко ЕС, Дерюгина АВ. Средства фармакологической коррекции посттравматического состояния в эксперименте // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 69-ая Всероссийская школа-конференция молодых ученых. Н. Новгород. 27 – 29 апреля 2016. С. 180.

5. **Shumilova AV**, Deryugina AV, Boyarinov GA. Metabolic therapy in post-traumatic period of craniocerebral trauma // Opera Medica et Physiologica. №2 (3). 2016. P. 111-112.

6. **Шумилова АВ**, Дерюгина АВ. Компенсаторные механизмы действия мексикора при черепно-мозговой травме // Сборник материалов III Всероссийской 14-й межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов «Современное решение актуальных научных проблем медицины». 15 – 16 марта 2017. С. 374 – 375.

7. **Шумилова АВ**, Дерюгина АВ. Антиоксидантная защита от вторичных повреждений при черепно-мозговой травме // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 70-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых. Н. Новгород. 26 – 28 апреля 2017. С. 181.

8. **Шумилова АВ**, Дерюгина АВ. Состояние метаболических показателей эритроцитов при коррекции мексикором вторичных повреждений черепно-мозговой травмы // Сборник материалов XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины». Санкт-Петербург. 12 – 13 апреля 2018. С. 264 – 265.

9. **Shumilova A**, Deryugina A, Boyarinov G. Assisment of coagulopathy and endothelial injury after traumatic brain injury during therapy with cytoflavin // The Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis 2018 jointly with the 9th Russian Conference on Clinical Hemostasiology and Hemorheology. 4-6 october, 2018. P. 253-254.

10. **Шумилова АВ**, Дерюгина АВ. Использование мексикора для коррекции двигательных нарушений при черепно-мозговой травме // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 71-я Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых. Н. Новгород. 17 – 20 апреля 2018. С. 250.

11. **Полозова АВ**, Дьячкова МС, Сердцева ДВ, Дерюгина АВ. Микроциркуляторные изменения головного мозга и сердца при черепно-мозговой травме и ее коррекции мексикором в эксперименте // Сборник тезисов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 72-й Всероссийской с международным участием школы конференции молодых ученых Н. Новгород. 23–26 апреля 2019. С. 173.

12. **Полозова АВ**, Дьячкова МС, Никольский ВО, Бояринов ГА, Дерюгина АВ. Мексикор-индуцированная нормализация состояния эритроцитов и сосудов головного мозга при черепно-мозговой травме // Сборник научных трудов по материалам конференции «II Объединенный научный форум: VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России, IX Российский симпозиум «Белки и пептиды». Том 1. Сочи. 1 – 6 октября 2019. С. 81 – 82.

13. **Полозова АВ**, Грачева ЕА, Дерюгина АВ. Роль и механизмы изменения агрегации эритроцитов при действии цитофлавина на моделях черепно-мозговой травмы и артериальной гипертензии // Сборник тезисов докладов конференции «Физиология и патология кровообращения»: IV Всероссийская с международным участием школа-конференция. Москва. 3-6 февраля 2020. С. 107.
14. **Полозова АВ**, Дерюгина АВ. Адаптационные процессы при черепно-мозговой травме на фоне действия цитостатиков // Сборник тезисов VI Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием "VolgaMedScience". Нижний Новгород. 16-18 марта 2020. С. 669-671.
15. **Полозова АВ**, Бояринов ГА, Никольский ВО, Дерюгина АВ. Нормализация морфологических нарушений структур мозга мексикором в посттравматический период черепно-мозговой травмы // Сборник тезисов по материалам Российского Форума по тромбозу и гемостазу совместно с 10-й (юбилейной) конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии. Москва. 08 – 10 октября 2020. С. 99.
16. **Полозова АВ**, Никольский ВО, Бояринов ГА, Дерюгина АВ. Нарушение микрогемодинамики при черепно-мозговой травме и механизмы её восстановления мексикором // Сборник тезисов докладов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 73-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых. Н. Новгород. 28 – 30 октября 2020. С. 166.
17. **Полозова АВ**, Иващенко М.Н., Метелин В.Б. Интерференционная микроскопия эритроцитов при действии мексикора и цитофлавина при черепно-мозговой травме // Сборник тезисов по материалам конференции «Актуальные проблемы биомедицины – 2021»: XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. Санкт-Петербург. 25-26 марта 2021. С. 189 – 190.
18. **Полозова АВ**, Дерюгина АВ. Лазерная интерференционная микроскопия эритроцитов в динамике посттравматического периода // Сборник тезисов докладов по материалам конференции «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 73-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых. Н. Новгород. С. 170.

Благодарности. Автор искренне признателен своему научному руководителю д.б.н., доценту А.В. Дерюгиной. Автор выражает глубокую благодарность специалистам, коллегам и соавторам, помогавшим в проведении исследований в ходе выполнения работы. Автор благодарен д.м.н., проф. Бояринову Г.А., д.м.н. Никольскому В.О., к.ф.-м.н. Игнатьев П.С., к.б.н. Метелину В.Б. и всем сотрудникам кафедры за помощь, советы и конструктивные предложения.