

Алистратова Флюра Илгизовна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ
КРОВИ, ОСОБЕННОСТИ КОЖНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И
ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС В МОДЕЛЯХ
ГИПО/НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Научный руководитель: **Скопичев Валерий Григорьевич**
доктор биологических наук, профессор, Лауреат Государственной Премии, почетный работник АПК России

Официальные оппоненты: **Тюлькова Екатерина Иосифовна**
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции функций нейронов мозга ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»

Илюха Виктор Александрович
доктор биологических наук, доцент, директор, главный научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных Института биологии – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Защита состоится «20» апреля 2021г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://казветакадемия.рф>.

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://www.казветакадемия.рф>.

Ученый секретарь диссертационного совета

Р.А. Асрутдинова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Выполнение физических нагрузок или иных энергозатратных задач, зачастую приводит к возникновению или может послужить причиной развития продолжительной хронической гипоксии (Аршинова, Н.Г., 2010). Однако применение кратных дозированных экспозиций умеренной гипоксии может запустить процесс активации различных систем организма, а проведение курсового моделируемого гипоксического воздействия, соответственно, может упрочить данный эффект и способствовать расширению его компенсаторных возможностей (Антонова Н.А., 2009).

По мнению многих исследователей использование немедикаментозных средств способствует оптимизации собственных функциональных возможностей при минимуме побочных эффектов. Существует возможность применения указанных методов для профилактики заболеваний и расширения компенсаторных возможностей у служебных и сельскохозяйственных животных, в том числе, без отрыва от повседневной деятельности в равнинной местности (Афоница, С.Н., 2018, Гарипов Т.В., 2013, Меерсон, Ф.З., 1989, Beall, С.М., 2002, Bussotti, М., 2018).

В процессе формирования адаптивной реакции организма на воздействие гипоксии различного типа и режима значительное место отводится микроциркуляторному руслу (Борисов, Ю.А, 2007, Заречнова Н.Н., 2018, Колчинской А.З., 2001).

В ходе исследования влияния гипоксического фактора и применения гипоксических тренировок у человека и животных в большей степени внимание ученых было сосредоточено на изучении респираторной системы, роли гуморальной регуляции, перестройках в системе крови, а также особенностях адаптации центральной гемодинамики (Андреева, Е.Р., 2016, Шатов, Д.В., 2015). Однако, исследования особенностей функционирования и механизмов регуляции тонуса сосудов микроциркуляторного русла кожи с использованием компьютерного спектрального анализа результатов лазерной доплеровской флоуметрии в доступной литературе не были обнаружены

Микроциркуляция сосудов кожи имеет важную особенность — высокий уровень подверженности колебаниям, что отмечается в спонтанном проявлении колебаний кровотока. Наблюдаемые изменения микроциркуляции являются отражением метаболических процессов в ткани. Состояние микроциркуляции может быть обусловлено соотношениями определенных механизмов, обуславливающих динамику изменения ритмических колебаний микрокровотока (Jung, С., 2016).

Движение кровотока в область дефицита кислорода в микроциркуляторном русле обеспечивается определенными механизмами, которые, на сегодняшний день, до конца неизвестны. Вместе с тем важную роль имеет подтвержденный ранее факт о значении эритроцитов крови в регулировании нутритивного кровотока и координации кислородного запроса и снабжения ткани (Dietrich Н.Н, 2012).

Реологические параметры крови играют фундаментальное значение для обеспечения перфузии ткани в микроциркуляторном русле, капиллярах, которые не имеют мышечной прослойки, и вазомоторной регуляции. Микрореологические параметры красных клеток крови — деформируемость и способность к агрегации — представляют собой значимые характеристики, которые обуславливают степень сатурации крови кислородом, эффективность кровотока и вязкость крови (Gelder, J.M, 1996). Нарушение оксигенации тканей может быть связано с тем, что действие раздражающего фактора находится за пределами адаптационных возможностей организма, что приводит к структурно-функциональным нарушениям и, как следствие, негативному влиянию на процессы транссосудистого обмена в микроциркуляторном русле (Скопичев В.Г., 2017).

Нормальная работа клеток, тканей, органов и организма в целом в значительной степени обусловлена функционированием определенных структур и механизмов регуляции тканевой перфузии. Изучение механизмов регуляции микроциркуляции сосудов кожи, гемореологических показателей и параметров периферического кровообращения, динамики их изменений, с изучением частотных диапазонов кожного кровотока является актуальной задачей.

Степень разработанности темы. Гипоксическое воздействие на организм активно изучалось российскими и зарубежными авторами со второй половины XVIII века. На сегодняшний день остаются весьма востребованными исследования в данной области, значительную известность приобрел метод моделируемого гипоксического воздействия. Существует широкий пласт знаний относительно положительного эффекта применения тренировки гипоксией в интервальном режиме для расширения компенсаторных возможностей организма (Меерсон Ф.З., 1993; Агаджанян Н.А., 2006; Афолина С.Н., 2018; Быков В.Н., 2017; Burykh E.A., 2019). Известно, что применение двухнедельного курса тренировки гипоксией в интервальном режиме по эффективности аналогично пребыванию организма в среднегорье в течение месяца (Шатов Д.В., 2015). Существует большой спектр исследований, в которых рассмотрены морфофункциональные изменения воздействия различных типов гипоксии на различные системы и органы (Шевченко Е.А., 2013; Bailey D.M., 2017). Однако физиологические механизмы адаптации к гипоксии на протяжении более отсроченного периода, зачастую, остаются недостаточно изученными.

Способность реагировать на воздействие экзогенного гипоксического фактора обусловлена работой специальных хеморецепторных комплексов синокаротидной зоны и зоны дуги аорты. Запуск адаптационных механизмов и сопутствующих компенсаторных процессов прямо пропорционален интенсивности и продолжительности действия гипоксии. Поэтому реакции, возникающие в организме в следствии внешнего воздействия весьма изменчивы (Bussotti, M., 2018; SamoiloV M.O., 2017).

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы является изучение микрогемодинамики, реологических свойств крови и поведенческих характеристик у крыс в норме и при влиянии различных внешних воздействий (токсических — цитохалазин В, экспериментальной гипо- и нормобарической гипоксии).

Для решения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Показать роль цитоскелета эритроцитов крови в изменении формы клетки при действии цитохалазина В у лабораторных животных.
2. Разработать и научно обосновать экспериментальную модель для создания гипобарической гипоксии без гиперкапнии у лабораторных животных на основе оригинальной методики адаптации.
3. Исследовать вклад эритроцитов в гемореологический статус при воздействии интервальной гипобарической гипоксии.
4. Изучить физиологические показатели кожи конечности крыс (реактивность сосудов микрогемоциркуляции, состояние сосудистого тонуса и механизмы регуляции кровотока в микроциркуляторном русле) методом неинвазивной лазерной доплерфлоуметрии при воздействии гипоксии.
5. Исследовать изменение содержания форменных элементов крови в модели нормобарической гипоксии с использованием Цитофлавина, изучить поведенческие и когнитивные функции этих животных.

Научная новизна результатов заключается в следующем:

- показано деструктивное действие цитохалазина В на цитоскелет эритроцитов крови и изменение их формы, у лабораторных животных. Отмечено возникновение редких длинных тяжей, имеющих высокую оптическую плотность при окраске по Гейденгайну; появление фибриллярных толстых сплетений, окружающих клетку по периметру, которые приводят к изменению рельефа плазмалеммы.
- впервые продемонстрировано увеличение содержания эритроцитов на 43%, на 21 сутки при воздействии на организм интервальной гипобарической гипоксии, в заданном режиме (снижение барометрического давления во вдыхаемом воздухе);
- впервые показано увеличение амплитуды колебаний кровотока в диапазоне респираторной и сердечной активности на 14–21 сутки исследования на 30% ($p < 0,05$) и 40,9% ($p < 0,05$) в процессе развития акклиматизации к гипобарическому воздействию у животных опытной группы (EG);
- выявлено сокращение времени пребывания в закрытых отсеках (в 1,2 раза, $p \leq 0,05$) и повышению продолжительности пребывания в открытом отсеке лабиринта (в 1,1 раз, $p \leq 0,05$) — в тесте ПКЛ.

Теоретическая и практическая значимость работы. Определены механизмы компенсаторной реакции объекта воздействия в зависимости от генеза гипоксического фактора. Результаты исследования дополняют и уточняют данные об адаптационных механизмах, развивающихся при воздействии гипоксии гипо- и нормобарического типа. Полученные данные о реакциях артериального, обменного и веноулярного звеньев периферической

микротоциркуляции сосудов кожи открывают возможности избирательного воздействия на микрососуды с использованием прерывистой гипобарической гипоксии.

Разработана модель интервальной нормобарической гипоксии, на фоне которой развивался хронический гипоксический стресс у лабораторных животных, проявляющийся снижением двигательной и поисково-исследовательской активности, увеличением агрессивности и эмоциональной лабильности.

Установлено, что препарат «Цитофлавин» в курсе нормобарических гипоксических тренировок оказывает поддерживающее и компенсирующее воздействие на адаптационный процесс, положительно влияет на важные показатели, характеризующие состояние поведенческих и двигательных характеристик крыс.

Высокая практическая значимость работы определяется разработкой модели воздействия гипобарической гипоксии на организм лабораторных животных (Патент РФ 188375 А61G 10/02). Применение предложенной модели обеспечивает адекватное решение задач в условиях экспериментов, связанных с необходимостью моделирования экзогенной гипобарической гипоксии. Результаты исследований внедрены в проектную деятельность предприятия медицинского приборостроения ООО «Фирма АКЦ».

Результаты диссертационной работы внедрены в разделы лекционных курсов дисциплин: «Экологическая физиология» по направлению подготовки 06.03.01 на факультете биоэкологии и «Физиология и этология животных» по специальности 36.05.01 – ветеринария на факультете ветеринарной медицины в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (акт внедрения от 15.05.2019) и для лекций и лабораторно-практических занятий по дисциплинам «Физиология животных», «Физиология с/х животных», а также при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры «Морфология, патология животных и биология» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» (акт внедрения от 15.06.2019) и как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по дисциплинам «Физиология и этология животных», «Клиническая физиология», «Патологическая физиология» ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет (акт внедрения от 21.06.2019).

Методология и методы исследований. Методы, применяемые в исследовании, соответствуют современному методическому уровню лабораторных и экспериментальных исследований. Используемые методы для обработки и статистического анализа данных являются современными и отвечают поставленным целям и задачам исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Под влиянием цитохалазина В (стресс-фактора) происходит деформация эритроцитарных мембран и, как следствие, нарушение реологических свойств крови.

2. Гипобарическая гипоксия в интервальном режиме (535 мм.рт.ст., продолжительность 60 мин) способствует: вторичной мобилизации эритроцитов; угнетению микроциркуляции на 54% на 7-е и 14-е сутки; увеличению на 34% доли пассивных факторов регуляции перфузии (пульсовая волна).

3. Нормобарическая гипоксия (14%) в режиме интервального воздействия вызывает количественное и качественное изменение уровня гематологических показателей.

4. Препарат «Цитофлавин» в курсе нормобарических гипоксических тренировок вызывает снижение тревожности в поведенческих моделях.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Уровень достоверности представленных результатов обеспечивается необходимым количеством экспериментального материала, а также использованием актуальных методов и методологии, которые соответствуют поставленным задачам. Полученные в диссертационной работе результаты имеют отражение в литературном обзоре, экспериментальном материале, а также подтверждены достоверностью статистического анализа результатов.

Основные положения научной работы были представлены в виде докладов на: 70–73-ей международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых СПбГАВМ; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК» в 2016–2019 годах. Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ в 2017–2019 годах. В III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России в 2018, 2019 г и 2020 году (III место). Получен патент на полезное изобретение РФ 188375 А61G 10/02. Опубликовано учебно-методическое пособие «Адаптация к гипобарической гипоксии».

Личный вклад автора. Принимала участие в определении цели и постановке задач научной работы, самостоятельно проведены анализ и статистическая обработка полученных результатов, а также самостоятельно написаны статьи.

Публикации. По материалам диссертации было опубликовано 15 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования РФ, и 1 статья — в издании, включенном в библиографическую и реферативную базу данных Web of Science. Получен патент на полезную модель — «Гипобарокамера для лабораторных животных» (РФ 188375 А61G 10/02).

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 148 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, основной части, заключения, практических предложений, списка сокращений и списка литературы. Библиографический список включает 177 источников. Работа иллюстрирована 5 таблицами и 26 рисунками.

2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в период с 2016 по 2019 гг. на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины».

Экспериментальные исследования, направленные на изучение биологических эффектов гипобарической и нормобарической гипоксии, проводились на взрослых самцах крыс стока Wistar, масса которых составляла 210–235 г. (n=125). на базе Питомника лабораторных грызунов с вивариями ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Животные находились при стандартных условиях содержания в виварии, полнорационный комбикорм, питьевая вода *ad libitum*, суточный свето-темновой цикл был стандартным двенадцатичасовым. В ходе организации экспериментов следовали требованиям Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. В каждой экспериментальной группе (контрольной или опытной) на каждой временной точке использовано не менее 6 животных. Разброс массы тела животных в каждой из опытных групп составлял не более 10%.

В соответствии с целью и задачами исследований работа проводилась по следующим направлениям:

Первая часть исследования была посвящена исследованию роли цитоскелета эритроцитов в ходе реакции на токсические и экстремальные воздействия. Состояние мембран эритроцитов определяли по изменению их агрегационной способности под влиянием цитохалазина В (10 мкг/мл). Для изучения воздействия цитохалазина В на изменение рельефа поверхности мембран эритроцитов крови и оценки перестройки элементов мембранного цитоскелета использовали метод сканирующей электронной микроскопии. Цитоскелет выявляли с помощью метода, предложенного Ченцовым и соавторами (1982). Использовали в качестве лизирующего агента Тритон Х-100 в сочетании с 4 М глицерином и последующую окраску филаментарного материала железным гематоксилином по Гейденгайну. В качестве цитостатика был использован цитохалазин В.

Во второй части исследования проводилась оценка устойчивости крыс к воздействию интервальной гипобарической гипоксии, с моделированием пониженного барометрического давления 535 мм.рт.ст. продолжительностью 1 час. Исследование проходило в два этапа. Первый — воздействие гипобарической гипоксии на систему крови. Эксперимент проводился на крысах -самцах (n=30). Животные были разделены на 2 группы: контрольная группа - интактные крысы; опытная группа- крысы, которые подвергались воздействию гипоксии. Для создания пониженного отрицательного давления использовали экспериментальную установку производства фирмы АКЦ. Пониженное давление в камере создавалось с помощью вакуумного насоса. В барокамере проточного типа при температуре 20 -24°C и ступенчато понижали давление до 535 мм рт. ст., (что соответствует подъему на высоту 3000 м над

ур. моря, или 14% содержанию кислорода при нормобарической гипоксии, продолжительность воздействия – 1 ч).

Основные показатели периферической крови крыс определяли на автоматическом гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet (DIATRON, Австрия): гемограммы [число эритроцитов (RBC), гемоглобин (HGB), лейкоциты (WBC), тромбоциты (PLT)]. Лейкограмму выводили общепринятым методом (Скопичев В.Г., 2015).

Сканирующую электронную микроскопию препарата крови готовили в условиях, исключающих деформацию клеточной поверхности (Рязанцева Н.В., 2004). Для сканирующей электронной микроскопии эритроциты осаждались на покровное стекло в бюксе, заполненным 1,5%-м раствором глутарового альдегида, приготовленным на растворе Хэнкса. После осаждения эритроцитов на покровном стекле, спустя 30 минут, их отмывали раствором Хэнкса и обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации (до 100%). В аппарате HCR — 2 Hitachi — H-300 проводили окончательную сушку образцов путем перехода критической точки CO₂ (Ченцов Ю.С., 1982).

Второй этап — воздействие гипобарической гипоксии на тонус и механизмы регуляции микроциркуляторного русла кожи. Для исследования были взяты 30 крыс-самцов, которые были распределены на 3 равные группы: IG - интактные животные, EG - животные, которые подвергались воздействию гипоксии, CG - животные, которые находились в гипобарокамере, без изменения условий среды.

Анализ воздействия интервальных гипобарических тренировок на микроциркуляцию кожного покрова проводился методом неинвазивного лазерного доплерфлуометрического зондирования. Аппаратное обеспечение — лазерный анализатор капиллярного кровообращения «ЛАКК-02» производства ООО НПП «Лазма», г. Москва. Продолжительность записи составляла 360 секунд. Для регистрации параметров системы микроциркуляторного русла использовали программу LDF 3.1.LAZMA 3.2.0.439. Для анестезии применялся пареообразующий анестетик изофлуран (Форан) и система анестезии SomoSuite. Наркотизированные крысы фиксировались в положении лежа на животе с отведенными в стороны конечностями. Областью измерений являлась внутренняя поверхность нижней задней конечности, датчик ЛДФ располагался на поверхности кожи.

В третьей части исследования проводилось изучение физиологических процессов адаптации у лабораторных животных — крыс-самцов — при воздействии интервальной гипоксии нормобарического типа: с содержанием кислорода 14% в окружающей среде, продолжительностью 1 час. Исследование проходило в два этапа. Первый — воздействие нормобарической гипоксии на систему крови. Эксперимент проводился на крысах-самцах (n=30). Животные были разделены на 2 равные группы: группа №1 - крысы, подвергались воздействию гипоксии; группа № 2 - крысы, которым перед воздействием гипоксии вводился препарат - цитофлавин в дозе (135 мкг /л). Второй этап — воздействие нормобарической гипоксии на поведенческие и когнитивные

функции. Для исследования были взяты крысы-самцы ($n=30$). Животные были разделены на 3 равные группы: 1 группа - контроль; 2 группа - крысы, подвергались воздействию гипоксии; 3 группа - крысы, которым перед воздействием гипоксии вводился препарат - цитофлавин в дозе (135 мкг/мл).

Воздействие нормобарической гипоксией осуществлялось с использованием гипоксикатора «БИО-НОВА-204» производства ООО «НТО Био-Нова», Россия, г. Москва. Принцип работы основан на том, что окружающий воздух, очищенный фильтром, сжимается компрессором и подается на вход мембранного модуля. Полупроницаемые мембраны обладают свойством селективного пропускания молекул кислорода и азота воздуха. На выходе мембранного модуля получается воздух с уменьшенным содержанием кислорода — 14%. Анализ исследовательской и двигательной активности, эмоционального состояния объектов исследования (крыс) проводили при помощи установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Оценку ориентировочно-исследовательского поведения осуществляли у всех экспериментальных животных до и после проведения курса интервальной нормобарической гипоксии в тесте «Открытое поле» (НПК Открытая Наука, Москва, Россия) (Martin-Arenas, 2019).

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2013. Для оценки достоверности различий применяли знаковый ранговый критерий Уилкоксона, используемый для сравнения двух связанных (парных) выборок. Для выборок с нормальным распределением данных применялся парный t -критерий Стьюдента. На нормальность распределения количественных значений в выборках проверяли с помощью критерия Лиллиефорса. Данные, приведенные в таблицах, представлены в виде: $M \pm \sigma$, где M — среднее значение распределения, σ — стандартное отклонение; $M \pm m$, где M — среднее значение распределения, m — стандартная ошибка среднего значения. Указанные критерии позволили установить направленность изменений и их выраженность. За достоверное брали различие при уровне вероятности 95 % и более ($p < 0,05$). Результаты по исследованию микроциркуляции представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля): Me (25%; 75%).

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Роль цитоскелета при деформации эритроцитов в стрессовых ситуациях. Влияние цитохалазина В на конформацию мембранной поверхности эритроцитов периферической крови крыс

По результатам сканирующей электронной микроскопии на начальных этапах клеточного ответа на цитохалазин В, обнаружены характерные изменения поверхности эритроцитов. Цитохалазин В обладает специфическим, а действием на клетки, проявляющимся в разрушении актинового цитоскелета и ограниченным в основном районом наружной мембраны. В нормальных условиях клетки имеют форму двояковогнутого диска, мембрана имеет правильную округлую форму (рис.1, а, б). Результаты наших исследований

показывают, что цитохалазин В в изоосмотических условиях оказывает разобщающее действие на поверхность мембраны эритроцитов. Было выявлено, образование значительного числа выростов клеточной поверхности, вследствие чего эритроциты приобретали форму эхиноцитов (рис. 1, в,г).

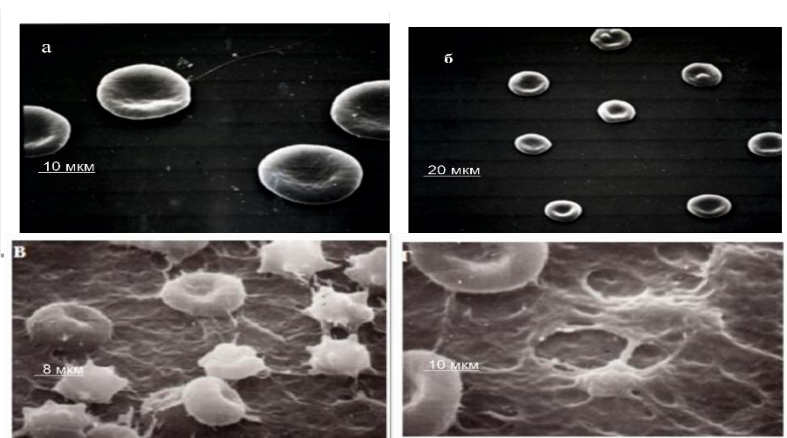
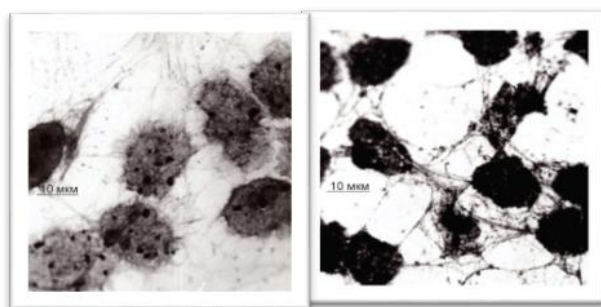


Рисунок 1 — Клетки эритроцитов, обработанные цитохалазином В: а, б —клетки-контроль; в — стягивание клеток после действия цитохалазина В; г — образование мощных пучков фибрилл, ориентированных по периметру клетки

Влияние цитохалазина В на поверхность мембраны эритроцитов происходило в связи с отделением цитоскелета, и особенно спектрина, от мембраны эритроцитов.

В основе изменения формы клеток лежат перестройки цитоскелета, что выявляется окраской гематоксилином. Эти изменения также характеризуется появлением фибриллярных толстых сплетений, окружающих клетку по периметру.



А

Б

Рисунок 2 — Распределение окрашенного гематоксилином материала цитоскелета в клетках эритроцитов. А- Контроль, цитоскелет до действия цитохалазина В; Б- Цитоскелет после действия цитохалазина В

Отмечено, что в контроле филаментные пучки распределялись равномерно, а при воздействии цитохалазина В образовывались редкие длинные тяжи, которые имели высокую оптическую плотность при окраске по Гейденгайну. Эти изменения состояния цитоскелета способны объяснить

изменения формы клеток, которые при действии цитохалазина В приобретают вид «пауков» (рис.2).

2.2.2 Исследование механизмов адаптации к гипоксии гипобарического типа

Спустя три недели после начала эксперимента в крови животных опытной группы содержание эритроцитов резко увеличивалось в 1,43 раз $[(6,75 \pm 0,12) \times 10^{12}/л$ против $(9,63 \pm 1,0) \times 10^{12}/л$, $p \leq 0,05$]. В модели нормобарического воздействия при снижении содержания кислорода до 14% данный показатель имеет тенденцию к снижению от $(8,12 \pm 0,12) \times 10^{12}/л$ до $(7,29 \pm 0,22) \times 10^{12}/л$, ($p \leq 0,05$).

В течение наблюдения за концентрация гемоглобина у животных опытной группы повышается от 122,6 г/л до 177,5 г/л; ($p < 0,05$) данные тесно коррелируют и сходны с динамикой изменения уровня красных клеток крови; в контрольной группе животных концентрация гемоглобина не изменялась.

Цветовой показатель показывает степень насыщения каждого эритроцита гемоглобином. У животных контрольной группы цветовой показатель колеблется от $0,923 \pm 0,134$ до $1,09 \pm 0,147$ у.е. У животных группы опыт цветовой показатель сохраняется в пределах нормы: от $0,990 \pm 0,126$ до $1,090 \pm 0,211$ у.е. Таким образом, снижение барометрического давления (535 мм. рт. ст.) активирует выброс эритроцитов из депо, тем самым увеличивая степень насыщения клеток и тканей кислородом.

2.2.2.1 Результаты исследования сканирующей электронной микроскопии

Морфологические исследования рельефа поверхности эритроцитов показали, что структура мембраны клеток до воздействия и после воздействия гипобарии имеет классическую дисковидную форму. В крови животных после воздействия с пониженным атмосферным давлением не выявлено никаких изменений мембранных структур форменных элементов (рис. 3). Эритроциты имеют характерную форму дискоцитов. Посредством электронной микроскопии мы подтвердили наше предположение о том, что пониженное атмосферное давление не вызывает нарушения структуры мембран эритроцитов.

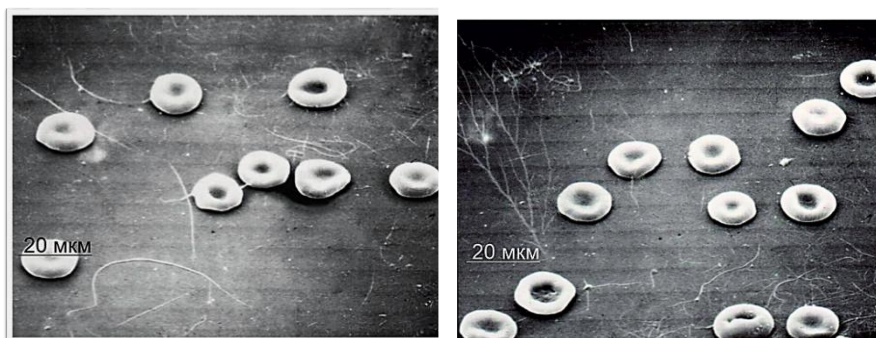


Рисунок 3 — Электронно-сканирующая микроскопия эритроцитов крысы: А — до воздействия гипоксии; Б — после воздействия

2.2.2.2 Исследование морфометрических данных эритроцитов периферической крови

Морфологическая картина эритроцитов контрольной и опытной группы показала, что клетки имеют классическую дисковидную форму, изменений в виде эхиноцитов не обнаружено.

Отсутствие деформированных эритроцитов также подтверждалось электронно-сканирующей микроскопией (рис. 4).

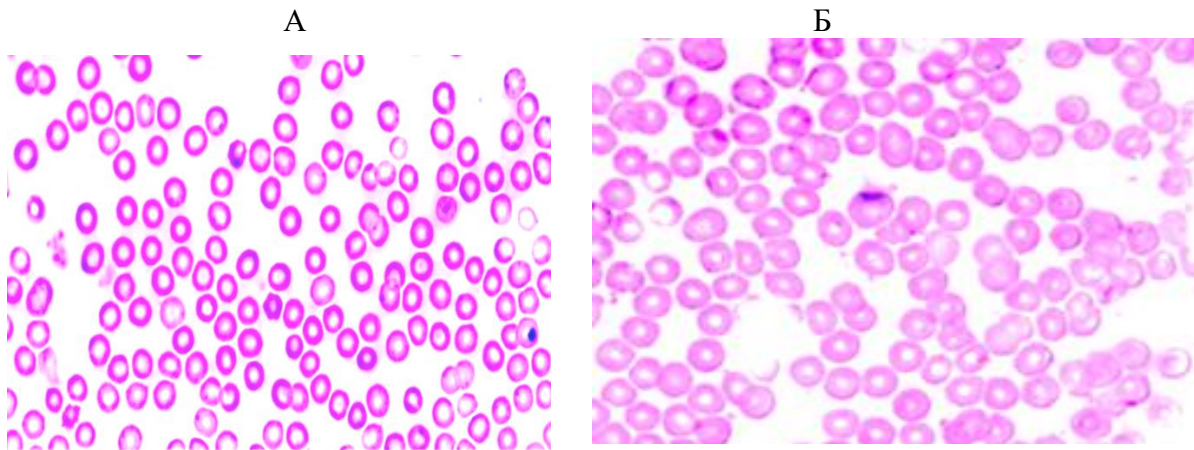


Рисунок 4 — Эритроциты, световая микроскопия ($\times 900$): А — интактные крысы (физиологический контроль); Б — опытная группа крыс (опыт)

2.2.2.3 Оценка динамики параметров микроциркуляции кожи

В результате проведенного исследования в разные периоды (1-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки) фиксировали изменения микроциркуляция кожи под влиянием интервальной гипобарической гипоксии и отслеживали динамику акклиматизации сосудов кожи. Исходно показатели микроциркуляции во всех группах статистически не различались ($p > 0,05$). В интактной группе "IG" статистически значимых изменений показателя микроциркуляции (ПМ) за 21-дневный интервал воздействия гипоксической тренировки не выявлено, тогда как в контрольной группе "CG"- "ложная гипоксия" крысы имеют тенденцию к снижению микроциркуляции через 7–14 дней с 10,74 [8,38; 13,6] до 8,75 [6,98; 10,22] п.ед. и обратному восстановлению этого показателя к 21-м суткам до 10,6 п.ед., при этом наблюдалась статистически недостоверная тенденция к увеличению параметра Kv за счет усиления вариабельности показатель СКО (σ), при практически неизменяемой величине показателя микроциркуляции (рис. 5).

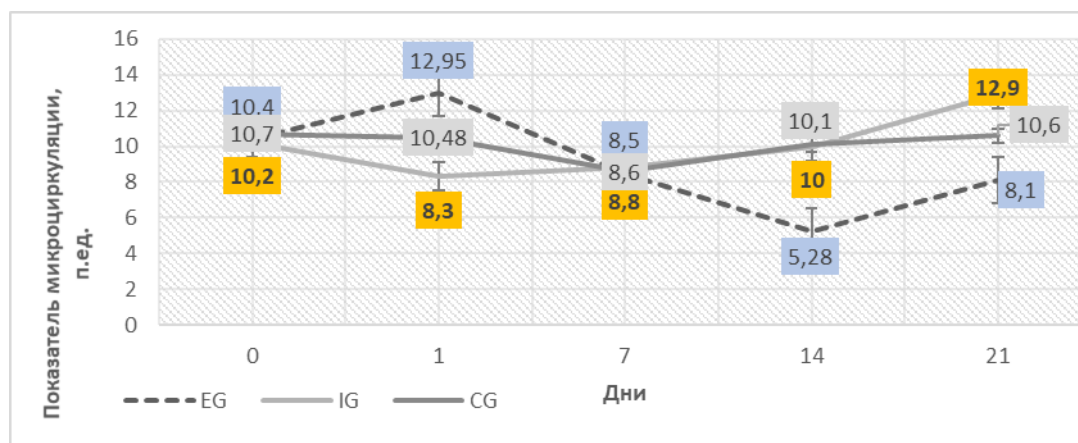


Рисунок 5 — Динамика изменения показателя микроциркуляции при 21-дневном курсе интервального гипобарического воздействия, * - различия с группой IG статистически достоверны, $p \leq 0,05$; # - различия с группой CG статистически достоверны, $p \leq 0,05$

У крыс подопытной группы «EG» исходные значения параметра (ПМ) были равны 10,4 [9,19; 14,94] п.ед., Kv 5,8 [5,0; 11,4] %, показатель СКО (σ) 0,5 [0,49; 0,54] п. ед. На первые сутки наблюдалось увеличение показателя до 12,95 [9,7; 15,63] п.ед. ($p < 0,05$), в тот момент как Kv снижался 4,86 [3,25; 6,18] %, а показатель СКО (σ) увеличивался и был равен 0,64 [0,37; 0,97]. На 7–14 сутки наблюдалось снижение показателя микроциркуляции до 5,28 [4,96; 5,63] п.ед., при увеличении Kv и снижении показателя СКО (σ). На 21 сутки отмечено обратное восстановление значения показателя микроциркуляции (ПМ) до 8,1 [5,47; 11,75] п.ед. с одновременным повышением показателей Kv до 5,86 [5,17; 6,55] % и СКО (σ) до 0,47 [0,31; 0,68] п. ед. (рис.6).

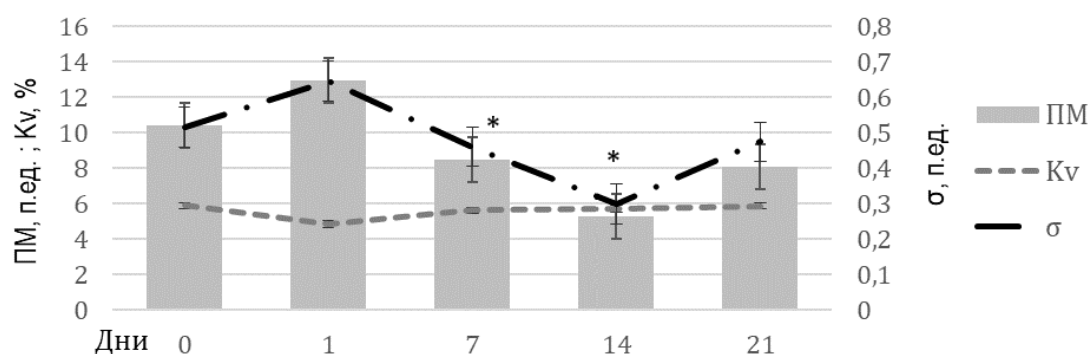


Рисунок 6 — Динамика показателя микроциркуляции (ПМ), среднеквадратичного отклонения амплитуды колебания кровотока (σ) и коэффициента вариации перфузии (Kv) на различных этапах эксперимента, в группе EG

* - достоверное снижение параметра микроциркуляции по отношению к 7-м и 14-ым суткам, $p \leq 0,05$

Было отмечено, что при воздействии гипоксии в регуляции тонуса сосудов периферического МЦР важную роль играют пассивные факторы регуляции микроциркуляции (пульсовая волна), что подтверждается реактивностью сосудов кожного покрова. Экспериментальным путем показана перестройка параметров микроциркуляции при трехнедельном гипоксическом воздействии на организм крыс.

2.2.3 Исследование механизмов адаптации к гипоксии нормобарического типа

2.2.3.1 Влияние нормобарической гипоксии на систему крови крыс

Рассматривая механизмы стимуляции дыхательной активности крови, которая характерна для пребывания организма млекопитающих в условиях дефицита кислорода, отмечено, что снижение парциального давления кислорода на 6% привело к количественному и качественному изменению уровня гематологических показателей крови (табл. 1).

У крыс первой группы отмечено снижение уровня эритроцитов на 5% от исходной величины. Однако у животных 2 группы содержание эритроцитов сохраняется в пределах нормы (табл. 1). Обоснованием данного механизма является введение комплексного средства цитофлавин, компоненты которого обладают взаимопотенцирующим действием янтарной кислоты, рибоксина, рибофлавина и никотинамида. Янтарная кислота влияет на окислительно-восстановительные процессы коферментов НАД, а рибофлавин и никотинамид повышают ее лекарственную активность.

Таблица 1 — Динамика изменений RBC, HGB, WBC, PLT

Показатель	1 группа		2 группа	
	До воздействия гипоксии	После воздействия гипоксии	До воздействия гипоксии	После воздействия гипоксии
эритроциты $10^{12}/л$	8,12±0,22	7,29±0,12*	7,98±0,02	7,67±0,63
гемоглобин г/л	153,6±4,3	140,6±2,0	157±1,3	143,5±1,8
лейкоциты $10^9/л$	15,34±1,4	16,89±1,19	17,04±0,5	18,63±1,2
тромбоциты $10^9/л$	1158,4±56,5*	954,7±41,54	1130,5±11,9	1070,5±38,4

*— Статистически достоверно относительно показателей до воздействия гипоксического фактора ($p < 0,05$)

Содержание гемоглобина в первой группе составило до воздействия гипоксии 153,6 г/л. После воздействия данный показатель снизился в 1,1 раз и составило 140,6±2,0 г/л. У животных второй группы наблюдалась сходная картина динамики изменения содержания железосодержащего белка — снижение в 1,1 раз (157 г/л, против 143,3 г/л), ($p < 0,05$).

Соотношение содержания лейкоцитов до и после воздействия гипоксии имеют сходную тенденцию: наблюдалось статистически недостоверное увеличение данного параметра как в группе 1, так и в группе 2.

Содержание тромбоцитов после курсовых гипоксических тренировок в первой группе снижалось от $(1158,4±56,5) \times 10^9/л$ до $(954,7±41,54) \times 10^9/л$ ($p \leq 0,05$). Во второй группе, с применением препарата, значения содержания тромбоцитов колеблются в пределах нормы: от $(1130,5±11,9) \times 10^9/л$ до $(1070,5±38,4) \times 10^9/л$.

2.2.3.2 Влияние гипоксии нормобарического типа на поведение, координацию и когнитивные функции крыс

По результатам теста «открытое поле» при воздействии гипоксии нормобарического типа было выявлено, что показатель «число актов дефекации» в группе № 1 возрастает в 1,4 раза, а группе № 2 напротив снижается в 2,83 раза, по отношению к уровню контроля, ($p < 0,05$); «число актов уринации» в группе №1 увеличивалось в 5,5 раз; в группе №2 в два раза, в сравнении с контролем, ($p < 0,05$). В связи с этим отмечены изменения интегральных элементов поведенческих реакций животных: наблюдалась стимуляция эмоциональной лабильности (ЭЛ) у животных группы №1 в 1,8 раз, в группе № 2 в два раза; увеличивалась агрессивность (АГ) у крыс группы №1 в 1,5 раза; у группы № 2 в 1,3 раза, по отношению к контрольному значению, ($p < 0,05$). Понижалась общая двигательная активность (ОДА) у животных группы №1 в 5,2 раза, а в группе № 2 в 6,5 раз. Поисково-исследовательская активность (ПИА) снижалась в группе №1 в 8,65 раз, в группе № 2 в 6,17 раз, по отношению к контролю, ($p < 0,05$). (табл. 4). Было отмечено, что в группе № 2 в сравнении с группой контроля происходит снижение на 50% и более величины следующих исследуемых характеристик: «груминг», «обнюхивание», «количество пересеченных квадратов», «стойка с упором», «вертикальная стойка». У крыс группы №2 отмечены достоверные отличия параметров, характеризующих поведенческие и когнитивные функции: выявлено значительное повышение объема паттернов «вертикальная стойка», «обнюхивание» в 2,3 раза и в 3,6 раз соответственно выявлены, в сравнении с группой №1, без предварительного введения Цитофлавина, ($p < 0,05$). У крыс группы №2 в сравнении с группой №1, без предварительного введения Цитофлавина, ($p < 0,05$) достоверно снижались следующие элементы поведения: «число актов дефекации», «число актов уринации» и «груминг» в 4 раза, 2,6 раза и 1 раз соответственно, ($p < 0,05$) (табл. 4). Использование препарата Цитофлавин совместно с курсом нормобарической гипоксии в группе №2 способствовало снижению параметров АГ в 1,5 раза и увеличению параметра ПИА в 6,17 раза, по отношению к группе № 1, ($p < 0,05$) что может быть обусловлено участием компонентов препарата (ЯК, СДГ) Цитофлавин в энергетическом обмене клеток в условиях дефицита кислорода во вдыхаемом воздухе и его применение оказывает влияние на изменение элементов поведения животных. Отмечено повышение резистентности крыс к стрессогенному фактору. Введение препарата Цитофлавин способствует изменению поведения животных, подвергшихся воздействию интервальной нормобарической гипоксии, отмечены достоверные изменения по отношению к крысам группы №1, подвергшимся действию гипоксии без предварительного введения препарата. Также о снижении стрессогенного эффекта свидетельствует достоверное снижение показателя «число актов дефекации» в 3,8 раза в сравнении с группой №1, без применения фармакокоррекции, ($p < 0,05$). Вместе с этим, паттерн поведения ОДА крыс остается сниженным в 1,16

раз, показатель ЭЛ напротив повышается в 1,2 раза по отношению к группе 1 (табл. 2).

Таблица 2 — Сравнительная характеристика показателей поведения крыс в тесте «открытое поле», ($M \pm \sigma$, $n=15$)

n = 15	Контроль	Гипоксия	Гипоксия + Цитофлавин
<i>Паттерны поведения, у.е. (%)</i>			
Количество пересеченных квадратов	14,5 ± 2,76	6,0 ± 1,0 *	5,4 ± 0,9 * [#]
Обнюхивание	5,35 ± 1,31	0,3 ± 0,2 *	1,1 ± 0,50 * [#]
Вертикальная стойка	3,3 ± 0,93	0,3 ± 0,2 *	0,7 ± 0,4 * [#]
Стойка с упором	7,7 ± 1,1	1,4 ± 0,6 *	1,0 ± 0,3 * [#]
Число актов дефекации	1,7 ± 0,56	2,3 ± 0,2 *	0,6 ± 1,12 * [#]
Число актов уринации	0,15 ± 0,11	0,8 ± 0,2 *	0,3 ± 0,2 * [#]
Грумминг	2,75 ± 0,93	0,7 ± 0,4 *	0,1 ± 0,1 * [#]
Захват	1,65 ± 0,39	2,0 ± 0,4 *	1,8 ± 0,5 * [#]
Хлопок	0,35 ± 0,16	1,0 ± 0,4 *	0,8 ± 0,3 * [#]
<i>Интегральные показатели поведения</i>			
Эмоциональная лабильность	1,75 ± 0,57	3,1 ± 0,6 *	3,6 ± 0,9 * [#]
Агрессивность	2 ± 0,47	3,0 ± 0,4 *	2,6 ± 0,8 * [#]
Поисково-исследовательская деятельность	17,3 ± 2,1	2,0 ± 0,9 *	2,8 ± 0,6 * [#]
Общая двигательная активность	81,95 ± 7,39	15,7 ± 3,4 *	12,6 ± 2,4 * [#]
* — $p < 0,05$ – по отношению к группе контроля			
# — $p < 0,05$ сравнительная характеристика показателей в группе 2 по отношению к группе 1			

Анализ элементов поведения крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» выявил, что применение курса нормобарической гипоксии приводит к изменению характеристик поведения крыс. Крысы группы №1 по сравнению с группой №2 имеют достоверное снижение показателя — «время пребывания в закрытом отсеке» В 1,34 раза, ($p < 0,05$). Данное соотношение времени в закрытом и открытом секторе отражает низкую степень ПИА и высокую степень ЭЛ (табл. 5).

В группе № 1 у животных наблюдалась увеличение продолжительности пребывания в открытых отсеках установки (в 1,1 раза), уменьшение числа выглядываний из темного рукава (в 2,9 раз) и возрастание количества свешиваний в светлых рукавах (в 2,6 раз), это свидетельствует об увеличении ЭЛ и снижении ПИА в отношении животных группы контроля, ($p < 0,05$). (табл.3).

Таблица 3 — Сравнительная характеристика поведенческих паттернов крыс в методике «приподнятый крестообразный лабиринт», ($M \pm \sigma$, $n=15$)

Группы животных, $n = 15$	<i>Поведенческие реакции</i>			
	Время в открытых рукавах (с)	Время в закрытых рукавах (с)	Число свешиваний	Число выглядываний
Контроль	$44,9 \pm 22,15$	$128,2 \pm 22,12$	$0,50 \pm 0,3$	$2,35 \pm 1,60$
1 группа (гипоксия)	$49,8 \pm 24,7$	$78,9 \pm 27,8$	$1,30 \pm 0,56$	$0,80 \pm 0,32$
2 группа (гипоксия цитофлавин)	$49,6 \pm 26,8$	$105,8 \pm 30,4$	$3,0 \pm 0,2^{*#}$	$1,30 \pm 0,5^{*#}$
* — $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе				
# — $p < 0,05$ сравнительная характеристика показателей в группе 2 по отношению к группе 1				

В группе № 2 достоверно сокращается время пребывания в закрытых отсеках (в 1,2 раза), а продолжительность пребывания в открытом отсеке лабиринта увеличивается (в 1,1 раз) по отношению к группе контроля. В группе №2 параметр «число свешиваний» в открытых отсеках увеличивается (в 6 раз), а «число выглядываний» из закрытого отсека снижается (в 1,8 раз), по отношению к группе контроля, ($p < 0,05$), в связи с чем, происходит уменьшение интегральных характеристик ЭЛ и ПИА животных. Приведенные данные согласуются с поведенческими реакциями крыс в тесте «открытое поле» и свидетельствуют, что анализируемый препарат оказывает противотревожное действие на поведенческие и когнитивные показатели животных (табл. 5).

Применение препарата в группе № 2 (с использованием цитофлавина), по отношению к группе № 1 (у крыс без введения цитофлавина), способствует увеличению времени нахождения животных в закрытых рукавах (в 1,34 раза), ($p < 0,05$); время пребывания в открытых рукавах не изменяется. Таким образом у животных группы № 2 наблюдается снижение ЭЛ (возрастает в 1,34 раза временная составляющая локализации в темном рукаве лабиринта), повышается ПИА (увеличение в 1,6 раза количества выглядываний и увеличение в 2,3 раза количество свешиваний с открытых рукавов лабиринта), ($p < 0,05$), это свидетельствует о существенном анксиолитическом эффекте препарата (табл. 5).

Исходя из того, что курс интервальной нормобарической гипоксия оказывал стрессорное действие на организм крыс: снижение поисково-исследовательской активности и двигательной активности животных, способствовал повышению агрессивности и уровня эмоциональной лабильности, а препарат частично компенсировал его действие, оказывая анксиолитический эффект, можно говорить о том, что в группе № 2 по сравнению с группой № 1 наблюдалась активация адаптационных процессов.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Показана роль цитоскелета эритроцитов крови в изменении формы клетки при действии цитохалазина В, у лабораторных животных. Отмечено возникновение редких длинных тяжей, имеющих высокую оптическую плотность при окраске по Гейденгайну; появление фибриллярных толстых сплетений, окружающих клетку по периметру, которые приводят к изменению рельефа плазмалеммы.

2. Использование разработанной экспериментальной модели для моделирования гипобарической гипоксии без гиперкапнии у лабораторных животных позволяет осуществлять гипобарические гипоксические тренировки с параметрами, соответствующими высоте 3000 метров над уровнем моря, что положительно влияет на дыхательную функцию крови мелких лабораторных животных.

3. Содержание эритроцитов и гемоглобина в периферической крови крыс после моделирования пониженного давления достоверно увеличивается в 1,43 и 1,45 раз соответственно по отношению к интактным крысам ($p \leq 0,05$), мембранная поверхность (форма) эритроцитов не изменяется. Это говорит о том, что моделируемое пониженное давление оказывает положительное влияние на общую гемодинамику крови.

4. В ответ на действие гипоксии в коже конечности крысы отмечено угнетение физиологического показателя микроциркуляции (ПМ) на 54% ($p \leq 0,05$) на 7–14 сутки. Показано увеличение пределов регуляции периферического кровотока по кардиальному пути (пульсовая волна) на 34%, ($p \leq 0,05$).

5. В отличие от модели гипобарической гипоксии, моделирование нормобарического воздействия (без фармакокоррекции) способствовало снижению числа эритроцитов от $(8,12 \pm 0,12) \times 10^{12}/\text{л}$ до $(7,29 \pm 0,22) \times 10^{12}/\text{л}$, ($p \leq 0,05$). В модели гипобарического воздействия содержание эритроцитов увеличивалось в 1,43 раза [$(6,75 \pm 0,12) \times 10^{12}/\text{л}$ против $(9,63 \pm 1,0) \times 10^{12}/\text{л}$, $p \leq 0,05$]. Данный результат подтверждает гипотезу о возможности применения модели гипобарического воздействия для облегчения адаптации организма к условиям гипоксии.

6. Содержание эритроцитарного гемоглобина после воздействия нормобарической гипоксии уменьшалось (без фармакокоррекции 153,6 г/л до $140,6 \pm 2,0$ г/л, с фармакокоррекцией от 157 г/л до $143,5 \pm 1,8$ г/л). Также в отсутствие фармакокоррекции снижалось содержание тромбоцитов $1158,4 \pm 56,5 \times 10^9/\text{л}$ до $954,7 \pm 41,54 \times 10^9/\text{л}$. В присутствии цитофлавина достоверных изменений не обнаружено.

7. Применение цитофлавина при воздействии нормобарической гипоксии нормализует интегральные характеристики поведения: эмоциональная лабильность (ЭЛ) и поисково-исследовательская активность (ПИА), что выражается в сокращении времени пребывания в закрытых отсеках (в 1,2 раза, $p \leq 0,05$) и повышению продолжительности пребывания в открытом отсеке лабиринта (в 1,1 раз, $p \leq 0,05$) — в тесте ПКЛ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Представленные в диссертационной работе данные с учетом анатомо-физиологических особенностей организма экспериментальных животных могут быть использованы при планировании профилактических мероприятий в которых используются методики интервальной гипобарической тренировки.

2. Возможно использовать в будущем разработанные режимы гипобарической гипоксии для конструирования тренировочного и лечебного оборудования. Предложена опытно-конструкторская разработка барокамеры для осуществления гипобарических гипоксических тренировок с параметрами, соответствующими высоте 3000 метров над уровнем моря (Приложение 2). Эффективность гипобарокамеры определяется активацией компенсаторных (адаптивных) механизмов реакции организма, в частности на уровне системы крови.

3. Физиологические механизмы адаптации систем крови и микроциркуляторного русла на воздействие экзогенной гипоксии необходимо учитывать при планировании и организации экспериментов.

4. Результаты исследований в будущем могут использоваться при планировании мероприятий, направленных на повышение резервных возможностей организма без использования фармакокоррекции.

5. Выявленные в исследовании приспособительные реакции функциональных систем организма могут быть применены при подготовке научной, учебно-методической литературы, а также в учебном процессе при подготовке и переподготовке специалистов в профильных ВУЗах.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ

1. Алистратова, Ф.И. Роль цитоскелета при деформации эритроцитов в стрессовых ситуациях / Ф.И. Алистратова, В.Г.Скопичев // Генетика и разведение животных. - 2019. - № 3. - С. 58–62.
2. Алистратова, Ф.И. Изучение поведения животных в условиях воздействия хронической нормобарической гипоксии и пути его коррекции / Ф.И. Алистратова, В.Г.Скопичев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2019.- Т. 239. - С. 9–14.
3. Алистратова, Ф.И. Неспецифическая резистентность организма лабораторных крыс при воздействии экспериментальной гипоксией / Ф.И. Алистратова // Международный вестник ветеринарии. - 2020. - № 3. - С. 116-123.
4. Алистратова, Ф.И. Анализ ЛДФ-грамм у крыс стока Wistar в условиях моделирования гипоксии / Ф.И. Алистратова, Я.Г. Торопова, С.А. Осипова, М.Л. Васютина // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2020. – Т. 6. – №. 3. – С. 18-32.

В изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических научных журналах Web of Science:

5. Alistratova, F. Dynamics of skin vessels microcirculation parameters in rats at the hypoxia / F. Alistratova, Y. Toropova, N. Bulavinova, E. Smirnova / KnE Life Sciences. - 2019. -V.4, №14. - P. 578–588.

В материалах конференций:

6. Алистратова, Ф.И. Профилактическое воздействие гипобарии и гипоксии для повышения функциональной устойчивости и дыхательной активности крови у животных / Ф.И. Алистратова // Сборник трудов УШ Всероссийской межвузовской конференции по клинической ветеринарии с международным участием. — МВА имени К.И. Скрябина, Москва, 2018. — С. 202–206.
7. Алистратова, Ф.И. Влияние цитофлавина на адаптацию крыс к хронической нормобарической гипоксии / Ф.И. Алистратова // В сборнике: Материалы V международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». - СПб, 2019. - 256. - С. 5–7.
8. Алистратова, Ф.И. Изменение деформационно-функциональных свойств эритроцитов в условиях развития окислительного стресса / Ф.И. Алистратова // В сборнике: Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» ФГБОУ ВО СПбГАВМ. — СПб, 2017. — С. 8–11.
9. Алистратова, Ф.И. Влияние гипобарической гипоксии на гематологические показатели крови / Ф.И. Алистратова // Scientific Discoveries:

Proceedings of materials IV International scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary – Russia, Moscow, January 30–31, 2019 [Electronic resource] / Editors prof. D.V. Kovalev. — URL: <https://books.eee-science.ru/downloads/scientific-discoveries-2019/>, доступ платный (дата обращения: 23.05.2020).

10. Алистратова, Ф.И. Оценка влияния нормобарической гипоксии на динамику гематологических показателей у крыс / Ф.И. Алистратова // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. 2018. С. 14-15.

11. Алистратова, Ф.И. Влияние цитофлавина на адаптацию крыс к хронической нормобарической гипоксии / Ф.И. Алистратова, В.Г. Скопичев // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии Материалы V-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. 2019. С. 5-7.

12. Алистратова, Ф.И. Оценка динамики показателей периферического кровотока у крыс при воздействии интервальных гипоксических тренировок / Ф.И. Алистратова // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, 2020. - С. 4-6.

13. Алистратова, Ф.И. Механизмы адаптации при гипобарии / Ф.И. Алистратова, В.Г. Скопичев, Н.Н. Богачев // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. - 2017. - С. 200-203.

14. Скопичев, В.Г. Адаптация к гипобарической гипоксии / В.Г. Скопичев, Ф.И. Алистратова // LAMBERT Academic Publishing. – 2019. – 141с.

15. Алистратова, Ф.И. Механизмы адаптации при гипобарии / Ф.И. Алистратова, В.Г. Скопичев, Н.Н. Богачев // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. - 2017. - С. 200-203