

УДК 616-001.8-092.9

<https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156>

## Способ моделирования нормобарической хронической гипоксии у крыс самцов сток Wistar

Ю. А. Марсянова<sup>✉</sup>, В. И. Звягина, О. Н. Сучкова

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация

*Автор, ответственный за переписку:* Марсянова Юлия Александровна, [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

### АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Гипоксия является фактором развития множества заболеваний, в том числе, может являться причиной мужского бесплодия. Молекулярные основы патогенеза при гипоксии могут служить основой для разработки методов лечения и коррекции.

**Цель.** Разработка модели хронической нормобарической гипоксии у лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на 32 половозрелых самцах крыс сток Wistar массой тела 200–280 г. Животные были разделены на 2 экспериментальные группы и контроли к ним. В первой экспериментальной модели использовали модель острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией однократно по методике М. В. Кораблевой и П. И. Лукиенко (1976) в модификации Н. Д. Авсеенко, во второй — модель хронической гипоксии по методике острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией в нашей модификации: животные помещались в герметичную камеру, объемом 1,2 литра, подключенную к газоанализатору, и находились там до достижения 10% содержания кислорода в воздухе. Животных групп контроля помещали в вентилируемые камеры. Эксперимент проводили ежедневно в течение 14 дней. Определяли активность цитохромоксидазы (ЦО), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и супероксиддисмутазы (СОД) в митохондриальной фракции семенных пузырьков и эпидидимиса.

**Результаты.** При моделировании острой нормобарической гипоксии активность изучаемых ферментов не показала статистически значимых изменений. В эксперименте с хронической нормобарической гипоксией активность СОД и ЦО достоверно снижалась во всех изучаемых тканях, а активность ЛДГ — только в тканях головки эпидидимиса.

**Заключение.** Изменение активности ключевых ферментов метаболизма митохондрий свидетельствует о происходящей адаптации к условиям гипоксии на клеточном и субклеточном уровнях, что доказывает эффективность описываемой модели для дальнейшего использования в исследованиях.

**Ключевые слова:** гипоксия; хроническая гипоксия; цитохромоксидаза; супероксиддисмутаза; лактатдегидрогеназа; митохондрии; семенные пузырьки; эпидидимис

### Для цитирования:

Марсянова Ю. А., Звягина В. И., Сучкова О. Н. Способ моделирования нормобарической хронической гипоксии у крыс самцов сток Wistar // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2022. Т. 10, № 2. С. 147–156. <https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156>.

<https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156>

## Method of Modeling of Normobaric Chronic Hypoxia in Male Rats of WISTAR Line

Yuliya A. Marsyanova<sup>✉</sup>, Valentina I. Zvyagina, Ol'ga N. Suchkova

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Corresponding author: Yuliya A. Marsyanova, [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** Hypoxia is a factor of development of many diseases, and, among other things, may be the cause of male infertility. The molecular basis of pathogenesis in hypoxia can serve a basis for the development of methods of treatment and correction.

**AIM:** development of a model of chronic normobaric hypoxia in laboratory animals.

**MATERIALS AND METHODS:** The study involved 32 mature male rats of Wistar line of 200–280 g mass. The animals were divided to 2 experimental groups and their control groups. In the first experimental model, a model of acute normobaric hypoxia with hypercapnia was used one time according to the method of M. V. Korableva and P. I. Lukienko (1976) in modification of N. D. Avseenko, in the second — a model of chronic hypoxia according to the method of acute normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia in our modification: the animals were placed in a hermetically closed chamber of 1.2 liter volume connected to the gas analyzer, and stayed there until the content of oxygen in the air decreased to 10%. Animals of the control groups were placed in ventilated chambers. The experiment was performed daily for 14 days. The activity of cytochrome oxidase (CO), lactate dehydrogenase (LDH) and superoxide dismutase (SOD) in the mitochondrial fraction of seminal vesicles and epididymis was determined.

**RESULTS:** In modeling of acute normobaric hypoxia, the activity of the studied enzymes did not show statistically significant changes. In an experiment with chronic normobaric hypoxia, the activity of SOD and CO was significantly reduced in all the studied tissues, and the activity of LDH — only in the tissues of the epididymis head.

**CONCLUSION:** Changes in the activity of key enzymes of mitochondrial metabolism indicate the adaptation to hypoxia at the cellular and subcellular levels, which proves the effectiveness of the described model for further use in research.

**Keywords:** *hypoxia; chronic hypoxia; cytochrome oxidase; superoxide dismutase; lactate dehydrogenase; mitochondria; seminal vesicles; epididymis*

### For citation:

Marsyanova Yu. A., Zvyagina V. I., Suchkova O. N. Method of Modeling of Normobaric Chronic Hypoxia in Male Rats of WISTAR Line. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2022;10(2):147–156. <https://doi.org/10.23888/HMJ2022102147-156>.

## Обоснование

По оценкам ВОЗ в мире более 48 млн пар, что составляет примерно 15%, являются бездетными по причине бесплодия. В 50% случаев бездетности причиной является только женское бесплодие, в 25% — только мужское и в 25% — и мужское и женское. Так, на мужское бесплодие приходится около 50% случаев бездетности гетеросексуальных пар [1]. Часто, причиной мужского бесплодия становится недостаток спермы или её качество: нарушение формы и подвижности сперматозоидов, их жизнеспособность. В свою очередь эти факторы зависят от процессов, протекающих при созревании сперматозоидов и формировании спермы во время эякуляции. Например, причиной развития мужского бесплодия могут служить расстройства кровообращения в малом тазу [2], что неизбежно приводит к тканевой гипоксии.

Нарушение газоснабжения тканей может быть следствием травм, ношения неудобной тесной одежды, постоянного пребывания в плохо вентилируемых, душных помещениях, курение, в том числе и пассивное, вдыхание воздуха, загрязненного выхлопными газами, дымом, продуктами горения топлива или иных веществ при приготовлении пищи, при обогреве помещений, при сжигании мусора и т. д. Часто люди испытывают недомогания, головные боли, отмечают быструю утомляемость и снижение работоспособности, не подозревая, что эти симптомы указывают на кислородное голодание тканей мозга, сердечно-сосудистой, мышечной системы. Частое влияние гипоксии может привести не только к ухудшению самочувствия, но и стать причиной серьёзных проблем со здоровьем.

Гипоксия и механизмы адаптации к ней являются одной из самых обсуждаемых тем в научном мире. Понимание клеточной регуляции адаптации к дефициту кислорода и механизмов патогенеза при гипоксии приобретает особую значимость при изучении патологических состояний и способов их коррекции [3]. Например, помимо участия гипоксии в развитии

мужского бесплодия, антенатальная гипоксия является одним из факторов развития болезни Альцгеймера [4], недостаток кислорода неизбежно сопровождает и осложняет течение патологий лёгочной системы [5–8]. Исследование изменений в тканях мужской репродуктивной системы в условиях гипоксии имеет большое клиническое значение, позволяя расширить понимание причин мужского бесплодия, установить изменения на клеточном и молекулярном уровнях, происходящие во время сперматогенеза, ответить на вопрос, какие процессы вносят вклад в развитие патологии; способствует поиску способов улучшения состояния организма, мишеней для терапии, даёт возможность усовершенствовать существующие методики профилактики и лечения.

В связи с вышеизложенным, изучение влияния кислорода и молекулярных механизмов адаптации к гипоксии остаётся актуальным, несмотря на большой объём накопленных данных. Для этих целей разработано несколько моделей гипоксии на лабораторных животных. Наиболее распространёнными является модели гипобарической гипоксии [9]: острой (или однократной) и хронической (или пролонгированной, курсом 14 дней [10]). Подобные модели хорошо воспроизводимы, но, за редким исключением, не встречаются в живой природе и в жизни человека в том числе. Гораздо чаще человек сталкивается с ситуацией нехватки кислорода и нарастания концентрации углекислого газа в окружающей его среде. Известно, что фенотипически популяцию крыс можно разделить на 2 группы: высокоустойчивые к гипоксии и низкоустойчивые, что может послужить фактором искажения результатов. Традиционно условия экспериментов по моделированию гипобарической хронической гипоксии предполагают содержание животных в разреженном воздухе фиксированное количество времени, но при этом не учитываются их индивидуальные метаболические особенности: устойчивость к гипоксии, масса животного, состояние активности на момент эксперимента,

скорость адаптации к условиям эксперимента и т. д. Поэтому подбор условий моделирования гипоксии должен производиться индивидуально для каждой особи. Моделирование острых форм гипоксии, как гипо- так и нормобарической, часто сводятся к определению процента выживших животных, что означает высокую смертность животных при эксперименте [11]. Несмотря на развивающиеся изменения кислотно-основного равновесия [12] и состава крови у испытуемых однократное воздействие гипоксии не приводит к устойчивому метаболическому ответу организма.

Ещё одним условием эксперимента, помимо давления и длительности, может служить уровень кислорода во вдыхаемом воздухе. Критическим для здоровья является уровень кислорода в 12%, постоянное пребывание в таких условиях вызывает необратимые изменения функционирования организма, вплоть до летального исхода. Ряд работ описывает кратковременное использование газовых смесей, в которых уровень кислорода во вдыхаемом воздухе составлял 10%, для формирования адаптации к гипоксии [13, 14].

Помимо снижения уровня кислорода сигналом к развитию адаптации служит нарастание углекислого газа. Существуют свидетельства о том, что гиперкапния является большим стимулом для метаболических изменений, чем только гипоксия [15].

Проанализировав достоинства и недостатки имеющихся современных моделей гипоксии для лабораторных животных, а также, изучив накопленные данные о применении гипоксии в качестве терапии или тренировки у человека, нами была поставлена цель.

**Цель.** Разработать модель хронической нормобарической гипоксии для оценки ее адаптогенных эффектов по активности митохондриальных ферментов в тканях репродуктивных органов самцов крыс.

### Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 32 половозрелых самцах крыс сток Wistar массой

тела 200–280 г, которые содержались в стандартных условиях вивария на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Работа с животными осуществлялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), Приказом МЗ РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и Приказом МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Животные были разделены на четыре группы по 8 особей в каждой. Группа 1 — животные, подвергшиеся воздействию острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией однократно по методике М. В. Кораблевой и П. И. Лукиенко (1976) в модификации Н. Д. Авсеенко [12]. Для этого каждое животное помещалось в герметичную камеру объёмом 1000 мл на 30 минут. Содержание кислорода и углекислого газа контролировалось с помощью многоканального газоанализатора МАГ-6-П-К (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>). Группа 2 — животные, повторяющие условия эксперимента аналогично группе 1 в вентилируемой камере. Группа 3 — животные, подвергшиеся воздействию хронической нормобарической гипоксии по методике острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией у мышей (М. В. Кораблев и П. И. Лукиенко (1976) [12] в нашей модификации [16]. Животных помещали в герметичную камеру (размер Д × Ш × В: 10,5 × 10,5 × 11 см), объёмом 1,2 л, подключенную к многоканальному газоанализатору МАГ-6-П-К (O<sub>2</sub>, интервал измерения 0–100%), до тех пор, пока уровень кислорода в камере с животным не снижался до 10% [14]. Сеансы повторяли ежедневно, в течение 14 дней. Группа 4 — животные, которые повторяли условия эксперимента, аналогичные группе 3, но помещались в вентилируемую камеру.

Крыс выводили из эксперимента под наркозом (смесь «Золетил 100» и «Ксиланит» в дозировке 6 мг/кг массы тела

животного одноразовым инсулиновым шприцем внутримышечно) сразу после окончания процедур. Далее отбирали семенные пузырьки и эпидидимис, из которых получали гомогенаты с помощью гомогенизатора PotterS (Sartorius AG, Германия) в Трис-НСI буфере рН = 7,4, содержащем 0,25 М раствор сахарозы, в соотношении 1 часть ткани к 9 частям буфера. Все процедуры проводили при температуре не выше 4°C. Полученные гомогенаты центрифугировали дважды: по 15 минут при 3000 g для осаждения ядер и неразрушенных клеток и при 14 000 g для осаждения митохондрий. Осадок ресуспензировали в среде выделения и использовали в качестве материала для исследования.

Активность цитохромоксидазы, в условных единицах на мг белка в пробе, определяли кинетическим методом по скорости изменения оптической плотности раствора цитохрома с [17], в нашей модификации [Марсянова Ю. А., Звягина В. И. Методика определения активности цитохромоксидазы в гомогенатах тканей. ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рационализаторское предложение № 1414 от 12.12.2019], лактатдегидрогеназы (ЛДГ), в условных единицах на мг белка в пробе, с помощью набора «ЛДГ-2-ОЛЬ-ВЕРКС» оптимизированным кинетическим методом по скорости окисления НАДН в НАД<sup>+</sup>, супероксиддисмутазы (СОД), в условных единицах на мг белка в пробе, где за одну условную единицу принимали величину % ингибирования скорости реакции аутоокисления кверцетина в присутствии материала за 1 минуту [18]. В каждой пробе определяли концентрацию общего белка по методу Лоури с помощью набора «ЭКО Сервис КлиниТест-БЛ». Статистическую обработку данных проводили с помощью программ «Microsoft Excel 2013» и Stat Soft Statistica 12. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для оценки уровня значимости в группах, где выборка данных подчинялась нормальному закону распределения, использовали параметрический t-критерий Стьюдента для незави-

симых групп и параметрический парный критерий Стьюдента для зависимых. Если распределение не соответствовало нормальному хотя бы в одной из групп сравнения использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни для независимых групп и непараметрический T-критерий Уилкоксона для зависимых. Уровень различий считали статистически значимым при вероятности ошибки  $p < 0,05$ .

## Результаты

Время достижения критических значений уровней газов в вдыхаемом воздухе достоверно снижалось на 14 день эксперимента по сравнению с первым (рис. 1, 2):  $t_1(O_2) = 13,18 [12,55; 13,55]$  мин,  $t_1(CO_2) = 4,62 [4,35; 5,25]$  мин;  $t_{14}(O_2) = 9,54 [9,14; 11,54]$  мин,  $p = 0,036$ ,  $t_{14}(CO_2) = 3,41 [3,23; 3,97]$  мин,  $p = 0,012$ .

Моделирование острой гипоксии не повлияло на изменение активности изучаемых ферментов (табл. 1). Наблюдалось достоверное снижение активности супероксиддисмутазы и цитохромоксидазы в митохондриальной фракции всех исследуемых тканей, и снижение активности лактатдегидрогеназы в митохондриях головки эпидидимиса.

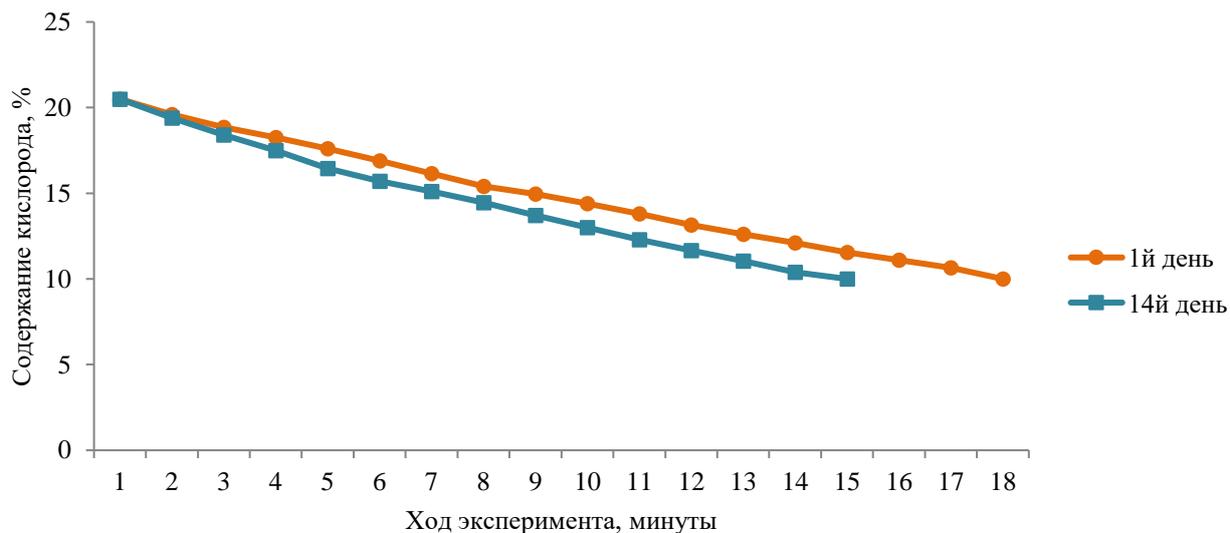
## Обсуждение

Продолжительность пребывания животного в камере ограничивалась только содержанием кислорода и являлась индивидуальной характеристикой. В среднем для достижения 10%-го уровня  $O_2$  требовалось 14–18 минут. Так как известно, что критически допустимым для кратковременного пребывания считается уровень кислорода во вдыхаемом воздухе — 12%, а углекислого газа — 3%, мы выбрали эти значения в качестве целевой точки, по времени достижения которой можно судить об адаптационных возможностях организма. Эксперимент по моделированию хронической гипоксии показал, что животным к последнему дню эксперимента требуется меньше времени для достижения критических точек по сравнению с первым днём (рис. 1, 2). Возможно, одним из

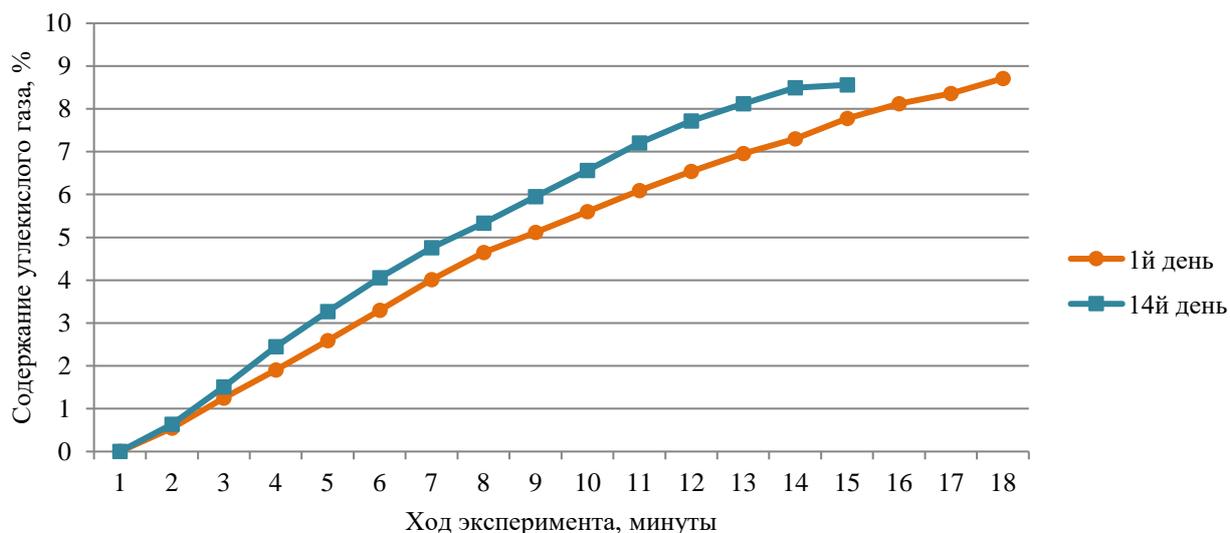
эффектов адаптации является ускоренное и более эффективное потребление кислорода некоторыми тканями [19], а также увеличение количества гемоглобина и скорости насыщения его кислородом [20].

Из приведённых данных (табл. 1) видно, что модель острой нормобарической гипоксии не приводит к изменению

активности митохондриальных ферментов. Очевидно, что однократное воздействие стрессового фактора не является достаточным стимулом для формирования метаболического ответа, включающего существенную перестройку работы клеточных структур и изменение интенсивности обмена веществ.



**Рис. 1.** Изменение содержания кислорода в ходе эксперимента по моделированию хронической гипоксии.



**Рис. 2.** Изменение содержания углекислого газа в ходе эксперимента по моделированию хронической гипоксии.

**Таблица 1.** Показатели активности ферментов при развитии острой и хронической гипоксии, Me [Q1; Q3]

Ткань	Показатель	Группа 1: острая гипоксия	Группа 2: контроль к группе 1	Группа 3: хроническая гипоксия	Группа 4: контроль к группе 3
Семенные пузырьки	СОД, у.е./мг белка	34,16 [16,64; 65,04]	31,00 [26,49; 39,68]	6,32 [5,19; 7,46]	33,85 [28,20; 45,31]
		p <sub>1,2</sub> = 0,71		p <sub>3,4</sub> = 0,000014	
	ЦО, у.е./мг белка	1,54 [0,99; 1,80]	0,87 [0,31; 1,30]	0,31 [0,25; 0,42]	1,34 [1,14; 1,72]
		p <sub>1,2</sub> = 0,16		p <sub>3,4</sub> = 0,00059	
	ЛДГ, у.е./мг белка	798 [602; 1146]	511 [408; 777]	1124 [1003; 1379]	798 [602; 1146]
		p <sub>1,2</sub> = 0,22		p <sub>3,4</sub> = 0,21	
Головка эпидидимиса	СОД, у.е./мг белка	45,15 [32,60; 66,67]	39,66 [35,25; 49,24]	8,18 [5,57; 11,15]	36,83 [34,15; 44,34]
		p <sub>1,2</sub> = 0,54		p <sub>3,4</sub> = 0,000014	
	ЦО у.е./мг белка	1,26 [0,86; 1,60]	0,97 [0,54; 2,34]	0,34 [0,26; 0,49]	0,89 [0,64; 1,04]
		p <sub>1,2</sub> = 0,64		p <sub>3,4</sub> = 0,011	
	ЛДГ у.е./мг белка	3015 [1378; 4029]	1356 [688; 1906]	804 [709; 977]	3382 [1659; 4088]
		p <sub>1,2</sub> = 0,051		p <sub>3,4</sub> = 0,0014	
Хвост эпидидимиса	СОД, у.е./мг белка	60,37 [35,03; 70,49]	33,96 [27,16; 40,55]	8,64 [6,15; 13,69]	37,84 [17,63; 40,98]
		p <sub>1,2</sub> = 0,052		p <sub>3,4</sub> = 0,018	
	ЦО у.е./мг белка	1,36 [0,99; 1,48]	0,96 [0,76; 1,45]	0,54 [0,36; 0,64]	1,23 [0,91; 2,21]
		p <sub>1,2</sub> = 0,37		p <sub>3,4</sub> = 0,032	
	ЛДГ у.е./мг белка	2732 [1591; 3140]	1896 [1281; 2832]	2882 [2394; 3529]	2732 [1592; 3140]
		p <sub>1,2</sub> = 0,75		p <sub>3,4</sub> = 0,37	

На фоне моделирования хронической нормобарической гипоксии наблюдается развитие адаптационных изменений на уровне ферментов митохондрий. Постоянные «тренировки» пребывания в гипоксических условиях вызывают снижение потребности тканей к кислороду. Это выражается в уменьшении активности цитохромоксидазы, для которой кислород является субстратом, и уменьшении активности супероксиддисмутазы, что указывает на пониженную потребность тканей в утилизации активных форм кислорода. Логично предположить, что снижение активности цитохромоксидазы является причиной уменьшения потребления кислорода исследуемыми тканями, что в свою очередь отразилось на скорости накопления активных форм кислорода и повлекло за собой снижение активности СОД. Такие изменения в метаболических путях могут быть особенно полезными при реоксигенации, когда особенно высок риск образования АФК.

Наблюдаемое уменьшение активности ЛДГ в головке эпидидимиса может свидетельствовать о перестройке метаболических путей использования пирувата и лактата. Общеизвестно, что при гипоксии наблюдается снижение окисления НАДН и накопление НАД<sup>+</sup> митохондриями, этот феномен может служить объяснением уменьшению активности лактатдегидрогеназы,

дугемиными тканями, что в свою очередь отразилось на скорости накопления активных форм кислорода и повлекло за собой снижение активности СОД. Такие изменения в метаболических путях могут быть особенно полезными при реоксигенации, когда особенно высок риск образования АФК.

которая в условиях недостаточности окисленной формы НАД становится неспособной к участию в подключении лактата в качестве энергетического ресурса.

### Выводы

Изменения показателей активности ключевых митохондриальных ферментов, произошедшие в тканях под влиянием хронической нормобарической гипоксии, имеют высокий уровень значимости, что свидетельствует о происходящей адаптации к условиям гипоксии на клеточном и субклеточном уровнях и позволяет рассматривать данную методику в качестве экспериментальной модели для дальнейшего использования в

исследованиях. Разработанная модель гипоксии может быть использована для изучения молекулярных основ нарушений, возникающих при гипоксии, адаптации к ней, влияния антигипоксантов и поиска новых лекарственных средств для лечения и профилактики.

При гипоксических тренировках наблюдается уменьшение времени, требуемого для достижения критического уровня кислорода и углекислого газа в герметичной камере, что может свидетельствовать о увеличении потребления кислорода. Однако в исследуемых тканях наблюдается снижение активности основных ферментов митохондрий — цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы.

### Список источников

1. Cheng P., Zhang X.–S. TDP-43 in male infertility: Progress in studies // *National Journal of Andrology*. 2017. Vol. 23, № 10. P. 942–945.
2. Жайтлеуов Г.Х. Варикоцеле, как одна из причин мужского бесплодия // *Вестник хирургии Казахстана*. 2011. № 2 (26). С. 100–101.
3. Chen P.–S., Chiu W.–T., Hsu P.–L., et al. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases // *Journal of Biomedical Science*. 2020. Vol. 27, № 1. P. 63. doi: [10.1186/s12929-020-00658-7](https://doi.org/10.1186/s12929-020-00658-7)
4. Shen G., Hu S., Zhao Z., et al. Antenatal Hypoxia Accelerates the Onset of Alzheimer's Disease Pathology in 5xFAD Mouse Model // *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020. Vol. 12. P. 251. doi: [10.3389/fnagi.2020.00251](https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00251)
5. Смирнова М.И., Антипушина Д.Н., Курехян А.С. Хроническая обструктивная болезнь легких и COVID-19: данные к лету 2020 года, подходы к оказанию медицинской помощи и профилактике // *Профилактическая медицина*. 2020. Т. 23, № 8. С. 37–44. doi: [10.17116/profmed20202308137](https://doi.org/10.17116/profmed20202308137)
6. Gubitosa J.C., Xu P., Ahmed A., et al. COVID-19-Associated Acute Limb Ischemia in a Patient on Therapeutic Anticoagulation // *Cureus*. 2020. Vol. 12, № 9. P. e10655. doi: [10.7759/cureus.10655](https://doi.org/10.7759/cureus.10655)
7. Овсянников Е.С., Будневский А.В., Шкатова Я.С. Оценка эффективности тренировки дыхательной мускулатуры у больных хронической обструктивной болезнью легких и ожирением // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2019. Т. 27, № 3. С. 367–74. doi: [10.23888/PAVLOVJ2019273367-374](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019273367-374)
8. Абросимов В.Н., Перегудова Н.Н., Косяков А.В. Оценка функциональных показателей дыхательной системы у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких при проведении 6-минутного шагового теста // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019. Т. 7, № 3. С. 323–331. doi: [10.23888/HMJ201973323-331](https://doi.org/10.23888/HMJ201973323-331)
9. Малкова Я.Г., Кальченко Г.П. Использование различных моделей гипоксии в экспериментальной фармакологии // *Молодой ученый*. 2010. № 3 (4). С. 318–319.
10. Воронков А.В., Лысенко А.С., Бандура А.Ф. Влияние новых производных пиримидин-4-она на показатели ауторегуляции мозгового кровотока и вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга крыс на фоне хронической гемической гипоксии // *Анализ риска здоровью*. 2018. № 1. С. 98–103. doi: [10.21668/health.risk/2018.1.11](https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.1.11)
11. Chang J., Yang B., Zhou Y., et al. Acute Methylmercury Exposure and the Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Signaling Pathway under Normoxic Conditions in the Rat Brain and Astrocytes in Vitro // *Environmental Health Perspectives*. 2019. Vol. 127, № 12. P. 127006. doi: [10.1289/EHP5139](https://doi.org/10.1289/EHP5139)
12. Стасюк О.Н., Альфонсова Е.В., Авсеенко Н.Д. Экспериментальное исследование влияния дефицита кислорода на кислотно-основное состояние // *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 6. С. 130–137. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25558>. Ссылка активна на 08 июля 2021. doi: [10.17513/spno.25558](https://doi.org/10.17513/spno.25558)
13. Сазонтова Т.Г., Глазачев О.С., Болотова А.В., и др. Адаптация к гипоксии и гипероксии повы-

- пает физическую выносливость: роль активных форм кислорода и редокс сигнализации // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. 2012. Т. 98, № 6. С. 793–807.
14. Ball M.K., Waypa G.B., Mungai P.T., et al. Regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by vascular smooth muscle hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2014. Vol. 189, № 3. P. 314–324. doi: [10.1164/rccm.201302-0302OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201302-0302OC)
15. Куликов В.П., Трегуб П.П., Ковзелев П.Д., и др. Гиперкапния — альтернативный гипоксии сигнальный стимул для повышения HIF-1 $\alpha$  и эритропоэтина в головном мозге // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015. Т. 59, № 3. С. 34–37.
16. Марсянова Ю.А., Звягина В.И. Способ моделирования нормобарической хронической гипоксии. Патент РФ на изобретение № 2739675. 17.07.2020. Бюл. № 1. Доступно по: [https://patents.s3.yandex.net/RU2739675C1\\_20201228.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2739675C1_20201228.pdf). Ссылка активна на 08 июля 2021.
17. Чупахина Г.Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений. Калининград; 2000.
18. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб.: Фолиант; 2000. С. 90–92.
19. Молов А.А., Шагумов К.Ю., Борукаева И.Х., и др. Адаптация головного мозга и сердца к недостатку кислорода // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 2. С. 133–134. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28682>. Ссылка активна на 08 июля 2021.
20. Глушков С.П., Осипов В.М., Пищалов Е.В. Воздействие ночной нормобарической гипоксии и интервальной гипоксической тренировки на организм атлетов // Сибирский педагогический журнал. 2015. № 3. С. 153–158.

## References

1. Cheng P, Zhang X–S. TDP-43 in male infertility: Progress in studies. *National Journal of Andrology*. 2017;23(10):942–5.
2. Zhaytleuov GK. Varikotsele, kak odna iz prichin muzhskogo besplodiya. *Bulletin of Surgery in Kazakhstan*. 2011;(2):100–1. (In Russ).
3. Chen P–S, Chiu W–T, Hsu P–L, et al. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of Biomedical Science*. 2020;27(1):63. doi: [10.1186/s12929-020-00658-7](https://doi.org/10.1186/s12929-020-00658-7)
4. Shen G, Hu S, Zhao Z, et al. Antenatal Hypoxia Accelerates the Onset of Alzheimer's Disease Pathology in 5xFAD Mouse Model. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12:251. doi: [10.3389/fnagi.2020.00251](https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00251)
5. Smirnova MI, Antipushina DN, Kurekhyan AS. Chronic obstructive pulmonary disease and COVID-19: data for summer 2020, approaches to health care and prevention. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2020;23(8):37–44. (In Russ). doi: [10.17116/profmed20202308137](https://doi.org/10.17116/profmed20202308137)
6. Gubitosa JC, Xu P, Ahmed A, et al. COVID-19-Associated Acute Limb Ischemia in a Patient on Therapeutic Anticoagulation. *Cureus*. 2020;12(9):e10655. doi: [10.7759/cureus.10655](https://doi.org/10.7759/cureus.10655)
7. Ovsyannikov ES, Budnevsky AV, Shkatova YS. Assessment of effectiveness of training of respiratory musculature in patients with chronic obstructive pulmonary disease and obesity. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2019;27(3):367–74. (In Russ). doi: [10.23888/PAVLOVJ2019273367-374](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019273367-374)
8. [Абросимов В.Н.], Peregudova NN, Kosyakov AV. Assessment of the functional parameters of the respiratory system in patients with chronic obstructive pulmonary disease during a 6-minute step test. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2019;7(3):323–31. (In Russ). doi: [10.23888/HMJ201973323-331](https://doi.org/10.23888/HMJ201973323-331)
9. Malkova YaG, Kal'chenko GP. Ispol'zovaniye razlichnykh modeley gipoksii v eksperimental'noy farmakologii. *Molodoy Uchenyy*. 2010;(3):318–9. (In Russ).
10. Voronkov AV, Lysenko AS, Bandura AF. Influence exerted by new pyrimidine derivatives on cerebral circulation auto-regulation and vasodilating function of vessels endothelium in rats' brains under chronic hemic hypoxia. *Health Risk Analysis*. 2018;(1):98–103. (In Russ). doi: [10.21668/health.risk/2018.1.11.eng](https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.1.11.eng)
11. Chang J, Yang B, Zhou Y, et al. Acute Methylmercury Exposure and the Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Signaling Pathway under Normoxic Conditions in the Rat Brain and Astrocytes in Vitro. *Environmental Health Perspectives*. 2019;127(12):127006. doi: [10.1289/EHP5139](https://doi.org/10.1289/EHP5139)
12. Stasyuk ON, Alfonsova EV, Avseenko ND. Experimental study on the influence of oxygen deficiency at the acid-base of state. *Modern Problems of Science and Education*. 2016;(6):130–7. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25558>. Accessed: 2021 July 08. (In Russ). doi: [10.17513/spno.25558](https://doi.org/10.17513/spno.25558)
13. Sazontova TG, Glazachev OS, Bolotova AV, et al. Adaptation to hypoxia and hyperoxia improves physical endurance: the role of reactive oxygen species and redox-signaling. *Rossiiskii Fiziolicheskiy Zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2012;98(6):793–807. (In Russ).
14. Ball MK, Waypa GB, Mungai PT, et al. Regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by vascular smooth muscle hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ .

- American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2014;189(3):314–24. doi: [10.1164/rccm.201302-0302OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201302-0302OC)
15. Kulikov VP, Tregub PP, Kovzelev PD, et al. Hypercapnia — alternative hypoxia signal incentives to increase HIF-1 $\alpha$  and erythropoietin in the brain. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2015;59(3):34–7. (In Russ).
16. Marsyanova YuA, Zvyagina VI. Sposob modelirovaniya normobaricheskoy gipoksii. Patent RUS No. 2739675. 17.07.2020. Byul. 1. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU2739675C1\\_20201228.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2739675C1_20201228.pdf). Accessed: 2021 July 08.
17. Chupakhina GN. *Fiziologicheskiye i biokhimicheskiye metody analiza rasteniy*. Kaliningrad; 2000. (In Russ).
18. Arutyunyan AV, Dubinina EE, Zybina NN. *Metody otsenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoy sistemy organizma*. Saint-Petersburg: Foliant; 2000. P. 90–2. (In Russ).
19. Molov AA, Shkhagumov KYu, Borukaeva IKh, et al. Adaptation of the brain and heart to oxygen lack. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;(2):133–4. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28682>. Accessed: 2021 July 08. (In Russ).
20. Glushkov SP, Osipov VM, Pishchalov EV. Effects of night normobaric hypoxia and intermittent hypoxic training on the body of athletes. *Siberian Pedagogical Journal*. 2015;(3):153–8. (In Russ).

## Дополнительная информация

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

### Информация об авторах:

✉ *Марсянова Юлия Александровна* — ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО, SPIN: 4075-3169, <https://orcid.org/0000-0003-4948-4504>, e-mail: [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

*Звягина Валентина Ивановна* — к.б.н., доцент, доцент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО, SPIN: 7553-8641, <https://orcid.org/0000-0003-2800-5789>.

*Сучкова Ольга Николаевна* — ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО, SPIN: 2282-3653, <https://orcid.org/0000-0001-5227-7288>.

### Вклад авторов:

*Марсянова Ю. А.* — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста.

*Звягина В. И.* — концепция и дизайн исследования, редактирование текста статьи.

*Сучкова О. Н.* — литературный поиск, графический дизайн.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Funding.** The authors declare no funding for the study.

### Information about the authors:

✉ *Yuliya A. Marsyanova* — Assistant of the Department of Biological Chemistry with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics of the Faculty of Professional Additional Education, SPIN: 4075-3169, <https://orcid.org/0000-0003-4948-4504>, e-mail: [yuliyamarsyanova@yahoo.com](mailto:yuliyamarsyanova@yahoo.com)

*Valentina I. Zvyagina* — Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics of the Faculty of Professional Additional Education, SPIN: 7553-8641, <https://orcid.org/0000-0003-2800-5789>.

*Ol'ga N. Suchkova* — Assistant of the Department of Biological Chemistry with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics of the Faculty of Professional Additional Education, SPIN: 2282-3653, <https://orcid.org/0000-0001-5227-7288>.

### Contribution of the authors:

*Marsyanova Yu. A.* — collecting and processing material, statistical processing, writing text.

*Zvyagina V. I.* — research concept and design, text editing.

*Suchkova O. N.* — literary search, graphic design.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.