

Сравнительная оценка различных моделей формирования внутриутробной гипоксии плода

А.Е. Ким², Е.Б. Шустов¹, В.Л. Рейнюк¹, Н.В. Лапина¹

¹ Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Россия

² Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Интранатальная гипоксия плода встречается в 10–15% всех беременностей и обуславливает 23% мертворождений и смертей детей в раннем неонатальном периоде. В литературе отсутствуют специализированные биологические модели развития этого патологического состояния.

Цель исследования — провести сравнительный анализ сформированности внутриутробной гипоксии плода у крыс при гипобарическом, гиперкапнически-гипоксическом и гемическом способе ее формирования.

Материалы и методы. Исследование выполнено на беспородных крысах-самках возрастом 3 месяца, которые на 9–12-й дни гестации подвергали ежедневному воздействию гипобарической гипоксии (барокамера, высота 9000 м, экспозиция 30 мин), гипоксии гермообъема (эксикатор объемом 300 мл, экспозиция 30 мин) или гистотоксической гипоксии (внутримышечное введение цианистого натрия в дозе 5 мг/кг). Некропсию проводили на 19-й день гестации после эвтаназии в углекислотной камере. Эмбрионы фиксировали в 96% этаноле 7 дней, затем погружали в 1% раствор КОН на 1–2 суток. Окрашивание окостеневших участков скелета проводили в щелочном глицерин-ализариновом растворе. Плоды изучали под микроскопом при увеличении ×15. Учитывали аномалии скелета, количество точек окостенения в различных костных образованиях.

Результаты. Гиперкапническая и гистотоксическая гипоксия приводили к гипотрофии, снижая на 28–32% величину прироста массы тела животных во время беременности. Отмечались изменения плаценты (снижение массы) и эмбрионов (снижение в 2–3 раза массы плода, на 15% — краниокаудального размера, на 35–45% — суммарной длины зачатков длинных трубчатых костей, количества точек оссификации в зачатках мелких костей).

Выводы. Влияние гиперкапнической гипоксии на эмбрион было более слабым, чем при гипобарической гипоксии, а при гистотоксической гипоксии — более выраженным. Для количественной оценки степени повреждения эмбрионов при внутриутробной гипоксии в биомедицинских исследованиях может быть использована разработанная балльная шкала.

Ключевые слова: внутриутробная гипоксия плода, биомоделирование, гипоксическая гипоксия, гистотоксическая гипоксия, маркеры пренатального повреждения

Как цитировать

Ким А.Е., Шустов Е.Б., Рейнюк В.Л., Лапина Н.В. Сравнительная оценка различных моделей формирования внутриутробной гипоксии плода. *Педиатр.* 2025;16(2):66–78. DOI: <https://doi.org/10.56871/PED.2025.22.88.007>

DOI: <https://doi.org/10.56871/PED.2025.22.88.007>

UDC 618.3-008.9-06+004.94

Comparative evaluation of different models of intrauterine fetal hypoxia

Alexey E. Kim², Evgeniy B. Shustov¹, Vladimir L. Reynyuk¹, Natalia V. Lapina¹¹ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov Federal Medical and Biological Agency of Russia, Saint Petersburg, Russia² Military Medical Academy named after CM. Kirov, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

Background. Intrapartum fetal hypoxia occurs in 10–15% of all pregnancies and accounts for 23% of stillbirths and deaths in the early neonatal period. The literature lacks specialized biological models of the development of this pathological condition.

The aim of the study was to comparatively analyze the formation of fetal intrauterine hypoxia in rats under hypobaric, hypercapnic-hypoxic and hemic modes of its formation.

Materials and methods. The study was performed on 3-month-old female mongrel rats, which on days 9–12 of gestation were exposed daily to hypobaric hypoxia (barocamera, altitude 9000 m, exposure 30 min), hypoxia of the germarium (300 mL exciter, exposure 30 min) or histotoxic hypoxia (intramuscular injection of sodium cyanide at a dose of 5 mg/kg). Necropsy was performed on day 19 of gestation after euthanasia in a carbon dioxide chamber. Embryos were fixed in 96% ethanol for 7 days, then immersed in 1% KOH solution for 1–2 days. Staining of ossified skeletal parts was carried out in alkaline glycerol-alizarin solution. Fruits were examined under a microscope at a magnification of ×15. Skeletal anomalies, the number of ossification points in different bone formations were taken into account.

Results. Hypercapnic and histotoxic hypoxia led to hypotrophy, reducing by 28–32% the value of body weight gain of animals during pregnancy. There were changes in placenta (decrease in weight) and embryos (2–3 times decrease in fetal weight, 15% decrease in craniocaudal size, 35–45% decrease in total length of long tubular bone rudiments, number of ossification points in small bone rudiments).

Conclusions. The effect of hypercapnic hypoxia on the embryo was weaker than in hypobaric hypoxia, and in histotoxic hypoxia it was more pronounced. To quantify the degree of embryo damage under intrauterine hypoxia, the developed ball scale can be used in biomedical research.

Keywords: intrauterine fetal hypoxia, biomodeling, hypoxic hypoxia, histotoxic hypoxia, markers of prenatal damage

To cite this article

Kim A.E., Shustov E.B., Reynyuk V.L., Lapina N.V. Comparative evaluation of different models of intrauterine fetal hypoxia. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2025;16(2):66–78. DOI: <https://doi.org/10.56871/PED.2025.22.88.007>

АКТУАЛЬНОСТЬ

В соответствии с определением Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), гипоксия плода — комплекс изменений в его организме под влиянием недостаточного снабжения кислородом тканей и органов или неадекватной утилизации ими кислорода. Это частое осложнение беременности и родов остается одной из основных причин мертворождаемости, младенческой заболеваемости и смерти [1]. В настоящее время проблема интранатальной гипоксии плода остается крайне актуальной, так как данная патология занимает ведущее место в структуре перинатальной и неонатальной смертности и заболеваемости, обуславливая 23% мертворождения и смерти детей в раннем неонатальном периоде. Частота гипоксии плода и асфиксии новорожденного составляет 4–6%, а по некоторым данным — 10,5% общего числа родов, и встречается в 10–15% всех беременностей, а ее проявления зависят от течения беременности, родов, применяемых оперативных вмешательств и других факторов [2, 8, 11]. При выраженном дефиците кислорода у новорожденных развивается задержка или нарушения психомоторного и интеллектуального развития [14]. К ассоциированной с внутриутробной гипоксией плода патологии относят различные неврологические расстройства, синдром гиперактивности с дефицитом внимания, различные психические и речевые патологии. К самым тяжелым последствиям гипоксии мозга плода относят детский церебральный паралич (ДЦП) [7, 9].

В ответ на воздействие определенных причин, вызывающих дефицит кислорода, запускаются механизмы компенсации, направленные на поддержание адекватной оксигенации организма плода. К ним относят повышение скорости плацентарного кровообращения, гиперплазию плодной части плаценты, увеличение емкости капиллярного русла и усиление кровотока плода, что приводит к увеличению частоты сердечных сокращений. Учащение сердцебиения плода — важнейший признак начинающейся гипоксии. Если причина гипоксии не ликвидирована, возникает фетоплацентарная недостаточность — основа развития хронической гипоксии плода. Далее в патогенезе хронической (внутриутробной) гипоксии можно выделить три звена.

Дефицит кислорода вызывает активацию коры надпочечников плода, сопровождающуюся повышенной выработкой катехоламинов и поступлением их в кровеносное русло, что обуславливает перераспределение крови, направленное на усиление кровообращения в жизненно важных органах (сердце, мозг). Вследствие этого повышается артериальное давление и появляется угроза развития кровоизлияний.

Дефицит кислорода стимулирует процесс гемопоза как компенсаторной реакции организма плода. Это приводит к развитию эритроцитоза, тромбоцитоза в сосудистом русле, увеличивается вязкость крови, происходит внутрисосудистая агрегация клеток, в том числе тромбоцитов в микроциркуляторном русле, что, в свою очередь, приводит к образованию микротромбов. Возникает нарушение микро-

циркуляции, результатом которой может быть развитие ишемии любого органа. Наряду с процессом микротромбообразования может произойти активация свертывающей системы крови, увеличение потребления факторов свертывания и клеток крови (эритроцитов, тромбоцитов) вокруг тромбов, где образуется зона гипокоагуляции. Это может спровоцировать развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома).

В ответ на кислородное голодание происходят метаболические изменения, к которым особенно чувствителен мозг плода. Прежде всего, усиливается тканевое дыхание, активируются процессы гликогенолиза и анаэробного гликолиза, в результате которого образуются кислые продукты метаболизма. В условиях патологического ацидоза увеличивается проницаемость сосудистой стенки и клеточных мембран. Через поры мембран клеток центральной нервной системы происходит потеря «возбуждающих» аминокислот (глутаминовой, глициновой, янтарной и др.), что может вызвать депрессию (угнетение) центральной нервной системы (ЦНС).

Таким образом, последствиями хронической (внутриутробной) гипоксии плода могут быть: перинатальное поражение ЦНС; кровоизлияния, кровотечения, ишемия внутренних органов (миокарда, легких, почек, надпочечников, кишечника); задержка внутриутробного развития плода; недоношенность; гибель плода; замедление развития в ранние сроки послеродового периода.

Разработке и доклинической оценке эффективности и безопасности средств профилактики и лечения внутриутробной гипоксии плода препятствует отсутствие специализированных биологических моделей развития этого патологического состояния. У лабораторных животных также на стадии раннего органогенеза показана важная роль гипоксии в нарушении жизнеспособности эмбрионов [12].

Разработка такой модели на лабораторных животных должна базироваться на патогенезе этого состояния, ключевым элементом которого является гипоксемия у плода. Она может быть связана с патологиями плаценты, пуповины, пороками развития и генетическими заболеваниями у плода, осложненным течением беременности и родов, хроническими заболеваниями у беременных, проявляющимися гипоксемией и циркуляторными нарушениями. Все перечисленные причины приводят к маточно-плодово-плацентарной недостаточности — основному фактору развития хронической гипоксии.

Хроническая гипоксия плода в некоторых случаях может быть обусловлена влиянием экзогенных факторов, возникающих в условиях пониженного парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе (районы высокогорья, Крайнего Севера и т.д.).

Учитывая высокую медико-социальную значимость для здоровья популяции проблем, связанных с пренатальной гипоксией, очевидной становится необходимость изучения механизмов развития патологических процессов в головном мозге, возникающих в развивающемся и взрослом

организме, а также вопросов медицинской реабилитации. Для такого рода исследований необходимо иметь высоковоспроизводимую экспериментальную модель, позволяющую воссоздать пренатальную гипоксию с последующим развитием энцефалопатии. При оценке перинатальных поражений ЦНС использование в качестве тест-объектов грызунов, в частности белых крыс, считается достаточно обоснованным, поскольку плацента белой крысы, так же как и плацента человека, является гемохориальной, а молекулярная и клеточная биология их нервных клеток имеет высокую степень гомологии с высшими млекопитающими, в том числе и с человеком.

В настоящее время известно несколько подходов к моделированию внутриутробной гипоксии плода. Они могут быть сгруппированы в несколько групп: хирургические, фармакологические, физиологические и токсические. Хирургические методы основаны на перевязке предплацентарных сосудов [6]. Примером фармакологического метода моделирования является внутривенное введение беременным самкам питуитрина (вазопрессина), вызывающего стойкий спазм артериальных сосудов брюшной полости. К этой же группе могут быть отнесены методы формирования у крыс циркуляторной гипоксии вследствие развития хронической сердечной недостаточности, вызванной перевязкой коронарных сосудов [4]. К физиологическим методам относится формирование у лабораторных животных гипоксических состояний, связанных с вдыханием газовой среды с обедненным содержанием кислорода (гипобарическая или нормобарическая гипоксическая гипоксия, гиперкапнически-гипоксическая гипоксия (или гипоксия гермообъема), при которой на организм воздействует постепенное снижение содержания кислорода в воздухе с замещением его выдыхаемым углекислым газом [5, 16].

К токсическим методам формирования внутриутробной гипоксии плода относится введение беременным самкам крыс ежедневно подкожно раствора нитрита натрия, являющегося типичным метгемоглобинообразователем, в дозе 50 мг/кг, или цианистого натрия, вызывающего в сублетальных дозах гистотоксическую гипоксию, в дозе 5 мг/кг, с 10-го по 19-й день беременности. В основе патологических процессов при действии нитрита натрия лежит гипоксия смешанного генеза — гемическая гипоксия, обусловленная образованием метгемоглобина, которая сочетается с тканевой гипоксией вследствие разобщения процессов окисления и фосфорилирования. Нарушение кислородтранспортной функции крови у беременных самок крыс приводит к нарушению маточно-плацентарного кровотока [10, 15] и, как следствие, кислородному голоданию плода или эмбриона. Введение нитрита натрия в дозе 50 мг/кг приводит к гипоксии средней тяжести у взрослых особей, согласно критериям, предложенным Н.Ф. Иванецкой [3]. Этот метод оказался более востребованным при решении задачи получения модели гипоксической энцефалопатии у экспериментальных животных в пренатальный период развития.

Необходимо отметить, что в литературе не сложилась единая система моделирования и оценки экспериментальной внутриутробной гипоксии плода, даже при использовании функционально близких моделей. При этом у разных авторов могут варьировать виды лабораторных животных и их линий с разным уровнем чувствительности к гипоксическому воздействию, возраст, сроки воздействия в период беременности, интенсивность, длительность и кратность гипоксического воздействия, также весьма вариативны методы оценки состояния как беременных самок, так и плода, а также критерии их оценки. Известно, что высокой устойчивостью к гипоксической гипоксии обладают лабораторные мыши линий A/SmY, B10CWY, C57BL/6Y, DBA/2Y и крысы специально поддерживаемой популяции BY/SmY; мыши линий IOR/HabY, CC57WY, CBA/LacY, 101/HY обладают низкой устойчивостью к гипоксии; мыши линий C3HA/Y, CBA/JY и крысы линий WAG, Wistar и NY/SmY обладают средней или сниженной устойчивостью к гипоксии [13].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования — провести сравнительный анализ сформированности внутриутробной гипоксии плода при трех видах ее формирования — гипобарическом, гиперкапнически-гипоксическом и гемическом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы белые беспородные крысы возрастом 3 месяца, источник — «Питомник лабораторных животных “Рапполово”», Ленинградская область. Продолжительность карантина животных составила 14 дней. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными Постановлением главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 г. № 51¹. Животных содержали в поликарбонатных клетках, группами, на подстилке; клетки покрыты стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. Был использован стандартный корм для содержания лабораторных животных, приготовленный по ГОСТ Р 51849-2011. Корм и вода, соответствующая ГОСТ Р 51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества», давался *ad libitum*. Световой режим — стандартный, день/ночь, 12/12. Исследование выполнялось в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ от 01.04.2016 г № 199н² по протоколу, одобренному локальной биоэтической комиссией.

¹ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/420219460> (дата обращения: 28.03.2025).

² Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Доступно по: <https://www.garant.ru/hotlaw/federal/845401/> (дата обращения: 28.03.2025).

В эксперименте к интактным самкам подсаживали самцов в соотношении 1:3 (один самец на три самки) на 10 дней. Наличие сперматозоидов в вагинальном мазке на следующий день после спаривания считали первым днем беременности. Далее беременных животных распределяли по группам (в каждой опытной группе по 5 особей) и на 9, 10, 11, 12-й дни гестации крыс подвергали один раз в день, в одно и то же время и одновременно воздействию гипоксии гипобарической, гипоксии гермообъема или гистотоксической гипоксии с помощью внутримышечного введения цианистого натрия.

Воздействие гипобарической гипоксии для беременных самок крыс осуществляли в барокамере объемом 50 л. «Высота», на которую крысу поднимали со скоростью подъема 120–180 м/с, составляла 9000 м, и удерживалась на протяжении 30 минут. Показатели датчиков на камере указывали расход воздуха 28,6 л/мин, влажность 37,2%, количество кислорода — 15,4%, углекислого газа — 0,01%. Параллельно с барокамерой в другой группе животных создавали гиперкапнически-гипоксическую форму гипоксии (гипоксию гермообъема). Крысу помещали в индивидуальный эксикатор объемом 300 мл. Края притертой крышки смазывали вазелином, герметично закрывали и засекали время. По истечению 30 минут крысу освобождали.

По клиническим проявлениям разницы между двумя методами гипоксии не было: на 4-й минуте нахождения у крыс отмечался груминг, на 6-й минуте — видимое беспокойство, одышка. С 13-й минуты животные укладывались (гиподинамия), но бокового положения зафиксировано не было. Также у крыс проявлялась очевидная бледность кожных покровов и слизистых оболочек, синий носогубный треугольник. Подопытным третьей экспериментальной группы вводили внутримышечно цианистый натрий в дозе 5 мг/кг.

Во время проведения эксперимента животных взвешивали в 1, 7, 14 и 19-й (перед некропсией) дни беременности. Некропсию проводили на 19-й день гестации животного после умерщвления в камере с углекислым газом. Производили лапаротомию с макроскопическим осмотром плодов. Выявленные эмбрионы фиксировали в 96% этаноле не менее 7 дней. После фиксации у плодов удаляли внутренние органы и погружали в 1% раствор КОН для просветления мягких тканей. Время пребывания плодов в этом растворе

определяли эмпирически (примерно 1–2 суток). Когда становились видны закладки костей, плоды вынимали, промывали водопроводной водой и переносили их в раствор А (150 мл глицерина, 800 мл дистиллированной воды и 10 г КОН), к которому добавляли несколько капель раствора Б (1% раствор ализарина красного) до появления светло-фиолетового окрашивания.

Через 3–5 суток окостеневшие участки скелета окрашивались в красно-фиолетовый цвет. Для обесцвечивания мягких тканей плоды переносили в раствор А на 7–14 дней, затем их проводили через смеси глицерина, спирта и воды с целью обезвоживания (1:2:7, 2:2:6, 4:4:2, равные части спирта и глицерина, чистый глицерин с добавлением 1–2 капель формалина).

Плоды изучали под микроскопом Nikon SMZ1500, увеличение $\times 15$. Учитывали аномалии скелета, количество точек окостенения в различных костных образованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходя из общих закономерностей формирования внутриутробной гипоксии плода, ее моделирование может иметь последствия как для организма беременной самки, так и для развития плода.

1. Влияние моделируемой внутриутробной гипоксии плода на состояние организма беременной самки

Одним из самых простых показателей, характеризующих состояние животных во время беременности, является прирост массы тела (абсолютный, 4 недели).

Дисперсионный факторный анализ показал (табл. 1), что контролируемый фактор «внутриутробная гипоксия плода» значительно влияет на прирост массы тела у беременных самок — происходит снижение прироста на 68–72% от уровня контрольных животных (гиперкапническая гипоксия и гистотоксическая гипоксия) при минимальном влиянии гипобарической гипоксии (–10%). Влияние фактора гипоксии является существенным (коэффициент детерминации равен 0,69, $p=0,0003$).

Вероятно, в условиях прерывистой гипоксии у животных нарушаются процессы обмена веществ, в первую очередь — анаболические, необходимые как для формирования и роста эмбриона, так и для обеспечения полноценного метаболизма в организме беременной самки.

Таблица 1. Значения прироста массы тела беременных самок крыс, подвергнутых различным видам гипоксического воздействия, в ходе 4 недель беременности

Table 1. Body weight gain values of pregnant female rats exposed to different types of hypoxic exposure during 4 weeks of gestation

Показатель / Parameter	Контрольная группа / Control group	Гиперкапническая гипоксия / Hypercapnic hypoxia	Гипобарическая гипоксия / Hypobaric hypoxia	Гистотоксическая гипоксия / Histotoxic hypoxia
Прирост массы тела (г) / Body mass increment (g)	129±6	89±6	118±5	93±5
% от контроля / % of control	100	69	91	72
p		0,002	0,20	0,003

Таблица 2. Результаты однофакторного дисперсионного анализа влияния факторов моделирования внутриутробной гипоксии плода на параметры, характеризующие процессы имплантации эмбриона

Table 2. Results of one-factor analysis of variance of the influence of factors modeling intrauterine fetal hypoxia on the parameters characterizing the processes of embryo implantation

Параметры имплантации / Implantation parameters	Средние значения в группах / Average values in groups				Контролируемые факторы / Controlled factors		Неконтролируемые факторы / Uncontrolled factors
	контрольная группа / control group	гиперкапническая гипоксия / hypercapnic hypoxia	гипобарическая гипоксия / hypobaric hypoxia	гистотоксическая гипоксия / histotoxic hypoxia	D=	P=	D=
Желтые тела / Corpus luteum	19,6±2,6	16,0±2,1	16,2±1,5	15,0±2,8	0,12	0,53	0,88
Места имплантации / Implantation location	11,2±1,6	11,2±0,4	10,6±0,9	10,2±0,5	0,05	0,86	0,95
Живые эмбрионы / Living embryos	11,0±1,8	10,8±0,6	10,2±0,9	9,6±0,7	0,06	0,80	0,94
Резорбированные эмбрионы / Resorbed embryos	0,6±0,4	0,4±0,2	0,4±0,4	0,6±0,4	0,02	0,95	0,98
Предимплантационная гибель / Preimplantation death	36,7±13,8	25,9±8,5	33,4±5,7	23,8±11,3	0,06	0,79	0,94
Постимплантационная гибель / Postimplantation death	4,0±4,0	1,8±1,8	3,3±3,3	2,2±2,2	0,02	0,95	0,98
Эмбриональная летальность / Embryonal letality	4,0±4,0	3,8±2,3	3,3±3,3	6,2±4,0	0,02	0,94	0,98

Примечание: D — коэффициент детерминации; P — уровень значимости (достоверность).

Note: D — determination coefficient; P — significance level (validity).

Таблица 3. Результаты исследования влияния моделируемой внутриутробной гипоксии на частоту развития аномалий внутренних органов плодов крыс (метод анализа Вильсона–Дыбана, 19-й день гестации, частоты встречаемости)

Table 3. Results of a study of the effect of simulated intrauterine hypoxia on the incidence of anomalies of internal organs in rat fetuses (Wilson-Dyban analysis method, 19th day of gestation, incidence rates)

Исследуемые параметры / Parameters studied	Группы животных / Groups of animals			
	контрольная группа / control group	гиперкапническая гипоксия / hypercapnic hypoxia	гипобарическая гипоксия / hypobaric hypoxia	гистотоксическая гипоксия / histotoxic hypoxia
Число эмбрионов / Number of embryos	15	31	34	23
Кровоизлияния в: / Hemorrhages in:				
головной мозг / brain	0	0,3	0	0
грудную полость / thoracic cavity	0,7	0	0	0
брюшную полость / abdominal cavity	0,13	0,10	0,09	0,22
Полнокровие: / Plethora:				
предсердий/желудочков сердца atria / ventricles of the heart	0,33	0,46	0,09	0,09
	0,33	0,23	0,12	0,0
Дефект желудочков головного мозга / Defect of the ventricles of the brain	0,07	0,19	0,12	0,13
Пол эмбриона: мужской / male	0,47	0,26	0,41	0,48
Sex of the embryo: женский / female	0,53	0,74	0,59	0,52

Вторым вероятным направлением влияния моделируемой внутриутробной гипоксии плода на организм беременной самки могут быть изменения, связанные с имплантацией зародыша. Так, в работе [16] было показано, что у животных с природно сниженной устойчивостью к гипоксии (крысы линии НУ/У, филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА РФ) моделируемая барокамерным подъемом внутриутробная гипоксия плода ведет к повышению в 2–3 раза уровня эмбриональной летальности (с $5,1 \pm 0,6$ эмбриона на 100 мест имплантации до $10,4 \pm 1,3$ эмбриона на 100 мест имплантации при воздействии гипоксии 7000 м и $14,7 \pm 2,1$ эмбриона на 100 мест имплантации при воздействии высоты 9000 м).

В то же время, как показало наше исследование, у нелинейных животных, обладающих популяционно более высокой устойчивостью к гипоксии, прерывистая гипоксия, формирующая внутриутробную гипоксию плода, не оказывает существенного влияния на процессы имплантации эмбриона. Однофакторный дисперсионный анализ не выявил существенного влияния на количество желтых тел,

установленных мест имплантации, количество живых и резорбированных плодов, показатели предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов, а также общей эмбриональной летальности (табл. 2).

2. Влияние моделируемой внутриутробной гипоксии плода на состояние эмбрионов лабораторных животных

Результаты макроскопии плодов на 19-й день гестации представлены в таблицах 3 и 4.

Под влиянием внутриутробной гипоксии плода, вызванной гипобарической гипоксией, незначительно повышается частота встречаемости признаков полнокровия предсердий, но оно не имеет статистически достоверный характер ($p=0,19$, метод точной вероятности Фишера) (табл. 3).

Зоометрические критерии у эмбрионов

Особенности развития эмбрионов на 19-е сутки беременности в условиях хронического периодического гипоксического воздействия отражены на рис. 1.

Таблица 4. Зоометрические характеристики эмбрионов крысят в условиях различных видов гипоксического воздействия ($M \pm m$)

Table 4. Zoometric characteristics of rat embryos, under conditions of different types of hypoxic exposure ($M \pm m$)

Показатель / Parameter	Контрольная группа / Control group	Гиперкапническая гипоксия / Hypercapnic hypoxia	Гипоксическая гипоксия / Hypoxic hypoxia	Гистотоксическая гипоксия / Histotoxic hypoxia
Аногенитальный размер, самцы (мм) / Anogenital size, males (mm)	$2,9 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$
% от контроля / % of control	100	50	41	46
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	0,06	0,04	0,05
Аногенитальный размер, самки (мм) / Anogenital size, females (mm)	$1,9 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$
% от контроля / % of control	100	43	46	36
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	0,02	0,02	0,01
Краниокаудальный размер (мм) / Craniocaudal size (mm)	$37,3 \pm 0,5$	$26,3 \pm 1,0$	$25,8 \pm 0,7$	$23,5 \pm 0,9$
% от контроля / % of control	100	70	69	63
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	1×10^{-7}	4×10^{-12}	2×10^{-9}
Суммарная масса плодов (г) / Total fetal weight (g)	$43,3 \pm 6,5$	$18,4 \pm 0,7$	$20,4 \pm 4,6$	$13,6 \pm 1,8$
% от контроля / % of control	100	42	47	31
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	0,02	0,02	0,008
Средняя масса плода (г) / Average fetal weight (g)	$4,1 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$
% от контроля / % of control	100	43	37	34
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	4×10^{-12}	1×10^{-10}	4×10^{-13}
Масса плаценты (г) / Placenta weight (g)	$0,61 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,01$
% от контроля / % of control	100	84	87	82
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	0,01	0,04	0,005
Диаметр плаценты (мм) / Placenta diameter (mm)	$13,1 \pm 0,2$	$12,9 \pm 0,3$	$13,4 \pm 0,4$	$13,3 \pm 0,3$
% от контроля / % of control	100	98	102	99
Отличия, $p=$ / Differences, $p=$	–	0,53	0,53	0,82

Гендерный анализ зоометрических характеристик плода и плаценты показал, что только один показатель — аногенитальный размер (гендерный индекс в контрольной группе 1,50, при воздействии разных видов гипоксии — от 0,35 до 1,95) у эмбрионов-самцов и эмбрионов-самок отличаются друг от друга, что требует их раздельного анализа. По другим показателям (краниокаудальный размер, масса плода, масса плаценты, диаметр плаценты) гендерных различий между эмбрионами не было выявлено, в связи с чем для анализа влияния моделируемой внутриутробной гипоксии плода они анализировались без разделения по признаку пола (табл. 4).

Моделирование внутриутробной гипоксии плода сопровождалось снижением морфологических параметров эмбрионов (табл. 4). Максимально достоверные различия по сравнению с контрольной группой отмечались в отношении краниокаудального размера (–30–35%) и массы (–57–66%) эмбрионов, т.е. моделирование внутриутробной гипоксии приводит к нарушениям процессов роста эмбрионов. При этом также отмечается снижение аногенитальных размеров эмбрионов (как самцов, так и самок, причем у самок несколько более выражено, чем у эмбрионов-самцов) и массы плаценты.

При сопоставлении разных видов моделирования внутриутробной гипоксии плода статистически достоверных различий не выявлено, хотя можно констатировать, что гистотоксическая гипоксия в целом более существенно влияет на процессы роста и развития эмбрионов, что может быть связано с дополнительными элементами токсического действия используемых в этой модели цианистых соединений, а при гиперкапнической — статистическая достоверность выявленных сдвигов несколько ниже, а по таким показателям, как аногенитальный размер у самцов и масса плаценты, находятся на уровне статистической тенденции.

В исследуемые сроки беременности в числе значимых процессов органогенеза у эмбрионов крысят находятся процессы остеогенеза, нарушения которых может быть причиной врожденных уродств плода и его нежизнеспособности. В связи с этим особое внимание было обращено на оценку состояния этого процесса (табл. 5 и 6).

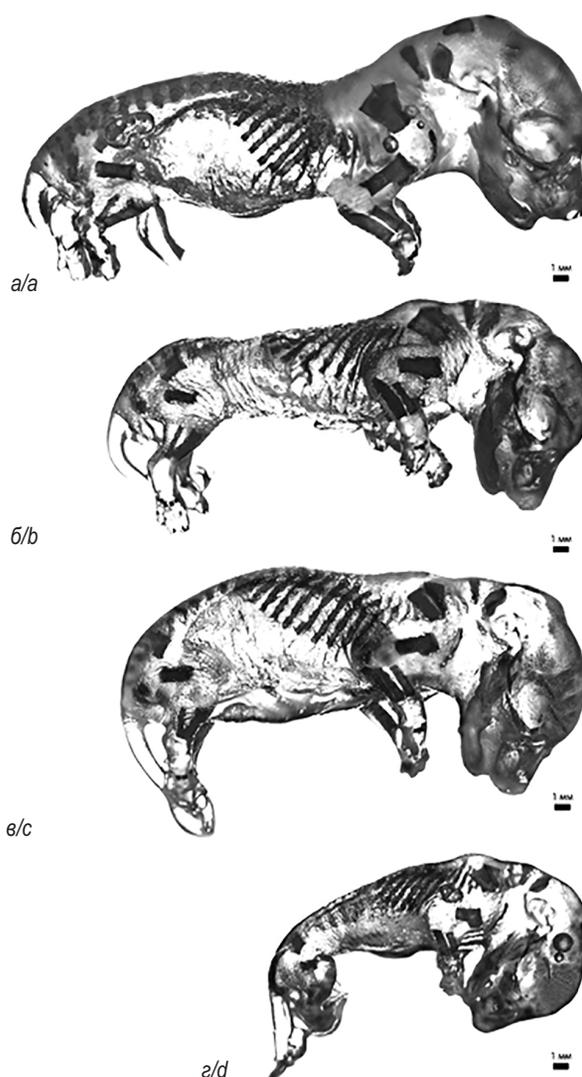


Рис. 1. Внешний вид эмбрионов на 19-е сутки беременности: а — контроль; б — гиперкапническая гипоксия; в — гипобарическая гипоксия; г — гистотоксическая гипоксия. Окрашивание скелета ализарином (методика Доусона), увеличение $\times 15$ под микроскопом Nikon SMZ1500

Fig. 1. Appearance of embryos on the 19th day of pregnancy: a — control; b — hypercapnic hypoxia; c — hypobaric hypoxia; d — histotoxic hypoxia. Alizarin staining of the skeleton (Dawson technique), $\times 15$ magnification under a Nikon SMZ1500 microscope

Таблица 5. Суммарная длина зачатков костей (локтевая, бедренная, плечевая, большеберцовая, малоберцовая) у эмбрионов, подвергнутых разным видам гипоксического воздействия

Table 5. Total length of bone rudiments (ulna, femur, humerus, tibia, fibula) in embryos subjected to different types of hypoxic exposure

Показатель/ Parameter	Контрольная группа / Control group	Гиперкапническая гипоксия / Hypercapnic hypoxia	Гипоксическая гипоксия / Hypoxic hypoxia	Гистотоксическая гипоксия / Histotoxic hypoxia
Среднее значение (мм) / Average value (mm)	11,42 \pm 0,14	7,42 \pm 0,43	6,28 \pm 0,30	6,81 \pm 0,27
% от контроля / % of control	100	65	55	59
Отличия от контроля, p= / Differences from control, p=	–	7 $\times 10^{-11}$	2 $\times 10^{-18}$	4 $\times 10^{-17}$
Отличия от гиперкапнической гипоксии, p= / Differences from hypercapnic hypoxia, p=	–	–	0,03	0,23

Критерий состояния остеогенеза

Для оценки состояния остеогенеза использовался показатель суммарной длины зачатков длинных трубчатых костей (локтевой, бедренной, плечевой, большеберцовой, малоберцовой) у эмбрионов (табл. 5) и индекс оссификации (ИО), рассчитываемый как сумма произведений количества точек оссификации на частоту встречаемости в формирующихся мелких (стопы, кисти) костных структурах (табл. 6).

Таким образом, по показателю формирования зачатков длинных трубчатых костей моделирование внутриутробной гипоксии плода характеризуется торможением процесса остеогенеза на 35–45% от уровня контроля. Эти отличия высокодостоверны. Обращает на себя внимание, что в условиях гиперкапнической гипоксии влияние на процессы формирования длинных трубчатых костей выражено несколько слабее (–10%, $p=0,04$).

Достоверность различий между частотами встречаемости разного количества точек оссификации в разных группах моделирования внутриутробной гипоксии плода определялась по критерию χ^2 . Установлено, что все три методики моделирования внутриутробной гипоксии плода с высокой степенью достоверности и выражено (в 50 раз и более) нарушают формирование точек оссификации в мелких костях эмбрионов. Достоверных различий между методами моделирования внутриутробной гипоксии плода по критерию точек оссификации не выявлено, хотя критерий χ^2 для группы с гиперкапнической гипоксией несколько меньше, чем при других методах моделирования внутриутробной гипоксии плода.

Оценка чувствительности различных показателей модели внутриутробной гипоксии плода к гипоксическому воздействию

Поскольку между различными методами моделирования внутриутробной гипоксии плода не выявлено статистически достоверных различий, дальнейший анализ проводился при объединении данных, полученных для отдельных видов формирования гипоксических состояний. Оценка чувствительности к воздействию проводилась методом однофакторного дисперсионного анализа (табл. 7). Ранжирование показателей модели осуществлялось по коэффициенту детерминации D, показывающему, какая часть общей вариативности анализируемого показателя может быть связана с контролируемым фактором (в данном случае с гипоксическим воздействием). При близких уровнях коэффициента детерминации приоритет отдавался показателям, имеющим более высокую степень статистической значимости разделения контрольной группы от группы с гипоксическим воздействием.

При решении задач разработки методов профилактики и лечения внутриутробной гипоксии плода возникает вопрос не просто выявления признаков негативного влияния гипоксических состояний на плод, но и количественной оценки повреждения эмбрионов при внутриутробной гипоксии, которая может быть использована в биомедицинских исследованиях. В качестве возможного варианта такой оценки предлагается балльная шкала, основанная на интервалах значений параметров, чувствительных к внутриутробной гипоксии. Такая шкала может состоять из трех блоков — с высокой, умеренной и низкой дифференцирующей способностью. Показатели, входящие в модуль с высокой дифференцирующей способностью, имеют градацию от 0 до

Таблица 6. Точки оссификации в зачатках мелких костях эмбрионов (стопы, кисти), подвергнутых разным видам гипоксического воздействия
Table 6. Ossification points in embryonic small bone embryos (feet, hands) exposed to different types of hypoxic exposure

Показатель / Parameter	Частоты встречаемости / Frequencies of occurrence			
	контрольная группа / control group	гиперкапническая гипоксия / hypercapnic hypoxia	гипоксическая гипоксия / hypoxic hypoxia	гистотоксическая гипоксия / histotoxic hypoxia
	n=120	n=132	n=119	n=96
4	0,87	0	0	0
3	0,13	0,12	0	0
2	0	0,02	0	0
1	0	0,05	0,2	0
0	0	0,81	0,98	1
ИО (ед) / IO (units)	3,87	0,47	0,02	0
ИО (% от контроля) / IO (% of control)	100	2	0,5	0
Критерий χ^2 (сравнение с контролем) / Criterion χ^2 (comparison with control)	–	38,72	50	50
Отличия от контроля, $p < /$ Differences from control, $p <$	–	0,001	0,001	0,001

Примечание: ИО — индекс оссификации; n — количество проанализированных зачатков мелких костей (стопы, кисти) конечностей эмбрионов.
Note: IO — ossification index; n — the number of analyzed rudiments of small bones (feet, hands) of the limbs of embryos.

Таблица 7. Оценка чувствительности разделения групп контрольных животных и животных, которым моделировалась внутриутробная гипоксия плода**Table 7.** Assessment of the sensitivity of separating groups of control animals and animals for which intrauterine fetal hypoxia was modeled

Показатель / Parameter	Группы животных / Animal groups		% от контроля / % of control	Коэффициент детерминации, D= / Coefficient determination, D=	Достоверность разделения групп, p= / Reliability of group separation, p=
	контроль / control	гипоксия / hypoxia			
Количество точек оксификации, шт. / Number of ossification points, pcs	3,86±0,03	0,17±0,03	5	0,88	5×10⁻²¹
Средняя масса плода на 19 день беременности, г / Average fetal weight on day 19 of pregnancy, g	4,1±0,1	1,6±0,1	38	0,94	9×10⁻²⁵
Краниокаудальный размер, мм / Cranio-caudal size, mm	37,3±0,5	25,2±0,5	68	0,82	1×10⁻¹⁵
Суммарная длина зачатков трубчатых костей, мм / Total length of tubular bone rudiments, mm	11,42±2,12	6,85±0,73	60	0,57	8×10⁻²³
Аногенитальный размер, самки, мм / Anogenital size, females, mm	1,95±0,29	0,81±0,05	41	0,68	8×10⁻⁶
Суммарная масса плодов у одной самки, г / Total fetal weight in one female, g	43,3±6,5	17,5±1,7	40	0,63	3×10⁻⁵
Аногенитальный размер, самцы, мм / Anogenital size, males, mm	2,96±0,59	1,34±0,09	45	0,53	3×10⁻⁴
Масса плаценты, г / Placenta weight, g	0,61±0,03	0,52±0,01	84	0,31	2×10⁻⁴
Прирост массы тела беременной самки за 4 недели, г / Weight gain in pregnant female for 4 weeks, g	129±6	100±4	77	0,39	0,003

Таблица 8. Методика балльной оценки признаков повреждения эмбрионов крысят при внутриутробной гипоксии плода**Table 8.** Methodology for scoring signs of damage to rat embryos during intrauterine fetal hypoxia

Признак повреждения / Sign of damage	Баллы / Points					
Модуль показателей с высокой дифференцирующей способностью (баллы усредняются) / Module of parameters with high differentiating power (scores are averaged)						
	0	2	4	6	8	10
Точки оксификации / Ossification points	4 и более	3, одиночные 4	2, одиночные 3	2, одиночные 1	1, одиночные 0	0
Средняя масса плода, г / Average fetal weight, g	4,0 и более	3,9–3,5	3,4–2,6	2,5–2,0	1,9–1,5	1,4 и менее
Краниокаудальный размер, мм / Cranio-caudal size, mm	35,0 и более	28,0–34,9	26,0–27,9	24,0–25,9	20,1–23,9	20,0 и менее
Суммарная длина зачатков длинных костей, мм / Total length of long bone rudiments, mm	12,0 и более	10,0–11,9	8,0–9,9	6,0–7,9	3,0–5,9	2,9 и меньше
Модуль показателей с умеренной дифференцирующей способностью (баллы суммируются) / Module of parameters with moderate differentiating power (points are summed up)						
	0	1	2			
Аногенитальный размер, мм / Anogenital size, mm самки / females самцы / males	1,5 и более 3,0 и более	1,0–1,4 1,6–2,9	0,9 и менее 1,5 и менее	–	–	–
Суммарная масса плодов у самки, г / Total weight of fetuses in females, g	40 и более	20–39	19 и менее	–	–	–
Масса плаценты, г / Placenta weight, g	0,59 и более	0,50 — 0,58	0,49 и менее	–	–	–
Прирост массы тела самки, 4 недели, г / Female body weight gain, 4 weeks, g	130 и более	111 — 129	110 и менее	–	–	–

Окончание табл. 8 / Ending of the Table 8

Признак повреждения / Sign of damage	Баллы / Points					
Признаки с низкой дифференцирующей способностью (баллы суммируются) / Features with low differentiating ability (points are summed up)						
	0	1	–	–	–	–
Кровоизлияния в брюшную полость / Abdominal hemorrhage	–	Да	–	–	–	–
Полнокровие предсердий / Atrial congestion	–	Да	–	–	–	–
Дефект желудочков мозга / Brain ventricular defect	–	Да	–	–	–	–
Общая сумма баллов по трем модулям / Total score for three modules				–		

10 баллов, и если в работе оцениваются несколько таких показателей, то они усредняются. Показатели, входящие в модуль с умеренной дифференцирующей способностью, имеют градацию от 0 до 2, и если оцениваются несколько из них, то они суммируются. Показатели с низкой дифференцирующей способностью имеют градацию 0 (признак отсутствует) или 1 (признак присутствует), их значение суммируется. Интегральная оценка повреждения эмбрионов при внутриутробной гипоксии определяется как сумма баллов по всем трем модулям. Методика балльной оценки признаков представлена в таблице 8.

При обработке экспериментальных данных по предложенному алгоритму балльной оценки уровня повреждения эмбрионов при моделировании внутриутробной гипоксии плода было установлено, что для контрольной группы интегральная оценка составила $4,2 \pm 1,0$ балла, при периодическом воздействии гиперкапнической гипоксии — $13,8 \pm 0,9$ (329% от уровня контроля, $p=0,0001$), при воздействии гипобарической гипоксии — $14,3 \pm 0,5$ (340% от уровня контроля, $p=0,0001$), при воздействии гистотоксической гипоксии — $15,2 \pm 0,4$ (362% от уровня контроля, $p=0,0001$).

Так же, как и по отдельным показателям, достоверных различий между способами моделирования внутриутробной гипоксии плода по интегральной балльной оценке не выявлено.

ВЫВОДЫ

1. Все три модели, связанные с формированием внутриутробной гипоксии плода — гипобарической, гистотоксической, гиперкапнической (гипоксии гермообъема), в близкой степени формируют внутриутробную гипоксию у беременных самок нелинейных крыс, проявляющуюся в период органогенеза преимущественно нарушением процессов формирования конечностей.

2. В отличие от линий животных с высоким уровнем чувствительности к гипоксии для нелинейных животных, характеризующихся более высоким уровнем устойчивости к гипоксии, прерывистое гипоксическое воздействие в ранние сроки беременности не сопровождается нарушениями процессов имплантации зародышей и индуцированной эмбриональной летальностью.

3. К числу наиболее чувствительных к внутриутробной гипоксии признаков относятся (в порядке убывания): снижение точек оксификации тонких костей (кисти, стопы), снижение средней массы плода, снижение краниокаудального размера плода, снижение суммарной длины зачатков длинных трубчатых костей у эмбрионов.

4. С учетом высокой степени достоверности разделения оценка степени повреждения плода у лабораторных животных, вызванного внутриутробной гипоксией плода, может быть проведена по любому из указанных в выводе 3 показателей, или по совокупной оценке иных показателей, обеспечивающих достоверное разделение нормоксического и гипоксического состояний (аногенитального размера, суммарной массой плодов у одной самки, массы плаценты, низкого уровня прироста массы тела у беременной самки, наличие кровоизлияний в брюшную полость, полнокровия предсердий, дефекта желудочков головного мозга).

5. Моделирование внутриутробной гипоксии приводит к повышению повреждения эмбрионов в 3,4–3,6 раза по сравнению с уровнем контрольных животных.

6. Интегральная балльная оценка уровня повреждений эмбрионов при внутриутробной гипоксии может быть использована для оценки эффективности фармакологических средств профилактики и коррекции состояния внутриутробной гипоксии плода.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях).

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Experiments with animals were carried out in accordance with international rules (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акушерство. Г.М. Савельева, ред. М.: Медицина; 2000.
2. Барашнев Ю.И. Клинико-морфологическая характеристика церебральных расстройств при гипоксически-ишемических энцефалопатиях. Акушерство и гинекология, 2000;(5):39–42.
3. Иваницкая Н.Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введением нитрита натрия. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1976; 3:69–71.
4. Казаченко А.А., Оковитый С.В., Куликов А.Н., Ивкин Д.Ю., Шустов Е.Б. Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности. Биомедицина, 2013;(3):41–48.
5. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Семенов Х.Х., Болотова В.Ц., Дуля С.С. Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств: методические рекомендации. МР21-44-2017. М.: ФМБА России; 2017.
6. Курмукова Н.А. Влияние экдистена на течение экспериментальной гипоксической гипотрофии плода у крыс (доклинические исследования). Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств. Томск; 2020:169–170.
7. Микашинович З.И. Метаболические аспекты внутриутробной гипоксии плода при сердечно-сосудистой патологии у беременных. Ростов-на-Дону; 2008.
8. Панина О.Б., Гнетецкая В.А. Пренатальный период: перинатальные исходы. VII Российский форум «Мать и дитя». М.; 2005: 193–194.
9. Полянчикова О.Л. Клинические и метаболические факторы в патогенезе задержки развития плода и выборе акушерской тактики. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2010.

10. Пяташкина Н.А., Юшков Б.Г., Брыкина И.А., Шешенина А.В., Володарская А.В. Изменение макрометрических показателей плацент крыс при гипобарической гипоксии и постгеморрагической анемии в различные эмбриональные периоды. Бюллетень сибирской медицины. 2005;4(приложение 1):142–148.
11. Салдусова О.А. Интранатальная гипоксия плода при фетоплацентарной недостаточности. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2006.
12. Семенов Х.Х., Каркищенко Н.Н., Матвеев Е.Л., Капанадзе Г.Д. Влияние острой гипобарической гипоксии на репродуктивную функцию лабораторных крыс и мышей. Сообщение 1. Исследование последствий воздействия острой гипобарической гипоксии на стадии раннего органогенеза на жизнеспособность эмбрионов у самок крыс и мышей. Биомедицина. 2012;3:73–78.
13. Семенов Х.Х., Каркищенко В.Н., Матвеев Е.Л. Новые оппозитные линии крыс как биомодель индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии. Биомедицина. 2011;2:46–49.
14. Федорова М.В. Диагностика и лечение внутриутробной гипоксии плода. М.: Медицина; 1982.
15. Черкесова Д.У., Магомедгаджиева Д.Н., Рабаданова А.И. Функциональные изменения в системе мать-плод при экспериментальной хронической нитритной гипоксии. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009;11(1-5):934–937.
16. Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Семенов Х.Х., Матвеев Е.Л. Умеренная внутриутробная гипоксия плода как клинически значимая модель для изучения антигипоксической активности лекарственных средств. Биомедицина. 2016;3:4–10.

REFERENCES

1. Obstetrics. G.M. Savel'eva, red. Moscow: Medicina; 2000. (In Russian).
2. Barashnev Yu.I. Clinical and morphological characteristics of cerebral disorders in hypoxic-ischemic encephalopathies. Akusherstvo i ginekologija. 2000;5:39–42. (In Russian)
3. Ivanickaya N.F. A technique for obtaining different stages of hemic hypoxia in rats by administration of sodium nitrite. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. 1976;3:69–71. (In Russian).
4. Kazachenko A.A., Okovityj S.V., Kulikov A.N., Ivkin D.Ju., Shustov E.B. Experimental modeling of chronic heart failure. Biomedicina. 2013;3:41–48. (In Russian).

5. Karkishhenko N.N., Karkishhenko V.N., Shustov E.B., Kapnadze G.D., Revjakin A.O., Semenov H.H., Bolotova V.C., Dulja S.S. Biomedical (preclinical) study of antihypoxic activity of medicines: methodological recommendations. MP21-44-2017. Moscow: FMBA Rossii; 2017. (In Russian).
6. Kurmukova N.A. The effect of ecdystene on the course of experimental hypoxic fetal hypotrophy in rats (preclinical studies). Poisk, razrabotka i vnedrenie novyh lekarstvennyh sredstv; Tomsk; 2020: 169–70. (In Russian).
7. Mikashinovich Z.I. Metabolic aspects of fetal intrauterine hypoxia in cardiovascular pathology in pregnant women. Rostov-na-Donu; 2008. (In Russian)

8. Panina O.B., Gneteckaja V.A. Prenatal period: perinatal outcomes. VII Rossijskij forum "Mat' i ditja". Moscow; 2005: 193–194. (In Russian).
9. Poljanchikova O.L. Clinical and metabolic factors in the pathogenesis of fetal developmental delay and the choice of obstetric tactics. avtoref. diss....d.m.n.: M; 2010: 28. (in Russian)
10. Pjatyshkina N.A., Jushkov B.G., Brykina I.A., Sheshenina A.V., Volodarskaja A.V. Changes in macrometric parameters of rat placentas in hypobaric hypoxia and posthemorrhagic anemia in various embryonic periods. Bjulleten' sibirskoj mediciny. 2005;4(prilozhenie 1):142–148. (In Russian).
11. Saldusova O.A. Intrapartum fetal hypoxia in fetoplacental insufficiency. MD thesis. Moscow; 2006. (In Russian).
12. Semenov H.H., Karkishhenko N.N., Matveenko E.L., Kapanadze G.D. The effect of acute hypobaric hypoxia on the reproductive function of laboratory rats and mice. Message 1. Investigation of the effects of acute hypobaric hypoxia at the stage of early organogenesis on the viability of embryos in female rats and mice. Biomedicina. 2012;3:73–78. (In Russian).
13. Semenov H.H., Karkishhenko V.N., Matveenko E.L. New Opposed Rat Lines as a Biomodel of Individual Sensitivity to Acute Hypobaric Hypoxia. Biomedicina, 2011;2: 46–49. (In Russian).
14. Fedorova M.V. Diagnosis and treatment of fetal intrauterine hypoxia. Moscow: Medicina; 1982. (In Russian).
15. Cherkesova D.U., Magomedgadzhieva D.N., Rabadanova A.I. Functional changes in the mother-fetus system in experimental chronic nitrite hypoxia. Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. 2009;11(1-5):934–937. (In Russian).
16. Shustov E.B., Karkishhenko V.N., Semenov H.H., Matveenko E.L. New oppositional lines of rats as a biomodel of individual sensitivity to acute hypobaric hypoxia. Biomedicina. 2016;3:4–10. (In Russian).

ОБ АВТОРАХ

* **Алексей Евгеньевич Ким**, канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России; адрес: Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: 0000-0003-4591-2997; eLibrary SPIN: 7148-1566; e-mail: alexpann@mail.ru

Евгений Борисович Шустов, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0001-5895-688X; eLibrary SPIN: 9665-6670; e-mail: shustov-msk@mail.ru

Владимир Леонидович Рейнюк, д-р мед. наук, доцент, ВРИО директора, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0002-4472-6546; eLibrary SPIN: 5828-0337; e-mail: vladton@mail.ru

Наталья Вадимовна Лапина, канд. мед. наук, заведующая отделом, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0002-3418-1095; eLibrary SPIN: 4385-8991; e-mail: lapina2005@inbox.ru

AUTHORS' INFO

* **Alexey E. Kim**, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Military Medical Academy named after C.M. Kirov" Ministry of Defense of the Russian Federation; address: 6 Academician Lebedev str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: 0000-0003-4591-2997; eLibrary SPIN: 7148-1566, e-mail: alexpann@mail.ru

Evgeniy B. Shustov, MD, PhD, Dr Sci (Medicine), Professor, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Institution "Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov Federal Medical and Biological Agency"; ORCID: 0000-0001-5895-688X; eLibrary SPIN: 9665-6670; e-mail: shustov-msk@mail.ru

Vladimir L. Reinyuk, MD, PhD, Dr Sci (Medicine), Associate Professor, Acting Director of the Federal State Budgetary Institution "Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov Federal Medical and Biological Agency"; ORCID: 0000-0002-4472-6546; eLibrary SPIN: 5828-0337; e-mail: vladton@mail.ru

Natalia V. Lapina, MD, PhD, Head of Department of the Federal State Budgetary Institution "Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov Federal Medical and Biological Agency"; ORCID: 0000-0002-3418-1095; eLibrary SPIN: 4385-8991; e-mail: lapina2005@inbox.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author