

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 616-092.19+57.017.3

Влияние острой гипоксии на разных сроках гестации на показатели окислительного стресса у потомства крыс**А.В. Граф^{1,3} , А.А. Байжуманов² , М.В. Маслова¹ , Я.В. Крушинская¹ ,
А.С. Маклакова¹ , Н.А. Соколова¹, А.А. Каменский^{1,*} **

¹Кафедра физиологии человека и животных и ²кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

³Институт нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных наук и технологий, Московский физико-технический институт, Россия, 123098, г. Москва, ул. Максимова, д. 4
*e-mail: kamensky_msu@mail.ru

Внутриутробная гипоксия – самый распространенный пренатальный фактор риска, представляющий непосредственную опасность не только для жизни плода, но также для будущей постнатальной жизни организма. Целью настоящего исследования является выявление связи между гипоксией плода и окислительным стрессом, а также оценка значения гестационного возраста и пола для развития окислительного стресса. Беременных крыс подвергали острой гипоксии на 10-е либо 20-е сут беременности, что соответствует первому и второму триместрам беременности у человека. У новорожденных крысят на 2-е сут жизни и у половозрелого потомства обоих полов на 60-е сут жизни проводили оценку состояния антиоксидантной защиты по содержанию небелковых тиолов в крови и гомогенате печени, каталазной и супероксиддисмутазной активности в гомогенате печени, общей антиоксидантной активности и уровню церулоплазмينا в плазме крови, а также по интенсивности перекисного окисления липидов в плазме крови и гомогенате печени. Независимо от срока гестации, на котором потомство перенесло острую гипоксию, у новорожденных крысят зафиксированы многочисленные изменения показателей системы антиоксидантной защиты, свидетельствующие в пользу развития окислительного стресса, что может быть причиной показанных уже для взрослых животных нарушений неврологического и кардиологического характера.

Ключевые слова: прооксидантная и антиоксидантная системы, окислительный стресс, острая пренатальная гипоксия, ТБК-активные продукты, небелковые тиолы, супероксиддисмутаза

Внутриутробная гипоксия – самый распространенный пренатальный фактор риска, определяющий нарушения развития плода и повышающий риск перинатальной и младенческой смертности [1]. Так, гипоксия плода является причиной более 30% неонатальных смертей во всем мире [2]. Одним из путей патогенеза внутриутробной гипоксии, определяющим тяжесть повреждений, является повышенная выработка активных форм кислорода (АФК). АФК необходимы для выполнения ряда клеточных функций, особенно на ранних стадиях эмбриогенеза. Однако антиоксидантная защита (АОЗ) не может противостоять избыточному производству АФК, что приводит к развитию клеточного окислительного стресса. Повреждение ДНК, денатурация белков и перекисное окисление липидов, вызванные АФК, могут нарушать функции плаценты, что приводит к снижению содержания кислорода и питательных веществ у плода [3]. Этот патологический каскад вызывает ограничения роста плода, что часто

коррелирует с аномальным развитием органов, которые могут не поддерживать нормальное функционирование в течение будущей жизни [4]. Другими словами, внутриутробная гипоксия является основной фетального программирования, представляя непосредственную опасность не только для жизни плода, но также для будущей постнатальной жизни. Острая гипоксия во время беременности встречается значительно реже, чем хроническая гипоксия, однако последствия кратковременных эпизодов острой гипоксии, обычно длящихся несколько минут, могут быть даже более серьезными, чем последствия гипоксии хронической. При этом важно учитывать, что в обоих случаях влияние на развитие плода сильно варьирует и зависит, в том числе, от срока гестации, на котором произошла гипоксия [5, 6]. Кроме того, особый интерес представляют гендерные отличия в реакциях на пренатальную гипоксию у половозрелого потомства. Данное исследование направлено на выявление связи между гипоксией плода и окислительным стрессом, а также

оценку значения гестационного возраста и пола для развития окислительного стресса. Беременных крыс подвергали острой гипоксии в период раннего органогенеза, т.е. на 10-е сут внутриутробного развития, или в предродовой период, т.е. на 20-е сут внутриутробного развития. Выбранные сроки пренатального развития крысы соответствуют 3-й и 13–15-й нед. беременности в развитии человека [7, 8]. Вопрос о роли гестационного возраста во время гипоксического воздействия в литературе рассматривают редко, традиционно доклинические и клинические исследования оценивают последствия гипоксии, возникающие в третьем триместре беременности, а также непосредственно перед родами или во время родов. Влияние гипоксии на ранних сроках внутриутробного развития изучено крайне неполно. Однако периоды раннего и интенсивного органогенеза также являются критическими периодами эмбриогенеза, и последствия стрессорного воздействия в это время не только влияют на последующие этапы эмбрионального развития, но и значительно повышают риск возникновения различных нарушений в отдаленные периоды постнатального развития [9, 10]. Понимание зависимости степени развития окислительного стресса у плода от периода гипоксического воздействия позволит определить возможные механизмы, предохраняющие риск заболевания в постнатальном периоде, а также оценить оптимальные стратегии терапевтических воздействий, направленных на снижение вредных последствий окислительного стресса.

Материалы и методы

Эксперименты на животных. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с Руководством по уходу и использованию лабораторных животных, опубликованным в Директивах Европейского Союза 2010/63/EU. Животных содержали при 21 ± 2 °C и относительной влажности $53 \pm 5\%$ с циклом свет/темнота – 12/12 ч (свет включен в 9:00, выключен в 21:00).

Беременных самок крыс линии Wistar (возраст 10–14 нед.; вес 200–230 г на начало эксперимента) подвергали острой гипоксии, как описано ранее [9], на 10-е ($n=3$) или 20-е сут беременности ($n=3$), что соответствует первому и второму триместрам беременности человека. Контрольных животных ($n=4$) гипоксии не подвергали. Мы не наблюдали значимых различий в количестве новорожденных детенышей (9 ± 1) между контрольными и опытными крысами, хотя независимый многолетний физиологический мониторинг показал, что у последних вероятность неблагоприятных исходов беременности выше. В эксперименте использовали потомство самок крыс линии Wistar на 2-е и 60-е сут жизни. Потомство оставалось с матерями до 28-х сут жизни, далее до 40-х сут животных одного помета содержали по 5–6 крыс в клет-

ке (Т/4К 555/4К, 580×375×200 мм), после чего самок и самцов рассаживали по разным клеткам.

Использовали три экспериментальные группы: контроль – потомство контрольных животных; ОПГ(10) и ОПГ(20) – потомство самок, пережившее острую пренатальную гипоксию (ОПГ) на 10-е либо 20-е сут гестации соответственно. Общее количество животных в экспериментальных группах указано в подрисуночных подписях.

Моделирование острой гипобарической гипоксии. Самок крыс подвергали острой гипобарической гипоксии (5% O_2) до первого агонального вдоха в декомпрессионной камере объемом 3,3 л, атмосферное давление снижали вакуумным насосом «Mez Mohelnice» (Чехия) за 1 мин [11]. Время гипоксического воздействия в группах достоверно не различалось и составило $169,6 \pm 53,8$ с и $148,3 \pm 23,9$ с на 10-е и 20-е сут беременности соответственно.

Оценка состояния системы АОЗ. Оценку состояния АОЗ проводили у новорожденных на 2-е, а у половозрелого потомства обоих полов – на 60-е сут постнатального развития.

Получение крови и плазмы крови. Забор проб крови проводили во время декапитации животных. Цельную кровь (с добавленным гепарином, 10 ед./мл) центрифугировали 10 мин при 2000 об./мин и 4 °C (центрифуга Heraeus Labofuge 400R, Thermo Fisher Scientific, США). Плазму отбирали для измерения количества церулоплазмина, общей антиоксидантной активности плазмы (ОААП), количества активных продуктов – тиобарбитуровой кислоты (ТБК-активных продуктов – ТБК-АП).

Получение 10%-ного гомогената печени. Цельный кусок органа (массой до 250 мг) помещали в раствор калий-фосфатного буфера (0,015 М, pH 7,8) в соотношении 1:9 и гомогенизировали (гомогенизатор Heidolph, Silent Crusher S, Германия) при 4 °C. В полученном гомогенате измеряли активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, общее количество белка, количество небелковых тиолов и ТБК-АП.

Определение общей активности СОД в гомогенате печени. Метод основан на способности биологических образцов подавлять автоокисление адреналина в щелочном буфере, измерение активности проводили при 25 °C. Одна единица активности СОД определяется как ингибирование скорости окисления адреналина на 50%. Изменение поглощения измеряли при 485 нм. Активность выражали в усл. ед./мг белка [12].

Определение каталазной активности в гомогенате печени. Принцип метода основан на том, что каталаза разрушает H_2O_2 . Измеряют уменьшение оптической плотности образца при 240 нм. Одна единица каталазной активности определена как количество фермента, необходимое, чтобы переработать 1 мкмоль H_2O_2 в мин при 37 °C. Количе-

ство израсходованной H_2O_2 /мин вычисляли с учетом коэффициента экстинкции — $46,3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Активность фермента выражали в единицах каталазной активности на грамм общего белка в минуту (кУ/г белка).

Определение количества церулоплазмينا. Количество церулоплазмينا определяли по оксидантной активности белка, используя в качестве субстрата окисления ортофенилендиамин, окрашенный продукт реакции измеряли при 492 нм. Концентрацию церулоплазмينا, выраженную в мкг/мл плазмы, определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных растворов церулоплазмينا.

Определение количества небелковых тиолов в крови и гомогенате печени. Метод основан на реакции SH-группировок с реактивом Элмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)) с образованием окрашенного продукта. Определение оптической плотности проводили при длине волны 412 нм, концентрацию рассчитывали с учетом разведения, молярного коэффициента экстинкции $136000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ и пересчитывали на гемоглобин (Гб в крови) или общий белок (в гомогенате печени), выражали в нмоль/мг Гб и нмоль/мг белка соответственно.

Определение ОААП крови. Метод основан на способности антиоксидантов плазмы крови, в основном уратов, участвовать в образовании комплекса восстановленного железа с 2,4,6-трипиридилтриазином с максимумом поглощения при длине волны 593 нм. ОААП определяли по калибровочной прямой с использованием известных концентраций восстановленного железа и выражали в мкмоль Fe^{2+} /л плазмы [13].

Определение количества ТБК-АП в плазме крови и гомогенате печени. ТБК-АП появляются в результате взаимодействия конечных продуктов перекисного окисления липидов с 2-тиобарбитуровой кислотой, что позволяет определять их концентрацию по поглощению при 532 нм. Содержание ТБК-АП в крови определяли с учетом разведений и коэффициентом молярной экстинкции комплекса малонового диальдегида с ТБК, $0,156 \text{ мкM}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Полученные данные выражали в нмоль/мл плазмы или нмоль/мг белка [14].

Определение общего количества белка в гомогенате печени. Использовали модифицированный метод Лоури для определения небольших количеств белка в биологическом материале с использованием реактива Фолина-Чокальтеу, оптическую плотность измеряли при 650 нм. Концентрацию белка, выраженную в мг/мл, определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных растворов альбумина [14].

Определение уровня гемоглобина в гемолизате крови. При взаимодействии гемоглобина с раствором додецилсульфата натрия происходит его превращение в окисленную низкоспиновую фор-

му — гемихром, имеющую красноватый цвет, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации гемоглобина в пробе. Оптическую плотность раствора измеряли при 540 нм. Количество гемоглобина рассчитывали с учетом разведения и молярного коэффициента экстинкции гемихрома при 540 нм, $10,16 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [13].

Статистическая обработка. Значения представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism, версия 7.0 (GraphPad Software Inc., США). Сравнения между несколькими экспериментальными группами проводили с использованием одностороннего дисперсионного анализа (тест Тьюки). Парное сравнение между соответствующими группами самок и самцов проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Результаты

Анализ состояния системы АОЗ крови и печени у новорожденного потомства, пережившего внутриутробную гипоксию. АФК очень реакционно-способны, поэтому для оценки степени окислительного стресса применяли комплексную оценку, позволяющую определить как активность компонентов системы АОЗ (уровень небелковых тиолов в крови и печени, активность каталазы и СОД), так и один из показателей окислительного стресса (уровень ТБК-АП) [13].

Как видно на рис. 1, вне зависимости от срока гестации, на котором потомство перенесло острую гипоксию, на 2-е сут постнатального развития наблюдали все признаки развития окислительного стресса: значимое снижение активности компонентов АОЗ (СОД и каталазы), а также увеличение уровня ТБК-АП в печени. Увеличение количества небелковых тиолов в крови крысят, подвергнутых острой гипоксии на 10-е сут гестации, может быть связано с влиянием гипоксии на систему регуляции эритропоэза [15], что могло привести к циркуляции в крови более молодых эритроцитов, у которых уровень антиоксидантов выше, чем у эритроцитов животных, не подвергнутых гипоксическому воздействию [16].

Анализ состояния системы АОЗ крови и печени у половозрелого потомства обоих полов, пережившего внутриутробную гипоксию. У половозрелого потомства обоих полов, пережившего внутриутробную гипоксию, значимых изменений показателей оксидативного стресса, как и показателей АОЗ, не наблюдали за исключением увеличения уровня церулоплазмينا у самцов группы ОПГ(10) на 30,7%. При этом у самцов по сравнению с самками был зарегистрирован также более низкий уровень активности ряда компонентов АОЗ (ОААП крови и уровня небелковых тиолов в печени) и маркера окислительного стресса ТБК-АП в крови и печени (рис. 2, 3). Наблюдаемые разли-

чия характеризуются повышенной активностью как липоперекисных процессов, так и компонентов АОЗ у самок, что свидетельствует о специфичности метаболических реакций и потенциальном различии между полами в проявлении компенсаторных возможностей организма в физиологических условиях.

Обсуждение

Ранее нами был показан дисбаланс уровней и активности про- и антиоксидантов, вызванный острой гипоксией в период раннего органогенеза и перед родами. Данные нарушения могут служить показателями развития окислительного стресса у беременных самок [17], который в пре- и перинатальных условиях может провоцировать неблагоприятные исходы беременности, а также быть одной из основополагающих причин развития различных заболеваний в дальнейшей жизни, причем появиться они могут уже во взрослом состоянии [18]. Крысы являются незрелорождающимися животными, формирование нервной системы их детенышей завершается примерно на

2-й нед. постнатального развития [19], а 2-е сут после рождения можно соотнести с последними неделями беременности у человека и/или преждевременными родами. Наблюдаемое снижение общей активности СОД на фоне повышенного содержания ТБК-АП и небелковых тиолов у детенышей, переживших острую гипоксию на 10-е сут гестации, так же как направленное снижение каталазной активности и повышенное содержание ТБК-АП у крысят, переживших острый гипоксический стресс на 20-е сут гестации, свидетельствуют о развитии у потомства окислительного стресса. В норме АОЗ матери и плаценты в течение внутриутробного развития, а также доношенного новорожденного в физиологических условиях нейтрализует АФК, что позволяет избежать негативных последствий для здоровья [20]. Повышенная продукция АФК на фоне снижения АОЗ приводит к развитию окислительного стресса, который во время интенсивного органогенеза, сопровождающегося активными процессами деления и дифференцировки клеток, может действовать как тератогенный фактор, вызывая структурные

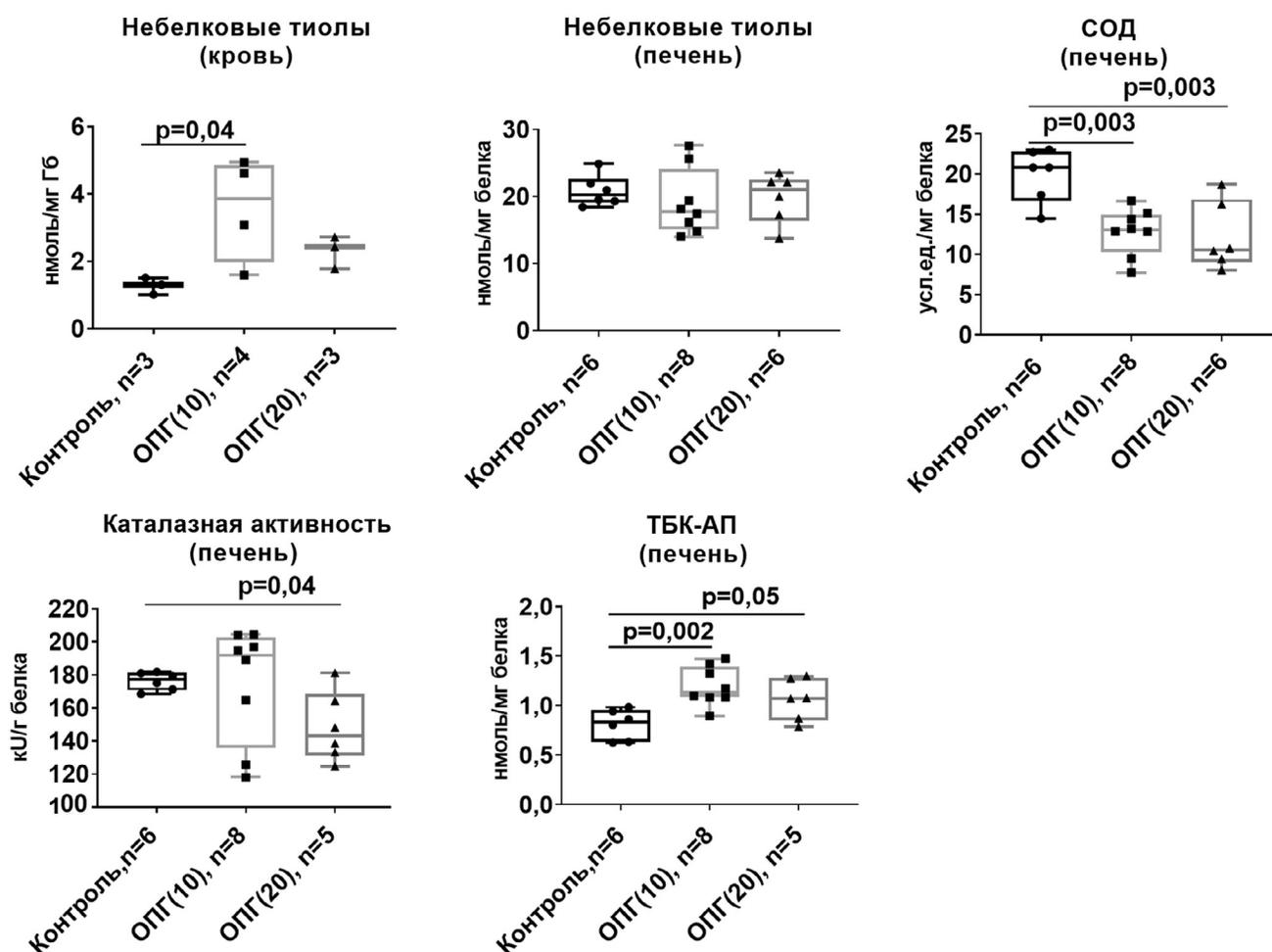


Рис. 1. Показатели окислительного стресса и АОЗ в крови и печени новорожденных детенышей, переживших острую пренатальную гипоксию в разные периоды внутриутробного развития.

Условные обозначения: ОПГ(10) – острая пренатальная гипоксия на 10-е сут гестации; ОПГ(20) – острая пренатальная гипоксия на 20-е сут гестации.

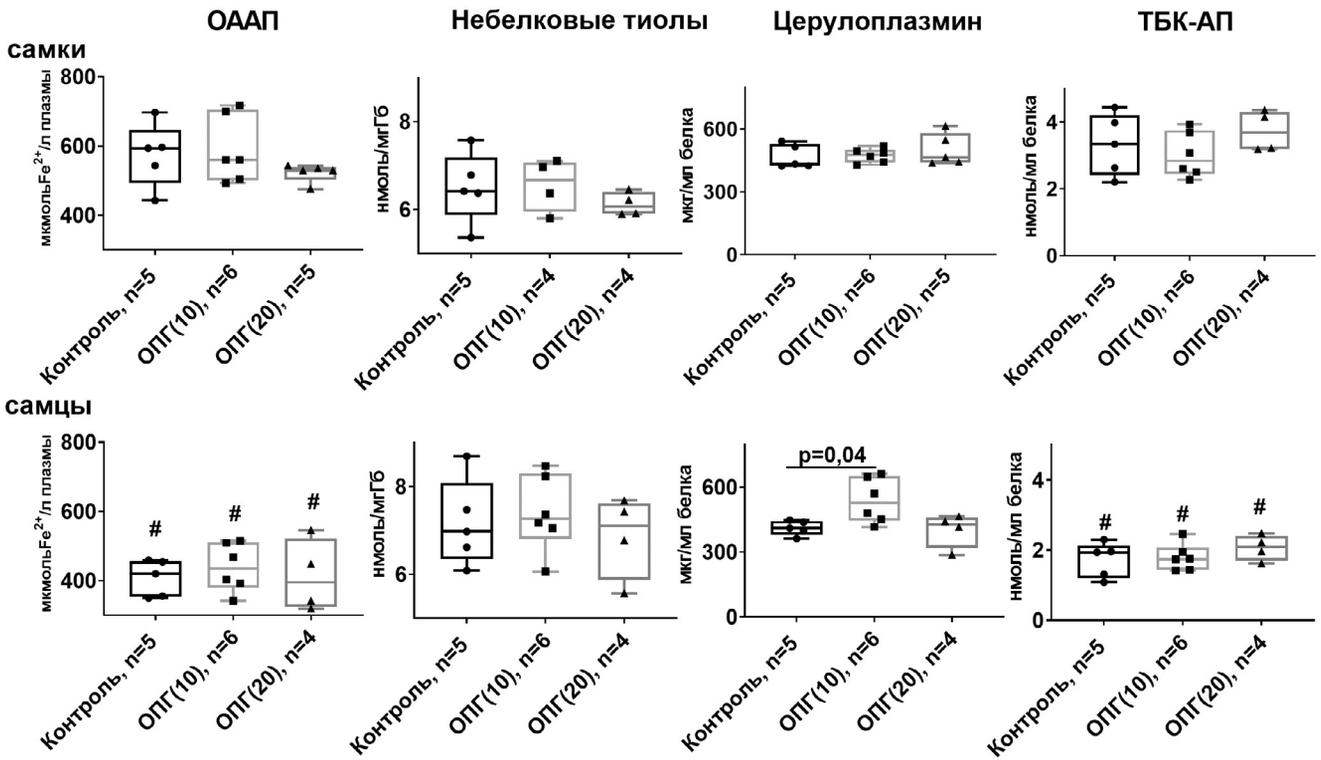


Рис. 2. Показатели окислительного стресса и АОЗ в крови половозрелого потомства, пережившего острую пренатальную гипоксию в разные периоды внутриутробного развития.
 Условные обозначения: ОПГ(10) – острая пренатальная гипоксия на 10-е сут гестации; ОПГ(20) – острая пренатальная гипоксия на 20-е сут гестации.
 # – значимые отличия между самками и самцами соответствующих групп, $p \leq 0,05$.

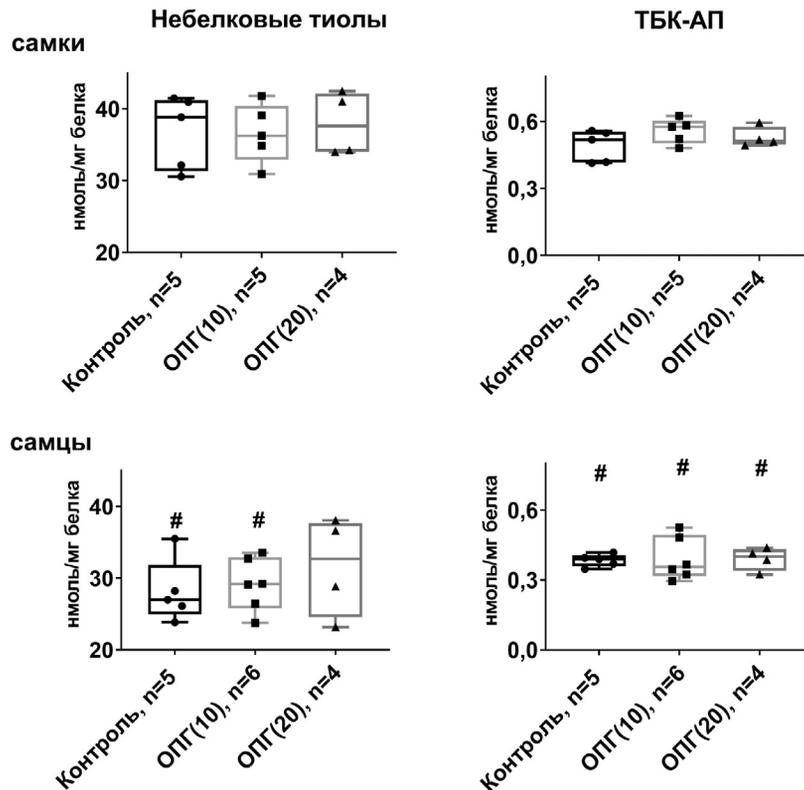


Рис. 3. Уровень небелковых тиолов и ТБК-АП печени у половозрелого потомства, пережившего острую пренатальную гипоксию в разные периоды внутриутробного развития.
 Условные обозначения: ОПГ(10) – острая пренатальная гипоксия на 10-е сут гестации; ОПГ(20) – острая пренатальная гипоксия на 20-е сут гестации.
 # – значимые отличия между самками и самцами соответствующих групп, $p \leq 0,05$.

аномалии, потерю клеточной функции или самопроизвольный аборт [20, 21]. Связь между окислительным стрессом и врожденными пороками развития полностью не выяснена; однако окислительный стресс может играть важную роль в развитии врожденных дефектов [22], что соответствует концепции фетального программирования [5]. И хотя точные механизмы эпигенетического программирования плода до конца не изучены, показана корреляция между внутриутробным стрессом и повышенным риском развития у потомства таких заболеваний, как диабет 2-го типа, неврологические расстройства, ожирение, сердечно-сосудистые заболевания [5, 23, 24]. Зарегистрированные нами межполовые различия в активности АОЗ половозрелого потомства согласуются как с экспериментальными данными, демонстрирующими более высокую активность различных антиоксидантных систем у самок в большинстве органов [25, 26], так и с клиническими данными, свидетельствующими о более высоком уровне окислительного стресса у мужчин по сравнению с женщинами репродуктивного периода [27]. Более высокий риск развития окислительного стресса может быть одним из факторов в патогенезе развития многих заболеваний у мужчин, в первую очередь сердечно-сосудистых [28, 29]. В качестве первопричины таких гендерных различий выступают, вероятно, антиоксидантные свойства эстрогена, что доказывается, в частности, тем, что в период постменопаузы у крыс после кастрации

межполовые различия в активности компонентов АОЗ нивелируются [28, 30].

Ранее нами было показано, что однократная острая гипоксия на 10-е и 20-е сут гестации приводит к развитию многочисленных нарушений неврологического и кардиологического характера у взрослого потомства, которые, вероятно, могут быть обусловлены развитием окислительного стресса во внутриутробный и ранний постнатальный периоды. В пользу этого свидетельствует и наблюдаемый у половозрелых самцов группы ОПГ(10) повышенный уровень церулоплазмينا на фоне показанного ранее увеличения активности симпатического контура в регуляции сердечного ритма [9]. По клиническим данным, эти изменения могут быть потенциальными маркерами повышенного риска сердечно-сосудистых заболеваний [31], первопричина развития которых, возможно, обусловлена пренатальным стрессом, пережитым в период раннего органогенеза.

Работа выполнена в рамках научных проектов государственного задания МГУ №121032300071-8 и № 121032500076-1, а также при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология». Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kingdom J.C.P., Kaufmann P. Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia // *Placenta*. 1997. Vol. 18. N 8. P. 613–621.
2. Moshiro R., Mdoe P., Perlman J.M. A Global view of neonatal asphyxia and resuscitation // *Front. Pediatr.* 2019. Vol. 7: 489.
3. Fisher J.J., Bartho L.A., Perkins A.V., Holland O.J. Placental mitochondria and reactive oxygen species in the physiology and pathophysiology of pregnancy // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2020. Vol. 47. N 1. P 176–184.
4. Meyer K., Zhang L. Fetal programming of cardiac function and disease // *Reprod. Sci.* 2007. Vol. 14. N 3. P. 209–216.
5. Giussani D.A., Davidge S.T. Developmental programming of cardiovascular disease by prenatal hypoxia // *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2013. Vol. 4. N 5. P. 328–337.
6. Giussani D.A. The fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms // *J. Physiol.* 2016. Vol. 594. N 5. P. 1215–1230.
7. Chan L.Y., Chiu P.Y., Siu S.S.N., Lau T.K. A study of diclofenac-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model // *Hum. Reprod.* 2001 Vol. 16. N 11. P. 2390–2393.
8. Ross E.J., Graham D.L., Money K.M., Stanwood G.D. Developmental consequences of fetal exposure to drugs: what we know and what we still must learn // *Neuropsychopharmacology*. 2015. Vol. 40. N 1. P. 61–87.
9. Graf A.V., Maslova M.V., Artiukhov A.V., Ksenofontov A.L., Aleshin V.A., Bunik V.I. Acute prenatal hypoxia in rats affects physiology and brain metabolism in the offspring, dependent on sex and gestational age // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. N 5: 2579.
10. Huang L., Chen X., Dasgupta C., Chen W., Song R., Wang C., Zhanget L. Foetal hypoxia impacts methylome and transcriptome in developmental programming of heart disease // *Cardiovasc. Res.* 2019. Vol. 115. N 8. P. 1306–1319.
11. Graf A., Trofimova L., Ksenofontov A., Baratova L., Bunik V. Hypoxic adaptation of mitochondrial metabolism in rat cerebellum decreases in pregnancy // *Cells*. 2020. Vol. 9. N 1: 139.
12. Zhidkova T.V., Proskurnina E.V., Parfenov E.A., Vladimirov Y.A. Determination of superoxide dismutase and SOD-mimetic activities by a chemical system: $\text{Co}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{lucigenin}$ // *Anal. Bioanal. Chem.* 2011. Vol. 401. N 1. P. 381–386.
13. Pankratova M.S., Baizhumanov A.A., Yusipovich A.I., Faassen M., Shiryaeva T.Yu., Peterkova V.A., Kovalenko S.S., Kazakova T.A., Maksimov G.V. Imbalance in the blood antioxidant system in growth hormone-deficient children before and after 1 year of recombinant growth hormone therapy // *PeerJ*. 2015. Vol. 3: e1055.
14. Матюлько И.С., Байжуманов А.А., Хиразова Е.Э., Маслова М.В. Влияние различных режимов пи-

твовой депривации на систему антиоксидантной защиты крови и поведенческую активность крыс // Журн. мед.-биол. исслед. 2018. Т. 6. № 3. P. 254–261.

15. Haase V.H. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors // Blood Rev. 2013. Vol. 27. N 1. P. 41–53.

16. Halliwell B., Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? // Br. J. Pharmacol. 2004. Vol. 142. N 2. P. 231–255.

17. Graf A.V., Baizhumanov A.A., Maslova M.V., Krushinskaya Ya.V., Maklakova A.S., Sokolova N.A., Kamensky A.A. The antioxidant system activity during normal pregnancy and pregnancy followed by hypoxic stress // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2021. Vol. 76. N 3. P. 104–110.

18. Von Essen C., Rydenhag B., Mozzi R., van Gelder N., Hamberger A. High levels of glycine and serine as a cause of the seizure symptoms of cavernous angiomas? // J. Neurochem. 2002. Vol. 67. N 1. P. 260–264.

19. Bayer S.A., Altman J., Russo R.J., Zhang X. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat // Neurotoxicology. 1993. Vol. 14. N 1. P. 83–144.

20. Laforgia N., Di Mauro A., Favia Guarnieri G., Varvara D., De Cosmo L., Panza R., Capozza M., Baldassarre M.E., Resta N. The role of oxidative stress in the pathomechanism of congenital malformations // Oxid. Med. Cell. Longev. 2018. Vol. 2018: 7404082.

21. Wu F., Tian F.-J., Lin Y. Oxidative stress in placenta: health and diseases // Biomed. Res. Int. 2015. Vol. 2015: 293271.

22. Silvestro S., Calcaterra V., Pelizzo G., Bramanti P., Mazzon E. Prenatal hypoxia and placental oxidative stress: insights from animal models to clinical evidences // Antioxidants (Basel). 2020. Vol. 9. N 5: 414.

23. Chiera M., Cerritelli F., Casini A., Barsotti N., Boschiero D., Caviglioli F., Corti C.G., Manzotti A. Heart rate variability in the perinatal period: a critical and conceptual review // Front. Neurosci. 2020. Vol. 14: 561186.

24. Ghulmiyyah L.M., Costantine M.M., Yin H., Tamayo E., Clark S.M., Hankins G.D.V., Saade G.R.,

Longo M. The role of oxidative stress in the developmental origin of adult hypertension // Am. J. Obstet. Gynecol. 2011. Vol. 205. N 2. P. 155.e7–155.e11.

25. Bureau I., Gueux E., Mazur A., Rock E., Rousel A.-M., Rayssiguier Y. Female rats are protected against oxidative stress during copper deficiency // J. Am. Coll. Nutr. 2003. Vol. 22. N 3. P. 239–246.

26. Katalinic V., Modun D., Music I., Boban M. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays // Comp. Biochem. Physiol. Part. C. Toxicol. Pharmacol. 2005. Vol. 40. N 1. P. 47–52.

27. Kander M.C., Cui Y., Liu Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases // J. Cell. Mol. Med. 2017. Vol. 21. N 5. P. 1024–1032.

28. Barp J., Araújo A.S.R., Fernandes T.R.G., Rigatto K.V., Llesuy S., Belló-Klein A., Singal A. Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones // Braz. J. Med. Biol. Res. 2002. Vol. 35. N 9. P. 1075–1081.

29. Ide T., Tsutsui H., Ohashi N., Hayashidani S., Suematsu N., Tsuchihashi M., Tamai H., Takeshita A. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2002. Vol. 22. N 3. P. 438–442.

30. Vassalle C., Sciarrino R., Bianchi S., Battaglia D., Mercuri A., Maffei S. Sex-related differences in association of oxidative stress status with coronary artery disease // Fertil. Steril. 2012. Vol. 97. N 2. P. 414–419.

31. Dadu R.T., Dodge R., Nambi V., Virani S.S., Hoogeveen R.C., Smith N.L., Chen F., Pankow J.S., Guild C., Tang W.H.W., Boerwinkle E., Hazen S.L., Ballantyne C.M. Ceruloplasmin and heart failure in the atherosclerosis risk in communities study // Circ. Heart Fail. 2013. Vol. 6. N 5. P. 936–943.

Поступила в редакцию 12.03.2022

После доработки 26.04.2022

Принята в печать 20.05.2022

RESEARCH ARTICLE

The effect of acute hypoxia at different gestation periods on markers of oxidative stress in rat's offspring

A.V. Graf^{1, 3} , A.A. Baizhumanov² , M.V. Maslova¹ , Ya.V. Krushinskaya¹ ,
A.S. Maklakova¹ , N.A. Sokolova¹, A.A. Kamensky¹ 

¹Human and Animal Physiology Department and ²Biophysics Department, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 1–12 Leninskie gory, 119234, Moscow, Russia;

³Faculty of Nano-, Bio-, Informational, Cognitive and Socio-humanistic Sciences and Technologies, Moscow Institute of Physics and Technology, 4 Maximova str., 123098, Moscow, Russia

*e-mail: kamensky_msu@mail.ru

Intrauterine hypoxia is the most common prenatal risk factor providing the direct danger not only to the fetus, but also to the future postnatal life. The aim of this study is to identify the relationship between fetal hypoxia and oxidative stress, as well as to assess the significance of gestational age and gender for the development of oxidative stress. Pregnant rats were subjected to acute hypoxia on the 10th or 20th day of pregnancy, which correspond to the first and the

second trimesters of human pregnancy, respectively. In newborn rats on the 2nd day of postnatal development and in mature offspring of both sexes on the 60th day of life the state of antioxidant protection was assessed by the content of non-protein thiols in blood and liver homogenate, catalase and superoxide dismutase activity in the liver homogenate, total antioxidant activity and the level of ceruloplasmin of blood plasma, as well as by the intensity of lipid peroxidation in blood plasma and liver homogenate. Regardless of the gestation period corresponding to acute hypoxia in offspring, noticeable changes of antioxidant protection system parameters were recorded in newborns, indicating the development of oxidative stress, responsible for neurological and cardiological disorders already shown for adult animals.

Keywords: *prooxidant and antioxidant systems, oxidative stress, acute prenatal hypoxia, TBA-active products, non-protein thiols, superoxide dismutase*

Funding: The study was performed under the state assignment of Moscow State University, project numbers №121032300071-8 and № 121032500076-1, as well as by the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow University «Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology».

Сведения об авторах

Граф Анастасия Викторовна – канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: nastjushka@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3579-8089>

Байжуманов Адиль Ануарович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: baizhumanov@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9737-4516>

Маслова Мария Вадимовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: maslova_masha@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8499-5433>

Крушинская Янина Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: yanyakr@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7787-1435>

Маклакова Анастасия Сергеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: a_maklakova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-6231>

Соколова Наталия Александровна – докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: 1945@mail.ru

Каменский Андрей Александрович – докт. биол. наук, зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-33-55; e-mail: kamensky_msu@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6496-0527>