

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 616-092.19+57.017.3

Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на показатели вариабельности сердечного ритма у крысят первого месяца жизни

А.В. Граф^{1,2} , А.С. Маклакова¹ , М.В. Маслова¹ , Я.В. Крушинская¹ ,
А.А. Гусева¹ , Н.А. Соколова¹

¹Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

²Физтех-школа природоподобных, плазменных и ядерных технологий имени И.В. Курчатова, Россия, 123098, г. Москва, ул. Максимова, д. 4

*e-mail: nastjushka@gmail.com

В последнее время появляется все больше данных в пользу влияния пренатального программирования на развитие многих заболеваний у взрослых, в том числе — сердечно-сосудистых. Однако механизмы, лежащие в основе программирующего воздействия на риск развития сердечно-сосудистой дисфункции, остаются неясными, что препятствует своевременной диагностике и определению потенциальной терапии. Целью настоящего исследования стала оценка влияния острой гипоксии в период раннего органогенеза на становление сердечного ритма и его регуляцию на раннем этапе постнатального развития у крыс. Острая гипоксия, перенесенная крысятами на 10-е сут внутриутробного развития, не меняла общей динамики становления сердечного ритма в первый месяц постнатального периода. Однако в первые недели жизни у крысят опытной группы частота сердечных сокращений была ниже, чем в контроле. Кроме того, у них наблюдали более высокие значения вариабельности ритма и индекса RMSSD (Root Mean Square of Successive Differences), что может свидетельствовать о более высоком тоне парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. Анализ сердечного ритма после фармакологической блокады симпатических и парасимпатических кардиотропных нервных влияний показал, что у крысят опытной группы в первую неделю жизни базовая частота сердечных сокращений на 15% выше, чем у контрольных животных, что позволяет предположить влияние пренатальной гипоксии на становление собственного ритма, обусловленного внутрисердечными механизмами.

Ключевые слова: пренатальная гипоксия, вариабельность сердечного ритма, вегетативная нервная система, внутриутробное программирование, ранний постнатальный период

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2-8

Введение

Заболевания сердечно-сосудистой системы остаются ведущей причиной смертности во всем мире, вносят существенный вклад в потерю здоровья, увеличивают экономические затраты на лечение и реабилитацию пациентов [1]. Огромное значение для кардиологии и медицины в целом представляют не только поиск новых средств терапии, но и своевременная диагностика, позволяющая начать лечение как можно раньше. Наряду с информацией о традиционных факторах риска развития, таких как артериальная гипертензия, заболевания почек, загрязнение окружающего воздуха, ожирение, гиподинамия, курение, зло-

употребление алкоголем и пр. [1], появляется все больше данных о влиянии пренатального программирования на развитие многих заболеваний у взрослых, в том числе сердечно-сосудистых [2, 3]. Пренатальное программирование определяется как реакция на неблагоприятные факторы, действующие в критический внутриутробный период и приводящие к изменениям развития с постоянным влиянием на взрослый фенотип потомства [4]. Одним из наиболее распространенных факторов риска в период эмбрионального развития является гипоксия плода [5], которая может возникать как вследствие сопутствующих заболеваний матери (артериальная ги-

пертензия, анемия и респираторные нарушения), так и вследствие неправильного образа жизни (например, курения или стресса), либо развиваться вследствие морфологических или функциональных изменений плаценты [3, 6].

Программирующее влияние патогенных факторов на развитие наиболее значимо в раннем возрасте, снижаясь от ранних этапов эмбриогенеза к более поздним, затем к постнатальному и взрослому периоду. При этом возможности коррекции возникающих в программе развития изменений следуют по аналогичной траектории, резко уменьшаясь от раннего возраста до взрослой жизни. Концепция внутриутробного программирования заболеваний создает окно возможностей для ранней диагностики и предупреждения развития сердечно-сосудистых заболеваний в самом начале их возникновения [2]. Однако механизмы, лежащие в основе программирующего воздействия на риск развития сердечно-сосудистой дисфункции, остаются неясными, что препятствует определению потенциальной терапии. Целью данного исследования стала оценка влияния острой гипоксии в критический период развития сердца на становление сердечного ритма и его регуляцию в раннем периоде постнатального развития у крыс.

Материалы и методы

Эксперименты на животных. Все эксперименты на животных проводились в соответствии с Руководством по уходу за лабораторными животными и их использованию, опубликованным Директивами Европейского Союза 2010/63/EU. Животных содержали при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $53 \pm 5\%$ с циклом 12/12 ч свет/темнота (свет 9:00 = ZT 0, свет выключен 21:00 = ZT 12).

В опыте беременных самок крыс линии Wistar ($n = 3$) подвергали острой гипоксии по стандартной методике [7, 8] на 10-е сут беременности, что примерно соответствует 28-29-м сут внутриутробного развития у человека [9, 10]. В этот период происходит образование «первичной (незрелой) сердечной петли» [9, 10]. Контрольных беременных самок ($n = 5$) гипоксии не подвергали.

Использовали две экспериментальные группы: (1) контроль — потомство контрольных самок; $n = 16$; (2) ПГ(10) — потомство самок, пережившее острую пренатальную гипоксию (ПГ) на 10-е сут гестации; $n = 16$. Для оценки работы сердца в обеих экспериментальных группах на 2-е, 8-е, 15-е, 22-е и 28-е сут постнатального периода (ПНС) проводили неинвазивную регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ) в свободном поведении в течение 3 мин. Для определения соотношения вкладов парасимпатической и симпатической нервной системы в формирование сердечного ритма в указанные экспериментальные дни проводили фар-

макологический анализ путем последовательного введения кардиоблокаторов.

Моделирование пренатальной 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 «MezMohelnice» (Чехия) за 1 мин [7, 8, 11].

Регистрация ЭКГ. Регистрацию ЭКГ проводили с помощью детских ЭКГ-электродов (Skintact F-301, Австрия) и специально изготовленных манжеток, не нарушающих покровы животного. Для уменьшения сопротивления контакта использовали гель для ЭКГ (Гельтек-Медика, Россия), электроды закрепляли на правой передней и левой задней лапах (в соответствии со II стандартным отведением). Клеммы с помощью проходящих в манжетку проводов соединяли с контактами разъема, которые подключали к усилителю биопотенциалов, имевшему полосу частот от 10 Гц до 20 кГц. От усилителя сигнал поступал на аналого-цифровой преобразователь (E14-440, L-Card, Россия), соединенный через USB-порт с компьютером. Запись осуществляли с помощью программы PowerGraph Professional v 3.3 (ДИСофт, Россия) с частотой оцифровки 1 кГц. На время проведения записи детенышей отнимали от матери, во избежание переохлаждения на время регистрации ЭКГ и в периоды между регистрациями крысят помещали в подогреваемые до 37°C пластиковые камеры-контейнеры. Суммарное время регистрации не превышало 60 мин. Данный способ регистрации ЭКГ не позволяет получить запись, достаточно четкую для оценки изменения характера QRST-комплекса, однако является неинвазивным и дает возможность получить выборку RR-интервалов для оценки основных параметров variability сердечного ритма (BCP) в произвольных отрезках записи с помощью специально разработанных программ (Average, Intervals). Рассчитывали следующие параметры BCP: среднее значение RR-интервала в выборке, отражающее средний уровень работы системы кровообращения; variability ритма (dX):

$$dX = RR_{max} - RR_{min},$$

где RR_{max} — максимальное, а RR_{min} — минимальное значение RR-интервала в выборке; индекс RMSSD (Root Mean Square of Successive Differences) — квадратный корень из суммы разностей последовательного ряда RR-интервалов:

$$RMSSD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n-1} (RR_i - RR_{i+1})^2},$$

где n — число RR-интервалов в выборке, отражающее косвенно активность парасимпатического звена вегетативной регуляции; стресс-индекс, или индекс напряжённости (SI):

$$SI = \frac{AMo}{2 \cdot Mo \cdot \Delta X},$$

где Mo — мода выборки RR-интервалов — наиболее часто встречающиеся по длительности кардиоинтервалы; AMo — амплитуда моды — доля наиболее часто встречающегося RR-интервала в выборке [12].

Введение блокаторов. Для определения соотношения вкладов разных отделов вегетативной нервной системы (ВНС) в формирование сердечного ритма и выявления нарушений в нервной регуляции работы сердца проводили фармакологический анализ путем последовательного введения блокаторов кардиотропных влияний ВНС. Блокаду влияний парасимпатической нервной системы на сердце осуществляли введением атропина (M1300000; Sigma Aldrich, США), неселективного блокатора М-холинорецепторов, в дозе 1 мг/кг. Для блокады кардиотропных влияний симпатической нервной системы вводили β 1-адреноблокатор атенолол (A7655; Sigma Aldrich, США), 2 мг/кг, далее N1-ганглиоблокатор хлоризондамин (C5366; Sigma Aldrich, США), 2,5 мг/кг. Все введения осуществляли подкожно в область холки животного, промежутки между введениями составляли не менее 15 мин (до стабилизации частоты сердечных сокращений, ЧСС). Запись ЭКГ проводили до и через 12 мин после введения каждого из веществ. Общее время регистрации не превышало 60 мин.

Статистические методы. Значения представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism, версия 8.4.3. (GraphPad Software, Inc., США).

Достоверность различий между двумя группами оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Несколько экспериментальных групп анализировали с использованием дисперсионного анализа для повторных измерений с апостериорным тестом (post-hoc) Сидака.

Предварительный анализ не выявил значимых различий между самцами и самками по основным показателям ВСР в исследуемые периоды постнатального развития, поэтому на рисунках представлены суммарные данные.

Результаты

1. Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на становление сердечного ритма в первые недели постнатального развития. Нами показано, что величина RR-интервала у контрольных двухдневных крысят составляет $236,3 \pm 8,2$ мс, что соответствует ЧСС $258,5 \pm 7,8$ уд./мин, примерно вдвое меньше, чем характерно для взрослых животных (рис. 1). В первый месяц постнатального развития величина RR-интервала неуклонно падает, а ЧСС, соответственно, растет, достигая к че-

тырехнедельному возрасту значений $107,0 \pm 1,6$ мс, что соответствует ЧСС $562,0 \pm 8,2$ уд./мин (рис. 1) и примерно на 20% выше, чем у половозрелых животных [13, 14]. Похожая динамика частоты сердечбиений у крыс на протяжении всего молочного периода развития показана в ряде исследований, при этом в одних исследованиях максимальные значения регистрировали в трехнедельном возрасте, а, начиная с четырехнедельного возраста, фиксировали постепенное урежение ЧСС [15, 16], в других работах наблюдали рост ЧСС вплоть до препубертатного периода и постепенное снижение в период полового созревания животных [17, 18].

У контрольных животных показатели сердечного ритма, косвенно отражающие влияния парасимпатического отдела ВНС — dX и индекс RMSSD — имеют максимальные значения на 8-й ПНС, снижаясь к трехнедельному возрасту, при этом стресс-индекс, отражающий активность симпатического отдела ВНС, наоборот, на 8-й ПНС имеет минимальные значения, значимо возрастая к 22-му ПНС. Нами было показано, что такая динамика показателей вариабельности сердечного ритма может косвенно свидетельствовать о преобладающей роли парасимпатической регуляции в первую неделю жизни и возрастающей роли симпатической регуляции в последующие недели постнатального развития.

В нашем исследовании было выявлено, что острая гипоксия, перенесенная крысятами на 10-е сут внутриутробного развития, не меняет общей динамики становления сердечного ритма в постнатальном периоде: у экспериментальных животных так же, как у контрольных, происходит постепенное снижение величины RR-интервалов и, соответственно, увеличение ЧСС с момента рождения вплоть до месячного возраста. При этом на 2-й ПНС ЧСС у них не отличается от значений контрольной группы, однако они имеют более высокие вариабельность ритма и индекс RMSSD, что может свидетельствовать о более высоком тонусе парасимпатического отдела ВНС в первые дни жизни (рис. 1). В последующие две недели постнатального развития у крысят, переживших пренатальную гипоксию в период раннего органогенеза, ЧСС значимо ниже, чем у крысят контрольной группы (рис. 1). Уменьшение ЧСС на 8-й ПНС сопровождается значимым снижением dX и RMSSD, а на 15-й ПНС — снижением стресс-индекса, что в целом может свидетельствовать о некоторых нарушениях становления механизмов регуляции сердечной деятельности у потомства, пережившего внутриутробную гипоксию в период закладки сердца (рис. 1).

Установлена также сильная связь между возрастом и ЧСС у крысят как контрольной, так и опытной групп ($R = 0,96$ и $R = 0,95$ соответственно; $p < 0,0001$), связь умеренной силы между возрастом и стресс индексом ($R = 0,58$ и $R = 0,58$

соответственно; $p < 0,0001$); у крысят опытной группы также наблюдалась слабая связь между возрастом и вариабельностью ритма ($R = 0,24$; $p = 0,06$).

2. Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на изменение показателей сердечного ритма на фоне блокаторов нервной регуляции в первые недели постнатального развития. Разнонаправленные изменения показателей вариабельности ритма у контрольных крысят и детенышей, переживших внутриутробную гипоксию, свидетельствуют о возможно разной динамике становления нервных влияний на ритм сердца развивающегося организма. Для определения соотношения вкладов разных отделов вегетативной нервной системы в формирование сердечного ритма и оценки возможных нарушений регуляции сердечного ритма у потомства, пережившего пренатальную

гипоксию, проводили последовательную фармакологическую блокаду отделов ВНС.

2.1. Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на изменение показателей сердечного ритма при введении атропина. С целью выявления кардиотропного влияния парасимпатической нервной системы использовали М-холинблокатор атропин. Введение атропина не привело к ожидаемому увеличению ЧСС, более того, наоборот, на 2-й и 8-й ПНС на фоне атропина наблюдалось значимое снижение ЧСС в обеих экспериментальных группах, более выраженное в контроле. В последующие недели раннего постнатального развития в контрольной группе выраженной реакции на атропин не было, в то время как у крысят, переживших внутриутробную гипоксию, отрицательная хронотропная реакция на атропин сохранялась и на 28-й ПНС (рис. 2).

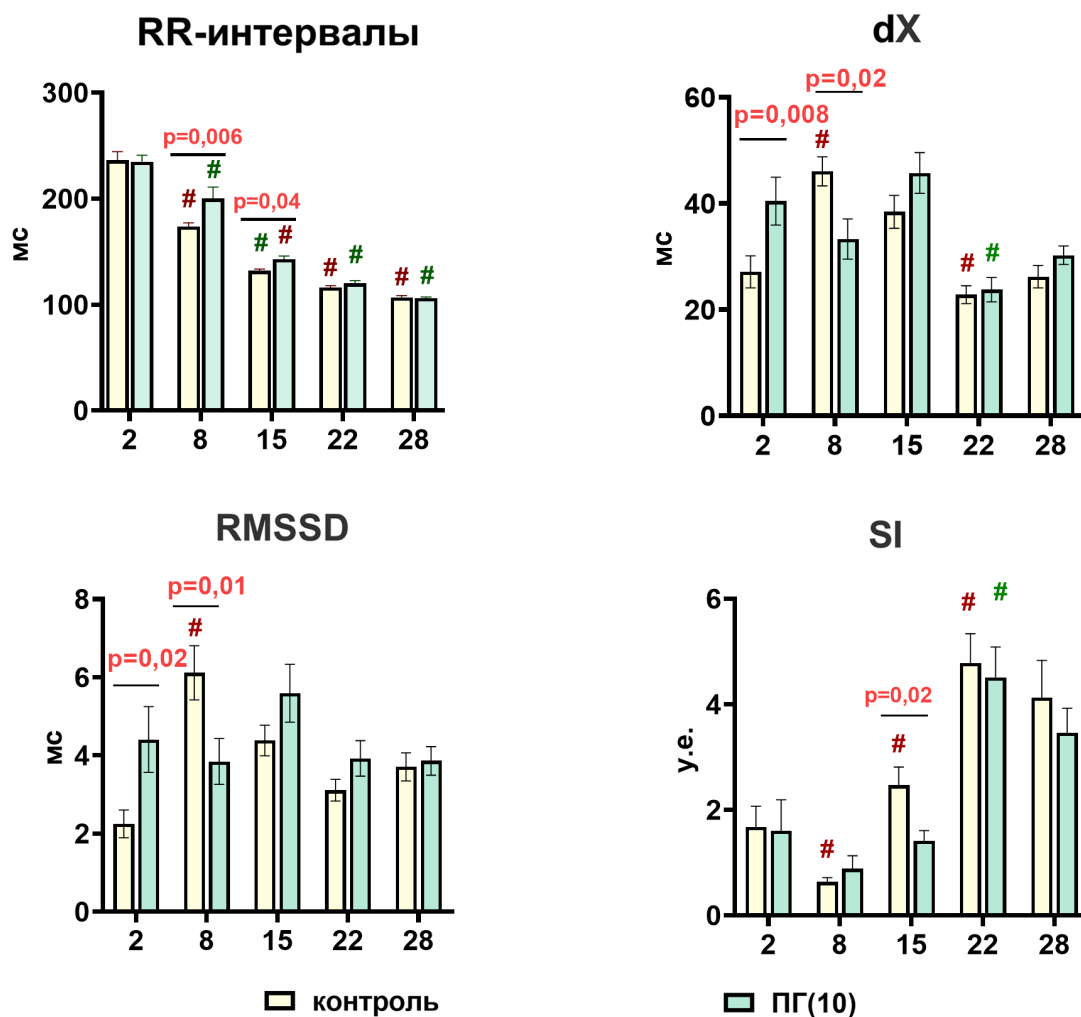


Рис. 1. Изменение показателей вариабельности сердечного ритма в раннем постнатальном периоде у контрольных и переживших внутриутробную гипоксию крыс. А – длительность RR-интервалов, мс; Б – вариабельность сердечного ритма, мс; В – индекс RMSSD, Г – стресс-индекс. По оси абсцисс указан возраст – дни постнатальной жизни.

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

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

– значимые ($p < 0,05$) различия между разными возрастными группами контрольной и опытной группы (ПГ(10)), определенные с помощью дисперсионного анализа для повторных измерений с апостериорным тестом (post-hoc) Сидака.

На графиках показаны значимые различия между экспериментальными группами животных определенных возрастов, рассчитанные по U-критерию Манна-Уитни

Показатели вариабельности сердечного ритма в контрольной и опытной группах в ответ на атропин изменялись однонаправленно и, за исключением значения стресс-индекса на 2-й ПНС, достоверно от значений до введения атропина не отличались.

«Нетипичное» влияние атропина на работу сердца на раннем этапе постнатального онтогенеза может быть связано с преобладанием на этих стадиях развития в сердце крысят М1- и М3-холинорецепторов, через которые осуществляется по-

ложительный хронотропный эффект [19], в то время как у взрослых животных преобладают рецепторы М₂-подтипа, обуславливающие противоположный эффект.

2.2. Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на изменение показателей сердечного ритма при введении атенолола. Для определения влияния симпатической нервной системы на ритм сердца применяли антагонист β₁-адренорецепторов атенолол, в ответ на введение которого и у контрольных, и у опытных крысят наблюда-

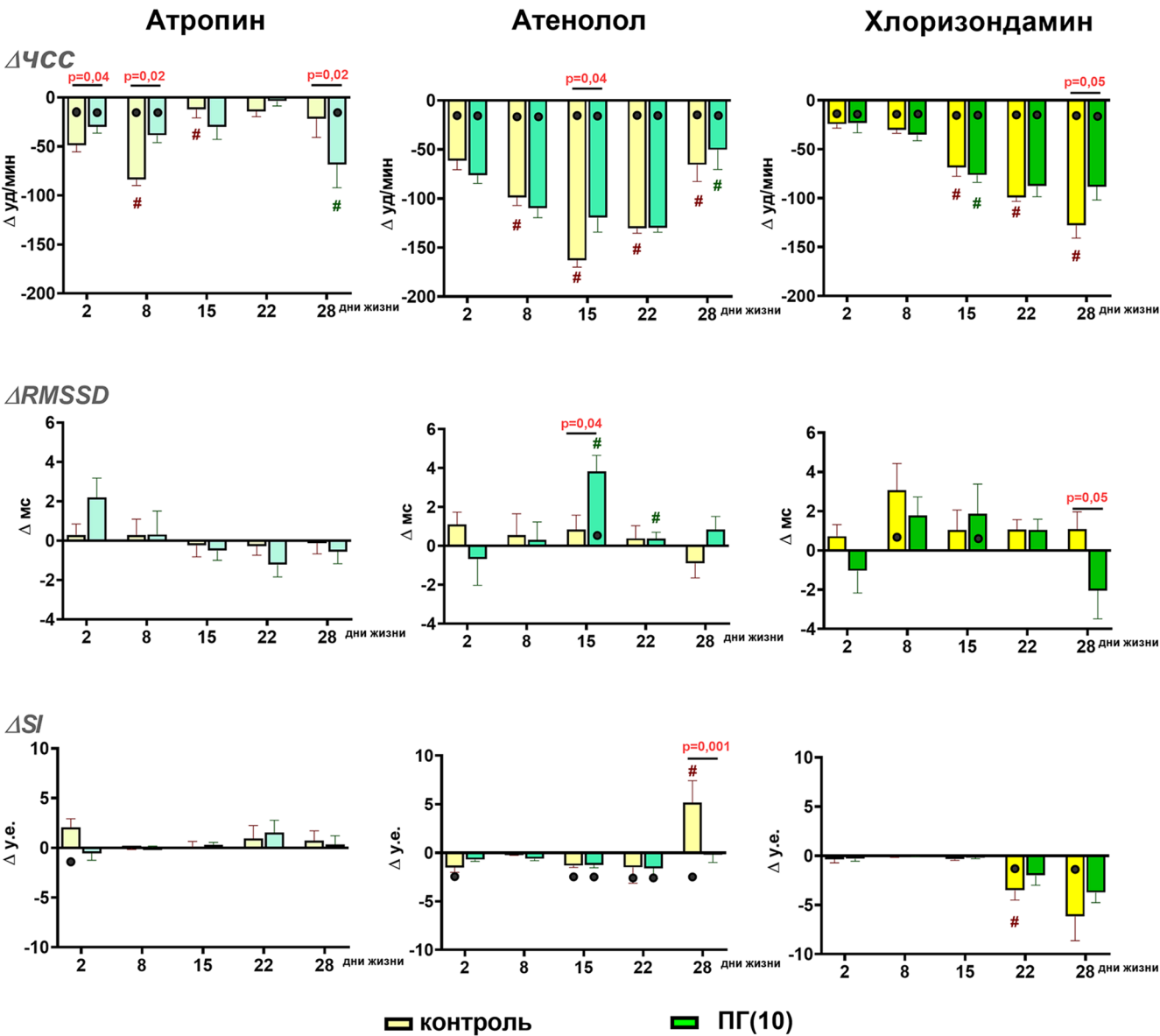


Рис. 2. Влияние внутриутробной гипоксии периода раннего органогенеза на уровень ЧСС и показатели вариабельности сердечного ритма в ранний постнатальный период на фоне блокаторов парасимпатических и симпатических кардиотропных нервных влияний.

Условные обозначения: ПГ(10) – острая пренатальная гипоксия на 10-е сут. гестации, данная группа на графиках отображена цветными столбиками.

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

Статистически значимые ($p < 0,05$) различия между экспериментальными группами, определенные с помощью дисперсионного анализа для повторных измерений с апостериорным тестом (post-hoc) Сидака, показаны на графике; под графиками указаны значимые факторы со статистикой по ним.

– $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим возрастом

• – $p < 0,05$ по сравнению с нормой

ли значимое снижение ЧСС во всех возрастных группах, наиболее выраженное в контрольной группе на 15-й ПНС, а в опытной – на 22-й ПНС (рис. 2). Полученные данные, возможно, свидетельствуют о формировании симпатической иннервации на данном этапе постнатального онтогенеза [20]. Индекс RMSSD при введении атенолола значимо увеличился только в опытной группе на 15-й ПНС, при этом изменения стресс-индекса регистрировали на протяжении всего периода наблюдений: снижение в первые три недели развития (значимое на 15-й и 22-й ПНС в обеих экспериментальных группах) сменилось его увеличением на 28-й ПНС в контрольной (рис. 3).

2.3. Влияние пренатальной гипоксии периода раннего органогенеза на изменение показателей сердечного ритма при введении ганглиоблокатора хлоризондамина. Определение уровня базовой ЧСС производили путем исключения нервных влияний при введении ганглиоблокатора хлоризондамина, ингибирующего H_2 -рецепторы вегетативных ганглиев. Введение хлоризондамина приводило к значимому снижению ЧСС в обеих экспериментальных группах в первый месяц постнатального развития, наиболее выраженному в контрольной группе в четырехнедельном возрасте, в то время как в опытной группе уровень снижения ЧСС на фоне ганглиоблокатора уже с 15-го ПНС не менялся. При этом в первую неделю жизни ЧСС на фоне ганглиоблокатора у крысят опытной группы была выше, чем в контрольной (рис. 3). Снижение ЧСС на фоне хлоризондамина сопровождалось значимым уменьшением стресс-индекса только в контрольной группе на 3-4-й нед. постнатального развития (рис. 2).

При анализе соотношения фонового и базового уровня ЧСС можно определить преобладающее влияние парасимпатической или симпатической нервной системы у животного в спокойном состоянии. Согласно полученным данным, после блокады всех кардиотропных нервных влияний

базовая ЧСС крысят, перенесших гипоксию на 10-е сут гестации, в течение первой недели жизни стала выше на 18 уд./мин (15% от нормы), чем у контрольных животных (рис. 3).

Обсуждение

Известно, что сердце грызунов закладывается на ранних стадиях органогенеза и начинает функционировать на 10-е сут эмбрионального развития [9, 21], в этот же период происходит активация процессов окислительного метаболизма, что повышает зависимость развивающегося организма от поступающего в организм кислорода и, соответственно, делает более уязвимым к его нехватке [22]. Развивающееся внутриутробно сердце больше, чем любой другой орган, подвержено гипоксическому стрессу из-за повышенных метаболических потребностей. При этом патологии миокарда и нарушения в регуляции синусового ритма могут проявляться в более позднем возрасте при возникновении негативного влияния внешних факторов [23, 24]. Ранее нами было показано, что период раннего органогенеза является критическим и во многом определяет функционирование сердца взрослого организма: у половозрелого потомства, пережившего внутриутробную гипоксию, наблюдалась высокая ЧСС и преобладание симпатического компонента регуляции деятельности сердца [13]; к трехмесячному возрасту тахикардия проходила, однако сохранялся высокий стресс-индекс на фоне пониженной вариабельности сердечного ритма [14], что может быть предиктором многих сердечно-сосудистых заболеваний, включая синдром внезапной сердечной смерти [25, 26].

Пренатальная гипоксия в период эмбрионального развития запускает хеморефлекторный ответ, результатом которого может быть повышенная внутриутробная секреция катехоламинов надпочечниками плода, что, в свою очередь, может привести у него и к увеличению ЧСС [3]. Зарегистрированный более высокий базовый уровень ЧСС

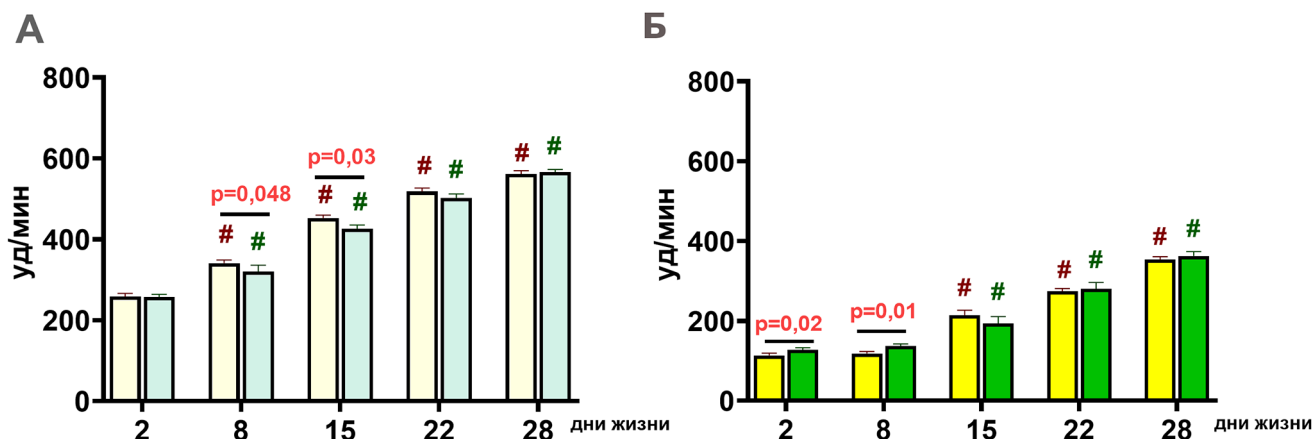


Рис. 3. Влияния внутриутробной гипоксии периода раннего органогенеза на фоновый (А) и базовый (Б) уровни ЧСС у крыс в ранний постнатальный период. Условные обозначения как на рис. 2.

в первую неделю развития, а также показанная ранее более высокая частота сокращений кардиомиоцитов новорожденных крысят могут свидетельствовать о преобладающем влиянии симпатoadrenalовой системы на регуляцию сердечного ритма потомства, пережившего внутриутробную гипоксию [13]. Поскольку симпатическая иннервация сердца окончательно формируется к третьей неделе постнатального развития, наиболее вероятно, что нервно-контролируемое высвобождение катехоламинов надпочечниками вносит основополагающий вклад в поддержание высокой базовой ЧСС у потомства, пережившего внутриутробный стресс.

В сердце новорожденных крыс помимо β -адренергических рецепторов активно функционируют α_1 -рецепторы, обеспечивающие широкий ответ на адреналин [20]. Как только достигается функциональная симпатическая иннервация сердца, хронотропные эффекты α_1 -агонистов ослабевают в пользу «более взрослого» β -адренергически-опосредованного контроля частоты сердечного ритма. Источником норадреналина могут выступать либо специализированные внутрисердечные адренергические клетки (intrinsic cardiac adrenergic, ICA-клетки), либо сами неонатальные кардиомиоциты [27]. Возможно, что эндогенный норадреналин служит для стимуляции ЧСС и сократимости миокарда в перинатальный и ранний неонатальный период, когда симпатическая иннервация отсутствует, а циркулирующих катехоламинов недостаточно.

Показано, что катехоламины необходимы для выживания плода, о чем свидетельствует гибель внутриутробно мышей различных линий с дефицитом катехоламинов. Внутриутробная гипоксия вызывает у эмбрионов брадикардию, которая у плодов с генетическим дефицитом катехоламинов выражена сильнее и часто приводит к летальному

исходу. Эксперименты с культурами *in vitro* показывают, что катехоламины — в частности, норадреналин — ограничивают степень брадикардии, вызванной гипоксией. Интересно, что в отсутствие гипоксии адреноблокаторы не влияют на частоту сердечных сокращений, а это означает, что активация адренорецепторов необходима только во время внутриутробного стресса плода, в первую очередь — гипоксического [27]. Но если на ранних этапах развития активация симпатoadrenalовой системы может иметь защитное значение, влияя на созревание миокарда и периферической сосудистой сети [3, 26, 28], то сохраняющийся высокий тонус и активность симпатической нервной системы в дальнейшем может быть одним из ведущих факторов патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, более высокий базовый уровень ЧСС у животных экспериментальной группы в первую неделю постнатального развития позволяет предполагать, что пренатальная гипоксия периода раннего органогенеза, в целом не меняя динамики становления фонового сердечного ритма в постнатальном периоде, оказывает влияние на формирование собственного ритма сердца, обусловленного внутрисердечными механизмами. Исследования в данном направлении необходимы для разработки методов предупреждения сердечных патологий раннего органогенеза и их последующей терапии.

Работа выполнена в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032300071-8. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ (протокол № 137-д от 11.11.2021). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vaduganathan M., Mensah G., Turco J. The global burden of cardiovascular diseases and risk: a compass for future health. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2022;80:2361–2371.
2. Giussani D., Davidge S.T. Developmental programming of cardiovascular disease by prenatal hypoxia. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2013;4(5):328–337.
3. Sutovska H., Babarikova K., Zeman M., Molcan L. Prenatal hypoxia affects foetal cardiovascular regulatory mechanisms in a sex – and circadian-dependent manner: a review. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(5):2885.
4. Kwon E.J., Kim Y.J. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstet. Gynecol. Sci.* 2017;60(6):506–519.
5. Koos B.J. Adenosine A_2a receptors and O_2 sensing in development. *Am. J. Physiol. Regul., Integr. Comp. Physiol.* 2011;301(3):R601–R622.
6. Hutter D., Kingdom J., Jaeggi E. Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia and its impact on the fetal cardiovascular system: a review. *Int. J. Pediatr.* 2010;2010(1):401323.
7. Graf A., Trofimova L., Ksenofontov A., Baratova L., Bunik V. Hypoxic adaptation of mitochondrial metabolism in rat cerebellum decreases in pregnancy. *Cells.* 2020;9(1):139.
8. Maslova M.V., Graf A.V., Maklakova A.S., Krushinskaya Ya.V., Sokolova N.A., Koshelev V.B. Acute hypoxia during organogenesis affects cardiac autonomic balance in pregnant rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005;139(2):180–182.
9. Marcela S.G., Cristina R.M.M., Angel P.G.M., Manuel A.M., Sofia D.C., Patricia D.L.R.S., Bladimir R.R., Concepción S.G. Chronological and morphological study of heart development in the rat. *Anat. Rec.* 2012;295(8):1267–1290.
10. Itani N., Salinas C.E., Villena M., Skeffington K.L., Beck C., Villamor E., Blanco C.E., Giussani D.A. The highs and lows of programmed cardiovascular disease by developmental hypoxia: studies in the chicken embryo. *J. Physiol.* 2018;596(15):2991–3006.

11. Trofimova L., Lovat M., Groznaya A., Efimova E., Dunaeva T., Maslova M., Graf A., Bunik V. Behavioral impact of the regulation of the brain 2-oxoglutarate dehydrogenase complex by synthetic phosphonate analog of 2-oxoglutarate: Implications into the role of the complex in neurodegenerative diseases. *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2010;2010(1):749061.
12. Baevsky R.M., Chernikova A.G. Heart rate variability analysis: physiological foundations and main methods. *Cardiometry.* 2017;(10):66–76.
13. Граф А., Маслова М., Маклакова А., Соколова Н., Кудряшова Н., Крушинская Я. Влияние гипоксии в период раннего органогенеза на деятельность сердца и норадренергический компонент регуляции в постнатальном периоде. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2006;142(11):484–486.
14. 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;23(5):2579.
15. Курьянова Е.В., Теплый Д.Л., Зеренинова Н.В. Становление регуляции хронотропной функции сердца в постнатальном онтогенезе белых крыс по данным спектрального анализа вариабельности. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2011;152(12):614–617.
16. Зефиров Т.Л., Святова Н.В. Возрастные особенности вагусной регуляции хронотропной функции сердца десимпатизированных и интактных крыс. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 1997;123(6):703–705.
17. Чиглинцев В.М. Эффекты выключения симпатического шейного ганглия на показатели сердечной деятельности крыс. *Вестн. Нижневарт. гос. ун-та.* 2013;(3):16–21.
18. Vakhitov B.I., Vakhitov I.K., Volkov A.Kh., Chinkin S.S. Regulation mechanism of heartbeat rate, shocked blood volume, and their formation heterochronously among small laboratory animals. *Drug. Invention. Today.* 2018;10(S3):3193–3196.
19. Ziyatdinova N.I., Sergeeva A.M., Dementieva R.E., Zefirov T.L. Peculiar effects of muscarinic M1, M2, and M3 receptor blockers on cardiac chronotropic function in neonatal rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012;154:1–2.
20. Hasan W. Autonomic cardiac innervation. *Organogenesis.* 2013;9(3):176–193.
21. Shepard T., Muffley L., Smith L. Ultrastructural study of mitochondria and their cristae in embryonic rats and primate (*N. nemistrina*). *Anat. Rec.* 1998;252(3):383–392.
22. Ellington S. *In vitro* analysis of glucose metabolism and embryonic growth in postimplantation rat embryos. *Development.* 1987;100(3):431–439.
23. Patterson A.J., Zhang L. Hypoxia and fetal heart development. *Curr. Mol. Med.* 2010;10(7):653–666.
24. Tintu A., Rouwet E., Verlohren S. et al. Hypoxia induces dilated cardiomyopathy in the chick embryo: Mechanism, intervention, and long-term consequences. *PLoS. One.* 2009;4(4):e5155.
25. Sessa F., Anna V., Messina G., Cibelli G., Mon-da V., Marsala G., Ruberto M., Biondi A., Cascio O., Bertozzi G., Pisanelli D., Maglietta F., Messina A., Mollica M.P., Salerno M. Heart rate variability as predictive factor for sudden cardiac death. *Aging (Albany N.Y.).* 2018;10(2):166–177.
26. Svitok P., Molcan L., Stebelova K., Vesela A., Sedlackova N., Ujhazy E., Mach M., Zeman M. Prenatal hypoxia in rats increased blood pressure and sympathetic drive of the adult offspring. *Hypertens. Res.* 2016;39(7):501–505.
27. Portbury A.L., Chandra R., Groelle M., McMillian M.K., Elias A., Herlong J.R., Rios M., Roffler-Tarlov S., Chikaraishi D.M. Catecholamines act via a β -adrenergic receptor to maintain fetal heart rate and survival. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2003;284(6):H2069–H2077.
28. Li G., Bae S., Zhang L. Effect of prenatal hypoxia on heat stress-mediated cardioprotection in adult rat heart. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2004;286(5):H1712–H1719.

Поступила в редакцию 14.03.2024

После доработки 22.07.2024

Принята в печать 30.07.2024

RESEARCH ARTICLE

Prenatal hypoxia of the period of early organogenesis influence on heart rate variability in rat pups during the first month of life

A.V. Graf^{1,2} , A.S. Maklakova¹ , M.V. Maslova¹ , Ya.V. Krushinskaya¹ ,
A.A. Guseva¹ , N.A. Sokolova¹

¹Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, 119234 Moscow, Russia;

²I.V. Kurchatov Phystech School of Nature-like, Plasma and Nuclear Technologies,
Maximova St. 4, 123098, Moscow, Russia

*e-mail: nastjushka@gmail.com

Recently, there has been increasing evidence in favor of prenatal programming influence on the development of many diseases in adults, including cardiovascular pathologies. However, the mechanisms underlying the programming effect of developing cardiovascular dysfunction remain unclear, which prevents timely diagnosis and identification of potential clinical therapy. The aim of this study was to evaluate the effects of acute hypoxia during early organogenesis on heart rhythm formation and its regulation in early postnatal development in rats. It was shown that acute hypoxia suffered by rat pups on the 10th day of intrauterine development did not

change the overall dynamics of heart rhythm formation in the first month of postnatal period. However, the experimental animals showed lower heart rate compared to control in the first weeks of life in addition to higher values of rhythm variability and the RMSSD index (root mean square of successive differences in R-R intervals) indicating an expressed tone of parasympathetic division of the ANS. Moreover in the first week of life the basic heart rate following pharmacological blockade of sympathetic and parasympathetic cardiotropic nervous influences in rats suffered from prenatal hypoxia turned out to be 15% higher than in control animals, supposing prenatal hypoxia influence on heart rhythm formation due to intracardiac mechanisms.

Keywords: *prenatal hypoxia, heart rate variability, autonomic nervous system, intrauterine programming, early postnatal period*

Funding: This study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number №121032300071-8.

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>

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>

Маслова Мария Вадимовна — канд. биол. наук, доц. 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>

Гусева Александра Александровна — канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; guseva.alexandra@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3476-7077>

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