
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**КРАТКОВРЕМЕННАЯ ПЕРИНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ НЕ ОКАЗЫВАЕТ
ВЛИЯНИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АРТЕРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ
У КРЫС ВО ВЗРОСЛОМ ВОЗРАСТЕ**

© 2025 г. А. А. Швецова¹, С. Д. Симоненко¹, И. А. Кабиольский¹,
Д. К. Гайнуллина^{1,*}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
*E-mail: Dina.Gaynullina@gmail.com

Поступила в редакцию 18.07.2025 г.

После доработки 18.08.2025 г.

Принята к публикации 18.08.2025 г.

Перинатальная гипоксия является одной из часто встречаемых патологий в раннем онтогенезе, что может оказывать программирующее влияние на функционирование сосудистой системы. Последнее было показано для легочных артерий, а также в единичных исследованиях на системных артериях. Однако отсутствуют данные об отставленном влиянии перинатальной гипоксии на функционирование гемодинамически значимого сосудистого региона скелетных мышц. В связи с этим целью данной работы стало исследование отставленных влияний однократной нормобарической гипоксии в раннем онтогенезе на функционирование артерий скелетных мышц во взрослом возрасте. В работе моделировали нормобарическую гипоксию (8% O₂) в течение 2 ч у 2-дневных самцов крыс, после чего их дорастивали до взрослого возраста (11–12 недель) и оценивали функциональную активность артерий икроножной мышцы, а также уровень систолического артериального давления. Сократительные ответы артерий икроножной мышцы на агонист α_1 -адренорецепторов, реакции эндотелий-зависимого расслабления артерий на ацетилхолин и эндотелий-независимого расслабления на донор NO не различались между группами “Гипоксия” и “Контроль”. Ангиоконстрикторное влияние NO и Ca²⁺-активируемых калиевых каналов большой проводимости, а также проконстрикторное влияние Rho-киназы в артериях не были изменены у крыс, перенесших перинатальную гипоксию. Уровни систолического артериального давления не различались между группами. Таким образом, согласно представленным в данной работе результатам, кратковременная нормобарическая перинатальная гипоксия не приводит к отставленным изменениям в регуляции тонуса артерий икроножной мышцы и уровня артериального давления у крыс во взрослом возрасте.

Ключевые слова: гипоксия, артерия, Rho-киназа, оксид азота NO, кальций-зависимые калиевые каналы большой проводимости, эндотелий, гладкая мышца

DOI: 10.7868/S2658655X25090082

ВВЕДЕНИЕ

Нормальное функционирование всего организма во многом зависит от работы сердечно-сосудистой системы. Различные патологии сердечно-сосудистой системы не только снижают качество жизни, но и являются одной из ведущих причин смертности

и потери трудоспособности населения как в нашей стране, так и во всем мире. Важно, что сердечно-сосудистая система подвержена негативному влиянию множества различных факторов и сопутствующих заболеваний не только в зрелом возрасте, но и в период раннего онтогенеза. Так, согласно концепции Barker, воздействия в раннем онтогенезе могут оказывать программирующее влияние на функционирование организма, включая сердечно-сосудистую систему, во взрослом возрасте [1–3].

Одним из таких достаточно часто встречаемых воздействий является перинатальная гипоксия. Гипоксия в раннем онтогенезе возникает при такой опасной патологии новорожденных, как асфиксия [4]. Согласно данным статистики, асфиксия новорожденных является одной из ведущих причин смертности новорожденных [4, 5]. Вместе с тем данных о том, каким образом перинатальная гипоксия влияет на функционирование сосудистой системы во взрослом возрасте, не так много. При этом в различных работах используются разные протоколы гипоксического воздействия, и большинство таких исследований проведено на сосудах малого круга кровообращения, которые функционально существенно отличаются от сосудов большого круга кровообращения, играющих ключевую роль в регуляции системного артериального давления.

Было показано, что перемещение в высокогорье (на высоту 4559 м) взрослых молодых людей (средний возраст 21 год), у которых была диагностирована транзиторная гипоксическая легочная гипертензия в перинатальный период, вызывает существенно большее повышение систолического давления в легочной артерии, чем у равновозрастной контрольной группы [6]. Эти результаты показывают, что транзиторная перинатальная гипоксия может оставлять стойкий и потенциально фатальный отпечаток на легочное кровообращение, иными словами, перенесшие легочную гипертензию в перинатальный период могут подвергаться риску развития этого расстройства в более позднем, взрослом возрасте [6]. Аналогичные выводы были сделаны при моделировании неонатальной гипоксии у мышей: неонатальная гипоксия вызывает больший прирост давления в правом желудочке в ответ на острую гипоксию во взрослом возрасте [7].

У взрослых крыс, перенесших неонатальную гипоксию (10% O_2 в течение недели до и в течение недели после рождения), сократительные реакции легочных артерий на различные вазоконстрикторы (простагландин F_{2a} и нерцепторную активацию KCl) были ослаблены. При этом не было обнаружено изменений в реакциях эндотелий-зависимого расслабления на ацетилхолин и на донор NO [8]. Моделирование неонатальной гипоксии у мышей (13% O_2 в течение 5 дней до и 5 дней после родов) приводило к увеличению уровня экспрессии и активности потенциал-зависимых калиевых K_v -каналов и Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов большой проводимости (BK_{Ca}) в гладкомышечных клетках легочной артерии во взрослом возрасте [9, 10]. Отметим, что калиевые каналы обладают антиконстрикторным влиянием в гладкомышечных клетках сосудов, таким образом, данный результат косвенно указывает на меньшую склонность легочных артерий таких животных к сокращению. Однако аналогичная модель перинатальной гипоксии оказывала пагубное влияние на эндотелиальную функцию легочных артерий мышей во взрослом возрасте: реакции артерий животных опытной группы на ацетилхолин были значимо меньше, чем у контрольных мышей [7, 11]. Эти изменения были связаны с уменьшением содержания белка eNOS и, соответственно, вклада NO в эндотелий-зависимое расслабление легочных артерий вследствие перинатальной гипоксии [7, 11].

Для сосудов большого круга кровообращения было показано, что при моделировании пренатальной гипоксии у крыс (10.5% O_2 с 5-го по 21-й дни беременности) уровень артериального давления у взрослых половозрелых потомков (в возрасте 7 месяцев) не отличается от контрольных животных, однако прессорный ответ при введении агониста α_1 -адренорецепторов оказался выше, чем у контрольных крыс [12]. Это сопровождалось существенным приростом сократительных реакций артерий тонкого кишечника на агонист α_1 -адренорецепторов и уменьшением функциональной активности BK_{Ca} вследствие падения содержания белка регуляторной субъединицы канала [12]. В коронарных

артериях взрослых крыс, подвергшихся пренатальной гипоксии (10.5% O₂ с 5-го по 21-й дни беременности), напротив, наблюдалось уменьшение сократительных реакций на серотонин за счет ослабления проконстрикторного влияния протеинкиназы C [13].

Немногочисленность описанных выше работ указывает на слабую изученность данной проблемы. Кроме того, нам не удалось обнаружить в литературе данных о влиянии перинатальной гипоксии на регуляцию тонуса артерий скелетных мышц. Между тем сосудистое русло скелетных мышц является гемодинамически значимым регионом, получающим существенную долю сердечного выброса даже в покое [14] и, соответственно, вносящим существенный вклад в определение уровня артериального давления.

В связи с этим целью данной работы стало исследование отставленных влияний однократной нормобарической гипоксии в раннем онтогенезе на функционирование артерий скелетных мышц во взрослом возрасте. Мы выдвинули гипотезу, согласно которой вследствие однократной нормобарической гипоксии в раннем онтогенезе будут изменены механизмы регуляции тонуса артерий скелетных мышц во взрослом возрасте. Для проверки данной гипотезы в работе моделировали острую нормобарическую гипоксию (8% O₂) в течение 2 ч у 2-дневных крысят, после чего их дорастивали до взрослого возраста (11–12 недель) и оценивали функциональную активность артерий икроножной мышцы. Для этого исследовали сократительные реакции, реакции эндотелий-зависимого и эндотелий-независимого расслабления, а также проводили анализ сигнальных путей, задействованных в реализации сократительных ответов артерий. Основываясь на данных литературы о влиянии гипоксии в раннем онтогенезе, в качестве таких сигнальных путей нами были выбраны антиконстрикторные влияния NO- и BK_{Ca}-каналов. Кроме того, поскольку Rho-киназа представляется одним из ключевых участников многих сосудистых патологий [15, 16], включая отставленные эффекты патологий раннего онтогенеза [17], мы предположили, что ее проконстрикторное влияние также может быть изменено в результате перинатальной гипоксии. Для оценки потенциальных системных эффектов перинатальной гипоксии на сердечно-сосудистую систему проводили измерение артериального давления.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

В работе использовали крыс Wistar, полученных из питомника НИИ Общей патологии и патофизиологии. Половозрелых самцов и самок крыс содержали в стандартных условиях вивария биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова при свободном доступе к пище и воде и световом цикле день/ночь по 12 ч. Для получения потомства самцы и самки крыс были ссажены на 4 суток. День родов принимали как 0-й день жизни крысят. На следующий день после родов ограничивали размер помета до 8 крысят. На 2-й день жизни крысят мужского пола отлучали от самки и случайным образом делили на две группы. Крысят одной группы помещали в нормобарические гипоксические условия (8% O₂ и 92% N₂) в термостатируемую камеру (37 °C) на 2 ч (группа “Гипоксия”). Крысят другой группы на 2 ч помещали в аналогичные условия, но с нормальным содержанием O₂ (21%) (группа “Контроль”). После этого крысят возвращали к самке. В работе было использовано потомство от 7 самок для группы “Контроль” и от 6 самок для группы “Гипоксия”. Крысят отлучали от самки в возрасте 4 недель, самцов дорастивали до возраста 11–12 недель при свободном доступе к пище и воде.

Выбор данной модели гипоксии обусловлен несколькими причинами. Согласно данным литературы, для моделирования асфиксии у новорожденных может быть использована гипоксия различной степени выраженности с содержанием O₂ от 10% до 0% [18]. В используемой нами модели концентрация O₂ равна 8%, что достаточно близко к верхней границе 10%. Кроме того, данный режим гипоксии, с одной стороны,

является достаточно “умеренным” и не приводит к изменениям содержания различных параметров крови, характеризующих функционирование печени и почек, в раннем постнатальном периоде [19]. С другой стороны, согласно ранее полученным данным, этот режим гипоксии приводит к изменениям некоторых механизмов регуляции тонуса артерий в раннем постнатальном периоде [19, 20].

Измерение артериального давления

В возрасте 10 недель систолическое артериальное давление определяли у бодрствующих самцов крыс групп “Контроль” и “Гипоксия” плетизмографическим методом с использованием хвостовой манжеты (Систола, Нейроботикс, Россия). Крыс адаптировали к экспериментальной установке, выполняя все необходимые процедуры, за исключением регистрации артериального давления. Через три дня уровень систолического артериального давления и частоты сердечных сокращений регистрировали не менее трех раз у каждой крысы и рассчитывали среднее значение.

Эксперименты на изолированных артериях

Эксперименты на изолированных артериях проводили на 11–12-недельных животных. В день проведения эксперимента крыс анестезировали с помощью CO_2 , взвешивали, декапитуировали, выделяли артерии икроножной мышцы в растворе для препаровки (в mM): NaCl – 145; KCl – 4.5; CaCl_2 – 0.1; MgSO_4 – 1.0; NaH_2PO_4 – 1.2; EDTA – 0.025; HEPES – 5.0; pH – 7.4.

Из артерий вырезали кольцевые сегменты длиной 2 мм и закрепляли их в многоканальных миографах (DMT, Дания) для регистрации сократительной активности в изометрическом режиме. Показания тензометрических датчиков оцифровывали с частотой 10 Гц с использованием аналого-цифрового преобразователя (E14 140, L CARD, Россия) и регистрировали при помощи программы PowerGraph 3.3 (ДИСофт, Россия). После нагрева камер с раствором до 37°C определяли растяжение препарата, оптимальное для проявления сократительной активности, в ходе этой процедуры также вычисляли внутренний диаметр сосуда, соответствующий давлению 100 мм рт. ст. (d_{100}) [21]. После этого раствор в камере миографа сменяли на рабочий (в mM): NaCl – 120; NaHCO_3 – 26; KCl – 4.5; CaCl_2 – 1.6; MgSO_4 – 1.0; NaH_2PO_4 – 1.2; D-глюкоза – 5.5; EDTA – 0.025; HEPES – 5. В течение всего эксперимента раствор непрерывно аэрировали карбогеном ($95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$) для оксигенации и поддержания pH 7.4.

Затем препараты артерий скелетной мышцы активировали добавлением с последующей отмывкой: 1) KCl (60 mM, длительность воздействия 5 мин); 2) метоксамина (агонист α_1 -адренорецепторов, 3 мкМ, длительность воздействия 5 мин), на фоне действия которого проводили оценку эндотелиальной функции путем либо однократной аппликации ацетилхолина (10 мкМ), либо проведения зависимости “концентрация – эффект” на ацетилхолин (диапазон концентраций 10 нМ – 10 мкМ, длительность действия каждой концентрации 1 мин); 3) метоксамина (10 мкМ, длительность воздействия 5 мин). Для части препаратов вместо ацетилхолина проводили зависимость “концентрация – эффект” на донор NO DEA/NO (диапазон концентраций 1 нМ – 10 мкМ, длительность действия каждой концентрации 3 мин).

Протокол эксперимента заключался в проведении двух последовательных зависимостей “концентрация – эффект” на метоксамин (в диапазоне концентраций от 10 нМ до 100 мкМ, длительность действия каждой концентрации составляла 3 мин). Первую зависимость “концентрация – эффект” проводили спустя 20 мин после окончания процедуры активации препарата. Этот этап эксперимента необходим для того, чтобы удостовериться, что исходно все препараты одной группы животных обладали одинаковой реактивностью на используемый агонист. После отмывки от первой зависимости

“концентрация – эффект” в камеры миографа добавляли ингибитор/блокатор или такой же объем растворителя (H_2O) на 20 мин, после чего проводили вторую зависимость “концентрация – эффект” на агонист, аналогичную первой. В работе использовали ингибитор NO-синтазы L-NNA (100 мкМ), блокатор VC_{Ca} -каналов ибериотоксин (0.1 мкМ), ингибитор Rho-киназы Y27632 (3 мкМ).

При обработке результатов из значения силы при каждой концентрации вазоактивного вещества вычитали значение “пассивной” силы, соответствующее полному расслаблению гладкой мышцы препарата (в растворе для препаровки после окончания процедуры определения оптимального растяжения препарата). Полученные значения активной силы выражали в % от максимальной силы сокращения препарата, определенной по первой зависимости “концентрация – эффект” (для метоксамина), или в % от уровня предсокращения препарата (для ацетилхолина и DEA/NO). Для оценки эффектов ингибиторов проводили расчеты значений площадей под кривыми зависимостей “концентрация – эффект”.

В работе использовали метоксамин, ацетилхолин, DEA/NO фирмы Sigma-Aldrich, Y27632 фирмы Tocris, ибериотоксин фирмы Alomone Labs, L-NNA фирмы Alexis Biochemicals.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 9.5.1. Соответствие распределения данных нормальному было подтверждено с использованием теста Шапиро–Уилка. Объем выборок при планировании эксперимента выбирали с использованием программы G*Power 3.1.9.7. [22] при уровне значимости 0.05 и вероятности ошибки второго рода 0.8, величину эффекта вычисляли по изменению чувствительности артерий к метоксамину в ответ на различные ингибиторы/блокаторы в результате неонатальной гипоксии в ранее опубликованных работах [19, 20]. Выборки анализировали на наличие выбросов с помощью метода ROUT в программе GraphPad Prism 9.5.1. Для сравнения данных использовали двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений или t -критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Все данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего, n – количество животных в группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В возрасте 11–12 недель массы тела крыс групп “Контроль” и “Гипоксия” не различались и составили 419 ± 19 г ($n = 11$) и 380 ± 19 г ($n = 11$, t -тест Стьюдента: $t = 1.44$, $p = 0.17$) соответственно.

Внутренний диаметр артерий икроножной мышцы, соответствующий давлению 100 мм рт. ст. (d_{100}), составил 307 ± 12 мкм в группе “Контроль” ($n = 11$) и 295 ± 8 мкм в группе “Гипоксия” ($n = 11$, t -тест Стьюдента: $t = 0.86$, $p = 0.40$). Максимальная сила сокращения кольцевых сегментов артерий не различалась между группами и составила 21.9 ± 1.0 мН в группе “Контроль” ($n = 11$) и 21.6 ± 0.5 мН в группе “Гипоксия” ($n = 11$, t -тест Стьюдента: $t = 0.21$, $p = 0.84$).

Сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин не различались между группами “Контроль” и “Гипоксия” (рис. 1; двухфакторный дисперсионный анализ, фактор группы: $F < 0.001$; $p = 0.98$). Эндотелий-зависимое расслабление артерий икроножной мышцы на возрастающие концентрации ацетилхолина не различалось между группами (рис. 2а; двухфакторный дисперсионный анализ, фактор группы: $F = 0.15$; $p = 0.70$). Эндотелий-независимое расслабление артерий на донор NO DEA/NO также не различалось (рис. 2б; двухфакторный дисперсионный анализ, фактор группы: $F = 2.33$; $p = 0.15$).

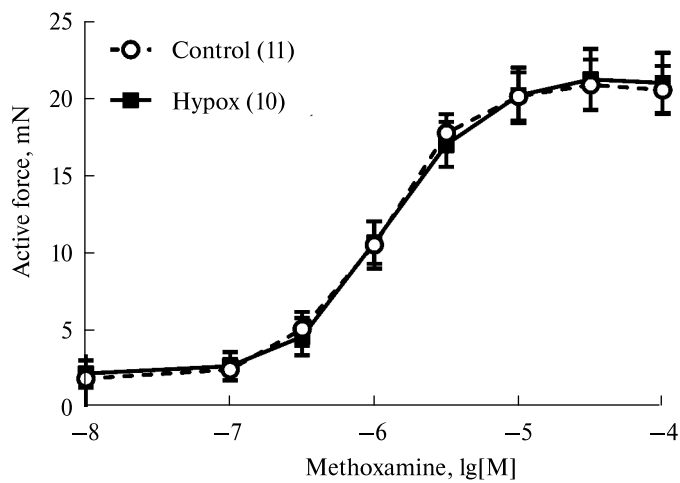


Рис. 1. Сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин у крыс групп “Контроль” (Control) и “Гипоксия” (Hypox). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

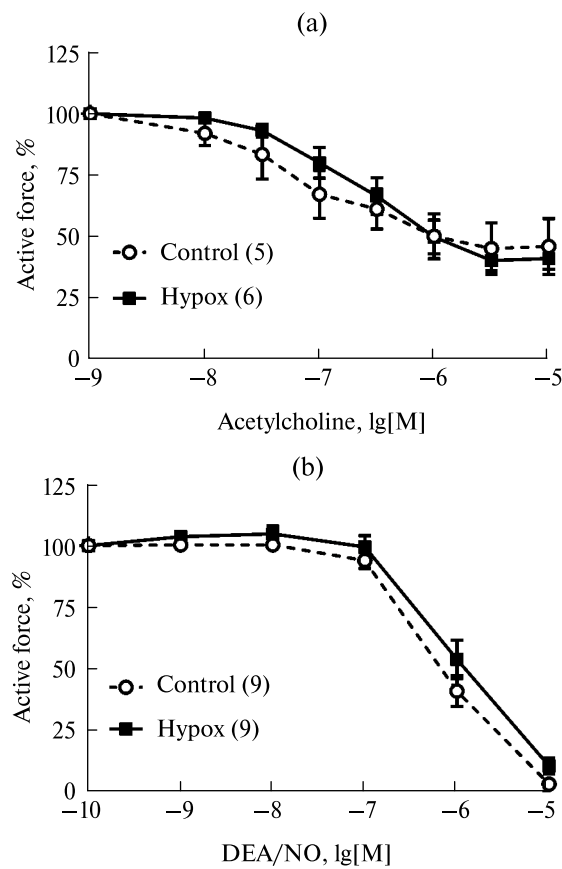


Рис. 2. Зависимости “концентрация – эффект” на ацетилхолин (а) и донор NO DEA/NO (б) у крыс групп “Контроль” (Control) и “Гипоксия” (Hypox). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

Ингибиторный анализ путей регуляции сократительных ответов показал, что как NO и Rho-киназа, так и BK_{Ca} -каналы принимают участие в реализации сократительных ответов артерий на метоксамин. Ингибитор NO-синтазы L-NNA вызывал увеличение сократительных ответов на метоксамин (рис. 3а; двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 2.363$; $p = 0.004$), а также прирост площади под кривыми зависимостей “концентрация – эффект” на метоксамин до $121 \pm 6\%$ у животных контрольной группы относительно средней площади в присутствии растворителя (t -тест Стьюдента: $t = 3.112$, $p = 0.006$ по сравнению с площадями под кривыми в присутствии растворителя). Аналогично действовал L-NNA в артериях животных группы “Гипоксия”, вызывая увеличение сократительных ответов (рис. 3а; двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 2.663$; $p = 0.046$) и площади до $125 \pm 7\%$ (t -тест Стьюдента: $t = 2.177$, $p = 0.045$ по сравнению с площадями под кривыми в присутствии растворителя). Важно, что не различались между группами как прирост площади под влиянием L-NNA (t -тест Стьюдента: $t = 0.46$, $p = 0.65$), так и сами сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин в присутствии L-NNA (рис. 3а, двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 0.25$; $p = 0.77$). Следовательно, антиконстрикторное влияние NO в артериях икроножной мышцы присутствует как у животных группы “Контроль”, так и у животных группы “Гипоксия”, и оно не различается между группами.

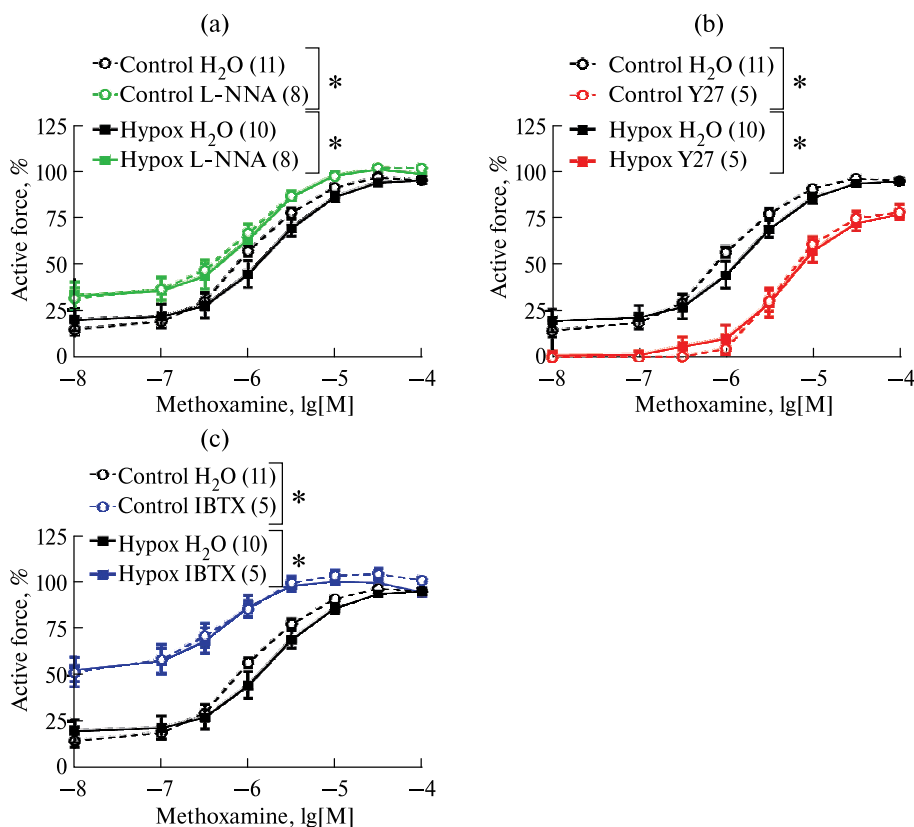


Рис. 3. Сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин у крыс групп “Контроль” (Control) и “Гипоксия” (Hypox) в присутствии растворителя (H_2O) или ингибитора NO-синтазы L-NNA (а), ингибитора Rho-киназы Y27632 (Y27, б) или блокатора BK_{Ca} -каналов ибериотоксина (IBTX, в). Числа в скобках обозначают количество животных в группе. * $p < 0.05$ (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с поправкой Сидака).

Ингибитор Rho-киназы Y27632 приводил к уменьшению сократительных ответов артерий икроножной мышцы на метоксамин в обеих исследуемых группах (рис. 3b, двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 5.24, p < 0.0001$ (сравнение групп “Control H₂O” с “Control Y27”), $t = 4.54, p = 0.001$ (сравнение групп “Нурох H₂O” с “Нурох Y27”)), что также подтверждается уменьшением площади под кривыми зависимостей “концентрация – эффект”. В присутствии Y27632 площади под кривыми зависимостей “концентрация – эффект” на метоксамин составили $48 \pm 4\%$ относительно средней площади в присутствии растворителя у животных контрольной группы (t -тест Стьюдента: $t = 8.05, p < 0.0001$ по сравнению с площадями под кривыми в присутствии растворителя) и $52 \pm 8\%$ у животных группы “Гипоксия” (t -тест Стьюдента: $t = 3.347, p = 0.053, p < 0.05$ по сравнению с площадями под кривыми в присутствии растворителя). При этом не различались между группами как уменьшение площади под влиянием Y27632 (t -тест Стьюдента: $t = 0.44, p = 0.67$), так и сами сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин в присутствии Y27632 (рис. 3b, двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 0.087, p > 0.9999$). Следовательно, проконстрикторный вклад Rho-киназы в регуляцию сократительных ответов артерий икроножной мышцы присутствует как у животных группы “Контроль”, так и у животных группы “Гипоксия”, и не различается между группами.

Блокатор BK_{Ca}-каналов ибериотоксин приводил к увеличению сократительных ответов артерий икроножной мышцы на метоксамин в обеих исследуемых группах (рис. 3с; двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 4.479, p = 0.001$ (сравнение групп “Control H₂O” с “Control IBTX”), $t = 4.537, p = 0.001$ (сравнение групп “Нурох H₂O” с “Нурох IBTX”)), что также подтверждает прирост площади под кривыми зависимостей “концентрация – эффект”. В присутствии ибериотоксина площади под кривыми зависимостей “концентрация – эффект” на метоксамин составили $148 \pm 6\%$ относительно средней площади в присутствии растворителя у животных контрольной группы (t -тест Стьюдента: $t = 6.58, p < 0.0001$ по сравнению с площадями под кривой в присутствии растворителя) и $152 \pm 8\%$ у животных группы “Гипоксия” (t -тест Стьюдента: $t = 3.621, p = 0.003$ по сравнению с площадями под кривой в присутствии растворителя). При этом не различались между группами как прирост площади под влиянием ибериотоксина (t -тест Стьюдента: $t = 0.41, p = 0.69$), так и сами сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин в присутствии ибериотоксина (рис. 3с, двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака: $t = 0.34, p = 0.99$). Следовательно, антиконстрикторный вклад BK_{Ca}-каналов в регуляцию сократительных ответов артерий икроножной мышцы выражен у животных групп “Контроль” и “Гипоксия” и не различается между группами.

Оценку системных показателей гемодинамики проводили у бодрствующих животных. Уровни систолического артериального давления не различались у крыс групп “Контроль” и “Гипоксия” (рис. 4а; t -тест Стьюдента: $t = 0.37, p = 0.72$). Аналогично не различались значения частоты сердечных сокращений (рис. 4b; t -тест Стьюдента: $t = 0.34, p = 0.74$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе исследовали влияние однократной перинатальной нормобарической гипоксии (8% O₂ в течение 2 ч) на функционирование артерий скелетных мышц у крыс во взрослом возрасте. Мы впервые показали, что при таком протоколе воздействия функциональная активность целого ряда сигнальных путей (антиконстрикторных влияний NO, BK_{Ca}-каналов и проконстрикторного вклада Rho-киназы) в артерии икроножной мышцы не изменяется по сравнению с контрольными животными. Не изменяются также и показатели системной гемодинамики: у бодрствующих крыс

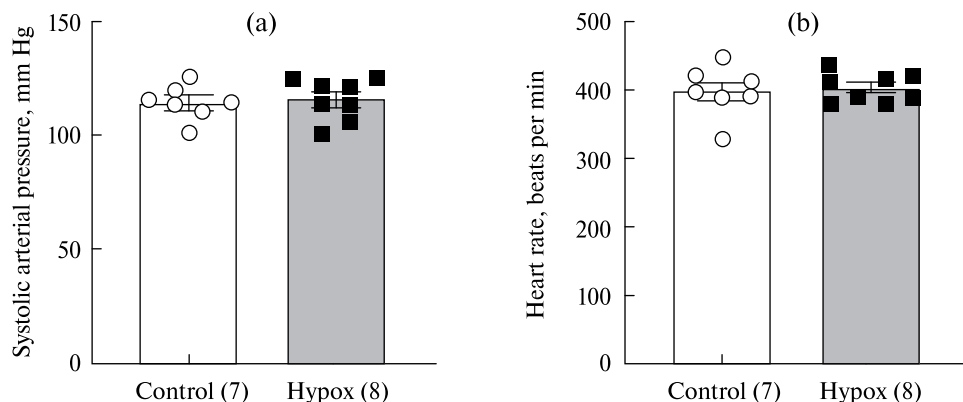


Рис. 4. Уровни систолического артериального давления (а) и частоты сердечных сокращений (б) у бодрствующих крыс групп “Контроль” (Control) и “Гипоксия” (Hypox). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

группы “Гипоксия” уровень систолического артериального давления не отличается от контрольных животных.

Выбор сосудистого русла скелетных мышц для исследования не случаен. Во-первых, на настоящий момент в литературе отсутствуют данные об отставленных эффектах перинатальной гипоксии на функционирование сосудов скелетных мышц. Во-вторых, скелетные мышцы составляют существенную часть от массы тела как у животных, так и у человека, играя при этом значимую роль в регуляции общего периферического сопротивления сосудов и, как следствие, в уровне артериального давления. Показано, что доля сердечного выброса в покое, приходящаяся на мышцы только задних конечностей, у взрослых крыс составляет более 6% [14]. Естественно, что эта доля существенно возрастает при физических нагрузках.

Вместе с тем нами не было обнаружено значимых изменений в функционировании артерий икроножной мышцы – сократительные реакции артерий на агонист α_1 -адренорецепторов не были изменены. Выбор агониста α_1 -адренорецепторов для исследования сократительных реакций артерий связан с тем, что, согласно данным литературы, адренергический компонент сокращения является основным при активации симпатических нервных окончаний [23], играющих важнейшую роль в регуляции сосудистого тонуса.

В используемой модели кратковременной перинатальной нормобарической гипоксии не было обнаружено отставленных (наблюдаемых во взрослом возрасте) изменений в реакциях эндотелий-зависимого и эндотелий-независимого расслабления артерий. Отметим, что ранее уменьшение эндотелий-зависимого расслабления было показано для легочных артерий взрослых мышей при моделировании длительной перинатальной гипоксии [7, 11]. Расхождения в результатах нашего и предыдущих исследований могут иметь несколько причин, связанных как с применением различающихся протоколов гипоксического воздействия (8% O_2 в течение 2 ч на второй день жизни в наших экспериментах и 13% O_2 в течение 5 дней до и 5 дней после родов для ранее опубликованных данных), так и с видовыми различиями (крыса и мышь) или же с различиями в исследуемых сосудах (артерии скелетных мышц и легочные артерии). Согласно нашим представлениям, каждый из факторов может вносить существенный вклад в результаты исследования и должен учитываться при анализе данных.

Отметим, что отсутствие различий в общих реакциях на агонист не всегда является прямым свидетельством отсутствия различий в механизмах регуляции сосудистого тонуса. Так, ранее мы показали, что, несмотря на отсутствие изменений в реактивности

артерий на агонист α_1 -адренорецепторов в результате аналогичного протокола гипоксического воздействия, механизмы регуляции сократительных ответов артерий у крыс в раннем онтогенезе были изменены [19, 20]. В данной работе мы оценивали отставленные, проявляющиеся во взрослом возрасте эффекты перинатальной гипоксии на антиконстрикторное влияние NO и BK_{Ca} -каналов и проконстрикторное влияние Rho-киназы, которые, как оказалось, не были изменены у крыс группы “Гипоксия” по сравнению с крысами контрольной группы. При этом ранее было показано, что гипоксическое воздействие в раннем онтогенезе может приводить к росту активности BK_{Ca} -каналов [10] и уменьшать функциональную активность и содержание эндотелиальной NO-синтазы [7, 11] в легочных артериях у взрослых мышей. Как описано выше, расхождения в результатах нашего и предыдущих исследований могут иметь под собой несколько причин, включая различия в протоколах, видовые различия и различия в объектах исследования.

Необходимо также подчеркнуть, что отсутствие различий в механизмах регуляции тонуса артерий скелетных мышц у взрослых крыс в возрасте 11-12 недель не исключает возможности наличия таких различий на других этапах онтогенеза – как более ранних, так и более поздних, что может являться предметом дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, кратковременная перинатальная гипоксия не привела к отставленным изменениям в регуляции сосудистого тонуса артерий скелетных мышц у взрослых крыс. С учетом существенного вклада сосудистой системы скелетных мышц в регуляцию общего периферического сопротивления неудивительно, что уровень систолического артериального давления не изменился вследствие кратковременной перинатальной гипоксии. Это согласуется с ранее опубликованными данными об отсутствии изменений в уровне артериального давления у взрослых крыс, перенесших длительную пренатальную гипоксию [12]. Вместе с тем отсутствие изменений в уровне артериального давления не исключает возможности изменений в регуляции тонуса сосудов отдельных гемодинамических регионов, например коронарного русла [13] или других сосудистых бассейнов, что может стать предметом дальнейших исследований.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А. А. Ш. и Д. К. Г.), сбор данных (А. А. Ш., С. Д. С., И. А. К. и Д. К. Г.), обработка данных (А. А. Ш. и Д. К. Г.), написание и редактирование манускрипта (А. А. Ш. и Д. К. Г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 25-15-00031).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследованиях, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтической комиссии МГУ имени М.В. Ломоносова (№ протокола 97-ж-2).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Barker DJP* (2002) Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol Metab* 13: 364–368.
[https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(02\)00689-6](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(02)00689-6)
2. *Miranda JO, Ramalho C, Henriques-Coelho T, Areias JC* (2017) Fetal programming as a predictor of adult health or disease: the need to reevaluate fetal heart function. *Heart Fail Rev* 22: 861–877.
<https://doi.org/10.1007/s10741-017-9638-z>
3. *Thornburg KL* (2015) The programming of cardiovascular disease. *J Dev Orig Health Dis* 6: 366–376.
<https://doi.org/10.1017/S2040174415001300>
4. *Moshiro R, Mdoe P, Perlman JM* (2019) A Global View of Neonatal Asphyxia and Resuscitation. *Front Pediatr* 7: 489.
<https://doi.org/10.3389/fped.2019.00489>
5. *Lawn JE, Blencowe H, Oza S, You D, Lee ACC, Waiswa P, Lalli M, Bhutta Z, Barros AJD, Christian P, Mathers C, Cousens SN* (2014) Every newborn: Progress, priorities, and potential beyond survival. *Lancet* 384: 189–205.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60496-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60496-7)
6. *Sartori C, Allemann Y, Trueb L, Delabays A, Nicod P, Scherrer U* (1999) Augmented vasoreactivity in adult life associated with perinatal vascular insult. *Lancet* 353: 2205–2207.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)08352-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)08352-4)
7. *Peyter AC, Muehlethaler V, Liaudet L, Marino M, Di Bernardo S, Diaceri G, Tolsa JF* (2008) Muscarinic receptor M1 and phosphodiesterase 1 are key determinants in pulmonary vascular dysfunction following perinatal hypoxia in mice. *Am J Physiol – Lung Cell Mol Physiol* 295: 201–213.
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00264.2007>
8. *Jones RD, Morice AH, Emery CJ* (2004) Effects of Perinatal Exposure to Hypoxia upon the Pulmonary Circulation of the Adult Rat. *Physiol Res* 53: 11–17.
<https://doi.org/10.33549/physiolres.930421>
9. *Marino M, Bény JL, Peyter AC, Bychkov R, Diaceri G, Tolsa JF* (2007) Perinatal hypoxia triggers alterations in K⁺ channels of adult pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol – Lung Cell Mol Physiol* 293: 1171–1182.
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00126.2007>
10. *Marino M, Bény JL, Peyter AC, Diaceri G, Tolsa JF* (2011) Perinatal hypoxia enhances cyclic adenosine monophosphate-mediated BK Ca channel activation in adult murine pulmonary artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 57: 154–165.
<https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3182016adf>
11. *Peyter AC, Delhaes F, Diaceri G, Menétrey S, Tolsa JF* (2014) Perinatal nitric oxide therapy prevents adverse effects of perinatal hypoxia on the adult pulmonary circulation. *Biomed Res Int* 2014: 949361.
<https://doi.org/10.1155/2014/949361>
12. *Liu B, Liu Y, Shi R, Feng X, Li X, Zhang W, Wu J, Li N, Zhou X, Sun M, Xu Z* (2018) Chronic Prenatal Hypoxia Down-Regulated BK Channel B1 Subunits in Mesenteric Artery Smooth Muscle Cells of the Offspring. *Cell Physiol Biochem* 45: 1603–1616.
<https://doi.org/10.1159/000487727>
13. *Chen X, Qi L, Su H, He Y, Li N, Gao Q, Li H, Xu T, Lu L, Xu Z, Tang J* (2020) Prenatal hypoxia attenuated contraction of offspring coronary artery associated with decreased PKC β Ser660 phosphorylation and intracellular calcium. *Life Sci* 261: 118364.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118364>
14. *Štulcová B* (1977) Postnatal Development of Cardiac Output Distribution Measured by Radioactive Microspheres in Rats. *Neonatology* 32: 119–124.
<https://doi.org/10.1159/000241004>

15. Shimokawa H, Sunamura S, Satoh K (2016) RhoA/Rho-Kinase in the Cardiovascular System. *Circ Res* 118(2): 352–366.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306532>
16. Тарасова ОС, Гайнуллина ДК (2017) Rho-киназа как ключевой участник регуляции тонуса сосудов в норме и при сосудистых расстройствах. *Артер гипертен* 23: 383–394. [Tarasova OS, Gainullina DK (2017) Rho-kinase as a key participant in the regulation of vascular tone in normal conditions and in vascular disorders. *Arter Hyperten* 23: 383–394.
<https://doi.org/10.18705/1607-419X-2017-23-5-383-394>
17. Gaynullina DK, Sofronova SI, Shvetsova AA, Selivanova EK, Sharova AP, Martyanov AA, Tarasova OS (2018) Antenatal/early postnatal hypothyroidism increases the contribution of Rho-kinase to contractile responses of mesenteric and skeletal muscle arteries in adult rats. *Pediatr Res* 84: 112–117.
<https://doi.org/10.1038/s41390-018-0029-5>
18. Ortiz M, Loidl F, Vázquez-Borsetti P (2022) Transition to extrauterine life and the modeling of perinatal asphyxia in rats. *WIREs Mech Dis* 14: 1–16.
<https://doi.org/10.1002/wsbm.1568>
19. Shateeva VS, Simonenko SD, Khlystova MA, Selivanova EK, Borzykh AA, Gaynullina DK, Shvetsova AA (2025) Perinatal hypoxia augments contractile impact of NADPH oxidase-derived ROS in early postnatal rat arteries. *Pediatr Res* 97(3): 1220–1261.
<https://doi.org/10.1038/s41390-024-03466-z>
20. Shvetsova AA, Khukhareva DD, Simonenko SD, Khlystova MA, Borzykh AA, Gaynullina DK (2024) Perinatal hypoxia weakens anticontractile influence of NO in rat arteries during early postnatal period. *Pediatr Res* 95(7): 1758–1763.
<https://doi.org/10.1038/s41390-024-03062-1>
21. Mulvany MJ, Halpern W (1977) Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res* 41: 19–26.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.41.1.19>
22. Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A (2007) G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 39: 175–191.
<https://doi.org/10.3758/bf03193146>
23. Tarasova O, Sjöblom-Widfeldt N, Nilsson H (2003) Transmitter characteristics of cutaneous, renal and skeletal muscle small arteries in the rat. *Acta Physiol Scand* 177: 157–166.
<https://doi.org/10.1046/J.1365-201X.2003.01057.X>

Short-Term Perinatal Hypoxia Does Not Affect the Functioning of Skeletal Muscle Arteries in Adult Rats

A. A. Shvetsova^a, S. D. Simonenko^a, I. A. Kabiolsky^a, and D. K. Gaynullina^{a, *}

^a*M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^{*}*e-mail: Dina.Gaynullina@gmail.com*

Perinatal hypoxia is one of the most common pathologies in early ontogenesis, which can have a programming effect on the functioning of the vascular system. The latter has been shown for the pulmonary arteries, as well as in several studies on systemic arteries. However, there are no data on the delayed effect of perinatal hypoxia on the functioning of the hemodynamically important vascular region of skeletal muscles. In this regard, the aim of this work was to study the delayed effects of a short-term normobaric hypoxia in early ontogenesis on the functioning of skeletal muscle arteries in adulthood. In this work, normobaric hypoxia (8% O₂) was applied for 2 hours in 2-day-old male rats, after which they were raised to adulthood (11-12 weeks) and the functional activity of the sural arteries and the level of systolic blood pressure were assessed. Contractile responses of the sural arteries to an α_1 -adrenoceptor agonist, endothelium-dependent relaxation responses of arteries to acetylcholine and endothelium-independent relaxation responses to an NO-donor did not differ between the Hypoxia and Control groups. The anticontractile effects of NO and Ca²⁺-activated potassium channels of large conductance, as well as the procontractile effect of Rho-kinase in arteries were not changed in rats that underwent perinatal hypoxia. Systolic blood pressure levels did not differ between the groups. Thus, according to the results presented in this work, short-term normobaric perinatal hypoxia does not lead to delayed changes in the regulation of sural artery tone and blood pressure in rats in adulthood.

Keywords: hypoxia, artery, Rho-kinase, nitric oxide NO, calcium-dependent potassium channels of large conductance, endothelium, smooth muscle