

VPLYV POHLAVIA A CYKLU SVETLO/TMA NA SRDCOVÚ FREKVENCIU WISTAR POTKANA V Tiletamín-Zolazepamovej anestézii počas apnoe a reoxygénácie

Novotná V.¹, Grešová S.¹, Petrášová D.², Švorc P.¹

¹Ústav lekárskej fyziológie UPJŠ LF, Košice

²Laboratórium výskumných biomodelov UPJŠ LF, Košice

Úvod Poruchy pľúcnej ventilácie prispievajú k rozvoju kardiovaskulárnych ochorení. Animálne štúdie avšak často opomínajú mnohé faktory ovplyvňujúce validitu získaných výsledkov.

Cieľ Cieľom práce bolo preskúmať vplyv pohlavia a cyklu svetlo/tma na srdcovú frekvenciu Wistar potkanov v tiletamín-zolazepamovej anestézii počas apnoe a reoxygénácie.

Materiál a metodika Wistar potkany boli rozdelené do štyroch skupín ($n = 20/\text{skupina}$) podľa pohlavia a periódy cyklu svetlo/tma. Po podaní Zoletilu 50 (30 mg/kg; i.p.) sa monitorovala srdcová frekvencia: u spontánne dýchajúcich zvierat, po tracheotómii, počas umelej pľúcnej ventilácie, po 120 s apnoe a po 20 min. reoxygénácie.

Výsledky Závislosť srdcovej frekvencie na cykle svetlo/tma sa po 60 s apnoe eliminovala a po reoxygénácii čiastočne obnovila (u samcov po 10 min., u samic po 15 min.). Apnoe vyvolalo pokles srdcovej frekvencie vo všetkých skupinách s výraznou individuálnou variabilitou. Reoxygénácia nevedla vo všetkých skupinách k návratu srdcovej frekvencie na východiskové hodnoty.

Záver Pohlavie a cyklus svetlo/tma sú významné faktory, ktoré je potrebné zohľadniť v in vivo štúdiách s potkanmi v tiletamín-zolazepamovej anestézii.

Kľúčové slová: apnoe, reoxygénácia, anestézia, pohlavie, chronobiológia

Úvod

Východiskové hodnoty srdcovej frekvencie (SF) často korelujú s výskytom arytmií, čo má v diagnostike významnú prognostickú hodnotu [27]. Rada experimentálnych štúdií na potkanoch avšak často prehliada mnohé biologické faktory, čo môže viesť k nesprávnej interpretácii získaných výsledkov. V súčasnosti je už pritom dobre známe, že viaceré kardiovaskulárne parametre vykazujú približne 24-hodinové oscilácie. Z chronobiologického hľadiska sa u normotenzných Wistar-Kyoto (WKY) aj spontánne hypertenzných (SHR) potkanov preukázala významná diurnálna variabilita SF a tlaku krvi (TK) [13]. Tieto diurnálne rytmy elektrofyziológických parametrov, vrátane SF, ovplyvňujú schopnosť myokardu odolávať arytmogénnym podnetom v závislosti od dennej doby [2], a sú výrazne modulované cirkadiánnymi vstupmi pochádzajúcimi mimo samotného srdca, najmä z centrálnych hodín lokalizovaných v suprachiasmatických jadrách hypotalamu a z autonómneho nervového systému (ANS) [4, 24].

Významnou, avšak často prehliadanou premennou v in vivo štúdiách je aj pohlavie. Keďže väčšina experimentov na potkanoch sa realizuje výlučne na samcoch, mnohé kardiovaskulárne mechanizmy súvisiace s pohlavnými rozdielmi sú doposiaľ nedostatočne objasnené. Bolo však pozorované, že WKY samice vykazujú vyššiu SF než WKY samce a SHR potkany oboch pohlaví, zatiaľ čo WKY samce majú mierne vyšší systolický TK než WKY samice [13]. Pohlavné rozdiely sa preukázali aj u potkanov Dahl salt-sensitive, u ktorých samce vykazujú horšie prežívanie a vyššie riziko náhlej smrti v porovnaní so samicami [3]. Pohlavný dimorfizmus v elektrofyziológických parametroch myokardu je potrebné zohľadniť aj u ľudí [18].

Ďalším dôležitým faktorom je podanie celkovej anestézie, ktorá na jednej strane znižuje stres, bolesť a pohyby zvierat a v súlade so zásadami „3R“, no zároveň môže narušovať cirkadiálne rytmy niektorých kardiovaskulárnych parametrov, vrátane SF a TK [16]. Rôzne anestetiká a ich kombinácie navyše pôsobia na SF odlišne [9], preto je kľúčové zvoliť takú, ktorá ovplyvní monitorované biosignály čo najmenej. Anestézia zoletil (kombinácia tiletamínu-zolazepamu) nie je u potkanov využívaná často. Aj napriek tomu sa považuje za vhodnú alternatívu pre svoj minimálny vplyv na vitálne funkcie [19], rýchly nástup účinku, relatívne nízku mortalitu potkanov [12] a, čo je dôležité pre chronobiologické štúdie, v porovnaní s inými anestetikami ako pentobarbital a ketamín/xylazín má len minimálny vplyv na rytmicitu elektrokardiografických parametrov [22]. Keďže sa zoletil využíva častejšie u domácich a voľne žijúcich zvierat, mechanizmy jeho účinkov u malých hlodavcov, najmä v kontexte kardiovaskulárnej patofyziológie, zostávajú nedostatočne objasnené.

Elektromechanické vlastnosti srdca ovplyvňujú okrem vyššie uvedených faktorov aj poruchy pľúcnej ventilácie, ktoré sa často objavujú počas spánku a sú intenzívnejšie študované u ľudí než u potkanov. Z klinického hľadiska sa typicky prejavujú epizódami hypopnoe alebo apnoe (zníženie alebo úplné prerušenie prietoku vzduchu trvajúce najmenej 10 sekúnd), sprevádzanými poklesom saturácie krvi kyslíkom a prebúdzacou reakciou s rýchlou reoxygénáciou [21]. Včasná diagnostika a primeraná terapia, vrátane redukcie hmotnosti [5], chirurgického rozšírenia horných dýchacích ciest, či kontinuálneho pozitívneho tlaku v dýchacích cestách [6, 17], môžu prispieť k zníženiu kardiovaskulárnej morbidita a mortality pacientov [14]. Aj napriek dobre známej klinickej symptomatológii spánkového apnoe u ľudí je otvorenou otázkou, do akej miery sa počas apnoickej epizódy a následnej reoxygénácie

cie menia elektrokardiografické parametre, vrátane SF, pri súčasnom zohľadnení pohlavia, anestézie a cirkadiánnej variability. Na experimentálne štúdium týchto mechanizmov v kontrolovaných podmienkach sú vhodnejšie potkany, ktorých izolovaná ľavá komora srdca po hypoxii a 30-minútovej reoxygénácii vykazuje len čiastočné obnovenie svojej funkcie [7]. Cieľom tejto práce bolo preto overiť, do akej miery je SF Wistar potkana v zoletilovej anestézii počas apnoe a následnej reoxygénácie modulovaná pohlavím a cyklom svetlo/tma (LD cyklom).

Materiál a metódy

Etické aspekty práce a chov zvierat

Protokol štúdie bol schválený Etickou komisiou UPJŠ LF v Košiciach (povolenie č. 1A/2024) a bol navrhnutý s dôrazom na minimalizáciu stresu a utrpenia zvierat. Chov a manipuláciu so zvieratami zabezpečoval kvalifikovaný personál Laboratória výskumných biomodelov UPJŠ LF v Košiciach.

Ako animálny model boli použité Wistar potkany oboch pohlaví (hmotnosť 340 ± 40 g, vek 3–4 mesiace), ktoré boli po prívoze do zverinca v 2-týždňovej karanténe. Relatívna vlhkosť vzduchu vo zverinci bola 40–60 %, teplota v kliebkach sa udržiavala na 24°C a intenzita osvetlenia počas svetlej periódy dosahovala 80 lx. V každej klietke boli dve zvieratá s neobmedzeným prístupom k vode a štandardnej peletovanej potrave.

Experimentálny dizajn

Wistar potkany boli rozdelené do štyroch skupín ($n = 20$ /skupina) podľa pohlavia a svetelnej periódy a následne 4 týždne adaptované na LD cyklus 12 h svetlo/12 h tma. Vplyv svetlej periódy sa sledoval v skupinách „samice-svetlo“ a „samce-svetlo“ so svetlom medzi 6:00–18:00, zatiaľ čo vplyv tmavej periódy sa hodnotil v skupinách „samice-tma“ a „samce-tma“ s obráteným svetelným režimom (svetlo medzi 18:00–6:00). Experimenty sa uskutočnili o 9:00 ($n = 7$ /skupina), 12:00 ($n = 7$ /skupina) a 15:00 ($n = 6$ /skupina).

V adaptačnej miestnosti bolo zviera zvážené, zmerala sa mu rektálna teplota a podala sa mu anestézia (Zoletil 50; 30 mg/kg; i.p.; Virbac; Francúzsko). Účinnosť anestézie bola overená stratou vzpriamovacieho reflexu a reakciou na bolestivý podnet. Následne bolo zviera presunuté do operačnej miestnosti, fixované v dorzálny polohe a subkutánne mu boli zavedené ihlové elektródy na záznam biosignálov. Opätovne sa kontrolovala a infralampou upravovala rektálna teplota na pôvodné hodnoty z adaptačnej miestnosti. Hĺbka anestézie bola znovu overená podľa motorických a kardiovaskulárnych reakcií na bolestivý podnet. Pomocou softvéru LabChart 8 (ADInstruments Ltd., CO, USA) bola SF kontinuálne monitorovaná a analyzovaná v II. zvide: 1. u intaktných spontánne dýchajúcich zvierat v anestézii; 2. po tracheotómii; 3. po 5-minútovej stabilizácii v umelej pľúcnej ventilácii (dychový objem 1 ml/100 g telesnej hmotnosti; dychová frekvencia 50 dychov/min.); 4. počas 2-minútovej apnoickej epizódy simulovanej vypnutím dýchacej pumpy, ktorá bola hodnotená každých 30 sekúnd; 5. po 20-minútovej reoxygénácii (obnovenie umelej pľúcnej ventilácie) hod-

notenej každých 5 minút. Po ukončení experimentu bolo zviera usmrtené aplikáciou letálnej dávky pentobarbitalu intrakardiálne.

Štatistická analýza

Namerané biosignály boli spriemerované pre svetlú a tmavú periódu LD cyklu. Vplyv sezónnych rytmov sa nezohľadňoval, keďže všetky merania prebiehali v januári a februári. U samíc nebol zohľadnený estrálny cyklus. Vzhľadom na variabilitu dát boli použité neparametrické štatistické testy. Existencia významných rozdielov v SF počas jednotlivých experimentálnych krokov bola hodnotená Kruskal-Wallisovým testom s následným Dunnovým *post hoc* testom pre identifikáciu rozdielov medzi konkrétnymi skupinami. Reakcia SF na apnoe a reoxygénáciu sa porovnávala s intaktnými potkanmi pomocou Friedmanovho testu s Dunnovým *post hoc* testom. Za štatisticky významné sa považovali hodnoty $p < 0,05$. Štatistická analýza a grafické spracovanie dát boli vykonané v softvéri Prism 8 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

Výsledky

Vplyv pohlavia a LD cyklu na SF

Celkový priebeh zmien SF počas jednotlivých experimentálnych krokov, hodnotený Kruskal-Wallisovým testom, poukazuje na významné rozdiely najmä na začiatku experimentu a na konci počas reoxygénácie (Obr. 1). Zoletil mal u intaktných potkanov oboch pohlaví tachykardický účinok. Počas apnoe sa SF znížila vo všetkých skupinách s výraznejším rozptylom nameraných hodnôt, pričom reoxygénácia viedla k návratu SF na hodnoty takmer blízke intaktných potkanov. Vyššie hodnoty SF u oboch pohlaví počas tmavej periódy zodpovedajú fyziologickej aktivite potkanov v tejto časti režimového dňa. Priemerné hodnoty SF v jednotlivých experimentálnych krokoch sú uvedené v Tabuľke 1.

Pri porovnaní konkrétnych skupín pomocou Dunnovho *post hoc* testu (Obr. 2) bola zachovaná závislosť SF od LD cyklu u intaktných samcov aj samíc, pričom hodnoty SF boli vyššie počas tmavej, teda aktívnej periódy potkanov, v ktorej intaktné samice vykazovali vyššiu SF než intaktné samce. Táto závislosť pretrvávala u oboch pohlaví počas umelej pľúcnej ventilácie, po 30-sekundovom apnoe, po 15-minútovej reoxygénácii a po 20-minútovej reoxygénácii. Po 10-minútovej reoxygénácii bola u samíc závislosť na LD cykle eliminovaná a zachovaná len u samcov.

Reakcia SF na apnoe a reoxygénáciu

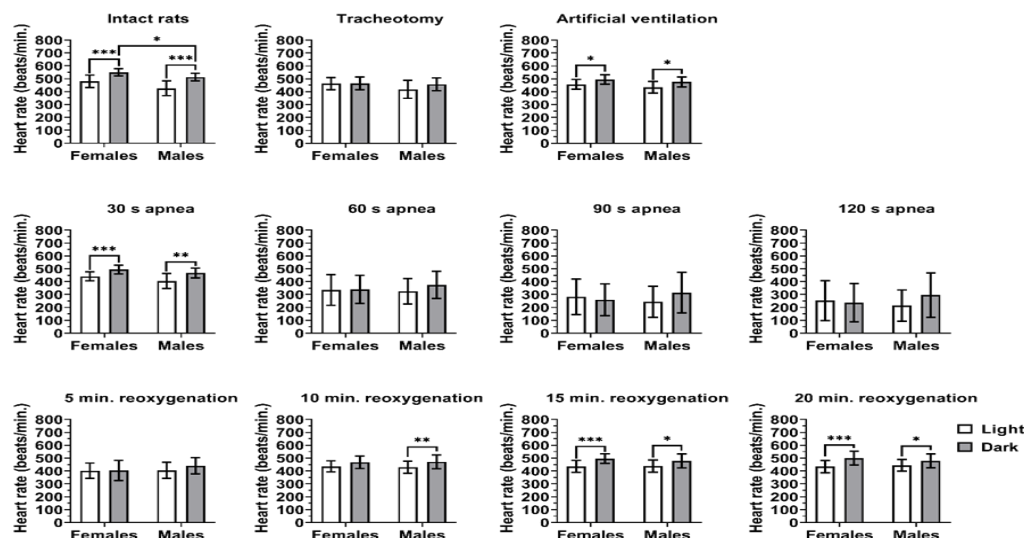
Apnoe viedlo k poklesu SF vo všetkých experimentálnych skupinách v porovnaní so spontánne dýchajúcimi intaktnými potkanmi (vo všetkých skupinách podľa Friedmanovho testu $p < 0,001$), pričom odpoveď jedincov vykazovala výraznú variabilitu. Po 2-minútovej apnoickej epizóde došlo k poklesu SF pod 300 úderov/min u 55 % samíc a 68 % samcov v svetlej perióde a u 70 % samíc a 47 % samcov v tmavej perióde.

Analýza zmien SF počas reoxygénácie v porovnaní s intaktnými potkanmi naznačuje, že reoxygénácia po apnoickej epizóde nemusí automaticky viesť k úplnému návratu SF na východiskové hodnoty (vo všetkých skupi-

nách podľa Friedmanovho testu $p < 0,001$). Podľa Dun-
novho *post hoc* testu bola SF aj napriek 20-minútovej
reoxxygenácii signifikantne odlišná od hodnôt intaktných

potkanov u samic v svetlej a u samcov v tmavej perióde.
Grafický priebeh zmien SF počas apnoe a následnej re-
oxygenácie je znázornený na Obrázku 3.

Figure 1 Dynamics of heart rate changes in Wistar rats during the experimental procedure.

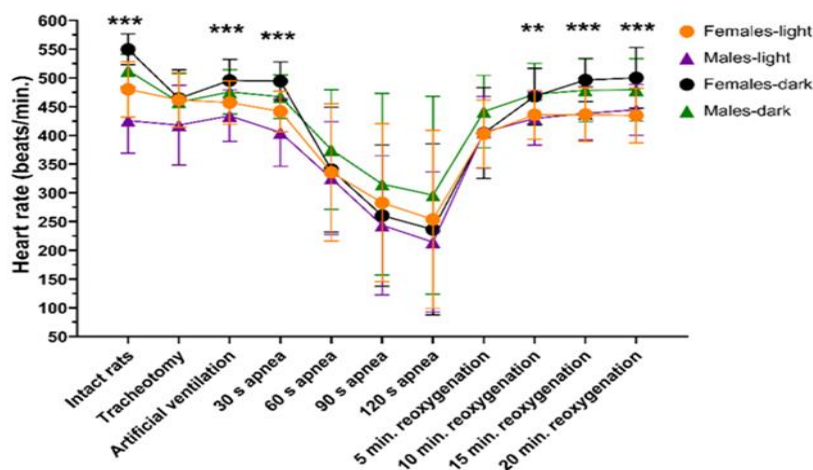


Data are presented as mean $\pm$ standard deviation. Asterisks indicate the level of statistical significance according to the nonparametric Kruskal–Wallis test: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Table 1 Mean heart rate of Wistar rats at each step during the experimental procedure.

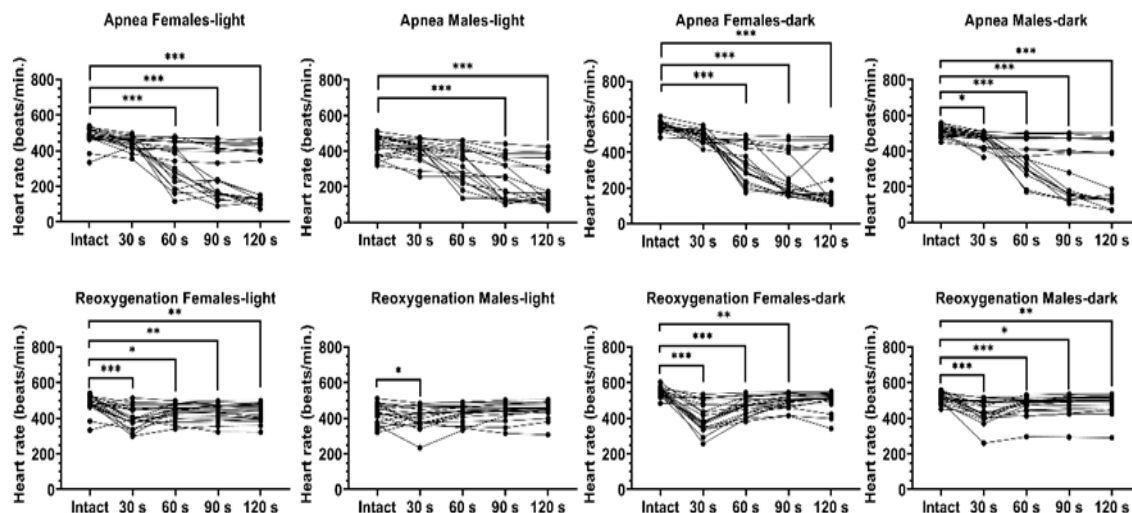
Experimental step		Heart rate in beats/min. (mean $\pm$ standard deviation)			
		Females-light	Males-light	Females-dark	Males-dark
Intact rats		480.2 $\pm$ 48.4	425.8 $\pm$ 56.8	549.9 $\pm$ 27.0	513.0 $\pm$ 28.5
Tracheotomy		462.0 $\pm$ 47.7	418.0 $\pm$ 69.4	464.3 $\pm$ 50.1	457.9 $\pm$ 49.6
Artificial ventilation		457.2 $\pm$ 37.7	434.1 $\pm$ 44.9	495.7 $\pm$ 36.9	475.7 $\pm$ 38.9
Apneic episode	30 s	441.8 $\pm$ 35.4	405.1 $\pm$ 58.6	494.3 $\pm$ 33.4	467.4 $\pm$ 37.7
	60 s	335.9 $\pm$ 119.5	325.5 $\pm$ 98.3	340.6 $\pm$ 108.5	375.3 $\pm$ 104.2
	90 s	282.6 $\pm$ 137.6	243.6 $\pm$ 121.1	260.5 $\pm$ 123.2	315.2 $\pm$ 158.2
	120 s	253.8 $\pm$ 155.0	214.5 $\pm$ 122.0	236.4 $\pm$ 148.9	296.1 $\pm$ 172.2
Reoxygenation	5 min.	402.9 $\pm$ 59.0	405.4 $\pm$ 62.0	404.0 $\pm$ 79.0	441.6 $\pm$ 63.0
	10 min.	436.0 $\pm$ 42.9	429.6 $\pm$ 46.4	468.0 $\pm$ 48.7	471.8 $\pm$ 53.7
	15 min.	436.3 $\pm$ 47.0	438.2 $\pm$ 46.6	496.3 $\pm$ 37.9	478.6 $\pm$ 54.8
	20 min.	434.7 $\pm$ 47.36	444.6 $\pm$ 44.4	500.2 $\pm$ 53.1	479.3 $\pm$ 54.4

Figure 2 Significant effects of sex and the light/dark cycle on the heart rate of Wistar rats.



Data are presented as bars representing the mean $\pm$ standard deviation. Asterisks indicate the level of statistical significance according to Dunn's post hoc test: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figure 3 Heart rate of Wistar rats during apnea and reoxygenation compared with intact rats.



Diskusia

Získané výsledky poukazujú na to, že pohlavie a LD cyklus predstavujú kľúčové faktory, ktoré je potrebné zohľadniť pri interpretácii výsledkov *in vivo* štúdií s potkanmi v celkovej zoletilovej anestézii. Apnoická epizóda viedla vo všetkých skupinách k poklesu SF s veľkou individuálnou variabilitou, čo naznačuje rozdielnu toleranciu potkanov voči hypoxii. Jedným z pravdepodobných vysvetlení je odlišná aktivita ANS. Hypoxia u potkanov podporuje dominanciu vagového tonusu a vyvoláva u nich fylogeneticky konzervovanú bradykardickú odpoveď. Individuálna odpoveď na hypoxiu môže byť ovplyvnená experimentálnymi podmienkami, ako je pooperačný stres, podanie anestézie, či rozdielny bazálny sympatikový tonus [26], keďže ANS potkanov je mimoriadne citlivý na viaceré vnútorné aj vonkajšie faktory [23]. Okrem možných pohlavných rozdielov je potrebné zohľadniť aj vplyv samotného estrálneho cyklu a hormonálneho profilu samíc, nakoľko estrogény významne ovplyvňujú kardiovaskulárnu reguláciu aj variabilitu vagového tonusu počas jednotlivých fáz estrálneho cyklu [10]. Na monitorované biosignály môžu mať vplyv aj ďalšie faktory, ako sezónna rytmicitá ANS [1], vek, resp. hmotnosť zvierat [15], anestézia, telesná teplota, či stres zvierat [20,11].

Následné obnovenie umelej pľúcnej ventilácie síce viedlo k postupnému nárastu SF, avšak jej hodnoty sa ani po 20 minútach nevrátili na úroveň intaktných zvierat vo všetkých skupinách. Experimentálne výsledky na izolovaných srdciach potkana naznačujú, že reoxygénácia po hypoxii nemusí automaticky viesť k úplnej obnove funkcie ľavej komory [7]. Vo všeobecnosti majú orgány a tkanivá cicavcov len obmedzenú schopnosť vyrovnávať sa s anoxiou a následnou reoxygénáciou, ktorá pre ne predstavuje patologický stav [8]. Z mechanistického hľadiska hypoxia a následná reoxygénácia v potkaních kardiomyocytoch línie H9C2 aktivuje glykolyzu a podporuje laktyláciu, a tým destabilizáciu kľúčového antioxidantného enzýmu glutatiónperoxidázy 4, čo môže facilitovať

ferroptózu kardiomyocytov a tým potencovať samotné poškodenie srdca [25]. Konkrétne biologické mechanizmy zodpovedné za rozdiely v SF po reoxygénácii medzi samícami a samcami v rôznych periódach dňa však zostávajú neobjasnené a vyžadujú ďalší výskum.

Hoci táto práca má viacero limitov, ako je nezohľadnenie estrálneho cyklu samíc, sezónnych rytmov, či simulácia iba jednorazovej apnoickej epizódy bez opakovaných cyklov apnoe–reoxygénácia, získané poznatky môžu byť využité v budúcom štúdiu kardiovaskulárnych rizík spojených s apnoickými epizódami a reoxygénáciou. Uplatnenie môžu nájsť aj pri hodnotení bezpečnostného profilu anestetík u potkanov a pri optimalizácii načasovania experimentov s cieľom minimalizovať kardiovaskulárne riziká.

Záver

Záverom možno konštatovať, že pohlavie a LD cyklus významne ovplyvňujú SF Wistar potkanov v zoletilovej anestézii, pričom rozsah a charakter týchto zmien sa líšia v závislosti od experimentálnych podmienok a naznačujú existenciu dvoch populácií potkanov s rozdielnou toleranciou voči hypoxii počas apnoe. Následná 20-minútová reoxygénácia nemusí viesť k úplnému návratu SF na hodnoty spontánne dýchajúcich zvierat.

Zoznam skratiek

ANS – autonómny nervový systém

LD cyklus – cyklus svetlo/tma

SF – srdcová frekvencia

SHR potkany – spontánne hypertenzné potkany

TK – tlak krvi

WKY potkany – Wistar-Kyoto potkany

Literatúra

- Agulova, L. P., et al.: Seasonal dynamics of heart rate variability in three murine rodent species. *Russ J Ecol.* 45, 2014, (2):128–135.

2. Delisle, B. P., et al.: Circadian Regulation of Cardiac Arrhythmias and Electrophysiology. *Circ Res.* 134, 2024, (6):659–674.
3. Elkholey, K., et al.: Sex differences in the incidence and mode of death in rats with heart failure with preserved ejection fraction. *Exp Physiol.* 106, 2021, (3):673–682.
4. Gottlieb, L. A., et al.: Prolonged QT intervals in mice with cardiomyocyte-specific deficiency of the molecular clock. *Acta Physiol.* 233, 2021, (1):e13707.
5. Grešová, S., et al.: Obštrukčné spánkové apnoe, obezita a architektúra. *Ateroskleróza.* 23, 2019, (3–4):1332–1338.
6. Grešová, S., et al.: Prehľad nových možností liečby spánkových porúch dýchania so zameraním na obštrukčné spánkové apnoe. *Ateroskleróza.* 27, 2023, (3–4):1883–1891.
7. Guo, H., et al.: The Effects of Dexmedetomidine on Left Ventricular Function During Hypoxia and Re-oxygenation in Isolated Rat Hearts. *Anesth Analg.* 100, 2005, (3):629–635.
8. Hermes-Lima, M., Zenteno-Savín T.: Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 133, 2002, (4):537–556.
9. Konopelski, P., Ufnal, M.: Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human. *Physiol Res.* 65, 2016, 717–725.
10. Kuo, T. B. J., et al.: Cardiac Neural Regulation Oscillates with the Estrous Cycle in Freely Moving Female Rats: The Role of Endogenous Estrogens. *Endocrinology.* 151, 2010, (6):2613–2621.
11. Layton, R., et al.: The impact of stress and anesthesia on animal models of infectious disease. *Front Vet Sci.* 10, 2023.
12. Machado, E. F. A., et al.: Effects of different general anesthetics on serum hemolysis and hepatic and muscular glycogenolysis in rats. *Braz J Me Biol Res.* 42, 2009, (11):1035–1038.
13. Maris, M. E., et al.: Gender differences in blood pressure and heart rate in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 32, 2005, (1–2):35–39.
14. Martí-Almor, J., et al.: Obstructive Sleep Apnea Syndrome as a Trigger of Cardiac Arrhythmias. *Curr Cardiol Rep.* 23, 2021, (3):20.
15. Mutiso, S. K., et al.: Relationship between anthropometric measures and early electrocardiographic changes in obese rats. *BMC Res Notes.* 7, 2014, (1):931.
16. Orts-Sebastian, A., et al.: Impact of anaesthesia on circadian rhythms and implications for laboratory experiments. *Exp Neurol.* 311, 2019, 318–322.
17. Paraničová, I., et al.: Artérová hypertenzia a syndróm obštrukčného spánkového apnoe. *Ateroskleróza.* 21, 2017, (3–4):1092–1099.
18. Prajapati, C., et al.: Sex differences in heart: from basics to clinics. *Eur J Med Res.* 27, 2022, (1):241.
19. Raušer, P., et al.: Changes of Vital Parameters after Administration of Butorphanol during Tiletamine-Zolazepam-Ketamine-Xylazine Anaesthesia for Joint Surgery in Miniature Pigs. *Acta Vet Brno.* 77, 2008, (2):251–256.
20. Redfors, B., et al.: Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat. *Lab Anim.* 48, 2014, (1):6–14.
21. Roder, F., et al.: Interactions of Sleep Apnea, the Autonomic Nervous System, and Its Impact on Cardiac Arrhythmias. *Curr Sleep Med Rep.* 4, 2018, (2):160–169.
22. Švorc, P., et al.: Chronobiological perspectives on myocardial electrophysiological parameters under three types of general anaesthesia in a rat model. *Biol Rhythm Res.* 48, 2017, (3):343–351.
23. Švorc, P., et al.: Sex differences, chronobiology and general anaesthesia in activities of the autonomic nervous system in rats. *Exp Physiol.* 108, 2023, (6):810–817.
24. Tong, M., et al.: Circadian expressions of cardiac ion channel genes in mouse might be associated with the central clock in the SCN but not the peripheral clock in the heart. *Biol Rhythm Res.* 44, 2013, (4):519–530.
25. Wang, Y., et al.: Hypoxia/reoxygenation-induced glycolysis mediates myocardial ischemia–reperfusion injury through promoting the lactylation of GPX4. *J Cardiovasc Transl Res.* 18, 2025, (4):762–774.
26. Zajączkowski, S., et al.: Promising effects of xanthine oxidase inhibition by allopurinol on autonomic heart regulation estimated by heart rate variability (HRV) analysis in rats exposed to hypoxia and hyperoxia. *PLoS One.* 13, 2018, (2):e0192781.
27. Zaza, A., et al.: Arrhythmias and Heart Rate: Mechanisms and Significance of a Relationship. *Arrhythmia Electrophysiol Rev.* 7, 2018, (4):232–237.

THE EFFECT OF SEX AND THE LIGHT/DARK CYCLE ON HEART RATE IN WISTAR RATS DURING APNEA AND REOXYGENATION

Novotná V., Grešová S., Petrášová D., Švorc P.

Introduction Disorders of pulmonary ventilation contribute to the development of cardiovascular diseases. However, animal studies often overlook some factors that may affect the validity of the obtained results.

Objective The aim of the study was to investigate the influence of sex and the light/dark cycle on heart rate in Wistar rats under tiletamine–zolazepam anesthesia during apnea and subsequent reoxygenation.

Material and Methods After a 4-week adaptation to a 12 h light/12 h dark cycle, Wistar rats were divided into four groups (n = 20/group) according to sex and light/dark period. Following anesthesia administration (Zoletil 50; 30 mg/kg; i.p.), heart rate was continuously recorded in lead II: 1. in intact spontaneously breathing animals; 2. after tracheotomy; 3. during artificial lung ventilation; 4. after 120-second apnea; and 5. after 20-minute reoxygenation.

Results The dependence of heart rate on the light/dark cycle was eliminated after 60 seconds of apnea and was restored following reoxygenation (after 10 minutes in males and 15 minutes in females). Apnea induced a decrease in heart rate in all groups with significant individual variability. The findings also indicate that reoxygenation does not necessarily restore heart rate to the baseline values observed in intact rats.

Conclusion Sex and the light/dark cycle are important factors that should be considered in in vivo studies in rats under tiletamine–zolazepam anesthesia.

Key words: apnea, reoxygenation, anesthesia, sex, chronobiology

<https://doi.org/10.33542/ATE2026-12-5>

Tento výskum bol financovaný EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00008.

Žiadny z autorov nemá potencionálny konflikt záujmov.

Mgr. Viktória Novotná
Ústav lekárskej fyziológie
Lekárska fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika
Trieda SNP 1, 040 11 Košice
E-mail: viktor.novotna@student.upjs.sk