

УДК 612.21:612.18:612.172.2.084

Н.А. Чиж

Особенности влияния дыхания и сосудистого тонуса на вариабельность сердечного ритма у крыс

UDC 612.21:612.18:612.172.2.084

N.A. Chizh

Effect of Respiration and Vascular Tone on Heart Rate Variability in Rats

Реферат: В работе на основании результатов сочетанного исследования (электрокардиография, пневмотахография, прямая сфигмография) изучено влияние дыхания и сосудистого тонуса на вариабельность сердечного ритма (ВСР) крыс и представлена физиологическая интерпретация выбранных диапазонов спектра. При изучении ВСР крыс в состоянии бодрствования установлено, что нижняя граница диапазона HF-волн должна быть не более 0,8 Гц, верхняя – не менее 2,5 Гц, а в стрессовом состоянии данный показатель увеличивается до 3 Гц. Экспериментально доказано, что для крыс в состоянии бодрствования характерен «пакетный» тип дыхания (от 2 до 15–20 с). Частота дыхательных движений в каждом «пакете» разная, поэтому в высокочастотной области спектра может регистрироваться два и более пиков. Это подтверждает существование нескольких осцилляторов – «водителей» ритма дыхательного центра. Установлено, что у наркотизированных крыс вазомоторные волны влияют на вариабельность дыхательного и сердечного ритмов в диапазоне 0,25–0,5 Гц с пиком 0,4 Гц, поэтому нижняя граница средних MF-волн не должна превышать 0,25 Гц.

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, спектральный анализ, дыхание, сосудистый тонус, крысы.

Реферат: У роботі на підставі результатів поєданого дослідження (електрокардіографія, пневмотахографія, пряма сфигмографія) вивчено вплив дихання та судинного тонусу на варіабельність серцевого ритму (ВСР) щурів і представлена фізіологічна інтерпретація обраних діапазонів спектра. При вивченні ВСР щурів у стані неспання встановлено, що нижня межа діапазона HF-хвиль повинна бути не більше 0,8 Гц, верхня – не менше 2,5 Гц, а в стресовому стані даний показник збільшується до 3 Гц. Експериментально доведено, що для щурів у стані неспання характерний «пакетний» тип дихання (від 2 до 15–20 с). Частота дихальних рухів у кожному «пакеті» різна, тому в високочастотній зоні спектра може реєструватися два та більше піків. Це підтверджує існування кількох осциляторів – «водіїв» ритму дихального центру. Встановлено, що у наркотизованих щурів вазомоторні хвилі впливають на варіабельність дихального та серцевого ритмів у діапазоні від 0,25–0,5 Гц із піком 0,4 Гц, тому нижня межа середніх MF-хвиль не повинна перевищувати 0,25 Гц.

Ключові слова: варіабельність серцевого ритму, спектральний аналіз, дихання, судинний тонус, щури.

Abstract: Basing on findings of a combined study (electrocardiography, pneumotachography, direct sphygmography) the paper discusses the effect of respiration and vascular tone on heart rate variability (HRV) in rats and presents a physiological interpretation of the selected spectral ranges. Studying the HRV in conscious rats showed the lower HF-wave range limit to be not higher than 0.8 Hz, and the upper one not less than 2.5 Hz; under stress this index increased up to 3 Hz. The experiments showed that conscious rats were characterized with the 'package-like' respiration (from 2 to 15–20 s). The respiratory rate in each 'package' was different, therefore two or more peaks might be recorded at high-frequency spectral range. This fact confirmed the existence of several oscillators-pacemakers of respiratory center. In the anaesthetised rats the vasomotor waves were established to affect the variability of respiratory and heart rates within the range of 0.25–0.5 Hz with 0.4 Hz peak. Therefore the lower limit of the average MF waves should not exceed 0.25 Hz.

Key words: heart rate variability, spectral analysis, respiration, vascular tone, rats.

Для определения эффективности терапевтических и хирургических методов при моделировании и лечении патологических состояний необходимо иметь четкое представление о физиологической норме (как о биологическом оптимуме жизнедеятельности) и понимать механизмы патофизиологических процессов, протекающих в организме.

Адаптационные и функциональные возможности биологического объекта могут быть изучены с помощью такого неинвазивного и простого

To determine the efficiency of therapeutic and surgical methods applied to treat pathological states in experiment or in clinics it is necessary to have a distinct understanding of physiological norm (as a biological optimum of vital activity) and to understand the mechanisms of pathophysiological processes, occurring in an organism.

Adaptative and functional abilities of a biological object may be studied using such a non-invasive and simple 'tool' as the heart rate variability (HRV) [1, 14, 19].

Отдел экспериментальной криомедицины, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

***Адрес для корреспонденции:**

ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61016;
тел.: (+38 057) 372-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52,
электронная почта: n.chizh@ukr.net

Поступила 01.12.2015

Принята в печать 20.01.2016

Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2016. – Т. 26, №3. – С. 260–270.
© 2016 Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

Department of Experimental Cryomedicine, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

***Address for correspondence:**

23, Pereyaslavskaya str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 372 7435, fax: +380 57 373 5952,
e-mail: n.chizh@ukr.net

Received December, 01, 2015

Accepted January, 20, 2016

Probl Cryobiol Cryomed 2016; 26(3): 260–270.

© 2016 Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

«инструмента», как вариабельность сердечного ритма (BCP) [1, 6, 10].

Немаловажно, что данный метод может применяться при изучении вегетативного статуса организма в процессе акклимации после холодových воздействий и для определения эффективности локальных криоповреждений тканей и органов при экспериментальном моделировании патологий или терапии.

В 1996 г. была проведена стандартизация измерений и дана физиологическая интерпретация BCP человека [18].

Такая процедура для крыс, которые наиболее часто используются в экспериментальных исследованиях, не проводилась, что затрудняет воспроизведение и сопоставление результатов исследований, полученных в разных лабораториях мира [8, 15].

Ранее на основании представленных литературных данных нами были определены оптимальные частотные диапазоны для проведения спектрального анализа BCP у крыс: TP (Total Power) – 0,015–3 Гц; VLF (Very Low Frequency) – 0,015–0,04 Гц; LF (Low Frequency) – 0,05–0,79 Гц; HF (High Frequency) – 0,8–3 Гц [8]. Для подтверждения выбранных характеристик исследуемых волн необходимо провести анализ экспериментальных результатов. В частности, важно изучить частоту дыхания и ее влияние на сердечный ритм, поскольку высокочастотные (дыхательные) HF-волны в спектре формируются в результате дыхательных движений [4, 15].

Кроме того, при спектральном анализе BCP выделяют вазомоторные волны, частота колебаний которых у человека составляет 0,1 Гц [5, 10, 18]. На спектрограмме они представлены в виде LF-волн с диапазоном 0,04–0,15 Гц [3, 5, 10]. Результаты исследований вазомоторных волн у крыс практически отсутствуют, при этом известно, что пик этих волн приходится на 0,4 Гц [13].

Установлено, что низкочастотные волны (VLF-волны) отражают гуморально-метаболические процессы в организме. На спектрограмме человека они находятся в диапазоне от 0 до 0,04 Гц [10, 18], однако информация о диапазоне VLF-волн у крыс практически отсутствует.

На основании вышеизложенного целью работы было исследование влияния дыхательного и сосудистого компонентов на BCP крыс.

Материалы и методы

Работу выполняли в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными V Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных

Of importance is to note, that this method may be applied in studying an organism vegetative status during acclimation after cold exposures and to determine the efficiency of local cryodamages of tissues and organs in either experimental simulation of pathologies or therapy.

In 1996 the measurements of human HRV were standardized and their results were physiologically interpreted [17].

There was such an activity in case of rats, being the most often used in experimental studies, making it difficult to reproduce and to compare the findings, obtained in different laboratories around the world [3, 13].

The previous paper [3] summarized the published data and described the optimal frequency ranges to perform the HRV spectral analysis in rats: TP (Total power) was found to be 0.015–3 Hz; VLF (Very Low Frequency) was 0.015–0.04 Hz; LF (Low Frequency) was 0.05–0.79 Hz; and HF (High Frequency) was 0.8–3 Hz. To confirm the selected characteristics of the studied waves it is necessary to perform an experimental analysis. In particular, it is important to investigate the respiratory rate and its effect on heart rate, since the high-frequency (respiratory) HF-wave component of the spectra results from the respiratory movements [10, 13].

In addition, the HRV spectral analysis emphasises the vasomotor waves, which oscillation frequency in human is 0.1 Hz [9, 12, 19]. In a spectrogram these are presented as LF-waves with the range of 0.04–0.15 Hz [10, 13, 19]. There are virtually no findings of vasomotor waves in rats, only known that the peak of these waves is 0.4 Hz [6].

The VLF-waves were established to reflect the humoral and metabolic processes in a body. In human spectrogram they are within the range from 0 to 0.04 Hz [17, 19], but there is also no distinct information about the VLF-wave range in rats.

Basing on the mentioned above the research was aimed to study the effect of respiratory and vascular components of HRV in rats.

Materials and methods

This research was performed according to the General Principles of Experiments in Animals approved by the 5th National Congress in Bioethics (Kyiv, 2013) and agreed to the statements of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). The experiment designs were approved by the Commission in Bioethics of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine (Kharkiv, Ukraine).

Experiments were performed in 7-month-old Wistar male rats ($n = 40$), weighing 200–300 g.



и других научных целей» (Страсбург, 1986). Методики проведения экспериментов утверждены комиссией по биоэтике Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков, Украина).

Эксперименты проводили на 7-месячных крысах-самцах ($n = 40$) линии Вистар массой 200–300 г.

Для достижения поставленной цели использовали синхронную запись электрокардиографии, непрямой пневмотахографии, сфигмографии и доплерографии, затем полученные данные сопоставляли с результатами кардиоритмограммы, пневмотахограммы и спектрограммы.

Электрокардиографические исследования проводили в течение 5 мин на аппаратно-программном комплексе «Поли-Спектр 12» («Нейрософт», Россия) с использованием программного обеспечения «Поли-Спектр-Ритм» (версия 4.8) в стандартных I, II, III и дополнительных отведениях avL, avR и avF. Данные ЭКГ регистрировали по специально разработанной методике, которая позволяла производить запись в условиях, максимально приближенных к свободному поведению животных [9].

Частоту дыхания и амплитуду кривой дыхания у крыс определяли с помощью непрямо пневмотахографии. С этой целью сфигмодатчик ДАП-1 («Нейрософт») (датчик артериального пульса) устанавливали на боковую поверхность грудной клетки животного и подключали к электрокардиографу. Показатели регистрировали в отведении СФГ1.

Вазомоторные волны исследовали с помощью прямой сфигмографии на брюшном отделе аорты. Для этого животных наркотизировали и после срединной лапаротомии непосредственно на аорту накладывали сфигмодатчик ДАП-1, который подключали к электрокардиографу в отведении СФГ2. В послеоперационном периоде в течение 2-х суток для обезболивания крысам вводили 1 мг/кг 2 раза в сутки «Налбуфин» (ООО «Юрия-Фарм», Украина).

Восходящий отдел аорты крыс исследовали на ультразвуковом эхотомоскопе «Сономед 500» («Сономед», Россия) с помощью линейного датчика 7,5L38 в режимах В и D.

В зависимости от физиологического состояния экспериментальные животные были разделены на четыре группы по 10 в каждой: 1 – бодрствование (норма); 2 – стресс (фиксация); 3 – ингаляционная наркотизация эфиром; 4 – неингаляционная наркотизация (внутрибрюшинное введение смеси 10%-го раствора тиопентала натрия и 20%-го раствора оксибутирата натрия в соотношении 1:3 в дозе 2 мл/кг). Животных групп 1 и 2 фиксировали

To achieve the stated goal we used a synchronous record of electrocardiography, indirect pneumotachography, sphygmography and Doppler sonography, then the findings were compared with the results of cardiorythmogram, pneumotachorhythmogram and spectrogram.

Electrocardiographic studies were done during 5 min using the digital ECG system Poly-Spectrum-12 (Neurosoft, Russia) using the Poly-Spectrum-Rhythm software (version 4.8) in the standard I, II, III and additional avL, avR and avF leads. The ECG data were recorded by the specially designed technique, allowing to record the data in the conditions, most closely resembling free behaviour of animals [4].

The respiratory rate and the amplitude of respiration curve in rats were determined using the indirect pneumotachography. With this purpose the sphygmosensor DAP-1 (Neurosoft, Russia) (arterial pulse sensor) was placed on a side surface of animal breast and connected to electrocardiograph. The indices were registered in SPG1 lead.

Vasomotor waves were investigated by a direct sphygmography in abdominal aorta. For this purpose the animals were anaesthetised and after midline laparotomy the sphygmosensor DAP-1, connected to electrocardiograph in SFG2 lead, was applied directly to aorta. For anesthesia in post-surgery period the rats received 1 mg/kg Nalbuphine (Yuria-Pharm, Ukraine) twice a day within 2 days.

An ascending aorta of rats was examined with ultrasound scanner Sonomed 500 (Sonomed, Russia) by linear sensor 7,5L38 in regimens B and D.

Depending on physiological state the experimental animals were divided into four groups of 10 each: the group 1 comprised conscious animals (the norm); the animals under stress (fixation) were in the group 2; the group 3 included those with ether inhalation anesthesia; in the group 4 were those with non-inhalation anesthesia (intraperitoneal injection of a mixture of 10% thiopental sodium and 20% sodium oxybutyrate in 1: 3 ratio at a dose of 2 ml/kg). The animals in groups 1 and 2 were fixed in a sitting position, and those of groups 3 and 4 were in dorsal one.

The results were statistically processed with parametric Student-Fisher t-tests and using non-parametric MANOVA method. Quantitative data were presented as mean and standard deviations. The indices were calculated using SPSS 17.0 software for Windows.

Results and discussion

To study the respiratory arrhythmia we calculated the respiratory rate (RR), which made in rats 97.2 ± 6.1 respiratory cycles/min in the norm. Herewith the minimum number of respiratory movements was at



в положении сидя, групп 3 и 4 – в положении лежа на спине.

Результаты статистически обрабатывали параметрическим методом Стьюдента-Фишера с использованием t-критерия и непараметрическим методом MANOVA. Количественные данные представляли в средних величинах и средних квадратичных отклонениях. Показатели рассчитывали с помощью программы «SPSS 17.0 for Windows».

Результаты и обсуждение

Для изучения дыхательной аритмии подсчитывали частоту дыхательных движений (ЧДД), которая в норме у крыс составляла $97,2 \pm 6,1$ циклов вдох-выдох/мин. При этом минимальное количество дыхательных движений было на уровне 48 циклов вдох-выдох/мин (0,8 Гц), а максимальное – 156 (2,6 Гц) (таблица).

Для выявления максимальной частоты дыхательных движений у крыс моделировали стрессовое состояние. По результатам электрокардиографии и пневмотахографии установлено, что соотношение ЧСС/ЧДД уменьшалось относительно нормы на 13% за счет увеличения ЧДД на 46,7%. Максимальный показатель ЧДД составил 180 циклов вдох-выдох/мин (3 Гц) при 567 сердечных сокращениях в минуту (таблица).

После введения в наркоз у животных было выключено сознание и преобладало влияние на сердечный ритм парасимпатического звена вегетативной регуляции. Максимальное увеличение соотношения ЧСС/ЧДД (до 6,5) отмечалось у животных группы 4, что свидетельствовало о развитии состояния глубокого наркоза, при котором амплитуда дыхательных движений увеличивалась (таблица). Изменение частоты дыхания отражено на спектрограмме в виде высоких пиков HF-волн (рис. 1, D). Минимальная частота дыхания в этой группе соответствовала 47 циклам вдох-выдох/мин (0,78 Гц).

Программа «Поли-Спектр-Ритм» позволяет изменять параметры просмотра записи ЭКГ по скорости в пределах от 5 до 200 мм/с, а также регулировать амплитуду сигнала от 2,5 до 80 мм/мВ, что является необходимым условием для анализа результатов исследования. Применение данной опции позволило графически представить, как у животных группы 4 на один интервал между вдохами приходится 6–8 сердечных сокращений (рис. 1, А, В, С). При этом на спектрограмме в высокочастотной области был зарегистрирован пик – 0,85 Гц и дополнительный пик – 1,65 Гц (рис. 1, D).

У животных в состоянии бодрствования один цикл вдох-выдох в среднем включал 4,3 кардиоциклов, а средняя ЧДД – 97 дыханий/мин (таблица, рис. 2, А), о чем свидетельствует пик на спектрограмме с частотой 1,6 Гц (рис. 2, С). На пневмотахо-

Показатели частоты сердечных сокращений и дыхательных движений у крыс
Indices of heart and respiratory rates in rats

Группа Group	ЧСС, в минуту HR per minute	ЧДД, в минуту RR per minute	Соотношение ЧСС/ЧДД HR/RR
1	$403,4 \pm 7,3$	$97,2 \pm 6,1$	4,3
2	$515,0 \pm 9,8^*$	$142,6 \pm 5,7^*$	3,7
3	$384,9 \pm 8,4$	$115,3 \pm 6,9$	3,4
4	$394,9 \pm 9,2$	$61,4 \pm 3,2^*$	6,5

Примечание: * – отличия статистически достоверны по сравнению с нормой, $p \leq 0,05$.

Note: * – the differences are statistically significant if compared with the norm, $p \leq 0.05$.

a level of 48 respiratory cycles/min (0.8 Hz), and the maximum one was 156 (2.6 Hz) (Table).

We simulated stress in rats to reveal the maximum respiratory rate. By the results of electrocardiography and pneumotachography the HR/RR ratio was established to decrease by 13% comparing to the norm due to an increase in RR by 46.7%. The maximum index of RR was 180 respiratory cycles/min (3 Hz) at 567 heart beats per minute (Table).

After anaesthetising the animals were unconscious, and the effect of parasympathetic autonomic regulation on heart rate prevailed. The maximum augmentation of HR/RR ratio (up to 6.5) was observed in group 4 animals, testifying to the deep anesthesia development, where the respiratory rate amplitude increased (Table). Change in respiratory rate is reflected in spectrogram as the high peaks of HF-waves (Fig. 1D). The minimum respiratory rate in this group corresponded to 47 respiratory cycles/min (0.78 Hz).

The Poly-Spectrum-Rhythm software allows changing the viewing options of ECG record by the rate within the limits from 5 to 200 mm/s, and adjusting the signal amplitude from 2.5 to 80 mm/mV as well, that is a necessary condition for analysis of the results. This option enabled to demonstrate graphically how 6–8 heart beats correspond to 1 interval between breaths in group 4 animals (Fig. 1A, B, C). Herewith the peak of 0.85 Hz and an additional one of 1.65 Hz were recorded in spectrogram in high-frequency range (Fig. 1, D).

In conscious animals one respiratory cycle comprised in average 4.3 cardiocycles, and an average RR was 97 breaths/min (Table, Fig. 2A), as evidenced by the peak in spectrogram with 1.6 Hz frequency (Fig. 2C). In pneumotachorhythmogram the maximum interval between respiratory cycles was 1.25 s.

Рис. 1. Показатели сердечного и дыхательного ритма крысы под действием неингаляционного наркоза; ЧСС – 380 сокращений/мин; ЧДД – 51 дыхательных движений/мин. Пунктирными линиями обозначено расстояние между вдохами, треугольником – начало фазы вдоха; **A** – ЭКГ (скорость развертки 100 мм/с, амплитуда сигнала 40 мм/мВ); **B** – ЭКГ и пневмотахограмма (скорость развертки 25 мм/с, амплитуда сигнала 40 мм/мВ); **C** – ЭКГ и пневмотахограмма (скорость развертки 10 мм/с, амплитуда сигнала 5 мм/мВ); **D** – спектрограмма.

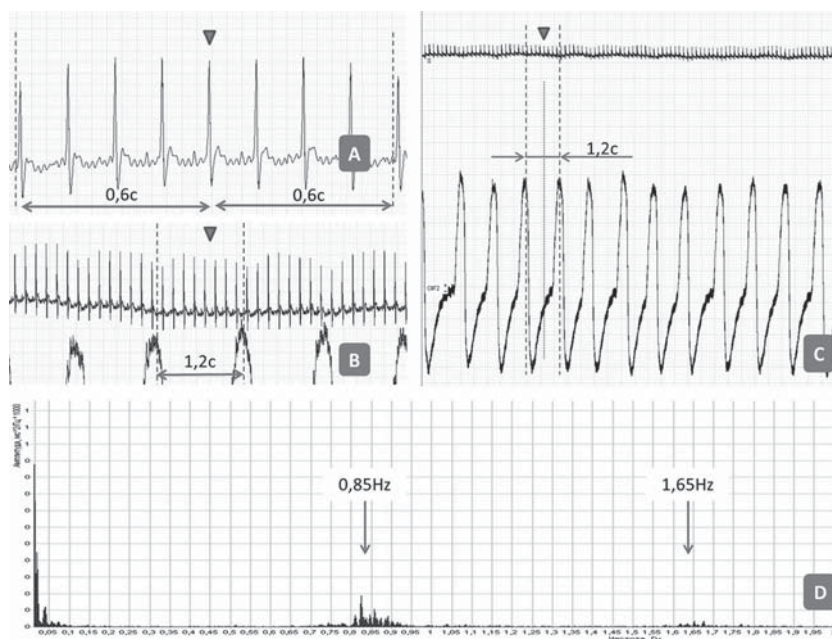


Fig. 1. Indices of heart and respiratory rhythms in rats under non-inhalation anesthesia. HR: 380 beats/min; RR: 51 respiratory movements/min. Distance between intakes of breath and inspiratory phase beginning are indicated by dashed lines and triangle, respectively. **A:** ECG (100 mm/s scan velocity, 40 mm/mV signal amplitude); **B:** ECG and pneumotachogram (25 mm/s scan velocity, 40 mm/mV signal amplitude); **C:** ECG and pneumotachogram (10 mm/s scan velocity, 5 mm/mV signal amplitude); **D:** spectrogram.

Рис. 2. Показатели сердечного и дыхательного ритма крыс в состоянии бодрствования. Пунктирными линиями обозначено расстояние между вдохами; **A** – ЭКГ и пневмотахограмма (скорость развертки 50 мм/с, амплитуда сигнала 40 мм/мВ); **B** – гистограмма распределения интервалов между вдохами; **C** – спектрограмма (пик (1,6 Гц), ЧСС – 525 сокращений/мин, ЧДД – 98 дыхательных движений/мин); **D** – спектрограмма (пики – 1,0 и 2,1 Гц), ЧСС – 498 сокращений/мин, ЧДД – 96 дыхательных движений/мин).

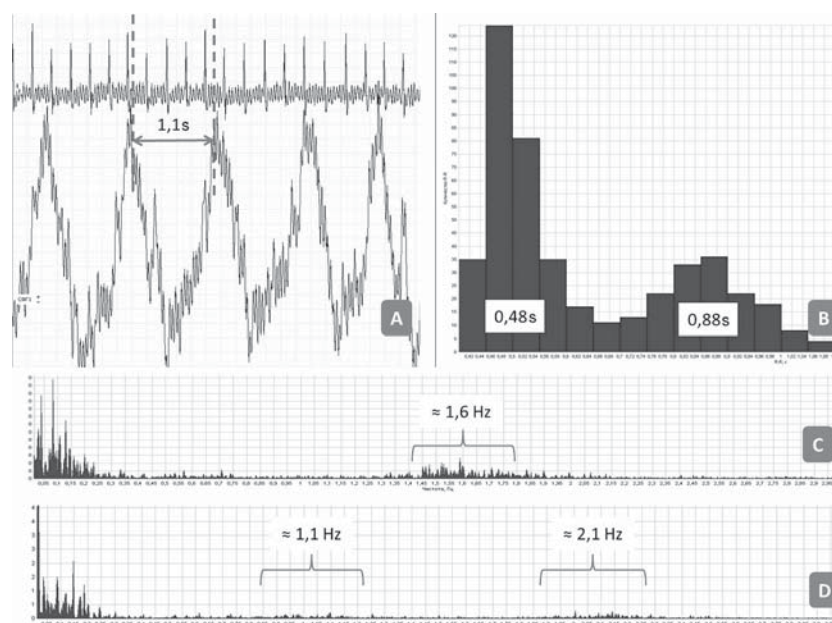


Fig. 2. Indices of heart and respiratory rhythms in conscious rats. Distance between intakes of breath is indicated by dashed lines. **A:** ECG and pneumotachogram (50 mm/s scan velocity, 40 mm/mV signal amplitude); **B:** histogram of interval distribution between intakes of breath; **C:** spectrogram (peak (1.6 Hz), HR: 525 beats/min, RR: 98 respiratory movements/min); **D:** spectrogram (peaks ~1.0 and ~2.1 Hz). 498 beats/min HR, 96 respiratory movements/min RR.

ритмограмме максимальный интервал между циклами вдох-выдох составлял 1,25 с.

У одной крысы на спектрограмме дыхательная аритмия была представлена в виде двух пиков с частотой ~1,1 и ~2,1 Гц (рис. 2, D).

У некоторых животных, подверженных стрессу на фоне высоких показателей ЧСС и частоты

In one rat the respiratory arrhythmia was represented in spectrogram by two peaks with ~1.1 and ~2.1 Hz frequency (Fig. 2D).

In some animals exposed to stress at the background of high indices of HR and RR there was no possibility to reveal a specific peak in spectrogram. High-frequency range up to 3 Hz was visualized as

дыхания, выявить определенный пик на спектрограмме не представлялось возможным. Высокочастотную область до 3 Гц визуализировали в виде «мелкозубчатой» кривой (рис. 3, D). На фоне повышенной частоты дыхательных движений снижалась амплитуда дыхательных волн, при этом на один интервал между вдохами приходилось от 2 до 8 кардиоциклов (рис. 3, A). На гистограмме распределения интервалов между вдохами и пневмотахоритмограмме видно, что длительность дыхательных движений составляла от 0,15 до 1 с (рис. 3, B, C).

При снижении скорости развертки до 5 мм/с были получены более точные данные дыхательной кривой. На пневмотахограмме крысы в состоянии бодрствования представлены «пакеты» быстрого и медленного периодов дыхания с длительностью от 2 до 15–20 с (рис. 4, B).

Для определения источника медленных волн была использована сфигмография, которая позволяет исследовать сосудистое сопротивление стенки аорты. Из рис. 5, C видно, что частота регистрируемых волн Траубе-Геринга-Майера у крыс в среднем составляла 0,4 Гц.

Сопряженность дыхательных волн с волнами сосудистого сопротивления отмечена и у животных группы 4, при этом период волн Траубе-Геринга-Майера соответствовал интервалу 2–4 с.

На кардио- и пневмотахограмме отмечены периодические волны с одинаковым периодом, что свидетельствует об их взаимном влиянии и развитии ярко выраженного кардиореспираторного сопряжения (cardio-respiratory coupling) [11]. Объяснение механизма взаимосвязи дыхательных колебаний и длительности RR-интервалов остается одной из самых сложных задач современной физиологии.

Влияние дыхания на ВСР подтверждается наличием высокочастотного пика на спектрограмме, соответствующего частоте дыхательных движений (51 движение/мин) (см. рис. 1, D). На рис. 1, B показано снижение амплитуды зубца R на вершине вдоха с последующим ее нарастанием во время выдоха. Снижение амплитуды сопровождается учащением сердечных сокращений, а на выдохе – урежением ЧСС. В 1846 г. немецкий

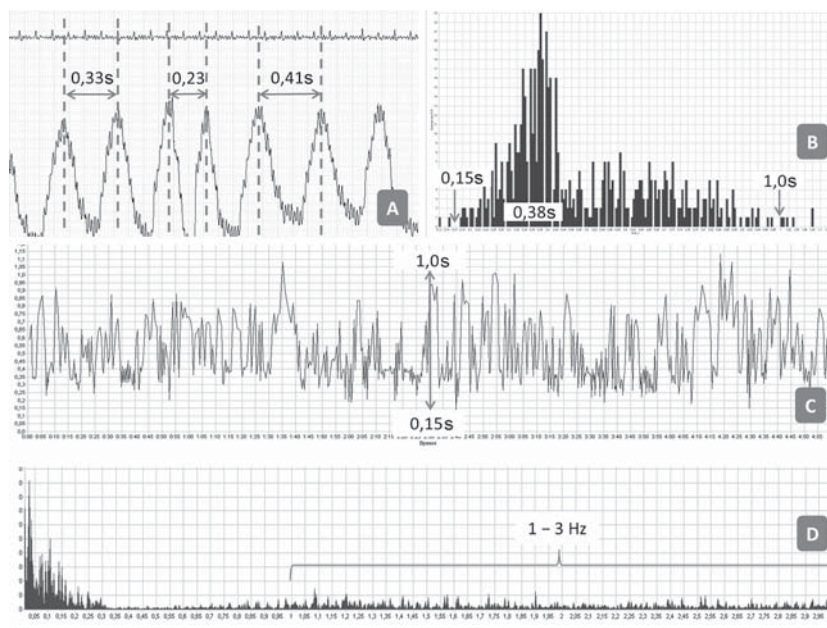


Рис. 3. Показатели сердечного и дыхательного ритма крысы в состоянии стресса; ЧСС – 539 сокращений/мин; ЧДД – 125 дыхательных движений/мин; **A** – ЭКГ и пневмотахограмма (скорость развертки 50 мм/с, амплитуда сигнала 10 мм/мВ); пунктирные линии обозначено расстояние между вдохами; **B** – гистограмма распределения интервалов между вдохами; **C** – пневмотахоритмограмма; **D** – спектрограмма; отсутствие высоких пиков HF-волн.

Fig. 3. Indices of heart and respiratory rhythms in rats under stress. HR: 539 beats/min. RR: 125 respiratory movements/min. **A:** ECG and pneumotachogram (50 mm/s scan velocity, 10 mm/mV signal amplitude). Distance between intakes of breath is indicated by dashed lines; **B:** histogram of interval distribution between intakes of breath; **C:** pneumotachorhythmogram; **D:** spectrogram; absent high peaks of HF-waves.

the ‘denticulate’ curve (Fig. 3D). Against the background of an increased respiratory rate the amplitude of respiratory waves decreased, herewith from 2 to 8 cardiocycles corresponded to one interval between the breathes (Fig. 3, A). The histogram of interval distribution between breathes and pneumotachorhythmogram demonstrate the duration of respiratory movements to vary between 0.15 to 1 s (Fig. 3B and C).

Reduction of scan velocity down to 5 mm/s allowed to obtain more precise data of respiratory curve. Pneumotachogram of a conscious rat had the ‘packages’ of rapid and slow respiratory periods which lasted from 2 to 15–20 s (Fig. 4, B).

To determine the source of slow waves we used sphygmography, enabling to study a vascular resistance of the aortic wall. The Fig. 5C shows the frequency of the registered Traube-Hering-Mayer waves in rats to make 0.4 Hz in average.

The coupling of respiratory waves with those of vascular resistance was observed in group 4 animals, herewith the period of Traube-Hering-Mayer waves corresponded to 2–4 s interval.

Periodic waves with the equal period were found in cardio- and pneumotachogram, testifying to their

Рис. 4. Показатели сердечного и дыхательного ритма крысы в состоянии бодрствования. ЧСС ~498 сокращений/мин, ЧДД – 96 дыхательных движений/мин. Скорость развертки 5 мм/с, амплитуда сигнала 2,5 мм/мВ. Пунктирными линиями обозначено расстояние между пакетами дыхания. **А** – пневмотахоритмограмма; **В** – пневмотахограмма; **С** – кардиоритмограмма; **Д** – ЭКГ.

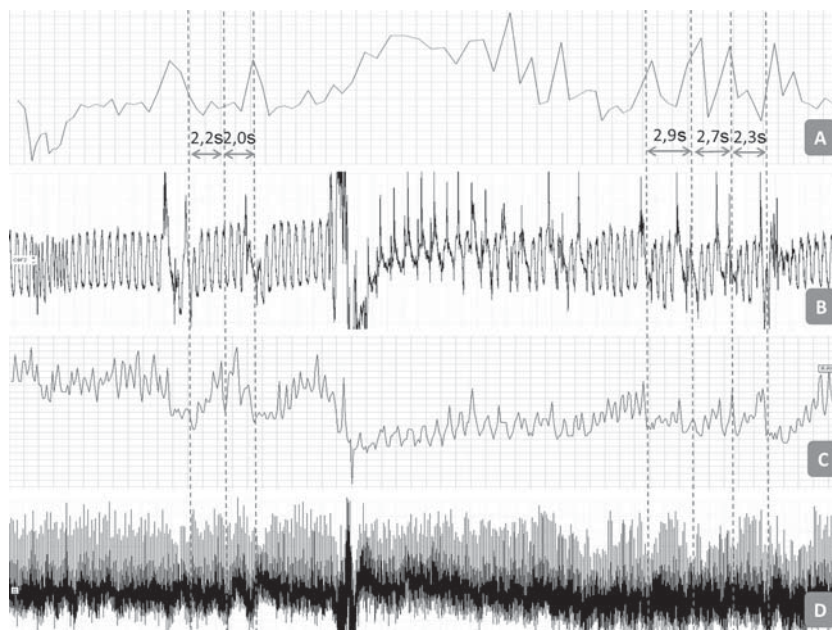


Fig. 4. Indices of heart and respiratory rhythms in conscious rat. HR: 498 beats/min. RR: 96 respiratory movements/min. Scan velocity: 5 mm/s, signal amplitude: 2.5 mm/mV. Distance between respiration packages is indicated by dashed lines. **A:** pneumotachorhythmogram; **B:** pneumotachogram; **C:** cardiogram; **D:** ECG.

Рис. 5. Показатели сердечного, дыхательного ритма и сосудистого сопротивления крыс под ингаляционным наркозом. ЧСС – 310 сокращений/мин. ЧДД – 102 дыхательных движений/мин. Скорость развертки 5 мм/с, амплитуда сигнала 80 мм/мВ. Пунктирными линиями обозначены границы волн сосудистого сопротивления. Точечные линии – расстояние между вдохами; **А** – кардиоритмограмма; **В** – ЭКГ; **С** – сфигмограмма; **Д** – пневмотахограмма (скорость развертки 5 мм/с, амплитуда сигнала 10 мм/мВ); **Е** – гистограмма распределения частот сосудистого сопротивления; **Ф** – доплерограмма восходящего отдела аорты.

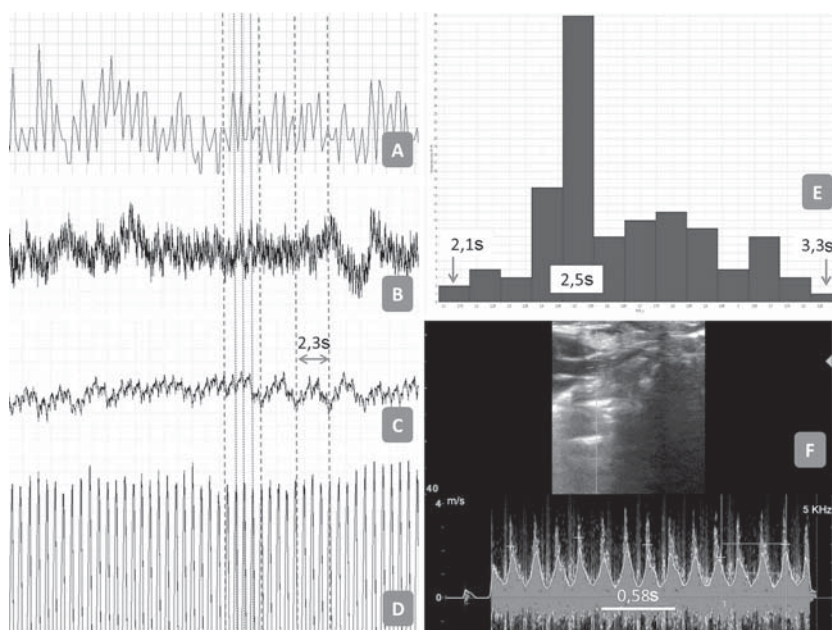


Fig. 5. Indices of heart, respiratory rhythms and vascular resistance in rats under inhalation anesthesia. HR: 310 beats/min. RR: 102 respiratory movements/min. Scan velocity: 5 mm/s, signal amplitude: 80 mm/mV. Boundaries of waves of vascular resistance are indicated by dashed lines. Dotted lines are the distance between intakes of breath; **A:** cardiogram; **B:** ECG; **C:** sphygmogram; **D:** pneumotachogram (5 mm/s scan velocity, 10 mm/mV signal amplitude); **E:** histogram of vascular resistance frequency distribution; **F:** Dopplerogram of ascending aorta.

физиолог С. Ludwig выявил данный феномен, который получил название «дыхательная синусовая аритмия» [11].

При увеличении скорости развертки электрокардиограммы до 100 мм/с было отмечено незначительное снижение амплитуды зубца R через 0,6 с после вдоха (см. рис. 1, А). Анализ данных пневмо-

mutual impact and pronounced cardiorespiratory coupling development [2]. The explanation of relationship mechanism between respiratory oscillations and RR-interval duration has still remained one of the most complicated tasks in modern physiology.

The respiration effect on HRV is confirmed by the presence of high-frequency peak in the spectrogram,

тахограммы выявил, что амплитуда зубца R снижается на границе фазы выдоха-вдоха (см. рис. 1, С). При периоде $\sim 0,6$ с происходит 100 колебаний/мин с частотой 1,67 Гц, что соответствует дополнительному пику на спектрограмме в пределах данной частоты (см. рис. 1, D). Поскольку амплитуда зубца R снижалась незначительно, то и укорочение интервала RR было незначительным, и, как следствие, пик на спектрограмме по амплитуде был также невысоким. Вероятно, при глубоком дыхании происходит фаза вдоха, начало которой совпадает с кратковременным сокращением диафрагмы (придыханием), которое, в свою очередь, влияет на барорецепторы аорты. Мы также не исключаем возможности участия центрального механизма в возникновении высокочастотных волн [5].

Изучая кардио- и пневмотахограмму, мы отметили, что снижению амплитуды зубца R предшествует пик вдоха, который опережает «низкий» зубец R от 0 до 0,2 с (см. рис. 1, B; 2, A). Данное обстоятельство свидетельствует о доминирующем влиянии дыхания на сердечный ритм, что подтверждено в работе R. Bartsch и соавт. [11].

При анализе спектрограмм в высокочастотном диапазоне определяется разное количество пиков (от одного с максимальной амплитудой до нескольких с меньшей амплитудой) либо пики отсутствуют (см. рис. 1, D; 2, C, D; 3, D). Такие особенности появления на спектрограмме пиков высокочастотной области связаны с тем, что для дыхательного, как и для сердечного ритма, характерна определенная вариабельность, поскольку длительность фазы вдох-выдох – величина непостоянная.

Анализируя данные пневмотахоритмограммы у животных группы 4, мы установили, что длительность интервала между вдохами составляет от 0,75 до 1,5 с (40–80 колебаний/мин) при средней частоте дыхания $61,4 \pm 3,2$ (таблица). Дыхательная аритмия влияет на ВСР, о чем свидетельствуют соответствующие пики на спектрограмме: чем более выражена вариабельность дыхательного ритма, тем менее отчетливы пики на спектрограмме и, напротив, чем более ригидный дыхательный ритм, тем более выражен главный пик, соответствующий средней частоте дыхания. Аналогичные результаты относительно амплитуды и количества пиков в высокочастотной области, соответствующей частоте дыхания, отмечены и у животных остальных групп (см. рис. 2, 3).

На некоторых спектрограммах животных групп 1 и 2 отсутствуют явные пики, которые соответствуют средней частоте дыхания. Это связано с высокой вариабельностью дыхательного ритма. Подтверждением этого феномена могут быть результаты пневмотахограммы и гистограммы

corresponding to respiratory rate (51 movements/min) (see Fig. 1D). Fig. 1B demonstrates a decrease in R-wave amplitude at the top of breath with its subsequent augmentation during expiration. A decrease in amplitude was accompanied by a speeding up of heart beats, and HR slowing during breathing out. In 1846 German physiologist C. Ludwig revealed this phenomenon, called as ‘respiratory sinus arrhythmia’ [2].

When increasing the scan velocity of electrocardiogram up to 100 mm/s, a slight decrease in R-wave amplitude in 0.6 s after intake of breath was noted (see Fig. 1A). Pneumotachogram data analysis revealed a decrease in R-wave amplitude at the boundary of inspiratory-expiratory phase (see Fig. 1C). When the period was ~ 0.6 s, 100 oscillations/min with 1.67 Hz frequency occurred, that corresponded to appearance of an additional peak in spectrogram within the limits of this frequency (see Fig. 1D). Since the R-wave amplitude decreased insignificantly, the RR interval shortening was negligible, and, consequently, the amplitude peak in spectrogram was low as well. Probably, with a deep respiration there was an inspiratory phase, the start of which coincided with a short-term diaphragmatic contraction (aspiration), which, in turn, affected the aortic baroreceptors. We also do not exclude a possible involvement of a central mechanism in high-frequency wave occurrence [12].

Studying cardio- and pneumotachogram revealed the fact that a decrease in R-wave amplitude was preceded by the inspiratory peak, which in turn was ahead of ‘low’ R wave from 0 to 0.2 (see Fig. 1B; 2A). This fact testified to a dominating effect of respiration on heart rate, as confirmed in the paper of R. Bartsch *et al.* [2].

Analysis of the spectrograms within a high-frequency range resulted in either appearance of different number of peaks (from singlet with the maximum amplitude to several ones with lower intensity) or *vice versa* absence of any peaks (see Fig. 1D; 2C, D; 3D). These features of high-frequency peak appearance in spectrogram were due to the fact that both respiratory and heart rates were characterized by certain variability, since the inspiratory-expiratory phase duration was not a constant value.

Analysis of pneumotachorhythmogram data in group 4 animals established the duration of interval between intakes of breath to make from 0.75 to 1.5 s (40–80 oscillations/min) at an average respiration rate of 61.4 ± 3.2 (Table). Respiratory arrhythmia affected the HRV, as evidenced by the corresponding peaks in spectrogram: the more pronounced respiratory rate variability was, the less distinct were the peaks in spectrogram, and conversely, with more rigid respiratory rhythm the main peak, corresponding to the average respiratory rate, became more pronounced. Similar results concerning the amplitude and a peak

распределения интервалов между вдохами (см. рис. 3, В, С). В таких случаях все частоты распределяются равномерно по всей высокочастотной области спектра, т. е. у животных полностью отсутствует кардиореспираторное сопряжение (см. рис. 3, D).

Кроме того, у одного животного в состоянии бодрствования была отмечена полная «разобщенность» между средней частотой дыхания (96 дыхательных движений/мин (1,6 Гц)) и двумя пиками на спектрограмме в высокочастотной области (см. рис. 2, D). Для исследования данного факта нами была проанализирована гистограмма распределения интервалов между вдохами (см. рис. 2, В). Наиболее часто регистрируемые интервалы между вдохами определялись при 0,48 и 0,88 с (~60 и 120 колебаний/мин), что и соответствовало двум пикам на спектрограмме в диапазоне ~1,1 и 2,1 Гц (см. рис. 2, D).

У ненаркотизированных животных (группы 1 и 2) в состоянии стресса дыхание имело неравномерный «пакетный» характер (см. рис. 4, В). Каждый пакет дыхания включал от 3 до 20 циклов вдох-выдох. Причина возникновения «пакетного» типа дыхания крыс до конца не изучена. Волны дыхательной кривой полностью соответствовали волновой структуре кардиоритмо- и пневмотахограммы (см. рис. 4, А, С).

Следует обратить внимание, что снижение амплитуды зубца R на ЭКГ коррелировало с фазами вдоха в процессе дыхания (см. рис. 1, А; 5, F), а также величиной сосудистого сопротивления (см. рис. 5, D).

Как известно, артериальное давление влияет на дыхательные ритмические колебания (волны Траубе-Геринга-Майера) [14, 16]. Вазомоторные волны связаны с циклическими изменениями внутригрудного давления и венозного возврата, которые регулируют сердечный выброс [4]. Однако существует альтернативная точка зрения, согласно которой эти волны имеют центральное происхождение [2, 19].

Период средних MF-волн сосудистого тонуса у крыс (волны Траубе-Геринга-Майера) составляет от 2 до 4 с (см. рис. 5, E), что подтверждается результатами исследований других ученых [10, 12, 17].

Как видно из рис. 5, С короткие волны до 1,3 с (0,78 Гц) (данные кардиоритмограммы) связаны с актом дыхания, а более длинные до 4 с (0,25 Гц) (данные прямой сфигмографии) – с сопротивлением стенок сосудов (артериальным давлением).

Волны с более большим периодом колебания относятся к очень медленным волнам (VLF-волны), природа которых также требует дальнейшего экспериментального изучения.

number in a high frequency range, corresponding to respiratory rate, were noted in animals of other groups as well (see Fig. 2 and 3).

In some spectrograms of the groups 1 and 2 animals no peaks were evident, corresponding to an average respiratory rate. This was due to a high variability of respiratory rhythm. This phenomenon may be proven by the results of pneumotachogram and histogram of interval distribution between intakes of breath (see Fig. 3B and C). In this cases, all the frequencies were distributed evenly across all the high frequency spectral range, *i. e.* the animals had no cardiorespiratory coupling (see Fig. 3D).

In addition, one conscious animal demonstrated a complete ‘dissociation’ between the average respiration rate (96 respiratory movements/min (1.6 Hz)) and two peaks in the spectrogram within the high frequency range (see Fig. 2D). To investigate this fact we analysed the distribution histogram of intervals between intakes of breath (see Fig. 2B). The most often recorded intervals between intakes of breath were determined at 0.48 and 0.88 s (~60 and 120 oscillations/min), that corresponded to two peaks in spectrogram within the range of ~1.1 and 2.1 Hz (see Fig. 2D).

In non-anaesthetised animals (groups 1 and 2) the respiration under stress was of uneven ‘package’ character (see Fig. 4B). Each respiration ‘package’ included from 3 to 20 respiratory cycles. The cause of ‘package’ respiration occurrence is not fully studied yet. The waves of respiratory curve completely corresponded to a wave structure of cardiorythmo- and pneumotachogram (see Fig. 4A, C).

Of note was the fact, that a decrease in the R-wave amplitude in ECG correlated with inspiratory phases during respiration (see Fig. 1A; 5F), as well as with the vascular resistance value (see Fig. 5D).

Blood pressure is known to affect the respiratory rhythmic oscillations (Traube-Hering-Meyer waves) [11, 15]. Vasomotor waves are associated with cyclic changes in intrathoracic pressure and venous return, which regulate cardiac output [10]. However, there is an alternative point of view, consisting in a central origin of these waves [8, 18].

The period of average MF-waves of vascular tone in rats (Traube-Hering-Mayer waves) was from 2 to 4 s (see Fig. 5E), that was confirmed by findings of other scholars [5, 16, 19].

The Fig. 5C demonstrates short waves up to 1.3 s (0.78 Hz) (cardiorythmogram data) and longer ones up to 4 s (0.25 Hz) (data of direct sphygmography) to be associated with respiration act and vascular wall resistance (blood pressure), respectively.

Waves with a larger oscillation period are referred to very slow waves (VLF-waves), the nature of which requires further experimental study as well.



Выводы

1. По данным пневмотахографии установлено, что в состоянии бодрствования частота дыхания крыс находится в пределах от 50 до 150 дыхательных движений/мин, а при стрессе – 180 дыхательных движений/мин, поэтому верхний предел HF-волн при анализе ВСП должен соответствовать 2,5–3 Гц.

2. Максимальная длительность интервалов между вдохами у крыс в состоянии бодрствования составляет 1,25 с (48 колебаний/мин), поэтому нижняя граница HF-волн не должна превышать 0,8 Гц.

3. На спектрограмме в высокочастотной области у глубоко наркотизированных крыс второй пик, который хорошо коррелирует со значением средней частоты дыхания, связан с началом фазы вдоха.

4. Отсутствие или «размытость» пиков в HF-диапазоне в большей степени связано с высокой вариабельностью дыхательного ритма, малой амплитудой дыхательных колебаний и, как следствие, со снижением или отсутствием cardiorespiratory coupling.

5. Дыхание у крыс имеет ритмичный характер, однако в состоянии бодрствования им свойственен «пакетный» тип дыхания длительностью от 2 до 15–20 с. Частота дыхательных движений в каждом пакете разная, и этим обусловлено наличие двух и более пиков в высокочастотной области спектра, что подтверждает существование нескольких осцилляторов в качестве водителей ритма дыхательного центра.

6. Установлено, что у наркотизированных крыс вазомоторные волны влияют на вариабельность дыхательного и сердечного ритма в интервале от 0,25 до 0,5 Гц с пиком 0,4 Гц, поэтому нижняя граница средних MF-волн должна быть не выше 0,25 Гц.

Таким образом, по результатам сочетанного исследования (кардиограмма, пневмотахография, прямая сфигмография) возможны более детальное изучение влияния различных колебательных процессов на вариабельность сердечного ритма и ее физиологическая интерпретация.

Дальнейшие экспериментальные исследования по изучению вариабельности сердечного ритма у крыс помогут определить параметры спектрального анализа и создать протокол стандартов измерений ВСП у данного вида животных.

Литература

1. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем // Вестник аритмологии. – 2001. – №24. – С. 65–87.

Conclusions

1. According to the pneumotachograph data the respiratory rate in conscious rats was established to be within the range from 50 to 150 respiratory movements/min, and under stress it made 180 respiratory movements/min, so the upper limit of HF-waves in HRV analysis should correspond to 2.5–3 Hz.

2. The maximum duration of intervals between breaths in conscious rats was 1.25 s (48 oscillations/min), so the lower limit of HF-waves should not exceed 0.8 Hz.

3. The second peak in spectrogram within the high-frequency range in deeply anesthetized rats correlated well with the value of average respiratory rate and was associated with the inspiratory phase onset.

4. Either absence or ‘blurring’ of peaks within the HF-range was mostly associated with a high respiratory rate variability, a small amplitude of respiratory oscillations and, consequently, either reduced or absent cardio-respiratory coupling.

5. The respiration in rats is of rhythmic nature, but in conscious state they have a ‘package-like’ respiration with duration from 2 to 15–20 s. The respiratory rate in each package was different, thereby stipulating the presence of two or more peaks within the high frequency spectral range, that confirmed an existence of several oscillators being the respiratory center pacemakers.

6. In anaesthetised rats the vasomotor waves were established to affect the respiratory and heart rate variability within the range from 0.25 to 0.5 Hz with 0.4Hz peak, so the lower limit of MF-waves should not be higher than 0.25 Hz.

Thus, the results of a combined study (ECG, pneumotachography, direct sphygmography) allow a more detailed analysis of the impact of various oscillatory processes on heart rate variability and its physiological interpretation.

Further experimental studies on heart rate variability in rats will enable determining the spectral analysis parameters and designing the protocol for HRT standard measurements in this animal species.

References

1. Baevsky R.M., Ivanov G.G., Chireykin L.V. et al. Analysis of heart rate variability using different electrocardiographic systems. *Vestnik Aritmologii* 2001; (24): 65–87.
2. Bartsch R., Liu K., Ma Q., Ivanov P. Three independent forms of cardio-respiratory coupling: transitions across sleep stages. *Computing in Cardiology* 2014; 41: 781–784.
3. Chizh N.A. Parameters of spectral analysis of heart rate variability in rats. *Probl Cryobiol Cryomed* 2015; 25 (3): 235–245.
4. Chizh N.A. Ways of registering electrocardiograms in rats for analyzing heart rate variability. *Exp Clin Med* 2015; 68 (3): 44–47.
5. Janssen B.J., Oosting J., Slaaf D.W. et al. Hemodynamic basis of oscillations in systemic arterial pressure in conscious rats. *Amer J Physiol* 1995; 269: 62–71.



2. Киселев А.Р., Гриднев В.И. Колебательные процессы в вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы (обзор) // Саратов. науч.-мед. журнал. – 2011. – Т. 7, №1. – С. 34–39.
3. Коркушко О.В., Писарук А.В., Шатило В.Б. и др. Анализ variability ритма сердца в клинической практике (возрастные аспекты). – К., 2002. – 191 с.
4. Королев И.Б., Котельников В.Н., Осипов И.О. Сравнительная оценка состояния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы при повышенном уровне артериального давления у крыс // Наука и мир. Международ. науч. журнал. – 2014. – Т. 7, №3. – С. 122–127.
5. Котельников С.А., Ноздрачев А.Д., Одинак М.М. и др. Представления о механизмах variability ритма сердца // Физиология человека. – 2002. – Т. 28, №1. – С. 130–143.
6. Луценко Д.Г., Шило А.В., Марченко Л.Н. и др. Особенности регуляции сердечного ритма при различных видах холодной акклимации у крыс // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2013. – Т. 23, №2. – С. 105–115.
7. Хаятин В.М., Лукошкова Е.В. Колебания частоты сердечбиений: спектральный анализ // Вестник аритмологии. – 2002. – №26. – С.10–18.
8. Чиж Н.А. Параметры спектрального анализа variability ритма сердечного ритма у крыс // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2015. – Т. 25, №3. – С. 235–245.
9. Чиж Н.А. Способы регистрации электрокардиограмм у крыс для анализа variability ритма сердечного ритма // Эксперимент. і клін. медицина. – 2015. – Т. 68, №3. – С. 44–47.
10. Яблучанский Н.И., Мартыненко А.В. Variability ритма сердечного ритма в помощь практическому врачу. – Харьков, 2010. – 131 с.
11. Bartsch R., Liu K., Ma Q., Ivanov P. Three independent forms of cardio-respiratory coupling: transitions across sleep stages // Computing in Cardiology. – 2014. – Vol. 41. – P. 781–784.
12. Janssen B.J., Oosting J., Slaaf D.W. et al. Hemodynamic basis of oscillations in systemic arterial pressure in conscious rats // Amer. J. Physiol. – 1995. – Vol. 269. – P. 62–71.
13. Julien C. The enigma of Mayer waves: Facts and models // Cardiovasc. Res. – 2006. – Vol. 70, №1. – P. 12–21.
14. Kositskii G.I. Respiratory waves of blood pressure in human subjects // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1958. – Vol. 45. – P. 154–157.
15. Kumae T. Assessment of training effects on autonomic modulation of the cardiovascular system in mature rats using power spectral analysis of heart rate variability // Environ. Health Prev. Med. – 2012. – №17. – P. 415–422.
16. Nilsson H., Aalkjaer C. Vasomotion: mechanisms and physiological importance // Mol. Interv – 2003. – Vol. 3, №2. – P. 79–89.
17. Ramaekers D., Beckers F., Demeulemeester H., Aubert A. Cardiovascular autonomic function in conscious rats: a novel approach to facilitate stationary conditions // Annals of Noninvasive Electrocardiology. – 2002. – №4. – P. 307–318.
18. Standards of heart rate variability // Eur. Heart J. – 1996. – Vol. 17. – P. 354–381.
19. Takakura A.C., Moreira T.S., Colombari E., Peripheral chemoreceptor inputs to retrotrapezoid nucleus (RTN) CO₂-sensitive neurons in rats // J. Physiol. – 2006. – Vol. 572. – P. 503–523.
6. Julien C. The enigma of Mayer waves: facts and models. Cardiovasc Res 2006; 70(1): 12–21.
7. Khayutin V.M., Lukoshkova E.V. Heart rate oscillation: spectral analysis. Vestnik Aritmologii 2002; (26): 10–18.
8. Kiselev A.R. Oscillatory processes in vegetative regulation of cardiovascular system (review). Saratov Journal of Medical Scientific Research 2011; 7(1): 34–39.
9. Korkushko O.V., Pisaruk A.V., Shatilo V.B. et al. Analysis of heart rate variability in clinical practice (age-sensitive). Kiev; 2002.
10. Korolev I.B., Kotelnikov V.N., Osipov I.O. Comparative assessment of state of sympathetic and parasympathetic parts of autonomic nervous system at high blood pressure level in rats. Science and World 2014; 7 (3): 122–127.
11. Kositskii G.I. Respiratory waves of blood pressure in human subjects. Bull Exp Biol Med 1958; 45: 154–157.
12. Kotelnikov S.A., Nozdrachev A.D., Oдинаk M.M. et al. Ideas about mechanisms of heart rate variability. Human Physiology 2002; 28(1): 130–143.
13. Kumae T. Assessment of training effects on autonomic modulation of the cardiovascular system in mature rats using power spectral analysis of heart rate variability. Environ Health Prev Med 2012; 17: 415–422.
14. Lutsenko D.G., Shylo A.V., Marchenko L.N. et al. Peculiarities of heart rhythm regulation at different types of cold acclimation in rats. Probl Cryobiol Cryomed 2013; 23 (2): 105–115.
15. Nilsson H, Aalkjaer C. Vasomotion: mechanisms and physiological importance. Mol Interv 2003; 3(2): 79–89.
16. Ramaekers D., Beckers F., Demeulemeester H., Aubert A. Cardiovascular autonomic function in conscious rats: a novel approach to facilitate stationary conditions. Ann Noninvasive Electrocardiol 2002; 4: 307–318.
17. Standards of heart rate variability. European Heart Journal 1996; 17: 354–381.
18. Takakura A.C., Moreira T.S., Colombari E., Peripheral chemoreceptor inputs to retrotrapezoid nucleus (RTN) CO₂-sensitive neurons in rats. J Physiol 2006; 572: 503–523.
19. Yabluchansky N.I., Martynenko A.V. Heart rate variability to help practising physician. Kharkov; 2010.

