

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАПРЯЖЕНИЯ КИСЛОРОДА НА МИКРОСОСУДАХ  
И В ТКАНИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ  
ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПОКАПНИИ

© 2023 г. Е. П. Вовенко<sup>1</sup>, \*, И. Б. Соколова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: vovenko@infran.ru

Поступила в редакцию 18.05.2023 г.

После доработки 29.06.2023 г.

Принята к публикации 01.07.2023 г.

Артериальная гипокания (АГ) как результат произвольной или принудительной гипервентиляции легких сопровождается снижением мозгового кровотока (вследствие повышения тонуса артериол) и повышением сродства кислорода к гемоглобину (вследствие увеличения рН крови). При АГ в мозг поступает недостаточное количество кислорода и в тканях формируются зоны с критически низким напряжением кислорода ( $pO_2$ ). Характер распределения  $pO_2$  в коре головного мозга при АГ изучен недостаточно. Цель работы: оценить эффективность снабжения кислородом ткани мозга на уровне артериальных и венозных микрососудов в условиях АГ. Для этого были поставлены следующие задачи: 1) изучить распределение напряжения кислорода на артериальных и венозных микрососудах коры головного мозга крысы; 2) провести анализ тканевых профилей  $pO_2$  вблизи стенки этих микрососудов. На наркотизированных крысах линии Вистар, в условиях принудительной гипервентиляции ( $P_aCO_2 = 17.1 \pm 0.7$  мм рт. ст.), изучено распределение напряжения кислорода на стенке пиальных и радиальных артериол с диаметром просвета 7–70 мкм и на стенке пиальных и восходящих (кортикальных) венул с диаметром просвета 7–300 мкм. В ткани, возле стенки кортикальных артериол и венул с диаметром просвета 10–20 мкм, определены профили тканевого  $pO_2$ . В качестве контроля служили измерения  $pO_2$  при спонтанном дыхании животного воздухом. Измерения  $pO_2$  выполнены с помощью платиновых полярографических микроэлектродов с диаметром кончика 3–5 мкм. Визуализация кончика электрода и микрососудов осуществлялась с помощью микроскопа ЛЮМАМ-К1 с эпиобъективами контактного типа. В работе впервые представлены прямые измерения  $pO_2$  на стенке артериол и венул коры головного мозга крысы и в ткани на разном удалении от стенки этих микрососудов при АГ. Показано, что АГ приводит к значительному ухудшению кислородного обеспечения коры головного мозга крысы, что проявляется достоверным снижением  $pO_2$  на стенке венозных микрососудов, собирающих кровь от капилляров, и падением тканевого  $pO_2$  в непосредственной близости от исследуемых микрососудов. Показано, что вклад артериол в кислородное обеспечение ткани головного мозга при гипокании, несмотря на повышенное  $pO_2$  в их крови, существенно снижается. Состояние АГ приводит к значительному ухудшению снабжения кислородом коры головного мозга, несмотря на высокие показатели  $pO_2$  в системной артериальной крови и в крови, оттекающей от коры головного мозга (сагиттальный синус).

**Ключевые слова:** артериальная гипокания, напряжение кислорода, гипервентиляция,  $pO_2$ -микроэлектрод, артериола, венула, градиент  $pO_2$ , тканевая гипоксия

**DOI:** 10.31857/S0869813923080113, **EDN:** LUCAFK

## ВВЕДЕНИЕ

Состояния гипервентиляции легких, приводящие к снижению напряжения углекислого газа в артериальной крови ( $P_a\text{CO}_2$ ) — артериальной гипокапнии (АГ), наблюдаются достаточно часто [1, 2]. Они могут быть обусловлены факторами загрязнения окружающей среды, повышенным нервным напряжением на рабочем месте, отравлением некоторыми химическими веществами. Нередко АГ возникает при заболеваниях легочной и сердечно-сосудистой систем, при нарушениях метаболизма и пр. [1]. Произвольная гипервентиляция используется при диагностике и с целью исследования особенностей течения заболеваний (для выявления и оценки тяжести патологий ЦНС, для определения адаптивных возможностей организма). Принудительная гипервентиляция легких применяется при реанимационных мероприятиях, главным образом при травмах головного мозга для снижения внутричерепного давления [3, 4].

В норме у человека  $P_a\text{CO}_2$  составляет около 40 мм рт. ст. Колебания  $P_a\text{CO}_2$  в ту или другую сторону могут вызывать значительные изменения в транспорте кислорода в головном мозге. Ряд авторов изучал влияние сниженного  $P_a\text{CO}_2$  на различные параметры транспорта кислорода в тканях, такие как скорость кровотока, скорость потребления  $\text{O}_2$  тканью мозга, объем циркулирующей в мозге крови, напряжение кислорода в тканях, в венозной крови, оттекающей от мозга и др. [5]. Основной причиной ухудшения оксигенации ткани мозга при АГ считается снижение скорости мозгового кровотока вследствие роста периферического сопротивления сосудов мозга [6, 7]. Согласно этим данным, объемная скорость кровотока в мозге при гипокапнии средней степени ( $P_a\text{CO}_2 = 20\text{--}30$  мм рт. ст.) снижалась на 20–40% по сравнению с нормакапнией [7]. В результате в ткани головного мозга существенно снижалось напряжение кислорода [8]. Например, при  $P_a\text{CO}_2 = 15\text{--}23$  мм рт. ст., тканевое  $p\text{O}_2$  ( $p_t\text{O}_2$ ) в среднем было ниже на 40% по сравнению с нормой [8, 9]. Поскольку эти данные были получены без локализации  $p\text{O}_2$ -датчика относительно стенки микрососудов (артериол, капилляров, венул), оценить роль этих микрососудов в газообменных процессах между кровью и тканями при АГ не представляется возможным. Ранее было установлено, что газообмен между кровью и тканями происходит не только через стенку капилляров, но и через стенку более крупных микрососудов — артериол и венул [10]. Была показана важная роль этих микрососудов в процессах снабжения нервной ткани кислородом и стабилизации тканевого  $p\text{O}_2$  [11]. Поверхность газообмена мельчайших венозных микрососудов сопоставима с таковой для капилляров мозга [12]. Поэтому даже небольшие изменения  $p\text{O}_2$  в крови венул могут приводить к существенным сдвигам кислородного обеспечения коры головного мозга в целом. На текущий момент в литературе не обнаружены сведения о характере распределения  $p\text{O}_2$  возле артериол и венул коры головного мозга при АГ. В связи с этим исследование распределения  $p\text{O}_2$  на уровне артериальных и венозных микрососудов при АГ представляют значительный интерес.

Цель данного исследования заключалась в изучении распределения напряжения кислорода на артериальных и венозных микрососудах коры головного мозга крысы при АГ, вызванной гипервентиляцией легких, а также в анализе тканевых профилей  $p\text{O}_2$  вблизи стенки этих микрососудов. Полученные данные позволили оценить эффективность снабжения кислородом ткани мозга через стенку этих микрососудов в условиях АГ.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на крысах-самцах Wistar ( $n = 24$ ), массой 220–250 г из ЦКП “Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем” (Санкт-Петербург, Россия).

Животных наркотизировали внутрибрюшинным введением препарата золетил-100 (Virbac, Франция), 20 мг/кг. В бедренную артерию и вену животных вводили катетеры для контроля за артериальным давлением, отбора проб крови для анализа на газовый состав (ABL-330, Radiometer, Дания) и введения релаксанта и компенсирующих доз крови от крысы донора. Объем одной пробы крови составлял около 100 мкл. Кровопотерю компенсировали после взятия 5–7 проб.

Состояние артериальной гипокпапии у животных достигалось с помощью принудительной гипервентиляции. В трахею крыс вводили канюлю, соединенную со специальной клапанной системой и системой увлажнения. В первой части эксперимента животные спонтанно дышали воздухом. Затем крыс подключали к аппарату искусственной вентиляции легких (УИДЖ-1, ЭМИБ, СССР) и устанавливали режим гипервентиляции. Животным внутривенно вводили миорелаксант tubocurarin chloridi 1%-ный раствор (Orion, Финляндия) в дозе 0.8–0.9 мг/кг в час. Минутный объем дыхания (МОД) регистрировали при помощи счетчика газа (тип РГ-7000, Россия), подключенного к выходному клапану дыхательной системы.

Методика визуализации микрососудов коры головного мозга и измерения напряжения кислорода в ткани мозга подробно была описана ранее [11]. Кратко, благодаря использованию темнопольных контактных эпиобъективов микроскопа ЛЮМАМ-К1 (ЛОМО, Россия) глубина визуализации тканей достигала 50–70 мкм от поверхности мозга. Изображение микроскопического поля с помощью цветной цифровой камеры Moticam 2300 (Motic China Group Co) выводили на монитор компьютера и сохраняли для последующего анализа. Контакт фронтальной линзы объектива с тканью мозга предотвращал газообмен между орошающей жидкостью и областью измерения  $pO_2$ . Кончик микроэлектрода под визуальным контролем, с помощью механического 3D-микроманипулятора, позиционировали относительно исследуемых микрососудов с точностью до 1–2 мкм. Размер микрообласти ткани под визуальным контролем составлял около  $600 \times 400$  мкм.

Для стабилизации состояния животного измерения начинали не ранее чем через 15–20 мин после окончания хирургической операции. После проведения стандартной процедуры калибровки платинового полярографического микроэлектрода несколько раз измеряли напряжение кислорода на артериолах и венах коры головного мозга при дыхании животных воздухом (контроль). В этих же условиях определяли газовый состав системной артериальной крови ( $P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ , pH), фиксировали артериальное давление и МОД. Затем животное переводили на искусственную вентиляцию легких, и в бедренную вену вводили дозу миорелаксанта. Через 5–10 мин после начала гипервентиляции легких вновь контролировали  $P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ , pH, артериальное давление и МОД. Данные показатели многократно регистрировали по ходу эксперимента. Если уровень  $P_aCO_2$  был ниже 25 мм рт. ст., то приступали к измерениям напряжения кислорода в коре головного мозга. В каждом эксперименте  $pO_2$  измеряли не менее, чем на 15–20 микрососудах. Особое внимание уделяли тому, чтобы кровоток в исследуемом и близко расположенных микрососудах не был нарушен. Длительность гипокпапического воздействия не превышала 40–50 мин.

В конце эксперимента из продольного сагиттального синуса отбирали пробы крови для анализа на газовый состав в специально заточенную стеклянную пипетку длиной около 110 мм, с входным диаметром 0.6–0.7 мм. Данная процедура явля-

**Таблица 1.** Основные системные показатели исследованных животных в условиях контроля и артериальной гипоксии

	Контроль	Гипоксия
Арт. давление, мм рт. ст.	110 ± 3 ( <i>n</i> = 24)	118 ± 2 ( <i>p</i> < 0.01, <i>n</i> = 85)
МОД, мл 100 г <sup>-1</sup> мин <sup>-1</sup>	58 ± 5 ( <i>n</i> = 24)	210 ± 7 ( <i>p</i> < 0.001, <i>n</i> = 30)
Бедренная артерия		
рН	7.41 ± 0.01 ( <i>n</i> = 24)	7.61 ± 0.01 ( <i>p</i> < 0.001, <i>n</i> = 55)
P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub>	37.2 ± 0.5 ( <i>n</i> = 24)	17.1 ± 0.7 ( <i>p</i> < 0.001, <i>n</i> = 55)
P <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	83.5 ± 1.7 ( <i>n</i> = 24)	108.2 ± 1.4 ( <i>p</i> < 0.001, <i>n</i> = 55)
Продольный сагиттальный синус*)		
рН	—	7.56 ± 0.02 ( <i>n</i> = 24)
PCO <sub>2</sub>	—	23.7 ± 1.0 ( <i>n</i> = 24)
PO <sub>2</sub>	—	35.5 ± 0.8 ( <i>n</i> = 24)

*n* – число измерений АД и МОД или количество проб крови для определения газового состава, взятых у всех животных в условиях нормо- и гипоксии. Для определения газового состава крови при АГ у некоторых животных было взято более, чем одна проба. \*) – вследствие травматичности процедуры взятия крови из продольного сагиттального синуса анализ для условий контроля не проводился.

лась травматичной и после взятия пробы крови эксперимент прекращался, животное усыплялось введением повышенной дозы наркоза.

Кривую диссоциации оксигемоглобина (КДО) артериальной крови животных строили с помощью прибора Hem-O<sub>2</sub>-Scan (AMINCO, США).

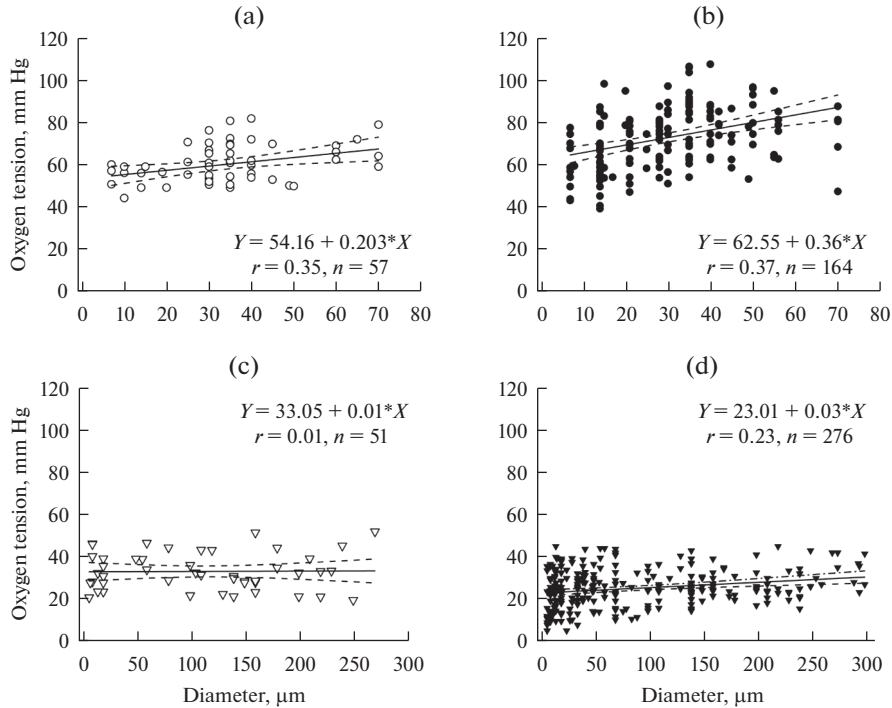
Статистическая обработка данных и построение графиков выполнены с помощью программ Statistica (ver. 8.0) и Origin Lab. (ver. 8.0). Все данные представлены в виде “среднее ± стандартная ошибка среднего”. Гипотезу нормальности исходных данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка W. Достоверность различия между средними определяли при помощи *t*-критерия Стьюдента. Уровень значимости принимали равным *p* < 0.05.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены газовые показатели системной артериальной крови и крови сагиттального синуса при дыхании воздухом (контроль) и в условиях гипоксии (гипервентиляции).

На рис. 1а, б представлены результаты измерений рО<sub>2</sub> на стенке пиальных и пре-кортикальных артериол с диаметром просвета 7–70 мкм в контроле, т.е. при спонтанном дыхании животных атмосферным воздухом (а) и в условиях принудительной гипервентиляции (б). Каждый значок соответствует отдельному измерению рО<sub>2</sub>. Пунктирными линиями обозначены 95%-ные доверительные интервалы линий регрессии. Среднее рО<sub>2</sub> на исследованных артериолах в контроле составило 61.1 ± 1.2 мм рт. ст. (*n* = 57), а при гипоксии достоверно повысилось до 73.3 ± 1.2 мм рт. ст. (*n* = 164) (*p* < 0.01). Средний диаметр исследованных артериол для групп (а) и (б) составил соответственно 34.3 ± 2.1 и 30.1 ± 1.2 мкм (*p* > 0.05).

Соответственно на рис. 1с, d представлено распределение напряжения кислорода на стенке пиальных и восходящих венул с диаметром просвета 7–300 мкм в контроле (светлые треугольники) и при гипоксии (черные треугольники). Гипоксия, вызванная принудительной гипервентиляцией легких, привела к достоверному падению рО<sub>2</sub> на исследованных венулах по сравнению с контролем.

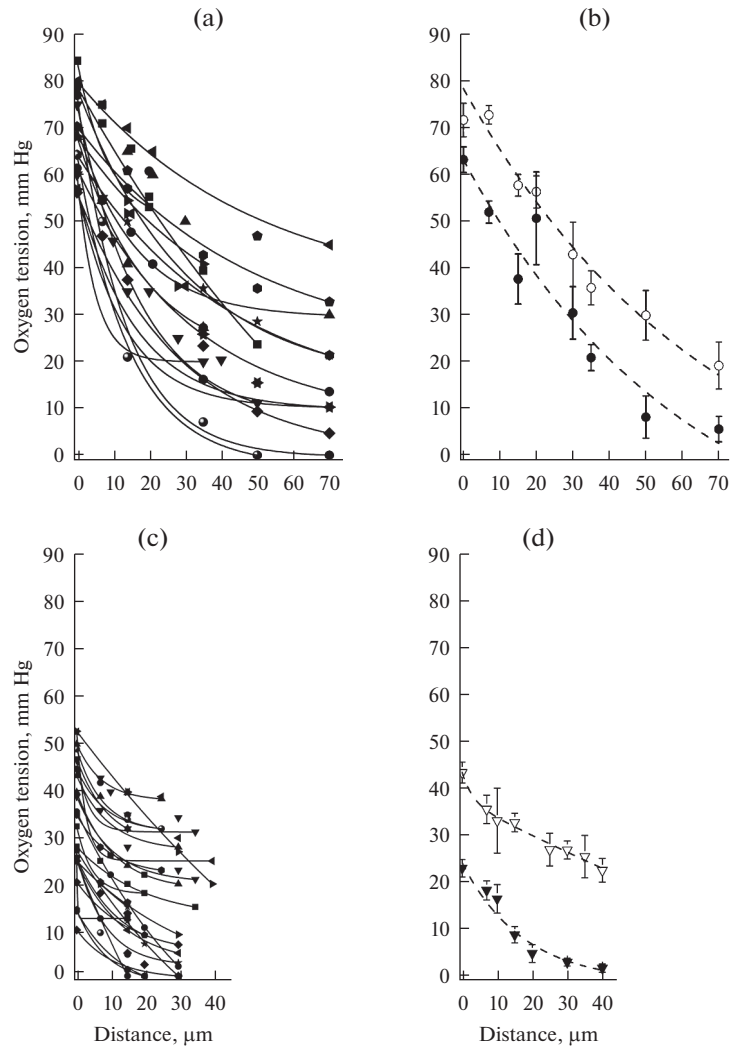


**Рис. 1.** Распределение напряжения кислорода ( $pO_2$ ) на стенке пиальных и кортикальных артериол (a, b) и пиальных и восходящих (радиальных) венул (c, d) в контроле (a, c) и при артериальной гипокании (b, d). По оси абсцисс – внутренний просвет микрососуда, мкм. По оси ординат – напряжение кислорода, мм рт. ст. Пунктирными линиями обозначены 95%-ные доверительные интервалы для линий регрессии.

Для анализа диффузии кислорода из крови микрососудов в ткань при АГ регистрировали профили  $pO_2$  в тканевой зоне, окружающей радиальные артериолы ( $n = 17$ ) и восходящие кортикальные венулы ( $n = 26$ ). С этой целью кончик микроэлектрода сначала позиционировали на стенке исследуемого микрососуда, затем с помощью механического микроманипулятора отводили от стенки в ткань с шагом 5–15 мкм, измеряя  $pO_2$  в каждой точке [11]. Следует отметить, что указанные профили  $pO_2$  в условиях АГ получены впервые.

Все исследованные профили  $pO_2$  вблизи радиальных артериол были разделены на две группы в зависимости от скорости снижения  $p_tO_2$  при удалении кончика микрососуда от стенки: группу А1 ( $n = 12$ ), если на удалении 60 мкм от стенки  $p_tO_2 \geq 10$  мм рт. ст.; группу А2 ( $n = 5$ ), если на удалении 60 мкм от стенки  $p_tO_2 < 10$  мм рт. ст. (рис. 2b). Профили  $pO_2$  вблизи радиальных венул также были разделены на две группы в зависимости от скорости снижения  $p_tO_2$  при удалении кончика микрососуда от стенки: группу V1 ( $n = 13$ ), если на удалении 30 мкм от стенки  $p_tO_2 \geq 10$  мм рт. ст.; группу V2 ( $n = 13$ ), если на удалении 30 мкм от стенки  $p_tO_2 < 10$  мм рт. ст. (рис. 2d).

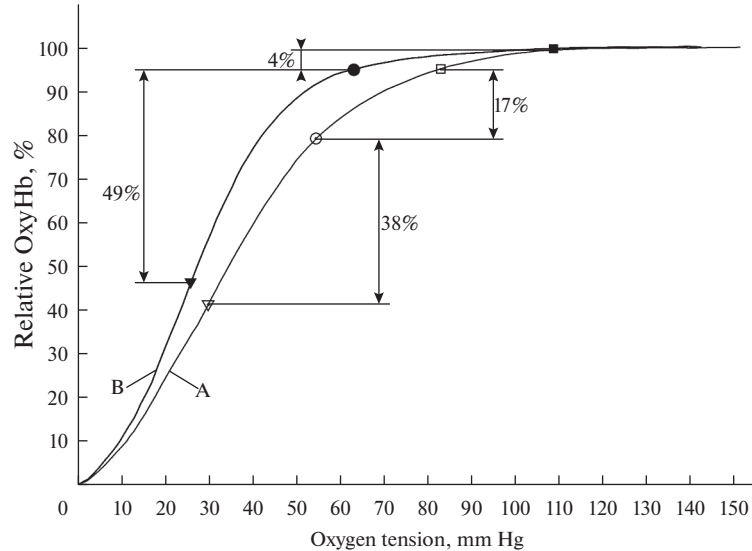
При АГ рН артериальной крови увеличилось на 0.2 (табл. 1). Согласно эффекту Бора  $P50$  ( $pO_2$  полунасыщения гемоглобина крови кислородом) артериальной крови крысы снизилось с 34 мм рт. ст. (линия А) до 27–28 мм рт. ст. (линия В, рис. 3), что привело к смещению КДО влево.



**Рис. 2.** Профили тканевого  $pO_2$  вблизи стенки радиальных артериол (а) и восходящих (кортикальных) венул (с) коры головного мозга крысы при гипокапнии. По оси абсцисс – расстояние от стенки микрососуда, мкм. По оси ординат – напряжение кислорода, мм рт. ст. Каждый значок на графике соответствует отдельному измерению  $pO_2$ . (b) – усредненные профили тканевого  $pO_2$  возле радиальных артериол коры головного мозга крысы при гипокапнии. Обозначения:  $\circ$  – группа A1;  $\bullet$  – группа A2. (d) – усредненные профили тканевого  $pO_2$  возле восходящих (кортикальных) венул коры головного мозга крысы при гипокапнии. Обозначения:  $\square$  – группа V1;  $\blacktriangledown$  – группа V2.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Транспорт кислорода из крови микрососудов к клеткам тканей осуществляется путем физической диффузии под действием градиента напряжения кислорода. Согласно закону Фика, чем выше градиент  $pO_2$ , тем, при прочих равных условиях, больше поток кислорода в ткань [13]. Для анализа транспорта кислорода в тканях организма чрезвычайно важно оценить напряжение кислорода в крови мельчайших микрососудов.



**Рис. 3.** Кривая диссоциации оксигемоглобина (КДО) артериальной крови крысы в контроле (А) и при гипоксии (В). По оси абсцисс – напряжение кислорода, мм рт. ст. По оси ординат – степень насыщения кислородом гемоглобина крови, %. Обозначения для кривой А (контроль): □ –  $P_aO_2$ ; ○ –  $pO_2$  на артериолах с диаметром просвета 7–10 мкм; □ –  $pO_2$  на венах с диаметром просвета 7–10 мкм. Обозначения для кривой В (гипоксия): ■ –  $P_aO_2$ ; ● –  $pO_2$  на артериолах с диаметром просвета 7–10 мкм; ▼ –  $pO_2$  на венах с диаметром просвета 7–10 мкм. См. объяснение в тексте.

В данном исследовании напряжение кислорода измеряли на стенке микрососуда, максимально приближая кончик микроэлектрода к просвету сосуда, без прокола стенки. Такие измерения можно считать корректной оценкой  $pO_2$  в крови этих микрососудов в силу незначительного трансмурального градиента  $pO_2$  на стенке [14]. Поэтому применяемая нами методика измерения  $pO_2$ , несмотря на инвазивность, обладает важным преимуществом: она обеспечивает прямые измерения  $pO_2$  с высоким пространственным разрешением (единицы мкм) как на микрососудах, так и в тканях мозга. Разрабатываемые в последнее время оптические методы измерения  $pO_2$  с использованием двухфотонной микроскопии и специальных фосфоресцентных красителей позволяют оценивать параметры транспорта кислорода ( $pO_2$ , поток эритроцитов, линейная скорость кровотока и пр.) преимущественно в крови микрососудов [15–17]. Большинство этих экспериментов выполнено при нормальных условиях (нормоксия, нормокапния) [15, 18, 19]. Представленные в данном исследовании результаты измерений  $pO_2$  на микрососудах и в тканях коры головного мозга при АГ во многом являются приоритетными.

Распределение  $pO_2$  на артериолах при дыхании воздухом соответствует нашим ранее полученным результатам [20]. Наблюдаемое снижение  $pO_2$  на стенке артериол при уменьшении их калибра обусловлено диффузией кислорода из крови артериол через их стенку в ткань (рис. 1а) [10, 11].

Гипокапния, вызванная принудительной гипервентиляцией легких, привела к заметному изменению распределения  $pO_2$  на артериолах мозга (рис. 1б). Вследствие увеличения  $P_aO_2$  произошел рост  $pO_2$  на артериальных микрососудах. Даже на мельчайших артериолах диаметром 7–20 мкм, из которых кровь поступает в капилля-

ры,  $pO_2$  достоверно повысилось с  $54.7 \pm 1.5$  ( $n = 12$ ) до  $64.4 \pm 2.0$  мм рт. ст. ( $n = 48$ ) ( $p < 0.05$ ). Повышенное  $pO_2$  в крови артериол должно способствовать более интенсивной диффузии кислорода через их стенку в ткань мозга. Далее, однако, будет показано, что вклад артериол в кислородное обеспечение коры головного мозга при АГ существенно снижен по сравнению с нормой.

Распределение напряжения кислорода на венах коры головного мозга крыс характеризуется значительным разбросом значений, обусловленным различиями в условиях газообмена (скорость кровотока, уровень метаболизма ткани и пр.) в вышерасположенных участках капиллярной сети. Венозные микрососуды выполняют не только перенос крови и продуктов метаболизма из капилляров в крупные вены. Мельчайшие вены снабжают ткани кислородом и, в силу своей значительной газообменной поверхности, играют демпфирующую роль, особенно при экстремальных условиях транспорта кислорода [21]. Поэтому в современных моделях транспорта кислорода в тканях венозные микрососуды обязательно учитываются как важная сторона газообмена между кровью и тканями [12, 22].

Важно отметить, что в газообмене между кровью и тканями принимают участие преимущественно мельчайшие вены с диаметром просвета до 100 мкм [11]. В контроле среднее  $pO_2$  на венах с диаметром просвета 7–100 мкм ( $n = 22$ ) составило  $33.6 \pm 1.8$  мм рт. ст., тогда как при АГ среднее  $pO_2$  достоверно снизилось до  $24.1 \pm 0.7$  мм рт. ст. ( $n = 186$ ,  $p < 0.001$ ). Средний диаметр просвета исследованных венул в выборке составил  $35.7 \pm 6.7$  и  $36.4 \pm 1.9$  мкм ( $p > 0.05$ ) соответственно. На некоторых венах  $pO_2$  составило 10–15 мм рт. ст., что существенно ниже “критического”  $pO_2$  для венозного участка капилляров (рис. 1d) [23]. Основной причиной падения  $pO_2$  в крови мельчайших микрососудов при АГ является снижение уровня мозгового кровотока вследствие констрикции пиальных и кортикальных артериол [3].

Из литературы известно, что радиальные артериолы коры головного мозга непосредственно снабжают кислородом тканевую зону на удалении до 60–70 мкм от их стенки [11, 24]. В этой тканевой зоне отсутствуют капилляры и обеспечение ее кислородом осуществляется исключительно за счет диффузии  $O_2$  через стенку артериол [25, 26].

В данной работе впервые для условий артериальной гипоксии измерены профили тканевого  $pO_2$  вблизи радиальных артериол и венул с диаметром просвета 10–20 мкм, позволяющие детализировать особенности диффузии  $O_2$  через стенку этих микрососудов (рис. 2а, с). Способны ли артериолы и вены в условиях АГ обеспечивать кислородом тканевую зону вблизи их стенки? Уровень “критического”  $pO_2$  для коры головного мозга, при котором наблюдаются признаки нарушения тканевого дыхания, составляет около 10 мм рт. ст. [26–28].

Можно заключить, что нервные клетки, локализованные вблизи стенки артериол группы А1, в условиях АГ получают достаточное количество кислорода, тогда как клетки, расположенные в тканевой зоне артериол группы А2, частично, будут находиться в условиях гипоксии несмотря на то, что в крови этих артериол  $pO_2$  выше 60 мм рт. ст. (рис. 2b). Тканевая гипоксия при АГ может вызвать дилатацию некоторых артериол и соответственно рост  $p_tO_2$  вблизи стенки этих артериол [9]. Несмотря на то, что артериолы являются самым мощным источником кислорода в ткань (высокое  $pO_2$ , интенсивный кровоток), суммарная площадь их газообменной поверхности существенно меньше площади газообмена для капилляров и мелких венул [22]. Тем не менее, согласно нашим оценкам и литературным данным, в нормальных условиях через стенку артериол разного калибра в ткань поступает до 30% всего кислорода, потребляемого корой головного мозга [11, 18, 26].



Согласно нашим данным, среднее  $pO_2$  в крови венул группы V2 составило  $23.1 \pm 1.9$  мм рт. ст. ( $n = 13$ ), а в ткани, на удалении 15–20 мкм от стенки, — менее 10 мм рт. ст., что свидетельствует о наличии гипоксии вблизи этих микрососудов. Учитывая большую поверхность газообмена мельчайших венул, можно полагать, что значительная часть ткани в области венозного конца капилляров и мельчайших венул находится в условиях недостаточного кислородного обеспечения. При АГ наблюдались также венулы (группа V1), где условия газообмена сохранились близкими к контролю (нормоксемии):  $p_tO_2$  на расстоянии 30 мкм от стенки составляло 20–30 мм рт. ст. (рис. 2с, d). Такие венулы, безусловно, остаются важным источником кислорода для ткани коры головного мозга крыс [29].

Важно отметить, что при АГ кривая диссоциации оксигемоглобина крови крысы, согласно эффекту Бора, смещается влево (рис. 3, линия В) [30, 31]. Это означает, что разгрузка кислорода из гемоглобина на уровне артериол и капилляров происходит при более низких  $pO_2$ , что, наряду со снижением мозгового кровотока, приводит к существенному ухудшению кислородного обеспечения тканей.

Количественным показателем выхода кислорода из крови микрососудов может служить разность между насыщением кислородом ( $\Delta So_2$ ) на том или ином участке микрососудистой сети. Например, измерив  $pO_2$  на мельчайших артериолах и венулах с диаметром просвета 7–10 мкм, можно приблизительно оценить долю кислорода, перешедшего в ткань из крови капилляров. Согласно нашим оценкам, при контроле (спонтанное дыхание воздухом) кровь десатурируется на уровне артериол на 17%, а на уровне капилляров — еще на 38% (рис. 3, линия А). При АГ кровь десатурируется на уровне артериол на 4%, а на уровне капилляров — еще на 49% (рис. 3, линия В). Таким образом, при гипокапнии, вследствие сдвига КДО влево, вклад артериол в кислородное обеспечение ткани головного мозга существенно снижается, несмотря на повышенное  $pO_2$  в их крови. Капилляры и мельчайшие венулы, в силу огромной газообменной поверхности, являются основным источником кислорода в ткань коры головного мозга при выраженной артериальной гипокапнии.

В заключение, в условиях выраженной артериальной гипокапнии (принудительной вентиляции легких воздухом) впервые представлены прямые измерения величин  $pO_2$ , полученных на стенке артериол и венул коры головного мозга крысы и в ткани на разном удалении от стенки этих микрососудов. Показано, что вклад артериол в кислородное обеспечение ткани головного мозга при гипокапнии, несмотря на повышенное  $pO_2$  в их крови, существенно снижается. Состояние гипокапнии приводит к значительному ухудшению снабжения кислородом коры головного мозга, несмотря на высокие показатели  $pO_2$  в системной артериальной крови и в крови сагиттального синуса.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования проводили в соответствии с регламентом, установленным МЗСР РФ № 708н от 23.08.10 (“Правила лабораторной практики”), Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, и требованиями Комиссии по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 09/05 от 05.09.2022 г.).

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019–2030), тема 0134-2019-0001.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы, проведение экспериментов, написание и редактирование текста – Е.П.В. Проведение экспериментов, обработка данных, обсуждение работы, подготовка черновика статьи – И.Б.С.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Curley G, Kavanagh BP, Laffey JG* (2010) Hypocapnia and the injured brain: more harm than benefit. *Crit Care Med* 38(5): 1348–1359.  
<https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181d8cf2b>
2. *Tavel ME* (2021) Hyperventilation Syndrome: Why Is It Regularly Overlooked? *Am J Med* 134(1): 13–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.07.006>
3. *Godoy DA, Rovegno M, Lazaridis C, Badenes R* (2021) The effects of arterial CO<sub>2</sub> on the injured brain: Two faces of the same coin. *J Crit Care* 61: 207–215.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.10.028>
4. *Kramer KEP, Anderson EE* (2022) Hyperventilation-Induced Hypocapnia in an Aviator. *Aerosp Med Hum Perform* 93(5): 470–471.  
<https://doi.org/10.3357/AMHP.5975.2022>
5. *Ringer SK, Clausen NG, Spielmann N, Weiss M* (2019) Effects of moderate and severe hypocapnia on intracerebral perfusion and brain tissue oxygenation in piglets. *Paediatr Anaesth* 29(11): 1114–1121.  
<https://doi.org/10.1111/pan.13736>
6. *Ito H, Kanno I, Ibaraki M, Hatazawa J, Miura S* (2003) Changes in human cerebral blood flow and cerebral blood volume during hypercapnia and hypocapnia measured by positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 23(6): 665–670.  
<https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000067721.64998.F5>
7. *Harper AM, Glass HI* (1965) Effect of alterations in the arterial carbon dioxide tension on the blood flow through the cerebral cortex at normal and low arterial blood pressures. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 28(5): 449–452.  
<https://doi.org/10.1136/jnnp.28.5.449>
8. *Nwaigwe CI, Roche MA, Grinberg O, Dunn JF* (2000) Effect of hyperventilation on brain tissue oxygenation and cerebrovenous PO<sub>2</sub> in rats. *Brain Res* 868(1): 150–156.  
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02321-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02321-0)
9. *Grote J, Zimmer K, Schubert R* (1981) Effects of severe arterial hypocapnia on regional blood flow regulation, tissue PO<sub>2</sub> and metabolism in the brain cortex of cats. *Pflugers Arch* 391(3): 195–199.  
<https://doi.org/10.1007/BF00596170>
10. *Duling BR, Kuschinsky W, Wahl M* (1979) Measurements of the perivascular PO<sub>2</sub> in the vicinity of the pial vessels of the cat. *Pflugers Arch* 383(1): 29–34.  
<https://doi.org/10.1007/BF00584471>
11. *Vovenko EP* (1999) Distribution of oxygen tension on the surface of arterioles, capillaries and venules of brain cortex and in tissue in normoxia: an experimental study on rats. *Pflugers Arch* 437(4): 617–623.  
<https://doi.org/10.1007/s004240050825>
12. *Sharan M, Popel AS, Hudak ML, Koehler RC, Traystman RJ, Jones MD, Jr* (1998) An analysis of hypoxia in sheep brain using a mathematical model. *Ann Biomed Eng* 26(1): 48–59.  
<https://doi.org/10.1114/1.50>
13. *Steyn-Ross DA, Steyn-Ross ML, Sleigh JW, Voss LJ* (2023) Determination of Krogh Coefficient for Oxygen Consumption Measurement from Thin Slices of Rodent Cortical Tissue Using a Fick's Law Model of Diffusion. *Int J Mol Sci* 24(7): 6450.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24076450>
14. *Sharan M, Vovenko EP, Vadapalli A, Popel AS, Pittman RN* (2008) Experimental and theoretical studies of oxygen gradients in rat pial microvessels. *J Cereb Blood Flow Metab* 28(9): 1597–1604.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2008.51>
15. *Lyons DG, Parpaleix A, Roche M, Charpak S* (2016) Mapping oxygen concentration in the awake mouse brain. *Elife* 5: e12024.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.12024>

16. Li B, Esipova TV, Sencan I, Kilic K, Fu B, Desjardins M, Moeini M, Kura S, Yaseen MA, Lesage F, Ostergaard L, Devor A, Boas DA, Vinogradov SA, Sakadzic S (2019) More homogeneous capillary flow and oxygenation in deeper cortical layers correlate with increased oxygen extraction. *Elife* 8: e42299.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.42299>
17. Shih AY, Driscoll JD, Drew PJ, Nishimura N, Schaffer CB, Kleinfeld D (2012) Two-photon microscopy as a tool to study blood flow and neurovascular coupling in the rodent brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 32(7): 1277–1309.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.196>
18. Sakadzic S, Mandeville ET, Gagnon L, Musacchia JJ, Yaseen MA, Yucel MA, Lefebvre J, Lesage F, Dale AM, Eikermann-Haerter K, Ayata C, Srinivasan VJ, Lo EH, Devor A, Boas DA (2014) Large arteriolar component of oxygen delivery implies a safe margin of oxygen supply to cerebral tissue. *Nat Commun* 5: 5734.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms6734>
19. Parpaleix A, Goulam HY, Charpak S (2013) Imaging local neuronal activity by monitoring PO<sub>2</sub> transients in capillaries. *Nat Med* 19(2): 241–246.  
<https://doi.org/10.1038/nm.3059>
20. Vovenko EP, Chuikin AE (2008) Oxygen tension in rat cerebral cortex microvessels in acute anemia. *Neurosci Behav Physiol* 38(5): 493–500.  
<https://doi.org/10.1007/s11055-008-9007-4>
21. Shonat RD, Johnson PC (1997) Oxygen tension gradients and heterogeneity in venous microcirculation: a phosphorescence quenching study. *Am J Physiol* 272(5 Pt 2): H2233–H2240.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1997.272.5.H2233>
22. Celaya-Alcala JT, Lee GV, Smith AF, Li B, Sakadzic S, Boas DA, Secomb TW (2021) Simulation of oxygen transport and estimation of tissue perfusion in extensive microvascular networks: Application to cerebral cortex. *J Cereb Blood Flow Metab* 41(3): 656–669.  
<https://doi.org/10.1177/0271678X20927100>
23. Ward J (2006) Oxygen delivery and demand. *Surgery (Oxf)* 24(10): 354–360.  
<https://doi.org/10.1053/j.mpsur.2006.08.010>
24. Sakadzic S, Yaseen MA, Jaswal R, Roussakis E, Dale AM, Buxton RB, Vinogradov SA, Boas DA, Devor A (2016) Two-photon microscopy measurement of cerebral metabolic rate of oxygen using periarteriolar oxygen concentration gradients. *Neurophotonics* 3(4): 045005.  
<https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.4.045005>
25. Nishimura N, Schaffer CB, Friedman B, Lyden PD, Kleinfeld D (2007) Penetrating arterioles are a bottleneck in the perfusion of neocortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(1): 365–370.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0609551104>
26. Kasischke KA, Lambert EM, Panepento B, Sun A, Gelbard HA, Burgess RW, Foster TH, Nedergaard M (2011) Two-photon NADH imaging exposes boundaries of oxygen diffusion in cortical vascular supply regions. *J Cereb Blood Flow Metab* 31(1): 68–81.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.158>
27. Scheufler KM, Lehnert A, Rohrborn HJ, Nadstawek J, Thees C (2004) Individual value of brain tissue oxygen pressure, microvascular oxygen saturation, cytochrome redox level, and energy metabolites in detecting critically reduced cerebral energy state during acute changes in global cerebral perfusion. *J Neurosurg Anesthesiol* 16(3): 210–219.  
<https://doi.org/10.1097/00008506-200407000-00005>
28. Zhang K, Zhu L, Fan M (2011) Oxygen, a Key Factor Regulating Cell Behavior during Neurogenesis and Cerebral Diseases. *Front Mol Neurosci* 4: 5.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2011.00005>
29. Vovenko EP, Chuikin AE (2010) Tissue oxygen tension profiles close to brain arterioles and venules in the rat cerebral cortex during the development of acute anemia. *Neurosci Behav Physiol* 40(7): 723–731.  
<https://doi.org/10.1007/s11055-010-9318-0>
30. West JB (2019) Three classical papers in respiratory physiology by Christian Bohr (1855–1911) whose work is frequently cited but seldom read. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 316(4): L585–L588.  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00527.2018>
31. Vovenko EP, Chuikin AE (2013) Longitudinal Oxygen Tension Gradients in Small Cortical Microvessels in the Rat Brain on Development of Acute Anemia. *Neurosci Behav Physiol* 43(6): 748–754.  
<https://doi.org/10.1007/s11055-013-9804-2>

**Distribution of Oxygen Tension on Microvessels and in Tissue of Rat Brain Cortex at Severe Arterial Hypocapnia****E. P. Vovenko<sup>a</sup>, \* and I. B. Sokolova<sup>a</sup>**<sup>a</sup>*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia**\*e-mail: vovenko@infran.ru*

Arterial hypocapnia (AH), induced by voluntary or forced hyperventilation of the lungs, is accompanied by a decrease in cerebral blood flow (due to an increase in the arteriole tone) and an increase in the affinity of hemoglobin for oxygen. As a result, an insufficient oxygen supply to cortical tissue take place and zones with a critically low oxygen tension ( $pO_2$ ) are formed in brain tissue. The distribution of  $pO_2$  to cerebral cortex during AH has not been studied enough. The aim of the work was to evaluate the effectiveness of oxygen supply to brain tissue at the level of arterial and venous microvessels at AH. To do this, the following tasks were set: 1) to study the distribution of the  $pO_2$  on the arterial and venous microvessels of the rat cerebral cortex; 2) to analyze tissue  $pO_2$  profiles near the walls of these microvessels. On anesthetized Wistar rats under conditions of forced hyperventilation ( $P_aCO_2 = 17.1 \pm 0.7$  mm Hg), the distribution of oxygen tension on the wall of pial and radial arterioles with a lumen diameter of 7–70  $\mu\text{m}$  and on the wall of pial and ascending venules with a lumen diameter of 7–300  $\mu\text{m}$  was studied. In tissue, near the wall of cortical arterioles and venules with a lumen diameter of 10–20  $\mu\text{m}$ , tissue  $pO_2$  profiles were measured. Measurements of  $pO_2$  during spontaneous breathing of the animal with air served as a control. All  $pO_2$  measurements were made using platinum polarographic microelectrodes with a tip diameter of 3–5  $\mu\text{m}$ . Visualization of the electrode tip and microvessels was carried out using a LUMAM-K1 microscope with epiobjectives of the contact type. This work presents for the first-time direct measurements of  $pO_2$  on the walls of arterioles and venules of the rat cerebral cortex and in tissues at different distances from the walls of these microvessels at AH. It has been shown that AH results in significant decrease in the oxygen supply to cerebral cortex, that is manifested by a significant drop of the  $pO_2$ 's on venous microvessels and in tissue in the immediate vicinity of the studied microvessels. It has been shown, that the role of arterioles as a direct source of oxygen to brain tissue, is significantly reduced during arterial hypocapnia. Forced hyperventilation results in significant deterioration of oxygen supply to cerebral cortex, despite elevated  $pO_2$  values in the systemic arterial blood and in blood of systemic cerebral veins (sagittal sinus).

**Keywords:** arterial hypocapnia, oxygen tension, hyperventilation,  $pO_2$  microelectrode, arterioles, venules,  $pO_2$  gradients, tissue hypoxia