

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Забайкальский государственный университет»
(ФГБОУ ВПО «ЗабГУ»)

УДК 615.1 591.11 612.42 591.144
№ госрегистрации 01201461150
Инв. №

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и
инновационной работе,
к.р техн. наук, профессор



А.Н. Хатькова

А.Н. Хатькова 2015 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Закономерности и механизмы структурных изменений в органах и тканях при экспериментальном
лактат-ацидозе. Механизмы развития ДВС-синдрома при метаболическом ацидозе в эксперименте

и клинике

(промежуточный)

Начальник научно-исследовательского
управления

И.Ю. Мальчикова
30.01.2015

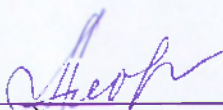
Руководитель темы

Е.В. Альфонсова
29.01.2015

Чита 2015


СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы,
канд. мед. наук, доцент

 29.01.2015 Е.В. Альфонсова

подпись, дата

Нормоконтролер

 30.01.2015 Е.Б. Якимова

подпись, дата

РЕФЕРАТ

Отчет 69 с., 4 ч., 13 табл., 156 источн.

ОСТРЫЙ ЛАКТАТ-АЦИДОЗ, pH, КОС, ГЕМОСТАЗ, АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ, ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ТРОМБОЦИТОВ, ФИБРИНОЛИЗ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ, ОСТРАЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВАЯ ТРАВМА, ПОЛИТРАВМА, ДВС-СИНДРОМ, ПОЛИОРГАННАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Проблема тромбозов в артериях, венах, микроциркуляторном русле является одной из самых актуальных в современной медицине (Чазов Е.И. и соавт., 1966, 2008, 2010; Савельев, Л.А. и соавт., 1970, 1982; Бокерия и соавт, 2001, 2006, 2008, 2010). Оклюзия микроциркуляторного русла в виде различных вариантов внутрисосудистого микросвертывания крови не имеет точной статистической оценки, хотя встречается при многих заболеваниях, сопровождающихся гипертонией, интоксикацией, сепсисе, нарушениями иммунитета (И.Н.Бокарев, 2005; В.Р.Soller, 2001; P.Gincean, 2001; А.Ш.Бышевский и соавт., 2000; В.П.Балуда и соавт., 2005; Б.И.Кузник и соавт., 1987-2010). Поэтому внутрисосудистое тромбообразование – один из важных патологических процессов, требующий постоянного внимания со стороны исследователей и практических врачей (К.А.Webster, 2000).

Цель исследования - изучение воздействия pH среды на состояние системы гемостаза и морфологические изменения в различных тканях и органах в эксперименте и клинике.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза в различных регионах сердечнососудистой системы в норме и при остром лактатацидозе.
2. Установить действие pH среды на активность факторов свертывания крови и гепарина
3. Выявить влияние лактат-ацидоза на электрофоретический потенциал и агрегационную активность тромбоцитов
4. Исследовать закономерности и механизмы развития морфологического эквивалента экспериментального ДВС-синдрома в различных отделах сосудистого русла при остром лактатацидозе
5. Выявить роль метаболического ацидоза в механизме сдвигов в системе гемостаза у больных с острой и сочетанной черепно-мозговой травмой и сахарным диабетом.
6. Установить корреляционные взаимоотношения между отдельными показателями кислотно-основного равновесия и состоянием системы гемостаза в эксперимента и клинике

Методы исследования морфологического материала:

Взятие материала для микроскопического исследования тканей органов иммунной системы осуществлялось у лабораторных животных под гексеналовым наркозом в контроле, и после введения 3% раствора молочной кислоты на 0,85% растворе хлорида натрия. Кусочки тканей и органов размером 0,5 – 1,0 см фиксировались в 10% забуференном нейтральном растворе формальдегида (рН 7,0) при температуре 18 - 20°C в течение 24 – 48 ч. Заливка осуществлялась с использованием парафина (Г.А.Меркулов, 1969).

Методы окрашивания морфологического материала:

1. Окраска гематоксилин-эозином.
2. Окраска гематоксилин-пикрофуксином по Ван-Гизон.
3. Окраска гематоксилином Вейгерта в модификации Харта.
4. Импрегнация азотнокислым серебром по Футу.
5. Окраска кармином по Бесту.
6. Электронная микроскопия кусочков органов производилась при рН 7,4 (контроль), 7,2 и 7,0 (опыт) через 15 и 30 мин после начала ацидоза. Микрофоторафии были созданы с помощью аппаратно-компьютерного комплекса, включающего лабораторно-исследовательский микроскоп Olympus BX41, специализированную цифровую фотовидеокамеру для микроскопии камера ProgRes C5
7. Системное медицинское морфометрическое исследование выполнено с использованием программного обеспечения для анализа изображения «Мастер морфология 5.2».
8. Статистическая обработка материала проводилась на ПЭВМ Pentium с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007 для операционной системы Windows-7. Достоверность различных показателей в группах оценивали по величине t – критерия Стьюдента.
9. ГОСТ 7.32 – 2001 «Отчет о научно-исследовательской работе»
10. Персональный компьютер. Программное обеспечение.

Выводы:

1. В опытах *in vitro* сдвиг рН крови до 7,26 сопровождается появлением спонтанной агрегации тромбоцитов, что приводит к ее снижению при добавлении АДФ. Одновременно при этом ликвидируется фаза дезагрегации и происходит падение дзета-потенциала тромбоцитов. Добавление различных концентраций молочной кислоты приводит к сокращению времени свертывания плазмы и уменьшению ее фибринолитической активности. Выявлены прямые и обратные корреляционные связи умеренной и сильной степени между рН крови и различными показателями сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза.

2. Однократное введение молочной кислоты и сдвиг рН крови до 7,07 в опытах *in vivo* приводит к развитию гиперкоагуляции, увеличению активности VIII фактора, торможению фибрино-

лиза и повышению содержания РФМК. Несмотря на нормализацию метаболических сдвигов эти изменения сохраняются на протяжении часа (время наблюдения).

3. Показатели свертывания крови в различных регионах сердечно-сосудистой системы не одинаковы и тесным образом связаны с интенсивностью метаболических процессов. Наибольшая скорость свертывания крови отмечается в пробах, взятых из правого предсердия, здесь же определялось самое низкое значение рН. Аортальная кровь свертывалась значительно медленнее. Самым продолжительным время свертывания плазмы получено из крови бедренной артерии; максимальная скорость свертывания оказалась в крови воротной вены.

4. ДВС-синдром, развивающийся в результате острого лактат-ацидоза, в различных регионах сердечно-сосудистой системы характеризуется многофазным течением. При рН 7,2-7,0 наряду с гиперкоагуляцией, появляются сладжи эритроцитов, наблюдается умеренное снижение концентрации фибриногена и нарастание РФМК. Увеличение глубины ацидоза и его продолжительности приводит к спонтанной агрегации тромбоцитов и потреблению факторов свертывания крови, что, в конечном итоге, ведет к развитию вторичной гипокоагуляции. При этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда ТЭГ, падает число и уменьшается ζ -потенциал тромбоцитов. Прохождение крови через печень изменяет ее гемокоагуляционные свойства, направленные на коррекцию процессов гемостаза.

5. При остром лактат-ацидозе, по данным электронной микроскопии, появляется деформация цитоплазматической мембраны эндотелия, образуются микровезикулы, и наступает дегрануляция тучных клеток. При сдвигах рН до 7,2 и продолжительности ацидоза от 30-60 мин. в сосудах в основном выявляются сладжи эритроцитов. Дальнейший сдвиг рН и увеличение экспозиции ацидоза более 60 минут приводит к образованию тромбов и глубокому расстройству микроциркуляции.

6. Острый лактат-ацидоз со сдвигом рН до 7,2 и продолжительности от 15 до 60 минут вызывает в миокарде неспецифические структурные изменения, расцениваемые как миокардиодистрофия. При рН 7,1 и продолжительности ацидоза более 60-100 минут обнаруженные изменения расцениваются как необратимые очаговые повреждения миокарда. Сдвиг рН до 7,0 приводит к дистрофии и некробиозу кардиомиоцитов, внутриклеточному миоцитолиту и очаговому глыбчатому распаду, гиперэозинофилии цитоплазмы, гиперхромии и пикнотическому сморщиванию ядер, периваскулярному и межклеточному отеку. Дальнейший сдвиг рН до 6,9 приводит к развитию острого инфаркта миокарда.

7. В гепатоцитах при остром лактат-ацидозе различной глубины от рН 7,2 до рН 7,0 и продолжительностью от 30 до 180 минут отмечаются признаки митохондриальной дисфункции, нарушение целостности эндоплазматического ретикулума, кариопикноз, кариолизис, липофонероз и резкое уменьшение количества зерен гликогена. При рН 7,2 и продолжительности ацидоза от 15

до 60 минут в печени развивается жировая и вакуольная дистрофия. При рН 7,1 обнаруженные очаговые повреждения носят необратимый характер. Сдвиг рН до 7,0 приводит к вакуольной дистрофии, некробиозу и некрозу клеток печени.

8. У больных с черепно-мозговой травмой и сахарным диабетом 1 и 2 типов отмечаются признаки метаболического ацидоза, характеризующиеся снижением рН крови до 7,21, низким уровнем карбонатов (HCO_3), стандартных бикарбонатов (SB), общих карбонатов ($t \text{CO}_2$), и отрицательным значением концентрации буферных оснований (BE). У таких больных усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывание крови, снижается число тромбоцитов, сокращается АЧТВ, удлиняется протромбиновое время (МНО) повышается концентрация РФМК и D – димеров. Выявленные прямые и обратные корреляционные связи умеренной и сильной степени между показателями кислотно-щелочного равновесия и системы гемостаза свидетельствуют о том, что сдвиг метаболический ацидоз является фактором риска в развитии ДВС-синдрома, сопровождаемого полиорганной недостаточностью

Инструментарий, использованный при выполнении отдельных видов работ (этапов) по Государственному контракту:

1. Olympus BX41 микроскоп лабораторно-исследовательского класса
2. Специализированная фотовидеокамера для микроскопии цифровая цветная камера ProgRes C5
3. Программное обеспечение для анализа изображения Мастер морфология 5.2.
4. Стереоскопический микроскоп ЛабоСтеми-Лонгер со специализированной фотовидеокамерой
5. Цифровая камера DCM500 для использования с микроскопом
6. Весы технические аптечные ВА-4М (до 1 кг.)
7. Аквадистиллятор ДЭ-4
8. Фотоколориметр КФК-2
9. рН-метр стационарный рН 211
10. Центрифуга лабораторная СМ-12
11. Баня лабораторная ТW-2
12. Электрокоагулограф Н-344
13. Микротом санный "МС-2"
14. Термостат ТС-1/80 СПУ
15. Шкаф сушильный
16. Весы лабораторные ВЛР 200
17. Персональный компьютер с программным обеспечением
18. Межгосударственный стандарт ГОСТ 7.32-2001.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	8
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	13
1 Материал и методы исследования.....	13
2 Результаты собственных исследований.....	18
2.1 Влияние различных концентраций лактата на состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в опытах <i>in vitro</i>	18
2.2 Изменение показателей тромбозластографии и электрокоагулографии при лактатацидозе.....	20
2.3 Влияние экспериментального лактат-ацидоза различной глубины и продолжительности на свертывание крови, фибринолиз в различных отделах сосудистого русла в опытах <i>in vivo</i>	25
2.4 Пато- и морфогенез диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в различных регионах сердечнососудистой системы при метаболическом ацидозе.....	28
3 Выводы.....	38
4 Результаты теоретических и экспериментальных исследований.....	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	59

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АГГ – антигемофильный глобулин

АДФ – аденозин-5'-дифосфат

АКТГ – адренкортикотропный гормон

АМФ – аденозин-5'-монофосфат

АТФ – аденозин-5'-трифосфат

ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание

ИБС - ишемическая болезнь сердца

ИК – искусственное кровообращение

КФК – креатинфосфокиназа

КЩР – кислотно-щелочное равновесие

ЛА – лактат-ацидоз

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

МК – молочная кислота

МИАКШ – мини-инвазивное аорто-коронарное шунтирование

НАДФ⁺ - никотинамидадениндинуклеотидфосфат (окисленная форма)

НАДФН + Н⁺ - никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма)

ПВК – пировиноградная кислота

ПДФ – продукты деградации фибрина

ПКС - пороки клапанов сердца

ТГС – тромбгеморрагический синдром

ФАД – флавинадениндинуклеотид (окисленная форма)

ФАДН₂ – флавинадениндинуклеотид (восстановленная форма)

ШИК – реакция – гистохимическое исследование для выявления гликогена в тканях и соединений белка с углеводами

pH – стандартный водородный показатель

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы.

Проблема тромбозов в современной медицине является одной из самых актуальных (Е.И. Чазов и др., 2007, 2008, 2011; В.С. Савельев и др., 2001; Л.А. Бокерия и др., 2005, 2008, 2010). Окклюзия микроциркуляторного русла в виде различных вариантов внутрисосудистого микросвертывания крови не имеет точной статистической оценки, хотя встречается при самых различных заболеваниях (Баркаган З.С., 2001; В.П. Балуда и др., 2005; И.Н. Бокарев, 2010; А.Ш. Бышевский и др., 2009; Б.И. Кузник и др., 2009-2012; И.Н. Бокарев, Л.В. Попова, 2013). Вот почему внутрисосудистое тромбообразование является одним из важнейших патологических процессов, требующих постоянного внимания со стороны исследователей и практических врачей.

В настоящее время появились многочисленные работы, в которых система гемостаза перестает рассматриваться изолированно как мультиферментный каскад кровотока, а ее анализ переводится в плоскость взаимосвязей с другими системами организма (Б.И. Кузник и др., 1989-2010; Н.Н. Цыбиков и др., 1986-2011; А.П. Ельчанинов и др., 2000; А.Ш. Бышевский и др., 2008; Д.М. Зубаиров и др., 2009, 2011).

Влияние ацидоза на показатели гемостаза изучались многими исследователями (Е.В. Ройтман, 2000; Р.И. Алексеева и др., 2005; В.В. Альфонсов и др., 1985 – 2005; J.Mikhail, 2005; S.R.Zacharias et al., 2007; и др.). Благодаря этому были выявлены основные закономерности изменения функции тромбоцитов, свертывания крови, фибринолиза, антикоагулянтной активности и развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС). Вместе с тем, до сих пор нет окончательной ясности как сказываются сдвиги в кислотно-основном равновесии на состоянии системы гемостаза. Механизмы пато- и морфогенеза синдрома диссеминированного свертывания при ацидозе различной глубины и продолжительности во многом остаются неизученными.

Нарушения кислотно-основного баланса являются скорее правилом, чем исключением у больных, находящихся в отделениях интенсивной терапии. Ацидотические состояния осложняют течение многих заболеваний, являясь важнейшей составляющей самых разнообразных нозологических форм патологии, включающих такие типовые патологические процессы, как воспаление, лихорадка, шок и другие (Ливанов Г. А. и др., 2005, Беленков Ю. Н., Оганов Р. Г., 2007; Окороков А. И., 2008, 2010; Добавить иностранцев). Всегда, когда имеется дисфункция жизненно-важных систем организма – респираторной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной, становится невозможной ауторегуляция баланса кислот, оснований, электролитов и воды. Эти расстройства, будучи не распознанными и нескорректированными, во многом определяют исход лечения основного заболевания (В.Д. Малышев 2005; Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун, 2006).

Продукты анаэробного метаболизма, вызывающие ацидоз, представляют реальную опасность для организма, так как способны не только нарушать функцию, но и приводить к морфологическим изменениям в различных органах и тканях. Накопление молочной кислоты изменяет гемостатические и реологические свойства крови, усиливает гипоксию тканей и уменьшает функцию энергообразования в клетках (M. Varpula et al., 2005; В.Б.Хватов и др., 2009). Даже вызванная фибрилляцией на короткий период остановка сердца, характеризуется глубоким ацидозом миокарда. После же пятиминутного прекращения работы сердца в пробах крови микроциркуляторного русла и миокарде рН достигает 6,95 и (F Kette et al, 2000). При различных патологических состояниях рН внутриклеточной среды подвержено значительным колебаниям и может снижаться до 6,6 – 6,4 (De Bekker D., 2003).

Значительную роль отводят ацидозу в механизмах регуляции физиологических функций при физических нагрузках. В процессе напряженной физической работы происходит увеличение содержания кислых продуктов обмена, вызывающих сдвиги кислотно-основного состояния (КОС) крови. В отдельных случаях рН артериальной крови у высококвалифицированных спортсменов может падать до 7,0 и даже несколько ниже, а концентрация молочной кислоты достигать 20-25 ммоль/л. (литература). Накопление кислых продуктов обмена обусловлено прежде всего несоответствием между кислородным запросом и его потреблением, что и приводит к увеличению содержания лактата в крови и снижению рН (Горн М.М. и др., 2000; De Bekker D., 2003).

В тоже время влияние лактатацидоза (ЛА) и сдвига рН в кислую сторону на взаимосвязь системы гемостаза с морфологическими изменениями в органах и тканях до сих пор оставалась вне поля зрения исследователей. Этот пробел мы попытались ликвидировать в своей работе.

Целью исследования явилось изучение воздействия рН среды на состояние системы гемостаза и морфологические изменения в различных тканях и органах в эксперименте и клинике.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза в различных регионах сердечнососудистой системы в норме и при остром лактатацидозе.
2. Установить действие рН среды на активность факторов свертывания крови и гепарина
3. Выявить влияние лактат-ацидоза на электрофоретический потенциал и агрегационную активность тромбоцитов
4. Исследовать закономерности и механизмы развития морфологического эквивалента экспериментального ДВС-синдрома в различных отделах сосудистого русла при остром лактатацидозе
5. Выявить роль метаболического ацидоза в механизме сдвигов в системе гемостаза у больных с острой и сочетанной черепно-мозговой травмой и сахарным диабетом.

6. Установить корреляционные взаимоотношения между отдельными показателями кислотно-основного равновесия и состоянием системы гемостаза в экспериментах и клинике.

Научная новизна.

Впервые в опытах *in vitro* показано, что при сдвигах pH в кислую сторону появляется спонтанная агрегация, сокращается время свертывания плазмы и уменьшается фибринолитическая активность крови.

При однократном введении молочной кислоты и сдвиге pH крови до 7,07 в опытах *in vivo* в системе гемостаза наблюдается гиперкоагуляция, увеличивается активность VIII и торможение фибринолиза и повышается содержание РФМК. Эти изменения сохраняются на протяжении часа (время наблюдения), несмотря на нормализацию pH среды.

В опытах *in vivo* установлено, что у интактных животных в различных регионах сердечно-сосудистой системы наблюдается мозаичность pH и показателей системы гемостаза. Наибольший pH отмечался в пробах крови из левого предсердия, аорты и бедренной артерии, наименьший в селезеночной и воротной венах. В венозной крови по сравнению с артериальной наблюдались гиперкоагуляционные сдвиги и усиление фибринолиза. Прохождение крови через печень в норме и при ацидозе изменяет ее гемокоагуляционные свойства, направленные на коррекцию процессов гемостаза.

Установлено, что острый лактат-ацидоз приводит к гиперкоагуляции благодаря действию на различные звенья системы гемостаза: повышает протромбиназную активность, вызывает спонтанную агрегацию и падение дзета-потенциала тромбоцитов и эритроцитов, способствует поступлению в кровоток продуктов разрушения тканей, по-видимому несущих тканевой фактор. Выявлено, что развитие экспериментального ДВС-синдрома и его морфологического эквивалента при метаболическом ацидозе связано с микровезикуляцией эндотелия, эндотелиальной дисфункцией, изменениями соединительнотканного матрикса и структуры клеток. В сосудах различных регионов сердечно-сосудистой системы в зависимости от глубины и продолжительности сдвига pH в кислую сторону, образуются сгустки эритроцитов и тромбы.

Впервые с использованием метода электронной микроскопии показано, что при метаболическом ацидозе происходит повреждение тканей, клеточных структур и межклеточного матрикса различных органов – сердца, почек, печени, желудочно-кишечного тракта. На ультраструктурном уровне наиболее характерными являются маргинация и конгломерация (структурирование) хроматина, вплоть до карнопикноза, разрушение аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума, просветление матрикса митохондрий, деформация крипт, разрывы наружной и внутренней мембран, разрушение цитоплазматических мембран. Эти изменения приводят к выходу клеточных структур, обладающих прокоагулянтной активностью, в межклеточную среду и оказывают воздействие на экстравазальную коагуляцию.

Приоритетными являются исследования морфологии миокарда при метаболическом ацидозе. По данным световой микроскопии, при рН 7,2 и продолжительности ацидоза от 15 до 60 минут сердечная мышца реагирует ограниченным набором неспецифических структурных изменений, которые можно расценивать как миокардиодистрофия. При дальнейшем сдвиге рН до 7,1 и продолжительности более 60-100 минут обнаруженные изменения в кардиомиоцитах следует трактовать как «необратимые». Отмеченные при этом сдвиги свидетельствуют об очаговом повреждении миокарда.

Впервые установлено по данным корреляционного анализа выявлены, что у больных с острой и сочетанной черепно-мозговой травмой и сахарным диабетом с метаболическим ацидозом различной степени тяжести происходит усиление постоянного внутрисосудистого диссеминированного свертывания крови, вплоть до развития ДВС-синдрома, сопровождаемого полиорганной недостаточностью.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ДВС-синдром и его морфологический эквивалент развиваются не только под влиянием острого лактат-ацидоза, но также связаны с морфологическими нарушениями эндотелиоцитов, изменениями соединительнотканного матрикса и структуры клеток в различных органах и тканях. Лактат-ацидоз приводит к выраженным структурным однотипными и неспецифическими нарушениям в миокарде, печени, поджелудочной железе и желудочно-кишечном тракте и других органах; их выраженность зависит от его глубины и продолжительности.

Полученные нами данные имеют не только теоретическое, но и практическое значение, так как могут быть использованы в клинической практике при оценке патологических процессов, возникающих при некомпенсированном лактат-ацидозе. Результаты исследования позволяют расширить представления о глубине изменений в различных органах и тканях и их связи с системой гемостаза, и нарушениями микроциркуляции при остром лактат-ацидозе, приводящие к усилению постоянного диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и развитию полиорганной недостаточности. Не вызывает сомнений, что борьба с ДВС-синдромом должна учитывать необходимость ликвидации ацидотических сдвигов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Материал и методы исследования

Исследование проведено на 87 интактных животных обоего пола (67 кошках, 20 собаках). Экспериментальные животные содержались в виварии в Забайкальском государственном университете на стандартном пищевом рационе при свободном доступе к пище и воде. Было проведено 3 серии экспериментов.

В опытах *in vitro* изучены показатели гемокоагуляционного гемостаза и фибринолиза. На 20 собаках весом от 15 до 25 кг, использованных в качестве доноров, изучали действие различных концентраций молочной кислоты, приготовленной на физиологическом растворе, на свертываемость плазмы и фибринолиз.

Исследование агрегации тромбоцитов проведено в опытах *in vitro* на плазме 30 здоровых людей добровольцев. Субстратную плазму, богатую тромбоцитами (250000-300000 в мм³), получали путем центрифугирования свежей цитратной крови кошек при 1000 об/мин в течение 10 мин. Запись агрегации при различных значениях рН (7,50; 7,4; 7,34; 7,2; 7,18; 6,92).

Во второй серии в опытах *in vivo* были изучены влияния однократного кратковременного введения лактата и сдвига рН крови на показатели сосудисто-тромбоцитарного и гемокоагуляционного гемостаза и фибринолиза, а также характер восстановления в течение 10-60 минут (срок наблюдения).

В третьей серии в опытах *in vivo* изучали влияние различных сдвигов рН крови на состояние системы гемостаза в различных отделах сосудистого русла, а также структурную организацию различных органов и тканей. Лактат-ацидоз создавали введением 3% молочной кислоты в изотоническом растворе NaCl в бедренную вену под гексеналовым наркозом. Различный сдвиг рН в кислую сторону достигали дозированным капельным введением лактата обычно от 20 до 38 капель в мин, под контролем рН. По достижении необходимого значения рН (от 7,25, 7,1, 7,0, 6,9), в течение 5 – 10 мин дозу вводимой молочной кислоты уменьшали до 3 – 5 капель в мин, и поддерживали необходимый уровень соответственно от 15-180 мин, затем брали пробы крови для изучения показателей системы гемостаза и кусочки органов и тканей для гистологических, гистохимических исследований и электронной микроскопии. Выведение животных из опытов проводилось с соблюдением правил эвтаназии, предусмотренных «Международными рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», 1985; Приказом Министерства высшего и среднего специального образования СССР №742 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных»; УК РФ,

статья 245 «Жесткое обращение с животными». Морфологические изменения в органах и показатели гемостаза изучались в зависимости от продолжительности и глубины ацидоза.

Животные (кошки) были разделены на 5 групп: 8 животных относились к контрольной группе и 5 групп по 8 животных подвергались экспериментальному лактат-ацидозу различной глубины и продолжительности. Дополнительно были использованы 8 животных для проведения электронной микроскопии. Объем и структура исследованного материала приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Объем и структура исследованного материала

Объем исследуемого материала	Величина pH в контроле и в опытах					Кол-во исследований
	pH 7,4	pH 7,2	pH 7,1	pH 7,0	pH 6,9	
Показатели						
Кислотно-щелочного равновесия	80	80	60	60	60	400
Показатели системы гемостаза	130	140	140	140	140	690
Агрегация тромбоцитов	30	40	40	40	40	180
Электрокинетический потенциал тромбоцитов	30	40	40	40	40	180
Тромбоэластография	30	40	40	40	40	180
Электрокоагулография	20	20	20	20	20	100
Морфологические исследования	670	920	920	740	740	3990
Световая микроскопия (качественные показатели)	430	680	680	620	620	3030
Морфометрия и стат.обработка.	120	120	120	120	120	600
Полутонкие срезы	80	80	80			240
Электронная микроскопия	80	80	80			240
Итого	990	1280	1260	1080	1080	5690

Методы исследования кислотно-основного состояния: Буферные системы крови уровень карбонатов (HCO_3), Стандартных бикарбонатов (SBC), Общих карбонатов (tCO_2), Буферных оснований (BE), Парциальное давление углекислого газа (pCO_2), Парциальное давление кислорода (pO_2) Щелочной резерв крови, Концентрация H^+ -ионов pH, Концентрация молочной кислоты (RapidPoint 400)

Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывающей системы крови и фибринолиза: Количество тромбоцитов, Электрокинетический потенциал тромбоцитов, Агрегация тромбоцитов по принципу G.V.R.Vorn, Тромбоэластография, Электрокоагулография (по Ватмахе-ру У.А.) активированное частичное тромбопластиновое время (Lattien M.G., Weillard C., 1957); протромбиновое время (Quick A.J., 1943), Международное нормализованное отношение (МНО), Плазменные факторы свертывания крови II, V, VII, VIII, X, XIII, концентрация фибриногена определяли коагулометрическим способом, эуглобулиновый фибринолиз (Kowarzhuk M, 1953), Растворимые фибринмономерные комплексы (РФМК), D-димеры (Баркаган З.С., Момот А.П., 2001,2009).

Гистологическое исследование.

Взятие материала для микроскопического исследования тканей органов осуществлялось у лабораторных животных под гексеналовым наркозом в контроле, и после введения 3% раствора молочной кислоты на 0,85% растворе хлорида натрия. Кусочки тканей и органов размером 0,5 – 1,0 см фиксировались в 10% забуференном нейтральном растворе формальдегида (рН 7,0) при температуре 18 - 20°C в течение 24 – 48 ч. Заливка осуществлялась с использованием парафина (Г.А.Меркулов, 1969). Для обзорной микроскопии окрашивали гематоксилином Бемера и эозином, волокна соединительной ткани окрашивали по методу Ван Гизона, аргирофильные волокна окрашивали импрегнацией серебром по Футу, на гликоген использовали окраску Кармином по Бесту, эластические волокна окрашивали гематоксилином Вейгерта в модификации Харта. Фотосъемка гистологических препаратов проводилась на микроскопе “Microphot FXA” (Nikon, Япония).

Методы количественного анализа.

Для морфометрии использовали аппаратно-программный комплекс, состоящий из программного обеспечения для количественного анализа Мастер-Морфология 5.2, цифровой окулярной камеры DCM 130, светового микроскопа «Olympus BX41» и персонального компьютера. Системное медицинское морфометрическое исследование включало в себя следующие этапы: описание морфометрического материала, собственно морфометрическое исследование – измерение и подсчет изучаемых объектов, определение объемных долей, процентного соотношения объектов с использованием программного обеспечения для анализа изображения «Мастер морфология 5.2», а также окуляр-микрометра по Автандилову Г.Г. (1990).

Электронная микроскопия.

Для электронной микроскопии образцы тканей фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида с постфиксацией в 10% растворе осмиевой кислоты. После обезвоживания в спиртах восходящей концентрации, образцы заливали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «Ultratome III 8800» (ЛКВ, Швеция), контрастировали раствором уранилацетата и цитратом свинца. Исследование и фотографирование ультратонких срезов проводили на трансмиссионном электронном микроскопе «Теснаі G2 Spirit TWIN» (FEI Company, Нидерланды). Электронная микроскопия кусочков органов производилась в контроле и при сдвигах рН крови 7,2 (15 мин.) 7,0 (30 мин). Ультраструктурный анализ тканей и фотографирование производили с помощью микроскопа IEM – 7A (Япония) при ускоряющем напряжении 50 кВ и увеличениях на экране микроскопа 6000 – 30000 раз.

Клинические наблюдения.

Было проанализировано 60 историй болезни пациентов с метаболическим ацидозом различной степени тяжести. Из них 28 больных с сахарным диабетом в том числе, 83,3% (25) 2 типа, 11,1% (2) случая на сахарный диабет 1 типа и 5,5% (1) случай - гипоталамическое ожирение.

Средний возраст пациентов составил $67,3 \pm 12,3$ года, из них 16 женщин и 2 мужчин. У 22,2% (4) пациентов диагностирован компенсированный метаболический ацидоз легкой степени тяжести, в 5,5% (1) случае наблюдался некомпенсированный метаболический ацидоз легкой степени тяжести, 27,7% (5) пациентов находились в состоянии некомпенсированного метаболического ацидоза средней степени тяжести, и у 44,4% (8) пациентов ацидоз был тяжелой степени тяжести. Летальный исход наступил у всех больных. Его причинами явились у 61,1% (2) пациентов - диабетическая кома с последующим отеком головного мозга и легкого, у 11,1% (4) пациентов - гипогликемическая кома. У 11,1% (2) больных причиной смерти явилась гиперосмолярная кома, у 5,5% больного (1) желудочное кровотечение с геморрагическим шоком, инфекционно токсический шок наблюдался у 5,5% (1) пациента и ОПН у 5,5% (1) больного. В качестве контроля проанализировано 10 больных с сахарным диабетом 2 типа без метаболического ацидоза.

Другую группу составил 31 пациент с острой тяжелой черепно-мозговой травмой и политравмой, находившиеся на лечении в отделении нейрохирургии краевой клинической больницы в период с 2009 по 2012 год. Все больные были распределены на две группы, в первую группу входили пациенты ($n=18$) с диагнозом черепно-мозговая травма тяжелой степени, во вторую пациенты ($n=13$) с диагнозом политравма (сочетанная ЧМТ). В исследование включались больные с диагностированным метаболическим ацидозом различной степени тяжести. Компенсированный метаболический ацидоз легкой степени тяжести наблюдался у 9,6%(6) пациентов, некомпенсированный метаболический ацидоз легкой степени тяжести 22,5%(7), средней тяжести 38,7%(12) и тяжелой степени у 9,6%(6) пациентов. Из них 29% (9) случаев средней и 12,9% (4) случая тяжелой степени тяжести ацидоза, приходится на пациентов с политравмой. В первой группе закрытая тяжелая черепно-мозговая травма (ЗТЧМТ) диагностирована в 44,4%(8) случаях, открытая тяжелая черепно-мозговая травма (ОТЧМТ) в 50%(9) случаях. На краниоспинальную травму с ушибом головного мозга приходится 5,5% (1). Из них ушиб головного мозга со сдавлением его гематомой, потребовавший проведения декомпрессионной трепанации черепа, был диагностирован у 42% (13) пациентов. Вторую группу составили пациенты с диагнозом политравма в количестве 13 человек. Закрытая черепно-мозговая травма выявлена у 53%(7) больных, в 46%(6) случаях встречалась открытая черепно-мозговая травма. Из них у 46%(6) пациентов с доминирующей черепно-мозговой травмой, в числе сочетанных травматических повреждений были травма груди и перелом ребер. Сочетанную черепно-мозговую травму характеризовали тяжелое клиническое течение и развитие угрожаемых состояний. У 15%(2) пациентов диагностирован травматический шок. Во всех случаях наблюдался летальный исход, основная причина смерти пациентов отек головного мозга. Группу контроля составили 11 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу.

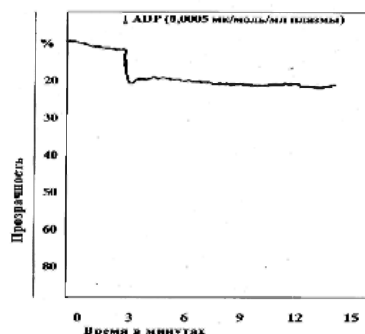
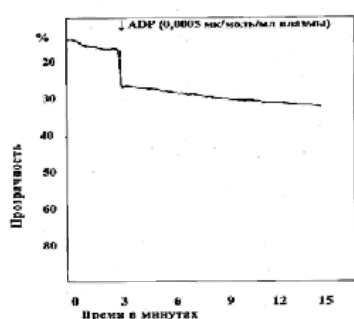
Статистическая обработка.

Для статистической обработки цифровых данных использовалось программное обеспечение Statistica 6.0 (StatSoft, США). Гипотезу нормальности распределения значений в выборках проверяли при помощи теста Колмогорова-Смирнова, после чего выборки сравнивались с использованием t-критерия Стьюдента. Статистическая обработка несвязанных наблюдений выполнена при помощи критерия Манна-Уитни (U-тест). Значимость различий по сравнению с исходным уровнем оценивали при помощи критерия Вилкоксона. Для корреляционного анализа рассчитывали непараметрический коэффициент корреляции Спирмена.

2 Результаты собственных исследований

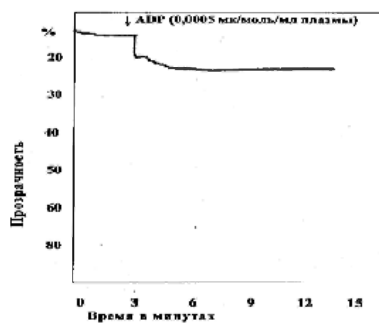
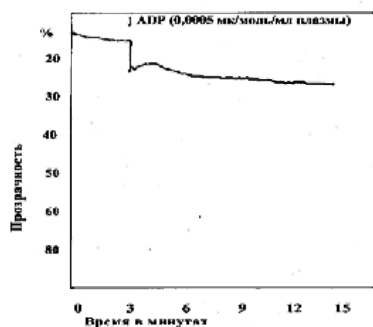
2.1 Влияние различных концентраций лактата на состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в опытах *in vitro*

Анализ кривых агрегаций в контрольных наблюдениях показывает, что тромбоциты без добавления агрегирующего агента не склеиваются. При уменьшении pH до 7,34 в отдельных случаях появлялась спонтанная агрегация тромбоцитов, при этом время начала агрегации после внесения АДФ увеличивалась, угол снижался, процесс становился более растянутым, амплитуда агрегации уменьшалась, величина агрегатов оставалась практически неизменной, снижалась интенсивность дезагрегации. Более выраженные изменения агрегации наблюдались, если pH пробы равнялся 7,28 и ниже (рис. 1). Во всех опытах обнаружена спонтанная агрегация тромбоцитов, процесс агрегации становился бесконечным и через 900 сек., дезагрегация отсутствовала во всех пробах. "Спонтанное" склеивание кровяных пластинок в кислой среде всегда было необратимым, амплитуда агрегации со временем увеличивалась (таблица 2).



Кривая агрегации тромбоцитов при pH крови 7,0

Кривая агрегации тромбоцитов при pH крови 7,2



Кривая агрегации тромбоцитов при pH крови 6,9

Кривая агрегации тромбоцитов при pH крови 7,0

Рисунок 1 - Агрегация тромбоцитов при различных сдвигах pH в опытах *in vitro*

Таблица 2 - Влияние АДФ на агрегацию тромбоцитов при различных сдвигах рН в опытах in vitro

Изучаемые показатели n=20	Контроль 7,5	Величина рН			
		7,34	7,28	7,18	6,92
Угол наклона спонтанной агрегации (градусы)	-	2,5 (2,0; 3,0)*	9,5 (8,75; 11)*	11,0 (9,0; 13,0)*	16,0± 12,75; 18)*
Время начала агрегации (сек)	9,5 (8,75; 10,5)	15 (13,5; 16,25)	3 (2,5; 3,25)	5 (4; 6,25)	-
Угол наклона агрегации (градусы)	65,7(58,5; 72,3)	59,0 (50,9; 68,7)	42,0 (35,5; 47,5)	28,5 (22,5; 33,5)*	9,5 (6,0; 11,5)*
Время агрегации (сек)	112,5 (105,5; 116,0)	369,0 (358; 375,5)	900 (885; 915) p<0,004	Более 900	Более 900
Амплитуда агрегации (пропускание сердца в %)	35,7 (31,2; 40,5)	25,5 (25,0; 30,0)	33,5 (28,5; 37,0)	19,6 (14,0; 22,5)*	10,6 (7,3; 15,2)*
Величина агрегатов (мм)	1,7	2,1	2	1	1
Угол дезагрегации (градусы)	27,0 (24,4; 30,5)	12,5± (10,0; 14,75)	-	-	-
Время дезагрегации (сек)	450 (442; 456)	328 (318; 335)	-	-	-
Степень дезагрегации (мм)	19,0 (14,5; 23,0)	12,5±(10,0; 14,0)	-	-	-
Изучаемые показатели n=20	Контроль 7,5	Величина рН			
		7,34	7,28	7,18	6,92
Угол наклона спонтанной агрегации (градусы)	-	2,5 (2,0; 3,0)*	9,5 (8,75; 11)*	11,0 (9,0; 13,0)*	16,0± 12,75; 18)*
Время начала агрегации (сек)	9,5 (8,75; 10,5)	15 (13,5; 16,25)	3 (2,5; 3,25)	5 (4; 6,25)	-
Угол наклона агрегации (градусы)	65,7(58,5; 72,3)	59,0 (50,9; 68,7)	42,0 (35,5; 47,5)	28,5 (22,5; 33,5)*	9,5 (6,0; 11,5)*
Время агрегации (сек)	112,5 (105,5; 116,0)	369,0 (358; 375,5)	900 (885; 915) p<0,004	Более 900	Более 900
Амплитуда агрегации (пропускание сердца в %)	35,7 (31,2; 40,5)	25,5 (25,0; 30,0)	33,5 (28,5; 37,0)	19,6 (14,0; 22,5)*	10,6 (7,3; 15,2)*
Величина агрегатов (мм)	1,7	2,1	2	1	1
Угол дезагрегации (градусы)	27,0 (24,4; 30,5)	12,5± (10,0; 14,75)	-	-	-
Время дезагрегации (сек)	450 (442; 456)	328 (318; 335)	-	-	-
Степень дезагрегации (мм)	19,0 (14,5; 23,0)	12,5±(10,0; 14,0)	-	-	-

Примечание: * - значимость различий между контролем и опытом, n – количество исследований.

Нарастание сдвига рН в кислую сторону нарушает естественную, обратимую под влиянием АДФ, агрегацию тромбоцитов. Процесс склеивания тромбоцитов в присутствии молочной кислоты тормозится, а, следовательно, гемостаз в этих условиях должен быть менее эффективным. Но с другой стороны, обратимость процесса агрегации тромбоцитов при подкислении среды нарушается и ведет к образованию стабильных конгломератов кровяных пластинок. Замедление или нарушение дезагрегации тромбоцитов при сдвиге рН в кислую сторону может приводить к повышению свертываемости крови благодаря высвобождению тромбоцитарных факторов.

Изменение зета-потенциала (заменить значком) тромбоцитов отражается на экспрессии рецепторов, принимающих участие в агрегации кровяных пластинок. Благодаря чему и возникает спонтанная агрегация.

Молочная кислота оказывает выраженное действие на систему свертывания крови и фибринолиз. Время свертывания бестромбоцитной плазмы под влиянием различных концентраций молочной кислоты изменялось двухфазно. Малые дозы лактата 2,4 – 5,8 ммоль/л приводили к укорочению, а большие 7,77 удлинляли время образования фибринового сгустка. Наибольшая скорость наблюдалась при рН около 7,2. Аналогичные данные были получены в опытах с гепаринизированной плазмой, однако максимум активности свертывания крови обнаруживался при добавлении кислоты в концентрации 7,77 ммоль/л, что соответствовало сдвигу рН до 6,85. Удлинение времени свертывания крови обычной плазмы наблюдалось при увеличении концентрации лактата до 7,8 ммоль/л. Если в опытах применялась гепаринизированная плазма, то свертываемость сохранялась при использовании самых больших концентраций кислоты.

Таким образом, гепарин в кислой среде не проявляет антитромбиновой активности. Протромбиновое время под влиянием молочной кислоты 2,4 – 7,7 ммоль/л практически не изменялось. Оптимальная активность фактора VIII наблюдалась при рН 7,4-7,22. Дальнейшее подкисление среда приводило к быстрой его инактивации. Переход фибриногена в фибрин в присутствии молочной кислоты претерпевают фазные изменения. Малые концентрации лактата 7,8 ммоль/л укорачивали тромбиновое время, большие - удлинляли его. Сокращение тромбинового времени можно объяснить частичной или полной инактивацией действия антикоагулянтов, по видимому действие его нейтрализуется молочной кислотой. По мере нарастания концентрации водородных ионов фибринолитическая активность крови прогрессивно снижается.

2.2 Изменение показателей тромбоэластографии и электрокоагулографии при лактацидозе

Сдвиг рН до 7,2 характеризовался значительным изменением некоторых показателей ТЭГ (таблица 4). В бедренной артерии длительность I и II фаз процесса свертывания крови момент (R)

значительно укорачивалась и составила 66 с, время образования сгустка (k) уменьшалось до 48 с, константа коагуляции ($R+k$), зависящая от концентрации плазменных факторов (кроме VII и XIII) и уровня антикоагулянтов резко укорачивалась с 312 с (контроль) до 104 с в бедренной артерии и до 126 с в крови, оттекающей от печени. Максимальная амплитуда, характеризует главным образом, содержание фибриногена, в крови при рН 7,2 увеличивается до 37 – 42 мм. Однако этот факт, скорее всего, связан не с увеличением концентрации фибриногена, а с усилением его реакционной способности, проявляющейся при сдвиге рН крови до 7,2. В гемокоагуляционных тестах при таком рН наблюдается наибольшая скорость свертывания плазмы при некотором снижении уровня фибриногена и антикоагулянтов.

Угловая константа (α), характеризующая скорость формирования фибринового сгустка, при рН 7,2 возрастала с 8° до 14° в бедренной артерии и до 15° в воротной вене. Следовательно, процесс фибринообразования при сдвиге рН крови под влиянием инъекции молочной кислоты возрастает почти в два раза.

Коэффициент эластичности фибринового сгустка (E) крови бедренной артерии при рН 7,4 составляет 51,5, а при рН 7,2 в артериальной крови увеличивается до 58,7 и в воротной вене до 72,4. Поскольку количество фибриногена при данных значениях рН снижается, то эти изменения можно связать со снижением антикоагулянтной активности крови. Об этом свидетельствует укорочение тромбинового времени при рН 7,2 в гемокоагуляционных тестах, которое также зависит от уровня фибриногена и антикоагулянтов крови. Тромбоэластографический индекс (J) резко уменьшается при сдвиге рН крови до 7,2, что свидетельствует о возникновении выраженной гиперкоагуляции и совпадает с изменениями гемокоагуляционных показателей.

По данным гемокоагуляционных тестов, такое изменение рН до 7,0 и ниже приводило к выраженной гипокоагуляции. Показатели ТЭГ, в отличие от гемокоагуляционных тестов, свидетельствовали об укорочении I и II фаз свертывания крови, появление первых нитей фибрина. Однако эластичность фибринового сгустка, исходя из значений максимальной амплитуды, очень незначительна и при визуальном определении времени свертывания крови не определяется, поэтому оно регистрируется значительно позднее, а в некоторых опытах визуальное образование сгустка вообще не удается обнаружить (рис. 2). Дальнейший сдвиг рН до 6,7 и экспозиции ацидоза 180 минут по данным ТЭГ первые нити фибрина появляются на 48 с, а максимальная амплитуда около 5 мм возникает на 108 с. Угол α составляет при рН 6,5 5° , коэффициент эластичности (E) 5,3. Все эти изменения свидетельствуют о возникновении фибринового сгустка низкой эластичности.

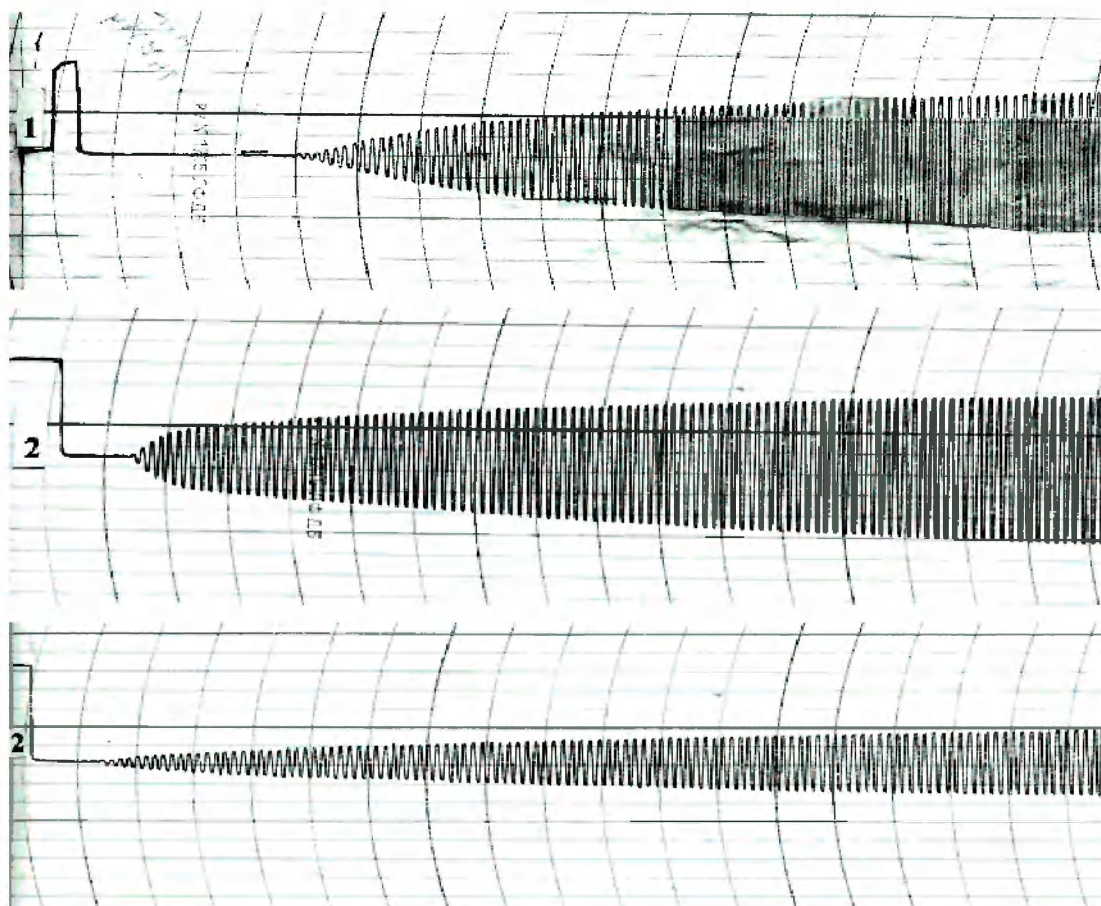


Рисунок 2 - Изменения параметров тромбоэластограммы при лактат-ацидозе

1. – тромбоэластограмма крови бедренной артерии рН 7,4 (контроль).
2. – тромбоэластограмма крови печеночной вены рН 7,2 (опыт).
3. – тромбоэластограмма крови бедренной артерии рН 6,9 (опыт).

С помощью ТЭГ установлено, что лишь незначительная часть фибрин-мономеров полимеризуется, образуя рыхлый сгусток, неспособный осуществлять надежный гемостаз.

Электрокоагулографические исследования подтверждают данные, полученные коагулологическими методами. В контроле в бедренной артерии начало свертывания (Т1) составляло 160 с (с учетом данных секундомера), конец свертывания (Т2) составляло 230 с, продолжительность свертывания была равной 70 с. В опыте при сдвиге рН в кислую сторону до 7,2 начало свертывания в бедренной артерии укорачивалось до 50 с, а в печеночной вене 70 с. Продолжительность свертывания сокращалась в бедренной артерии и печеночной вене соответственно до 40 и 30 с (рис 3).

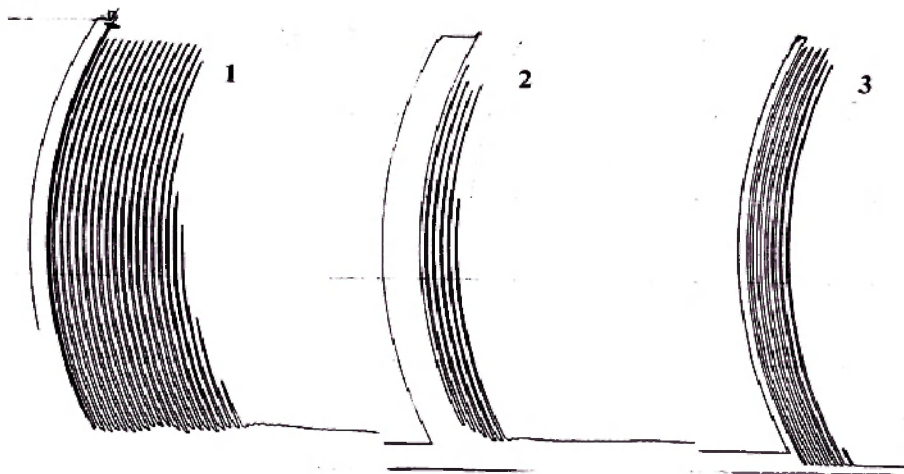


Рисунок 3 - Изменения параметров электрокоагулограммы при различных уровнях рН

1. – электрокоагулограмма крови бедренной артерии рН 7,4.
2. – электрокоагулограмма крови бедренной артерии рН 7,2.
3. – электрокоагулограмма крови печеночной вены рН 7,2.

Это свидетельствует о том, что сдвиг рН в кислую сторону до 7,2, приводит к развитию гиперкоагуляции.

В следующей серии в опытах *in vivo* изучалось влияние однократной инъекции 4% раствора лактата на свертывание крови и фибринолиз. При этом рН изменился с 7,30 до 7,07. Одновременно отмечалось падение щелочного резерва крови и уровня кислорода (таблица 3).

Восстановление метаболических показателей до исходных величин наступало только через час после окончания инъекции кислоты, некоторых параметров не возвращалась к нормальным значениям. На фоне изменения внутренней среды организма происходила резкая активация свертываемости плазмы укорачивалось почти вдвое. На 10 минуте после инъекции оно составляло 67% от исходных величин, а через час соответствовало контролю. Протромбиновое время плазмы с низким содержанием VII и X факторов практически не изменялось. Максимальная активность фактора VIII наблюдалась в образцах крови, забранных во время инъекции кислоты, а затем снижалась и через 10 минут восстановительного периода соответствовала исходным данным, в то же время свертывание крови ускорялось. Резкий сдвиг рН в приводит к устойчивому падению уровня фибриногена, увеличению содержания РФМК. Время лизиса эуглобулинов незначительно удлинялось. Это заставляет предположить, что введение больших доз лактата сопровождается усилением постоянного внутрисосудистого свертывания крови. При снижении рН до 7,07 баланс антикоагулянтов и прокоагулянтов сдвигается в сторону последних, в результате чего происходит микросвертывание и потребление фибриногена.

Таблица 3 - Влияние однократного внутривенного введения молочной кислоты на свертывание крови, фибринолиз и ξ - потенциал тромбоцитов в опытах in vivo

Изучаемые показатели n=15	До инъекции	На фоне инъекции	После инъекции	
			Через 10 мин	Через 60 мин
pH пробы	7,3	7,07±0,02*	7,23±0,03*	7,29 ± 0,02
ξ -потенциал тромбоцитов мВ	14,958±0,16	13,940±0,16*	14,825±0,13	14,946±0,14
ξ -потенциал эритроцитов мВ	1,15 ± 0,053	1,03 ± 0,048*	1,14 ± 0,033	1,14 ± 0,043
Время свертывания плазмы (сек)	121 ± 5,2	65±4,1*	82±7,0*	120 ± 6,0
Фактор V (%)	100 ± 4,4	105 ± 4,5	115 ± 6,3	121 ± 10,0
Фактор VII (%)	100 ± 4,5	97,7 ± 5,2	114,0±5,2*	119,2±6,1*
Фактор VIII (%)	100 ± 8,8	64,7±8,8*	94,1 ± 11,7	100± 11,1
Фактор X (%)	100 ± 8,1	100 ±7,2	100 ± 9,0	104,5 ±9,1
Протромбиновое время (сек)	15 ± 0,85	14 ± 0,76	14 ± 0,95	14 ± 1,3
Тромбиновое время (сек)	36 ± 1,5	39±0,9*	43±0,1*	45±0,7*
Фибриноген (мг%)	395 ± 17,8	346±18*	364 ± 26,7	370 ± 28,9
РФМК	3,32 ±0,02	10,56±0,12*	8,56±0,05*	8,76±0,07*
Фибринолиз (мин)	49 ± 2,2	51 ± 3,4	54 ± 3,1	58±3,1*
Молочная кислота (ммоль/л)	11 ± 0,6	26±2,0*	18±1,5*	13 ± 1,2
Щелочной резерв (Мэкв/л)	110 ± 4,2	90 ±5,0*	95 ± 5,5	105 ± 2,1
Кислород (об%)	17 ± 1,0	14±1,2*	14 ± 1,2*	16 ± 1,1

Примечание: * - достоверность различий между контролем и опытом, n – количество исследований.

На фоне введения лактата электрокинетический заряд кровяных пластинок падал до 13,94 мВ или на 6,9 %. Одновременно в системном кровотоке наблюдалось увеличение концентрации молочной кислоты, снижение pH с 7,30 до 7,07 ($P < 0,001$), щелочного резерва и уровня кислорода. На 10-й минуте эти показатели частично восстанавливались, имело место и увеличение дзета-потенциала тромбоцитов. Дзета-потенциал эритроцитов при ацидозе (pH 7,2) в 15 опытах также снижается на фоне инъекции молочной кислоты (таблица 5).

Таким образом, метаболические сдвиги, возникающие в организме в ответ на появление в кровеносном русле лактата, сопровождается снижением электрокинетического потенциала тромбоцитов и эритроцитов, что также создает благоприятные условия для их взаимного склеивания и нарушения движения крови по микроциркуляторному руслу.

2.3 Влияние экспериментального лактат-ацидоза различной глубины и продолжительности на свертывание крови, фибринолиз в различных отделах сосудистого русла в опытах *in vivo*

Судя по исходным данным, наиболее продолжительным время свертывания плазмы было в крови бедренной артерии, наибольшая скорость свертывания наблюдалась в крови, притекающей к печени. Кровь, взятая на фоне инъекции кислого буферного раствора, обладала иными коагуляционными свойствами, а уровень рН сдвинут в кислую сторону. Одновременно с ацидозом наблюдалась активация свертывания крови, взятой из портальной системы. Так время свертывания в воротной вене укорачивалось на 12,7%, утилизация протромбина увеличивалась на 61%. Между тем, в крови, оттекающей от печени, подобных сдвигов обнаружить не удалось и уровень рН оставался смещенным в кислую сторону всего на 0,051. Таким образом, печень играет в регуляции свертывания крови, а также восстановлении рН среды до физиологических пределов.

Приток к печени крови, обогащенной молочной кислотой приводит к укорачиванию тромбинового времени. Возможно происходит снижение концентрации антитромбинов, и это может быть связано с комплексообразованием гепарина с другими соединениями в присутствии молочной кислоты (Ляпина Л.А., Пасторова В.Е., Николаева Л.С., 2005). Если в экспериментах применялась гепаринизированная плазма, то происходила нейтрализация действия гепарина более интенсивно в крови, полученной из бедренной артерии и нижней полой вены. Фибринолитическая активность, по нашим данным, была выше в крови из воротной вены по сравнению с артерией и печеночной веной. Снижение фибринолиза может быть связано с поступлением в кровоток ингибиторов плазмина. Активность XIII фактора была наибольшей в крови бедренной артерии, в венозной крови печени она была ниже на 13,4%. Введение кислого раствора в воротную систему печени сопровождалось снижением фибриназной активности во всех изучаемых пробах крови и в большей степени в пробах крови из воротной вены. Между отдельными образцами крови сохранялись существенные различия активности фибринстабилизирующего фактора, в артерии она была выше, а в воротной вене ниже, чем в полой ($p < 0,01$). На фоне введения молочной кислоты повышается содержание РФМК в венозной крови, что является признаком усиления внутрисосудистой коагуляции. В артериальной системе концентрация РФМК оставалась на низком уровне (таблица 4).

Таким образом, печень при ацидозе играет важную роль в регуляции гемостатической функции крови. Это может быть связано, как со способностью печени восстанавливать рН почти до исходного уровня, так и выделять в кровоток факторы свертывания крови и антикоагулянты.

Таблица 4 - Влияние лактат-ацидоза на показатели свертывания крови, оттекающей от печени

Изучаемые показатели n = 9	Контроль			Опыт		
	До инъекции			После инъекции		
	Бедренная артерия	Нижняя полая вена	Воротная вена	Бедренная артерия	Нижняя полая вена	Воротная вена
	pH 7,44	pH 7,39	pH 7,39	pH 7,38	pH 7,34	pH 7,32
Время свертывания плазмы (с)	106,6 (103,0; 109,1)	94,7 (88,4; 97,2)	87,2 (80,3; 91,1)*	97,8 (94,5; 99,2)*	97,4(90,2; 100,4)	76,2 (70,1; 80,4)*
Протромбиновое время (с)	10,8 (10,5; 11,0)	11,8 (11,6; 11,9)	10,9 (10,7; 11,0)	9,9 (9,6; 10,1)*	10,7 (10,4; 10,9)*	10,3 (10,1; 10,44)*
Тромбиновое время (с)	40,4 (39,0; 40,8)	43,5 (42,4; 44,2)*	39,8 (39,0; 41,5)	39,9 (39,4; 40,5)	38,1 (37,0; 40,1)*	38,8 (38,0; 41,5)
Тромбиновое время (с)	19,9 (19,2; 20,7)	21,9 (21,3; 22,4)*	19,4 (18,85; 20,3)	18,3 (17,1; 19,5)	18,1 (17,0; 19,5)*	18,7 (18,2; 19,4)
Фибринолиз (мин)	73,6 (68,5; 77,4)	58,9 (55,3; 62,1)*	44,5 (40,5; 47,0)*	61,8 (57,7; 65,6)*	45,8 (41,5; 48,2)*	36,4 (33,2; 38,7)*
Фактор XIII (%)	100 (95,5; 107,2)	87,8 83,8; 90,2)*	80,4 (75,2; 83,2)*	74,5 (65,1; 87,3)*	59,0 (45,5; 64,0)	48,9 (35,5; 56,3)
РФМК (мг/дл)	3,2 (3,0; 3,5)	3,8 (3,6; 4,2)	4,2 (4,0; 4,35)	4,2 (4,0; 4,5)	4,8 (4,35; 5,25)	4,9 (4,45; 5,5)

Примечание: p - достоверность различий между контролем и опытом, n - количество исследований

Более глубокие сдвиги pH крови приводят к значительному нарушению гемокоагуляции. Сравнительный анализ показателей системы гемостаза в различных отделах сосудистого русла позволил установить, что в контроле имеются различия, которые связаны, в том числе и с неодинаковыми значениями pH в крови бедренной артерии и вены. pH крови бедренной артерии состав-

ляет 7,4, а вены – 7,36, что соответствует общепринятой норме. Время свертывания плазмы короче в крови воротной вены на 13,3%, тромбиновое время на 25,4%. При создании ацидоза со сдвигом рН в бедренной артерии до 7,2, а в бедренной вене до 7,1 скорость свертывания крови резко возросла и составляла в артерии. Протромбиновое время удлинялось в артерии. Тромбиновое время, при сдвиге рН крови в кислую сторону до 7,0-7,1, укорачивалось в обоих сосудах. Сдвиг рН крови до 6,8 приводит к значительному удлинению времени свертывания и протромбинового времени. Это, вероятно, связано с нарушением полимеризации фибрина. Активность фактора XIII резко снижалась, как в артерии, так и в вене, в отдельных опытах ее определить не удалось. Уровень фибриногена закономерно уменьшался, при этом параллельно пропорционально нарастал уровень РФМК (таблица 5).

Таблица 5 - Влияние различной степени лактат-ацидоза на некоторые показатели гемостаза

Изучаемые показатели	Контроль		Опыт после введения лактата			
	Бедренная артерия	Воротная вена	Бедренная артерия	Воротная вена	Бедренная артерия	Воротная вена
	рН 7,4	рН 7,36	рН 7,2	рН 7,1	рН 7,0	рН 6,9
Время свертывания плазмы (с)	84,4 (81,2; 86,5)	73,2 (70,1; 76,6)*	61,8 (59,8; 64,5)*	57,0 (55,0; 59,5)*	147,5 (140,2; 156,5)*	138,3 (129,5; 145,5)*
Протромбиновое время (с)	23,7 (22,5; 25,0)	22,8 (21,6; 23,7)	27,2 (25,7; 29,0)*	25,8 (24,0; 27,3)	31,3 (27,6; 24,3)*	38,0 (35,5; 41,7)*
Тромбиновое время (с)	41,0 (38,2; 43,1)	31,0 (28,5; 33,0)*	35,2 (33,1; 37,6)	27,2 (26,1; 29,4)*	нет сгустка	нет сгустка
Фактор XIII (%)	100,0 (90,5; 107,3)	93,7 (87,0; 98,8)	>200*	> 200*	> 200*	> 200*
Содержание фибриногена (г/мл)	16,4 (15,0; 17,2)	18,9 (17,4; 20,1)	11,4 (10,2; 12,4)*	12,6 (11,8; 13,5)*	11,2 (9,0; 12,5)*	10,3 (8,4; 11,6)*
РФМК (мг/дл)	3,9 (3,6; 4,1)	4,2 (4,0; 4,5)	6,2 (5,9; 6,7)*	8,2 (7,8; 8,8)*	10,4 (10,0; 11,2)*	12,6 (12,2; 13,8)*

Примечание: * - достоверность различий между контролем и опытом, n - количество исследований

Аналогичные изменения наблюдали в пробах крови их воротной и селезеночной вены. Эти изменения свидетельствуют об усилении постоянного внутрисосудистого свертывания крови при ацидозе.

2.4 Пато- и морфогенез диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в различных регионах сердечнососудистой системы при метаболическом ацидозе.

Для изучения морфологических изменений в органах и тканях, сопутствующих коагулолитическим нарушениям в форме ДВС-синдрома при метаболическом ацидозе на гистологическом, гистохимическом и ультраструктурном уровне исследовали изменения в сосудистой стенке, межклеточном матриксе, клеточных структурах органов и тканей, и на ультраструктурном уровне. В этом аспекте были изучены сосуды и ткани сердца, почек, легких, печени, поджелудочной железы, органов желудочно-кишечного тракта, тимуса, селезенки, лимфатических узлов.

Изменение структурной организации сердца при метаболическом ацидозе.

Эндотелий – динамичный орган, вовлеченный в широкий круг процессов гемостаза, в который входят поддержание жидкого состояния крови, контроль сосудистого тонуса, перенос питательных веществ между кровью и подлежащими тканями. Сосудистый эндотелий поддерживает жидкое агрегатное состояние крови путем сдерживания свертывания крови, подавления агрегации тромбоцитов. Активированные эндотелиоциты могут высвобождать во внеклеточное пространство фрагменты своей плазматической мембраны (микро- и нановезикулы), которые сохраняют прокоагулянтный фенотип исходных клеток, и таким образом создают механизм дессиминированного коагуляционного процесса (Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2009).

Сдвиг рН крови до 7,2 продолжительностью 30 мин сопровождается полнокровием сосудов органов, отеком сосудистой стенки и околососудистого пространства, лимфостазом, агрегацией форменных элементов крови. Наблюдаются явления застоя крови различной степени выраженности, образование тромбов и микротромбозов в различных участках сосудистой сети. Морфологические изменения при сдвиге рН до 7,2 приводят не только к изменению агрегатного состояния крови, но и вызывают нарушение структуры эндотелия сосудов.

По данным электронной микроскопии уже на протяжении первых 15-30 мин ацидоза при рН крови 7,2 изменяется конфигурация клеточной поверхности эндотелиальных клеток капилляров миокарда. Увеличивается количество микропиноцитозных везикул, которые отрываются и попадают в просвет капилляров. В первую очередь изменяется структура митохондрий. В некоторых эндотелиоцитах митохондрии овоидной формы с плотным матриксом и несколько расширенными

кристами, матрикс митохондрий резко просветлен, а кристы оказываются укороченными или полностью редуцированными. В ядрах эндотелиоцитов меняется структура кариоплазмы: ее гранулярные компоненты скапливаются преимущественно около внутреннего листка ядерной оболочки, перинуклеарное пространство расширяется. Часть эндотелиоцитов находится в состоянии отека: их наружные контуры сильно сглажены, а плазматическая мембрана на отдельных участках обнаруживает признаки деструкции. Дальнейший сдвиг рН до 7,0 продолжительностью 30 мин приводит к деструкции цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов и выходу органелл в просвет капилляров, которые обладают, по-видимому прокоагулянтной активностью, прослеживается также отрыв от базальной мембраны, а в более поздние сроки – десквамация эндотелиоцитов.

В миокарде развиваются неспецифические изменения, которые зависят от его глубины и продолжительности. При этом страдает соединительно-тканый каркас, микроциркуляторное русло и кардиомиоциты. Отек, наиболее выраженный в перикапиллярных зонах по ходу мышечных волокон, обнаруживается уже на первых 30 минутах ацидоза. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитолиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, не резко выраженный межклеточный отек. При этом соединительнотканые клетки, которые обычно представляются вытянутыми, уплощенными элементами с темными ядрами и плохо контурирующейся цитоплазмой, набухают, цитоплазма их начинает выявляться, ядра несколько увеличиваются, в них четче вырисовывается хроматиновая структура и крупное ядрышко.

При сдвиге рН 7,0 (30-60 мин) в значительном числе мышечных клеток заметны набухшие, увеличенные митохондрии с просветленным матриксом, расширенными межкристными пространствами, очаговым разрушением крист. Разрушение крист и «вымывание» матрикса в некоторых митохондриях приводит к их вакуолизации. В участках миокарда, расположенных в непосредственной близости с капиллярами отчетливо заметен отек саркоплазмы, расширение канальцев саркоплазматического ретикулула. Ядро, миофибриллы, аппарат Гольджи сохраняют свое обычное строение. На протяжении 30 минут ацидоза в мышечных клетках левого желудочка резко снижается содержание гранул гликогена, в то время как в волокнах правого желудочка еще отмечаются значительные их скопления. При гистологическом исследовании миокарда животных были выявлены мелкоочаговые дистрофические изменения мышечных волокон, выражающиеся в гомогенизации саркоплазмы, ее эозинофилии, исчезновении поперечной исчерченности клеток.

По данным световой микроскопии при рН 7,2 и продолжительности ацидоза от 15 до 60 минут сердечная мышца реагирует на изменение уровня рН ограниченным набором неспецифических структурных изменений. В литературе патологический неспецифический процесс в миокарде, развивающийся в ответ на экстремальные воздействия получил название «миокардиодистро-

фии». Наиболее часто к миокардиодистрофии приводят ишемические повреждения миокарда, как результат неадекватного спроса сердечной мышцы.

При дальнейшем сдвиге рН до 7,1 и продолжительности более 60 минут обнаруженные изменения в кардиомиоцитах следует трактовать как «необратимые», отмечаются тяжелые изменения кардиомиоцитов при сохраненной строге и минимальных изменениях в сосудистом русле, учитывая выше изложенное, отмеченные

Дальнейший сдвиг рН до 7,0 приводит к дистрофии и некробиозу кардиомиоцитов, неравномерно выраженная гиперэозинофилия цитоплазмы, происходит гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и очаговый глыбчатый распад, периваскулярный и межклеточный отеки изменения следует трактовать как «очаговые повреждения» миокарда.

Дальнейший сдвиг уровня рН до 6,9 и ниже приводит к более выраженным изменениям миокарда. Сердечная мышца реагирует неоднородной структурой поражения миокарда: на одних участках обнаруживаются изменения тинкториальных свойств, в других - дискоидный распад и контрактуры, в третьих - полиморфноядерные лейкоциты. Все это свидетельствует о том, что повреждения миокарда в разных его местах наступают не одновременно. Полученные изменения миокарда свидетельствуют о развитии острого инфаркта миокарда фазе некроза.

Повреждения, вызываемые лактат-ацидозом, могут привести к нарушению сосудистой стенки, структуры клеточных элементов органов и последующему развитию ДВС-синдрома и его морфологического эквивалента. Описанные морфологические изменения расцениваются нами как проявления неспецифического морфологического синдрома в сердечно-сосудистой системе при метаболическом ацидозе.

Влияние лактат-ацидоза на морфологию печени. При микроскопическом исследовании (рН 7,2-7,0) наблюдается расслоение крови, агрегация форменных элементов, отек стенки сосудов. В венах – полнокровие, расслоение крови на жидкую часть и форменные элементы, венозная стенка в состоянии отека. Центральные вены долек печени полнокровны. Структура долек печени и рисунок печеночных балок сохранены. Пространства Диссе умеренно расширены, синусные капилляры полнокровны. При лактат-ацидозе обнаружены грубые нарушения в большинстве структур клеток печени. При исследовании ядер гепатоцитов выявляются многочисленные участки расслоения и микронадрывы ядерных мембран. Отмечается маргинация хроматина и неравномерное его распределение в ядре. В цитоплазме резко уменьшается количество гликогена, появляются жировые капли. Митохондрии круглой и овоидной формы. Кристы деформированы, их контуры плохо просматриваются, в некоторых органоидах они полностью разрушены. При уровне рН крови 7,2 митохондрии, как правило, сохраняют свою целостность. При сдвиге рН до 7,0 наблюдается разрушение внутренней и наружной мембран митохондрий.

Цистерны шероховатого и гладкого эндоплазматического ретикулаума расширяются и вакуолизируются. В цитоплазме появляются свободные рибосомы. Сдвиг рН в кислую сторону до 7,0, нередко сопровождается нарушением структурной целостности цитоплазматических мембран. Фрагменты мембран и содержимое цитоплазмы поступает во внеклеточное пространство. Снижение рН до 7,0 приводит к разрыхлению, утолщению и разрывам эндотелиоцитов синусоидов. Структурные образования пространства Диссе размыты, отдельные микроворсинки разрушены. Отмечается изменение структуры лизосом, что ведет к поступлению лизосомальных ферментов в окружающую среду. В клетках обнаруживаются аутофагосомы, жировые включения различного размера. В печени развивается жировая и вокуольная дистрофия.

Морфология желудочно-кишечного тракта при ацидозе. Желудочно-кишечный тракт является наиболее уязвимым звеном при патологических состояниях, сопровождающихся метаболическим ацидозом. Гистологическое исследование свидетельствует о том, что на протяжении первых 30 минут ацидоза (рН 7,2) прослеживается неравномерное наполнение кровеносных сосудов собственной пластинки слизистой, подслизистой и мышечной оболочки, расслаивание крови, появление агрегатов форменных элементов, десквамация эндотелия единичных кровеносных сосудов. В это же время прослеживается элиминация гликогена из клеток, особенно это выражено в мышечной оболочке.

При рН крови от 7,2 до 7,0 и экспозиции ацидоза до 30-60 минут развивается отек рыхлой соединительной ткани в подслизистой, а затем и в мышечной оболочке. В базальном слое собственной пластинки слизистой отмечается фрагментация, разрывы аргирофильных волокон и мелкоочаговое нарушение ацинарного рисунка железистых клеток. Границы лимфатических узелков собственной пластинки слизистой нечеткие, размытые. В лимфатических узелках отмечается расширение межклеточных щелей.

При сдвигах рН от 7,0 и ниже и увеличении экспозиции ацидоза до 60-180 минут отек в рыхлой соединительной ткани подслизистой оболочки нарастает. Снижается способность ядер фибробластов и гладкомышечных клеток окрашиваться гематоксилином. Понижается способность эластических и аргирофильных волокон окрашиваться фукселином Вейгерта и импрегнироваться азотнокислым серебром. По ходу волокон отмечаются разрывы и фрагментации. Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что через 120-180 минут после создания в сосудистом русле лактат-ацидоза (рН крови 6,8) на фоне диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови нарастают деструктивно-дистрофические изменения в соединительнотканной строме и паренхиме органа. Мелкие очаги некроза, некробиоза мышечных и железистых клеток сливаются и становятся генерализованными.

Таким образом, даже незначительный сдвиг кислотно-основного равновесия крови является пусковым моментом для развития в желудке массивных изменений, которые усиливаются по мере сдвига рН в кислую сторону.

По данным электронной микроскопии наблюдаются значительные изменения слизистой оболочки желудка. При рН 7,2 и экспозиции ацидоза 30 минут микроворсинки париетальных (обкладочных) клеток значительно расширены. Большинство митохондрий увеличены, их матрикс просветлен, структура крист, как правило, сохранена. В некоторых митохондриях нарушена внутренняя и наружная мембраны. Каналы эндоплазматического ретикулума как в париетальных, так и в слизистых клетках расширены и деформированы, в отдельных участках рибосомы отсутствуют. Структура двухслойной цитоплазматической мембраны сохранена, митохондрии прижаты к периферии протоплазмы, отчетливо видны кристы на фоне просветленного матрикса. Ворсинки канальца хорошо выражены и имеют целостную структуру. Единичные каналы цитоплазматического ретикулума окружены рибосомами. В межклеточном пространстве проходит секреторный каналец, окруженный соединительнотканными структурами. Выявляются значительные увеличения межклеточных щелей в результате отека.

Сдвиг рН до 7,0 и экспозиции ацидоза 30 минут сопровождается выраженным отеком цитоплазмы. Это приводит к нарушению организационной структуры клетки. Митохондрии хаотично разбросаны по всей площади клетки. Хотя внутриклеточный каналец сохраняет свою структуру, строение микроворсинок нарушено, они теряют свою обычную форму, их обломки беспорядочно локализуются по содержимому париетальной клетки. В некоторых париетальных клетках возникают плотные органоиды и аутофагосомы, которые имеют грушеобразную форму и располагаются ближе к периферии клетки. Митохондрии имеют различную электронную плотность, некоторые из них разрушены. Ацидоз вызывает грубые нарушения в структуре ядра. Они выражаются в пикнозе, уменьшении объема вследствие выделения ядерного сока, хроматин превращается в единую гомогенную массу неопределенной формы. Ядро образует складки, деформируется, ядерная оболочка утолщена, утрачивает обычное специфическое строение двухслойная мембрана.

Главные (зимогенные) клетки фундального отдела желудка также подвержены влиянию ацидоза. На приведенной электронной микрофотографии виден участок цитоплазмы главной (зимогенной) клетки фундальной железы желудка при рН 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин. Многочисленные митохондрии, заполняющие клетку, имеют нарушенную структуру крист, в матриксе органоидов обнаруживаются электронно-плотные скопления ионов кальция. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума расширены. Видны единичные секреторные пузырьки. Межклеточные контакты резко расширены и заполнены множественными коллагеновыми волокнами. В эпителиальных клетках наблюдается кариопикноз.

Динамика развития сладжей и тромбов в печени, поджелудочной железе и различных отделах желудочно-кишечного тракта приведена в таблице 6. Она свидетельствует о нарастании процентного содержания тромбов в артериях и венах по мере сдвига рН крови с 7,2 до 6,5 и экспозиции ацидоза от 30 до 180 мин.

Таблица 6 - Процентное соотношение сладжей и тромбов в органах пищеварительной системы при лактат-ацидозе в сосудах микроциркуляторного русла

Отдел желудочно-кишечного тракта	n	рН крови							
		рН 7,2		рН 7,0		рН 6,8		рН 6,5	
		Сладжи	Тромбы	Сладжи	Тромбы	Сладжи	Тромбы	Сладжи	Тромбы
Пищевод	40	52± 3,2	48± 3,2	40± 3,2	60± 3,2*	30± 2,8	70± 2,8*	10± 2,0	90± 2,0*
Желудок	40	43± 4,2	57± 4,2*	38± 2,6	62± 2,6*	30± 2,4	70± 2,4*	10± 2,0	90± 2,0*
Двенадцатиперстная кишка	40	70± 3,3	30± 3,3*	50± 3,0	50± 3,0	20± 2,0	80± 2,0*	10± 1,5	90± 1,5*
Подвздошная кишка	40	25± 2,5	75± 2,5*	20± 2,3	80± 2,3*	30± 3,0	70± 3,0*	0	100*
Слепая кишка	40	68± 3,2	32± 3,2*	50± 3,2	50± 3,2	20± 3,0	80± 3,0*	10± 1,5	90± 1,5*
Ободочная кишка	40	62± 4,2	38± 4,2*	60± 3,4	40± 3,4*	30± 2,5	70± 2,5*	30± 2,4	70± 2,4*
Сигмовидная кишка	40	71± 3,6	29± 3,6*	52± 3,2	48± 3,2*	20± 2,0	80± 2,0*	10± 2,0	90± 2,0*
Прямая кишка	40	70± 3,0	30± 3,0*	70± 3,5	30± 3,5*	50± 3,0	50± 3,0	0	100*
Печень	40	62± 4,2	38± 4,2*	42± 2,5	58± 2,5*	20± 1,8	80± 1,8*	20± 2,2	80± 2,2*
Поджелудочная железа	40	60± 3,5	40± 3,5*	40± 2,8	60± 2,8*	30± 2,2	70± 2,2*	10± 1,5	90± 1,5*

Примечание: n-количество стекол, подвергнутых морфометрическому анализу, * - значимость различий между количеством сладжей и тромбов между опытными и контрольными пробами.

Таким образом, одним из основных проявлений, вызываемых лактат-ацидозом, является отек различных морфологических компонентов сосудов, соединительнотканых структур, межклеточных пространств, клеток и их органоидов. Это ведет к нарушению структурной организации органов на различных уровнях. Повреждения, могут привести к нарушению сосудистой

стенки, структуры клеточных элементов органов и последующему развитию ДВС-синдрома и его морфологического эквивалента.

Влияние лактат-ацидоза на иммунные образования желудочно-кишечного тракта.

Большое внимание в наших наблюдениях было уделено характеру делимфатизации неинкапсулированных и инкапсулированных образований (пейеровых бляшек) в пищеводе, желудке, двенадцатиперстной кишке, тонком и толстом кишечнике под воздействием лактат-ацидоза различной глубины (рН 7,2 - 6,5) и продолжительности воздействия (30 - 180 мин). В дистальной части пищевода встречаются единичные лимфоидные узелки. Количественный анализ содержания лимфоцитов и других клеток на единицу площади зародышевого центра показывает, что по мере сдвига рН в кислую сторону до 7,2-7,0 и 6,8-6,5 и экспозиции ацидоза 30-60 мин и 120-180 мин соответственно, количество клеток в герминативном центре на единицу площади достоверно снижается (таблица 7).

Таблица 7 - Морфологические параметры лимфоидных образований желудочно-кишечного тракта при метаболическом лактат-ацидозе у кошек

Исследуемые параметры: количество клеток в герминативном центре на сд.пл.	Контрольные животные	Опытные животные	
	рН 7,4-7,36 n=10	рН 7,2-7,0 n=10	рН 6,8 n=10
Пищевод	227,5 ± 2,29	218,7 ± 2,75*	213,8 ± 2,82*
Желудок	260,3 ± 3,00	242,3 ± 2,39*	229,7 ± 2,06*
Двенадцатиперстная кишка	247,0 ± 2,17	227,5 ± 0,94*	215,6 ± 2,60*
Подвздошная кишка	290,7 ± 3,10	276,2 ± 2,90*	264,9 ± 2,50*
Тошая кишка	246,6 ± 2,30	224,1 ± 1,98*	214,6 ± 2,50*
Слепая кишка	314,8 ± 2,60	304,3 ± 3,20*	284,4 ± 4,40*
Ободочная кишка	309,0 ± 4,40	291,3 ± 4,60*	273,7 ± 3,10*

Примечание: * - значимость различий между опытными и контрольными пробами

При достижении уровня рН 7,2-7,0 их количество снижается, а при дальнейшем усугублении экспериментального лактат-ацидоза до уровня рН 6,8-6,5 и удлинении его экспозиции до 120-180 мин интенсивность делимфатизации также нарастает и содержание лимфоцитов на единицу площади равно (таблица 9). Примерно такая же степень делимфатизации при лактат-ацидозе наблюдалась и в других отделах желудочно-кишечного тракта. В отдельных опытах наблюдается практически полный распад зародышевых центров кишечника. Эти процессы, несомненно, оказывают влияние на иммунную защиту органов пищеварения.

Нарушения кислотно-щелочного равновесия и системы гемостаза у больных разного профиля.

Черепно-мозговая травма в настоящее время остается важнейшей медико-социальной проблемой вследствие сохраняющейся высокой распространенности, смертности и инвалидизации населения в наиболее активном трудоспособном возрасте (Унжаков В.В., Пошатаев К.Е., 2009). Если в первые часы и сутки причиной смерти после травмы является первичное повреждение го-

ловного мозга, то в более отдаленном периоде – возникают вторичные осложнения со стороны внутренних органов, которые протекают с развитием полиорганной недостаточности (Нейно Н.Д., 2008). Одним из механизмов «вторичных ударов» является лактат-ацидоз, развивающийся в критически перфузируемых тканях вследствие преобладания анаэробного метаболизма (Астраков С. В., 2008).

У больных острой тяжелой черепно-мозговой травмой и сочетанной острой ЧМТ развивается метаболический ацидоз, о чем свидетельствуют снижение рН крови, низкий уровень карбонатов (HCO_3), стандартных бикарбонатов (SB), общих карбонатов ($t \text{CO}_2$), отрицательные значения концентрации буферных оснований (BE) (таблица 8). Утилизация пирувата зависит от насыщения тканей кислородом, и снижение доставки кислорода к клеткам приводит к гиперпродукции молочной кислоты. Концентрация лактата крови более 4 ммоль/л даже при нормальных жизненных показателях указывает на тяжелую гипоперфузию тканей или печеночную недостаточность, и часто коррелирует с неблагоприятным исходом в периоперационном периоде (Унжаков В.В., Поштаев К.Е., 2009).

Таблица 8 - Изменение показателей кислотно-щелочного у больных с острой и сочетанной тяжелой ЧМТ (Ме (25-й; 75-й перцентили))

Показатели КОС	Группа контроля n=10	ЧМТ n=18		Сочетанная острая ЧМТ n=13	
		До лечения	В конце лечения	До лечения	В конце лечения
рН крови	7,375(7,35;7,39)	7,30 (7,28;7,33)	7,26 (7,19;7,35)	7,31 (7,21;7,35) (p≤0,05)	7,21(7,15;7,27) (p ₁ ≤0,05) (p≤0,01)
рСО ₂ мм.рт. ст.	43,85(42,1;47,78)	47,3 (40,68;54,88)	53,55 (44,25;64,65)	46,5 (45,2;52,5)	51(49;55,7) (p≤0,05)
рО ₂ мм рт. ст.	52,6(43,38;64,95)	47,65 (38,2;54,4)	49,8 (44;52,4)	58,6(48,2;62,3)	50,1(42,8;55,7)
Глюкоза ммоль/л	5,6 (4,0;5,9)	8,3 (5,1;10,25)	5,95 (4,55;7,85)	5,6(4,96;12,3)	4,7(3,4;6,1)
Лас ммоль/л	1(0,62;1,07)	4(2,53;6,3) (p≤0,01)	3,2(2,38;5,1) (p≤0,01)	2,9(1,7;6,9) (p≤0,01)	4,5(3,2;6,2) (p≤0,01)
SBC (стандартный бикарбонат) моль/л	23,8(22,38;24,58)	21,5 (19,9;23,4)	21,35 (19,6;24,9)	21,9(18;22,9) (p≤0,01)	17,2(15,3;20,5) (p≤0,01)
НСО ₃ ммоль/л	24(22,55;24,9)	23,3 (20,5;24,2)	24,15 (21,6;27)	22,3(21,3;22,8) (p≤0,05)	19,8(16,7;23,3) (p≤0,01)
BEссf ммоль/л	2,25(0,37;2,72)	-2,5 (-4,65;-0,5)	-2,15 (-4,9;1,38)	-2,9(-6;-1,3) (p≤0,01)	-7,2(-12,2;-2,9) (p≤0,01)
BEb ммоль/л	2,9(1,03;3,2)	-3,1 (-5,08;-1,5) (p≤0,01)	-1,75 (-5,13;1,2)	-3(-8,2;-1,9) (p≤0,01)	-8,4(-11,4;-3,8) (p≤0,01)
t CO ₂ мэкв/л	32,6(29,45;35,35)	42,95 (29,05;52)	46,6 (34,3;57,58)	52,5(47,2;53,6) (p≤0,05)	45,9(35,4;54,4)

Примечание: p - уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем; p₁ - уровень статистической значимости различий в исследуемой группе до лечения и в конце лечения.

Анализ показателей системы гемостаза у данной категории больных свидетельствует об усилении постоянного внутрисосудистого свертывания на фоне метаболического ацидоза. Были выявлены основные лабораторные маркеры ДВС-синдрома, в виде повышения концентрации D-димеров, снижения количества тромбоцитов, удлинения МНО более выраженные у пациентов с сочетанной тяжелой ЧМТ (таблица 9).

Таблица 9 - Показатели гемокоагуляции у больных с острой и сочетанной тяжелой ЧМТ (Ме (25-й; 75-й перцентили))

Показатели коагулограммы	Группа контроля n=10	ЧМТ n=18		Сочетанная острая ЧМТ n=13	
		До лечения	В конце лечения	До лечения	В конце лечения
Количество тромбоцитов	411(345;456)	222 (177;262) (p≤ 0,01)	168 (82;222) (p≤ 0,01)	202(183;242) (p≤ 0,01)	116(98;221) (p≤ 0,01)
ПВ секунды	13,3(13,2;13,9)	14,75 (13,56;17,65) (p≤ 0,05)	15,25 (14,13;19) (p≤ 0,05)	16(15,3;17,8) (p≤ 0,01)	19,7(15,8;23,3) (p≤ 0,01)
АЧТВ секунды	31,9 (29,65;34,13)	31,9 (27,9;36,3)	32,1 (28,7;37,3)	30,1 (23,9;35,5)	36,4(32;58,5) (p ₁ ≤ 0,05) (p≤ 0,05)
ТВ секунды	13,2(12;14,23)	15,65 (13;16,38)	14 (10,6;16,3)	15,8 (10,9;19,8)	17,9(10,7;18,5)
МНО	1,05(1;1,1)	1,15 (1,08;1,25) (p≤ 0,05)	1,28 (1,13;1,49) (p≤ 0,05)	1,26 (1,18;1,34)	1,67(1,32;2,14) (p ₁ ≤ 0,01) (p ₂ ≤ 0,05)
ПИ %	93(85,25;95,25)	77 (62,73;89) (p≤ 0,05)	65 (51,5;84,5) (p≤ 0,05)	68(60;76) (p≤ 0,01)	46(41;67) (p≤ 0,01) (p ₁ ≤ 0,05)
Фибриноген г/л	344,5 (312,75;362,5)	260 (149;364)	435 (343;539) (p ₁ ≤ 0,05)	306(201;568)	503(392;682) (p≤ 0,05)
D- димеры	0,5(0,04;1)	4 (2,85;4,26) (p≤ 0,01)	4(3;4,98) (p≤ 0,01)	4,25(4;6,27) (p≤ 0,01)	6,2(4;7,06) (p≤ 0,01) (p ₁ ≤ 0,01) (p ₂ ≤ 0,05)

Примечание: p - уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем; p₁ - уровень статистической значимости различий в исследуемой группе до лечения и в конце лечения, p₂-уровень статистической значимости различий между исследуемыми группами

У пациентов острой тяжелой сочетанной ЧМТ (политравма) выявлены прямые умеренные корреляционные связи между концентрацией фибриногена и показателями КОС: pH крови, стандартными карбонатами, концентрацией буферных оснований, тотальными карбонатами tCO₂, карбонатами, парциальным давлением кислорода pO₂, обратные взаимосвязи между pH крови, концентрацией буферных оснований и АЧТВ, а также отрицательные умеренные взаимосвязи между тотальными карбонатами tCO₂ и АЧТВ, МНО, ПВ, между стандартными карбонатами SBC, pH

крови, концентрацией буферных оснований и ПВ. Выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между уровнем фибриногена и лактата (-0,769), прямая корреляционная связь между уровнем лактата и протромбиновым и тромбиновым временем. На фоне проводимого лечения явления метаболического ацидоза и гемокоагуляционные сдвиги нарастали (таблицы 10, 11).

Таблица 10 - Корреляция показателей гемокоагуляции и КОС у больных с сочетанной ЧМТ (r_s)

Изучаемый показатель	рН крови		рСО ₂		SBC		BE	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ΔФибриноген	0,533*	-0,027	-0,637*	-0,516*	0,609*	0,251	0,545*	0,181
ΔАЧТВ	-0,385*	-0,055	0,121	0,253	-0,356	0,257	-0,457*	0,17
ΔПВ	-0,511*	0,198	0,368	0,016	-0,567*	0,257	-0,68*	0,023
ΔПИ	0,093	0,430*	0,044	0,339	0,18	0,522*	0,359	0,581*
ΔТромбоциты	-0,152	0,434*	0,158	-0,049	-0,099	0,328	-0,069	0,363

Примечание: * - зависимость между показателем КЩР крови и показателями гемокоагуляции, r_s - непараметрический коэффициент корреляции Спирмена.

Таблица 11- Корреляция показателей гемокоагуляции и рСО₂, tCO₂, НСО₃ у больных с сочетанной ЧМТ (r_s)

Изучаемый показатель	Лактат		рО ₂		tCO ₂		НСО ₃	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ΔФибриноген	-0,769*	0,088	0,592*	0,249	0,499*	0,088	0,571*	0,379*
ΔАЧТВ	0,321	-0,275	-0,185	0,188	-0,490*	0,159	-0,357	0,297
ΔМНО	-0,113	0,209	0,12	-0,048	-0,482*	0,198	-0,31	0,033
ΔПВ	0,415*	0,505*	-0,287	-0,424*	-0,696*	0,231	-0,456*	0,297
ΔТВ	-0,228	0,379*	0,18	-0,405*	0,067	-0,06	0,055	-0,253
ΔПИ	-0,114	0,032	-0,048	-0,082	0,581*	0,287	0,390*	0,400*
ΔТромбоциты	0,31	0,077	-0,495*	-0,304	0,088	0,247	0,136	0,214
Δ D-димеры	0,449*	0,428*	-0,018	-0,347	0,449*	0,428*	0,096	-0,062

Примечание: * - зависимость между показателем КОС крови и показателями гемокоагуляции, r_s - непараметрический коэффициент корреляции Спирмена

Нарушение доставки кислорода к тканям сопровождается накоплением лактата, увеличением дефицита оснований и снижением системного рН. Эти параметры играют прогностическую роль в развитии такого грозного осложнения как ДВС-синдром, полиорганная недостаточность и, в конечном счете, уровня смертности больных (Унжаков В.В., Пошатаев К.Е, 2009).

3 Выводы

1. В опытах *in vitro* сдвиг рН крови до 7,26 сопровождается появлением спонтанной агрегации тромбоцитов, что приводит к ее снижению при добавлении АДФ. Одновременно при этом ликвидируется фаза дезагрегации и происходит падение дзета-потенциала тромбоцитов. Добавление различных концентраций молочной кислоты приводит к сокращению времени свертывания плазмы и уменьшению ее фибринолитической активности. Выявлены прямые и обратные корреляционные связи умеренной и сильной степени между рН крови и различными показателями сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза.

2. Однократное введение молочной кислоты и сдвиг рН крови до 7,07 в опытах *in vivo* приводит к развитию гиперкоагуляции, увеличению активности VIII фактора, торможению фибринолиза и повышению содержания РФМК. Несмотря на нормализацию метаболических сдвигов эти изменения сохраняются на протяжении часа (время наблюдения).

3. Показатели свертывания крови в различных регионах сердечно-сосудистой системы не одинаковы и тесным образом связаны с интенсивностью метаболических процессов. Наибольшая скорость свертывания крови отмечается в пробах, взятых из правого предсердия, здесь же определялось самое низкое значение рН. Аортальная кровь свертывалась значительно медленнее. Самым продолжительным время свертывания плазмы получено из крови бедренной артерии; максимальная скорость свертывания оказалась в крови воротной вены.

4. ДВС-синдром, развивающийся в результате острого лактат-ацидоза, в различных регионах сердечно-сосудистой системы характеризуется многофазным течением. При рН 7,2-7,0 наряду с гиперкоагуляцией, появляются сладжи эритроцитов, наблюдается умеренное снижение концентрации фибриногена и нарастание РФМК. Увеличение глубины ацидоза и его продолжительности приводит к спонтанной агрегации тромбоцитов и потреблению факторов свертывания крови, что, в конечном итоге, ведет к развитию вторичной гипокоагуляции. При этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда ТЭГ, падает число и уменьшается ζ -потенциал тромбоцитов. Прохождение крови через печень изменяет ее гемокоагуляционные свойства, направленные на коррекцию процессов гемостаза.

5. При остром лактат-ацидозе, по данным электронной микроскопии, появляется деформация цитоплазматической мембраны эндотелия, образуются микровезикулы, и наступает дегрануляция тучных клеток. При сдвигах рН до 7,2 и продолжительности ацидоза от 30-60 мин. в сосудах в основном выявляются сладжи эритроцитов. Дальнейший сдвиг рН и увеличение экспозиции ацидоза более 60 минут приводит к образованию тромбов и глубокому расстройству микроциркуляции.

6. Острый лактат-ацидоз со сдвигом рН до 7,2 и продолжительности от 15 до 60 минут вызывает в миокарде неспецифические структурные изменения, расцениваемые как миокардиодистрофия. При рН 7,1 и продолжительности ацидоза более 60-100 минут обнаруженные изменения расцениваются как необратимые очаговые повреждения миокарда. Сдвиг рН до 7,0 приводит к дистрофии и некробиозу кардиомиоцитов, внутриклеточному миоцитолиту и очаговому глыбчатому распаду, гиперэозинофилии цитоплазмы, гиперхромии и пикнотическому сморщиванию ядер, периваскулярному и межклеточному отеку. Дальнейший сдвиг рН до 6,9 приводит к развитию острого инфаркта миокарда.

7. В гепатоцитах при остром лактат-ацидозе различной глубины от рН 7,2 до рН 7,0 и продолжительностью от 30 до 180 минут отмечаются признаки митохондриальной дисфункции, нарушение целостности эндоплазматического ретикулума, кариопикноз, кариолизис, липофонероз и резкое уменьшение количества зерен гликогена. При рН 7,2 и продолжительности ацидоза от 15 до 60 минут в печени развивается жировая и вакуольная дистрофия. При рН 7,1 обнаруженные очаговые повреждения носят необратимый характер. Сдвиг рН до 7,0 приводит к вакуольной дистрофии, некробиозу и некрозу клеток печени.

8. У больных с черепно-мозговой травмой и сахарным диабетом 1 и 2 типов отмечаются признаки метаболического ацидоза, характеризующиеся снижением рН крови до 7,21, низким уровнем карбонатов (HCO_3), стандартных бикарбонатов (SB), общих карбонатов ($t \text{CO}_2$), и отрицательным значением концентрации буферных оснований (BE). У таких больных усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывание крови, снижается число тромбоцитов, сокращается АЧТВ, удлиняется протромбиновое время (МНО) повышается концентрация РФМК и D – димеров. Выявленные прямые и обратные корреляционные связи умеренной и сильной степени между показателями кислотно-щелочного равновесия и системы гемостаза свидетельствуют о том, что сдвиг метаболический ацидоз является фактором риска в развитии ДВС-синдрома, сопровождаемого полиорганной недостаточностью.

4 Результаты теоретических и экспериментальных исследований

Систематизация и предварительная оценка полученных результатов.

На данном этапе исследований были изучены закономерности механизмы развития структурных изменений органов пищеварительной системы при экспериментальном лактат-ацидозе.

Для определения целей и задач исследования было проанализировано более 500 литературных источников, в том числе 325 на иностранных языках по различным аспектам нарушений кислотно-основного гомеостаза. Это позволило определить основные направления работы, которые направлены на выявление механизмов и закономерностей развития ДВС-синдрома и неспецифического морфологического синдрома при метаболическом ацидозе. Влияние различных сдвигов рН крови на сосудисто-тромбоцитарный, гемокоагуляционный гемостаз, фибринолиз изучалось многочисленными исследованиями. Благодаря этому были выявлены основные закономерности развития ДВС-синдрома при ацидозе. Однако остаются неясными закономерности и механизмы структурных изменений в органах и тканях в зависимости от глубины и продолжительности ацидоза, а также роль структурных нарушений эндотелия сосудистой стенки в развитии ДВС-синдрома при ацидозе, не описан морфологический эквивалент ДВС-синдрома в различных регионах сердечно-сосудистой системы. Это позволило нам определить направления исследований, сформулированные в целях и задачах.

Для решения поставленных задач были использованы унифицированные гистологические, гистохимические методы исследования и методики электронной микроскопии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ДВС-синдром и его морфологический эквивалент развиваются не только под влиянием метаболического ацидоза, но также связаны с морфологическими нарушениями эндотелиоцитов, микровезикуляцией эндотелия, изменениями соединительнотканного матрикса и структуры клеток при ацидозе.

В органах пищеварения (печень, поджелудочная железа, отделы желудочно-кишечного тракта) при ацидозе развиваются неспецифические изменения, которые зависят от глубины продолжительности ацидоза. В клетках желудка (главные, обкладочные, париетальные) на ультраструктурном уровне однотипные изменения проявляются в нарушении структуры ядра, митохондрий, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулула и др.

С практической точки зрения полученные данные позволяют расширить представления о глубине изменений в различных органах и тканях и системе гемостаза, микроциркуляторном русле при метаболическом ацидозе. Ацидоз приводит к развитию, и в то же время является следствием полиорганной недостаточности, часто является одним из звеньев танатогенеза.

Результаты исследования могут быть использованы в клинической практике, анестезиологии и реаниматологии, кардиохирургии при оценке тяжести патологических процессов, возника-

ющих при некомпенсированном ацидозе. Знание механизмов и закономерностей возникновения структурных изменений в органах и тканях необходимо учитывать при составлении индивидуального плана лечения пациентов в критических состояниях, сопровождающихся ацидозом.

Оценка полноты решения задач и достижения поставленных целей.

Достижение цели и решение задач этапа исследования позволяют сформулировать общие закономерности и патогенетические механизмы развития сдвигов в системе сосудисто-тромбоцитарного и гемокоагуляционного гемостаза, ДВС-синдрома, нарушениях структурного гомеостаза в различных органах пищеварения при метаболическом ацидозе. Выявить его роль в развитии полиорганной недостаточности у больных с ургентной патологией. Позволяют говорить о неспецифичекой блокаде иммунных образования ЖКТ во время и после перенесенного метаболического ацидоза и определить некоторые механизмы и закономерности ее развития.

Сопоставление и обобщение результатов анализа научно-информационных источников и экспериментальных исследований

Влияние ацидоза на морфологию внутренних органов изучалось рядом исследователей. А.К.Хорольским и соавт. (1989) было показано, что сдвиг рН от 7,4 в контроле до 6,5 в опыте приводит к деструктивно-дистрофическим изменениям селезенки, вызывает изменения стенки сосудов, отек соединительной ткани и нарушение мягкого остова внутренних органов.

S.Behmanesh, O.Kempiski (2000, 2009) изучали влияние молочнокислого ацидоза на структуру эндотелиоцитов *in vitro*. Одним из ранних признаков ишемии является увеличение концентрации лактата, которое происходит в результате интенсификации анаэробного метаболизма. Сдвиг рН среды от 7,4 до 6,8 не вызывает набухания эндотелиоцитов, а при рН ниже 6,6, 6,4 и 6,0 происходит существенный H^+ -зависимый отек и вздутие клеток.

A.J.Skowronek et al. (1995) считают, что патологические процессы в легких при сдвиге рН в кислую сторону сопровождаются появлением очагов эмфиземы и ателектаза, которые увеличиваются с нарастанием ацидоза. Авторы приходят к выводу, что динамика и характер наблюдаемых при экспериментальном ацидозе морфологических изменений в различных органах зависят от продолжительности и степени сдвига рН в кислую сторону.

Продукты метаболизма, вызывающие ацидоз, представляют реальную опасность для организма, так как способны не только нарушать функции, но и приводят к морфологическим изменениям в различных органах (Горизонтов, 1981). По данным наших исследований экспериментальный ацидоз различной глубины (от рН 7,3 до 6,5 и продолжительности от 5 мин. до 3 часов) приводит к неспецифическим морфологическим изменениям во всех изучаемых органах и тканях (печени, почках, легких, сердце, желудочно-кишечном тракте). В кровеносном русле всех органов появляются признаки диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. В сосудистой стенке обнаруживается набухание интимы и сдувание эндотелия, разбухание фрагментация

соединительнотканых элементов. Авторами установлено, что в цитозоле гепатоцитов при ацидозе появляется крупная зернистость и множество жировых вакуолей, зерна гликогена образуют комплексы, располагающиеся около митохондрий и ядерной оболочки. Выраженные изменения возникают в почке. При рН 7,2 – 7,0 в течение 5 – 30 минут развивается набухание цитоплазмы проксимальных канальцев нефроцитов, появляются зернистая дистрофия, жировые вакуоли, деструкция щеточной каемки. В отдельных участках коркового вещества наблюдаются изменения структуры сосудистого клубочка почечного тельца.

Таким образом, в литературе имеются единичные работы, которые свидетельствуют о морфологических изменениях в различных органах и тканях при метаболическим ацидозе. Показано, что эти изменения зависят от глубины и продолжительности ацидоза. Данные о структурных нарушениях при ацидозе в органах иммунной системы практически отсутствуют. Между тем, Ю.Шутеу и соавт. (1981) отмечают, что при различных видах шока, сопровождающихся ацидозом, в системном кровообращении появляются антитела к ДНК и к другим структурам через 6 минут от начала шока. Наиболее уязвима функция тимуса, а затем и периферических иммунных образований – лимфатических узлов и селезенки. Если больному удастся выжить после критического состояния шока, то на восстановление нормальной деятельности иммунной системы потребуется более шести месяцев и даже несколько лет.

В связи с вышеизложенным, изучение влияния сдвигов кислотно-основного равновесия на морфологию органов и тканей, гемокоагуляционный и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз представляется весьма значимым.

Оценка эффективности полученных результатов в сравнении с современным научно-техническим уровнем

Впервые на ультраструктурном уровне описаны закономерности и выявлены механизмы структурных изменений в печени и желудке и микроциркуляторном русле при метаболическом ацидозе в зависимости от глубины и продолжительности, расширены представления о механизмах развития ДВС-синдрома.

Описано влияние сдвигов рН в кислую сторону на морфологию органов пищеварительной системы (печень, поджелудочная железа, желудок, толстый, тонкий кишечник, иммунные образования ЖКТ).

Полученные данные позволяют расширить представления о глубине изменений в различных органах и тканях и системе гемостаза, микроциркуляторном русле при метаболическом ацидозе. Ацидоз приводит и в то же время является следствием полиорганной недостаточности, а также одним из звеньев танатогенеза.

Результаты полученных результатов соответствуют российскому уровню, в определенных аспектах занимают лидирующие позиции в рассматриваемой области. Приоритетными являются

выявление явления микровезикуляции эндотелиоцитов при ацидозе и его роли в развитии ДВС-синдрома, открытие неспецифической морфологической блокады органов иммунной системы.

Частичная обработка полученных данных эксперимента нашла отражение в следующих публикациях в российских научных журналах из списка ВАК:

Выполнены и защищены 2 курсовые работы, 2 дипломных проекта, продолжается работа над кандидатской и докторской диссертациями монографией «ДВС-синдром в клинике и эксперименте».

Разработка рекомендаций по возможности использования результатов проведенных НИР в реальном секторе экономики.

Шоки различного происхождения, травмы, кровотечения, пересадки внутренних органов сопровождаются повышением уровня молочной кислоты, которая играет важную роль в развитии ДВС-синдрома. Накопление молочной кислоты, не только изменяет гемостатические свойства крови, но приводит и к морфологическим изменениям в органах и тканях. Полученные данные позволяют расширить представления о глубине изменений в различных органах и тканях и системе гемостаза, микроциркуляторном русле при метаболическом ацидозе, который приводит к развитию ДВС-синдрома.

Результаты НИР имеют не только теоретическое, но и практическое значение, так как могут быть использованы в клинической практике, анестезиологии и реаниматологии, кардиохирургии при оценке тяжести патологических процессов, возникающих при некомпенсированном ацидозе. Знание механизмов и закономерностей возникновения структурных изменений в органах и тканях при метаболической ацидозе необходимо учитывать при составлении индивидуального плана лечения пациентов в критических состояниях, сопровождающихся ацидозом.

Разработка рекомендаций по использованию результатов НИР при создании научно-образовательных курсов:

1. Результаты НИР внедрены в научно-образовательный процесс на кафедрах Медико-биологических основ физической культуры, теоретических основ физической культуры и спорта ГОУ ВПО Забайкальского государственного университета при преподавании дисциплин в курс лекций и практических занятий по дисциплинам «Общая патология с основами тератологии», «Частная патология», «Физиология человека» по специальности 032102 «Адаптивная физическая культура»; «Физиология физических упражнений», «Спортивная медицина» по специальностям 032102 «Физическая культура и спорт», 050720 «Физическая культура». В учебный процесс ГОУ СПО «Читинский медицинский колледж» по дисциплине «Основы клинической патологии», «Клиническая патология» по специальностям 0405 «Фармация», 0407 «Лабораторная диагностика».

2. Создано учебное пособие «Физическая реабилитация при заболеваниях органов дыхания» для направлений 032102 «Адаптивная физическая культура»; «Физиология физических упражнений», «Спортивная медицина» по специальностям 032102 «Физическая культура и спорт», 050720 «Физическая культура».
3. Планируется разработать рекомендации для студентов ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия специальности «Лечебное дело» по курсу «Патологическая физиология» для студентов 3 курса, «Анестезиология и реаниматология» и «Клиническая физиология» для студентов 5 курса и руководство для врачей различного профиля в рамках постдипломного образования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В литературе последних лет значительное место отводят вопросам изучения лактат-ацидоза (ЛА). Впервые он был описан W.E.Huckabee в 1961 году как синдром, характеризующийся резким увеличением концентрации молочной кислоты в крови (до 26 ммоль/л). С тех пор постоянно растет число исследований, посвященных ЛА. К настоящему времени известны обзоры по различным аспектам ЛА (Kruse J.A. et al., 1987; Skowzonek. A.J. et al., 1995; Otsuka M. et al., 1996; Stacpoole P.W., 1997; Eriksson M. et al., 1998; Ferrandiere N. et al., 1998; Dann P.J., 1998; Байрамов А.А. и соавт., 1999; Duell T., 2000; Ostrowski R.P., 2000; Bleeker-Rovers C.P. et al., 2000, Luft F.C., 2001; DeBekker D., 2003). Этот интерес, не угасающий в течение многих лет, объясняется до конца неизученным патогенезом ЛА, его неожиданным развитием и малой эффективностью терапии. Если дыхательные нарушения можно компенсировать адекватной искусственной вентиляцией, то проблема коррекции метаболического ацидоза и, в частности, лактат-ацидоза, остается до сих пор окончательно нерешенной (Otsuka M. et al., 1996; Ferrandiere N. et al., 1998; Dann P.J., 1998; Зарг И.О. и соавт., 1999; Chandy M.J., 2000; Shu Q., 2001; Pasvol G., 2005; Бутылин Ю.П. и др., 2007).

Продукты анаэробного метаболизма, вызывающие ацидоз, представляют реальную опасность для организма, так как способны не только нарушать функции, но и приводить к морфологически изменениям в различных органах и тканях. Накопление молочной кислоты, известной в качестве крупного донора протонов, изменяет гемостатические и реологические свойства крови, усиливает гипоксию тканей и уменьшает функцию энергообразования клеток вследствие разобщения гликолиза и цикла Кребса, снижает ресинтез АТФ и ведет к увеличению энтропии в организме. В этих условиях особое значение приобретает исследование взаимозависимости между ацидозом, гемостазом и изменением морфологии органов и тканей.

При физической нагрузке увеличивается содержание кислых продуктов обмена, которые вызывают сдвиги КОС крови. Степень изменений КОС зависит от длительности и интенсивности физической нагрузки, а также от функционального состояния организма в целом. рН крови в наибольшей степени зависит от содержания в ней La , а также от pCO_2 и буферных возможностей крови (Davis J.A., 1985). В состоянии покоя рН артериальной крови у спортсменов практически такая, как и у неспортсменов.

Поскольку во время мышечной работы рН почти исключительно определяется концентрацией молочной кислоты, все, что можно сказать об эффектах тренировки по уровню лактата крови, справедливо и для рН. У спортсменов, тренирующих выносливость, снижение рН происходит при более значительных нагрузках, однако его значение меньше, чем у нетренированных. Вместе с тем при максимальных аэробных нагрузках снижение рН у спортсменов больше, чем у спортсме-

менов. В отдельных случаях рН артериальной крови у высококвалифицированных спортсменов может падать до 7,0 и даже несколько ниже.

Следует иметь в виду, что снижение внутриклеточного рН, вызванное увеличенной концентрацией лактата, препятствует мышечному сокращению, снижает способность мышц к поддержанию силы. Накопление кислых продуктов обмена веществ в процессе напряженной физической работы обусловлено, прежде всего, несоответствием между кислородным запросом и его потреблением, что и приводит к увеличению содержания La в крови и снижению рН (Davis J.A., 1985; Connett R.J. et al., 1984; Горн М.М. и др., 2000; De Bekker D., 2003).

Метаболический ацидоз также развивается при травмах (Zacharias C. et al., 1999); кровотечениях (Dietz P.A., 1996; Mikhail J., 1999); отравлениях (Otsuka M. et al., 1996; Ferrandiere N. et al., 1998; Dann P.J., 1998); сахарном диабете (Buyukasik Y. et al., 1998); острых инфекционных заболеваниях (Skowzonek A.J. et al., 1995; Eriksson M. et al., 1998); пересадке органов (Bkirchbaum S. et al., 1997), острой миокардиальной недостаточности в послеоперационном периоде (Байрамов А.А. и др., 1999) и многих других состояниях, которые приводят к активации функции тромбоцитов, усилению коагулопатии и гиперфибринолізу. Компенсированный метаболический ацидоз лежит в основе таких заболеваний, как сахарный диабет, гипертоническая болезнь, заболевания почек, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, атеросклероз и пародонтит (Хашин Р., Шейх Д., 1981; Щербак А.В., Камерон И.Л., Пул Т.В., 1985; Жалко-Титаренко В.Ф., 1989; Luft F.C., 2001; Bellomo R., 2002; Maitland K. et al., 2005).

Зависимость свертывания крови от рН среды изучалось многими исследователями. Было показано, что сдвиг рН в кислую сторону ведет к ускорению процесса фибринообразования. Смещение рН в кислую сторону на 0,17 – 0,2 единиц приводит к гипекоагулемии (Попова Н.Н., 1947; Crowell J, et al., 1961; Chaitin H., Lieberman F., 1970; Шестаков В.А., 1968; Альфонсов В.В. и сотр., 1974 – 2005). Изменение концентрации водородных ионов оказывает влияние и на отдельные компоненты системы свертывания крови. Активность V фактора снижается при сдвиге рН за пределы 7,0, (Deutsch, Schadenб 1953), VII фактор не утрачивает ферментативной активности при более низких рН. По мнению Б.А.Кудряшева (1975), оптимум активности данного фактора находится при нейтральной реакции среды.

По данным Wolf F. (1969), стабильность фактора VIII обнаруживается при рН 6,2 – 8,0. В.А.Шестаков (1968) считает, что параметры рН 7,1 – 7,2 являются оптимальными для сохранения ферментативных свойств антигемофильного глобулина.

Мы также наблюдали ускорение свертываемости крови и развитие ДВС-синдрома при снижении рН до 7,2 – 7,07. Дальнейший сдвиг рН в кислую сторону сопровождался гипокоагулемией и коагулопатией потребления.

Ферментативное действие тромбина также находится в зависимости от концентрации водородных ионов. Максимальная активность тромбина при действии на фибриноген обнаруживается при рН 7,2 – 7,5 (Кудряшев Б.А., 1975; Seegers W., Smith H., 1974). При более выраженных сдвигах уровней рН в кислую сторону в результате нарушения процессов полимеризации фибрина сгусток может не возникнуть (Shulman S., Ferry J., 1950).

По нашим данным, свертывание крови в различных сосудах кошки (бедренная артерия, воротная и печеночная вены) на фоне в/в инъекции молочной кислоты и сдвиге рН до 7,2; 7,0; 6,8 и 6,5 и экспозиции ацидоза соответственно 30; 60, 120 и 180 мин изменялось двухфазно. При рН 7,2 – 7,0 наблюдалась наибольшая скорость свертывания крови, при этом в кровотоке появлялись продукты деградации фибрина и небольшое снижение концентрации фибриногена. Изменение показателей свертываемости крови в различных сосудах было неодинаковым. В воротной вене наблюдалась наибольшая активация гемокоагуляционных показателей, а после прохождения крови через печень отмечалось частичная коррекция кислотно-основного баланса и свертываемости крови. Это можно объяснить процессами неогликогенеза в цикле Кори и воздействием гепарина, образующегося в печени. Данные биохимических исследований системы гемостаза подтверждаются показателями тромбоэластографии и электрокоагулографии.

Crowell J. Et al. (1961) считают, что подкисление образцов крови, полученных от гепаринизированных собак имеют критический уровень рН для внутрисосудистого свертывания 6,7. В.А.Шестаков (1968, 1973) представил данные, согласно которым уменьшение рН до 6,0 сопровождается снижением гепарина, вплоть до полного исчезновения его из плазмы.

Итак, исследование действия различных концентраций водородных ионов в условиях *in vitro* и *in vivo* дало возможность выявить определенную зависимость активности агентов системы свертывания крови и их ингибиторов от реакции среды.

Сдвиги кислотно-основного состояния организма оказывают влияние не только на свертываемость крови, но также играют важную роль в регуляции микроциркуляторного гемостаза. По данным наших исследований сдвиги рН в кислую сторону в организме животных сопровождаются падением дзета-потенциала и спонтанной агрегацией тромбоцитов. Аналогичные данные были получены и в наших исследованиях. Агрегирующее действие АДФ снижается по мере уменьшения рН крови. Одновременно увеличивалась степень спонтанной агрегации пластинок. Этим можно объяснить уменьшение количества тромбоцитов в общей циркуляции и скопление их в микроциркуляторном русле. Этому способствует также снижение дзета-потенциала тромбоцитов в различных отделах сердечно сосудистой системы при сдвиге рН в кислую сторону. Наблюдаемые сдвиги коррелировались со степенью уменьшения рН в бедренной артерии, в воротной и печеночной венах.

Метаболический ацидоз, сопровождающийся развитием ДВС-синдрома, приводит не только к изменению биохимических показателей гемостаза, но также вызывает структурные нарушения в системе крови. Которые можно обозначить как морфологический эквивалент ДВС-синдрома.

Исследование сосудов на гистологических препаратах сердца сосудистого русла различных органов свидетельствуют о возникновении неспецифических морфологических изменений. Наиболее характерным является образование сладжей эритроцитов и тромбов в мелких венозных и артериальных сосудах. Соотношение количества образовавшихся сладжей и тромбов при различных рН варьирует в широких пределах. При рН 7,2 количество сладжей в среднем составляет 80 – 90%, а тромбов – 10 – 20%. По мере сдвига рН в кислую сторону это соотношение меняется в сторону увеличения тромбов. При рН 6,5 число тромбированных сосудов достигает 80 – 100%.

Существенным морфологическим изменениям при ацидозе подвергаются эндотелиоциты. При рН 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин наблюдается деформация поверхности эндотелиальных клеток капилляров и появление в просвете микроциркуляторного русла цитоплазматических везикул. Сдвиг рН до 7,0 на 30 мин вызывает разрушение эндотелиоцитов и поступление их содержимого в сосудистое русло. Исследование субклеточных фракций внутреннего слоя сосудов (ядер, митохондрий, лизосом и постлизосомального супернатанта), полученных при помощи дифференциального центрифугирования в ультрацентрифуге показало, что органоиды клеток обладают преимущественно тромбопластической активностью и не содержат антикоагулянтов и активаторов фибринолиза. Поэтому гиперкоагулемия, возникающая при ацидозе, связана не только со сдвигом рН в кислую сторону, но и с поступлением тромбопластических соединений из эндотелия сосудов.

Тканевые факторы свертывания крови играют важнейшую роль в механизмах тромбообразования по внешнему пути гемостаза. Этому вопросу посвящены многочисленные исследования как отечественных (Скипетров В.П. и др., 2000; Альфонсов В.В. и др., 1964 – 2002; Кузник Б.И. и др., 1974, 2008, 2010), так и зарубежных авторов (Astrup T. et al., 1967; P. Glas, Astrup T., 1967; O'Brien et al., 1962; 1980 и др.).

По данным наших исследований экспериментальный лактат-ацидоз приводит к неспецифическому морфологическому синдрому, который захватывает не только эндотелий, но и ткани различных органов – сердца, почек, печени, желудочно-кишечного тракта и других и сопровождается повреждением структур клеток и межклеточного вещества. Наиболее характерными являются маргинация и конгломерация (структурирование) хроматина, вплоть до кариопикноза, разрушение аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума, просветление матрикса митохондрий, деформация крипт, разрывы наружной и внутренней мембраны, разрушение цитоплазматических мембран с выходом содержимого клетки в межклеточное пространство.

Мы особенно обращаем внимание на то, что эти изменения приводят к выходу клеточных структур, обладающих прокоагулянтной активностью, в межклеточную среду и, следовательно, оказывают воздействие на экстравазальную коагуляцию.

С помощью электронной микроскопии удалось показать, что уже при рН 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин обнаруживаются изменения в клеточном ядре. Они выражаются в маргинации хроматина и (в отдельных участках) расслоении мембраны. Аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум выглядят отёчными, митохондрии набухшими с участками просветления и деформацией крист. Однако при рН 7,2 мембраны клеток, как правило, сохраняют свою целостность. Разумеется, если в дальнейшем ацидоз удаётся ликвидировать, то можно ожидать, что эти изменения исчезнут.

При рН 7,2 выраженная деформация наступает в цитоплазматической мембране эндотелиоцитов с появлением выростов и образованием микровезикул. Мы неоднократно отмечали, что эндотелиальные микровезикулы обладают выраженной прокоагулянтной активностью и нередко несут на своей поверхности ТФ (Зубаирова Л.Д., 2004; Зубаиров Д.М. и др., 2000, 2009, 2010).

Ещё более существенные сдвиги происходят при рН венозной крови, равной 7,0. Уже через 30 мин в разных тканях наблюдается структурирование цитоплазмы, повреждение мембраны и наличие микровезикуляции. В ядрах клеток отмечается маргинация и агрегация хроматина, повреждается мембрана и в ней можно зарегистрировать разрывы. Аппарат Гольджи и саркоплазматический ретикулум вакуолинизируются и теряют рибосомы. Наружная и внутренняя стороны мембраны митохондрий в результате выраженной отёчности разрываются и их содержимое поступает в тканевую жидкость. То же самое происходит с цитоплазматическими мембранами клеток.

Следует заметить, что в наших экспериментах при развитии ацидоза всегда возникали признаки хронического ДВС: снижалось число тромбоцитов, повышалась их агрегационная активность, резко возрастала концентрация РМФК. При этом первоначальная гиперкоагуляция нередко сменялась вторичной гипокоагуляцией. Через различные сроки после введения молочной кислоты уже при рН 7,2 отмечалось появление сладжей и тромбов в сосудах различного калибра.

Но к таким структурным изменениям в клетках приводит не только метаболический ацидоз. Аналогичные сдвиги в структуре тканей отмечается при самых различных патологических состояниях.

Известно, что все без исключения структуры клеток обладают выраженной прокоагулянтной активностью, а многие из них несут на своей поверхности ТФ, то есть содержат частичный или полный тромбопластин. Попадая в сосудистое русло, а также в экстравазальное пространство, эти структуры способны вызывать не только свёртывание крови, но и тканевой жидкости, а также лимфы (Кузник Б.И., 2010).

По данным наших исследований ацидоз нарушает целостность эндотелиоцитов капилляров сердца и способствует выбросу в микроциркуляторное русло тромбопластических соединений, это и приводит к развитию гиперкоагулемии в сосудах сердца.

Таким образом, многочисленные исследования свидетельствуют не только о содержании тканевых факторов свертывания в сосудах, но и о поступлении их в кровеносное русло при различных воздействиях на организм. Особую роль играют патологические состояния, сопровождающиеся повреждением эндотелия сосудов, межклеточного вещества и клеток органов.

При лактат-ацидозе, по нашим данным, наблюдается гиперкоагуляция, сменяющаяся коагулопатией потребления. Эти изменения в системе гемостаза коррелируются с морфологическими изменениями в сосудистой стенке при метаболическом ацидозе различной глубины (рН от 7,2 до 6,5) и продолжительности (от 30 до 180 мин). В обычном световом микроскопе наблюдается изменение структуры эндотелия и десквамация отдельных клеток. Последующее обнажение коллагена вызывает адгезию тромбоцитов и фиксацию фибриновых нитей образующихся тромбов к субэндотелию. При электронной микроскопии сдвиг рН крови до 7,2 сопровождается деформацией поверхности эндотелиоцитов и отрывом фосфолипидных компонентов цитоплазматических мембран. Эти соединения попадают в общую циркуляцию и наряду со сдвигом рН в кислую сторону способствуют развитию гиперкоагулемии, приводящей к ДВС-синдрому. Смещение рН до 7,0 и экспозиции ацидоза 30 мин сопровождается разрушением эндотелиальных клеток и выходом их содержимого в кровеносное русло. В последние годы особый интерес исследователей вызывает роль VIIa фактора сосудов в развитии тромбозов.

Повреждение сосуда обычно сопровождается локальной гиперкоагулемией и образованием тромба (Koyama T. et al., 1994; Wada H. et al., 1994; Asakura H., Kamikubo Y. et al., 1995; Lwaleed B.A. et al., 1997) в связи с выделением тканевого фактора из клеток сосудов. Однако, известно, что значительное количество VII фактора циркулирует в крови в неактивной форме в виде зимогена (Morrissey J.H. et al., 1993; 1996). Соединяясь с тканевыми факторами свертывания крови при повреждении сосуда VII фактор катализируется в VIIa (Nakagaki T. et al., 1991), его активность повышается более, чем в миллион раз. VII фактор крови обычно вовлекается в фосфолипидные везикулы, которые по нашим данным появляются в крови уже при рН 7,2. Плазма содержит обычно 99% неактивного VII фактора в количестве 500 нг/мл и 1% VIIa, который может связываться с факторами ткани (Fair D.S., 1983) и эндотелием сосудов, благодаря наличию отрицательного заряда. VII фактор может активизироваться различными протеазами, в результате отщепления пептида. Эти реакции протекают на фосфолипидных поверхностях, так как X и Va факторы также находятся на поверхности фосфолипидов. Процесс заканчивается тромбинообразованием и переходом фибриногена в фибрин, с последующей его полимеризацией.

Тромбин, кроме того, стимулирует активацию тромбоцитов (Giesen P.L. et al., 1999; Morrissey J.H., 2001). Активный VII фактор, связанный с тканевыми фосфолипидами везикул, обычно располагается перпендикулярно к мембранной поверхности (McCallum C.D. et al., 1996; 1997). Прокоагулянтная активность неповрежденных клеток, содержащих тканевой фактор, гораздо ниже, чем активность клеток поврежденных или имеющих на поверхности ионы Ca (Maynard J.R. et al., 1977). Активация происходит при изменении мембранных свойств (Drake T.A. et al., Bash R. et al., 1990) или при контакте с внутренней поверхностью мембраны (Beveris E.M. et al., 1998) другого состава липидов (Sevinsky J.R. et al., 1996; Mulder A.B. et al., 1996). Фактор X наиболее специфично реагирует с VIIa фактором, однако, комплекс тканевого фактора с VIIa может оказывать активирующее влияние на IX фактор (Komiyama Y. et al., 1990; Almus F.E. et al., 1989; Bom V.J. et al., 1991; Rao L.V.M. et al., 1992). Фактор VII может служить субстратом для VIIa (Bom V.J. et al., 1991) в реакциях автоактивации, которая стимулируется факторами ткани (Nakagaki T. et al., 1991). Эта реакция требует, чтобы комплексы тканевой фактор и VIIa и тканевой фактор и VII соединились друг с другом боковым расположением на мембране (Neuschwander P.F. et al., 1993). Увеличение уровня VII фактора является фактором риска для возникновения тромбозов, ишемии и стенокардии (Meade T.W. et al., 1986; Balleisen L. et al., 1987), осложнений сахарного диабета, уремии, повреждений периферических сосудов (Hultin M.B., 1991; Morrissey J.H., 1996), формирования больших тромбов (Hemker H.C. et al., 1976; Ruddock V. et al., 1994).

J.-A. Rotingen et al. (1995) было показано, что тканевой фактор имеет природу цитокинов и может функционировать как рецептор передачи сигналов для изменения уровня кальция в эндотелиоцитах.

Углубление исследований функционирования сердечно-сосудистой системы на молекулярно-клеточном уровне открывает новые механизмы межклеточной коммуникации и формирования внутриклеточных сигналов. Известно, что взаимодействие клеток друг с другом осуществляется через рецептор-лигандный контакт. При этом сила передаваемого сигнала зависит от степени кластеризации рецепторов. Образование кластера рецепторного аппарата происходит при участии процесса динамического перемещения мембраны, что проявляется в виде блеббинга (Инжутова А.И. и др., 2007). Процесс блеббинга тесно связан с продукцией мембрановысвобожденных микрочастиц (Boulangier C. M., Dignat-George F., 2011). Размер микрочастиц клеточного происхождения варьирует от 0,1 до 1,0 мкм. Впервые мембрановысвобожденные микрочастицы были описаны Wolf и соавт. в 1967 г. как фрагменты мембраны тромбоцитов в человеческой плазме. Микрочастицы высвобождаются из клеточной мембраны в результате активации клетки или апоптоза (Boulangier C. M., 2007; Dignat-George F., Boulangier C. M., 2011).

Мембрановысвобожденные микрочастицы играют важную роль в воспалении, коагуляции и изменении функционирования эндотелия сосудов, что может приводить к атеросклерозу, артериальной гипертензии и даже сахарному диабету (Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R. et al., 2006).

Обладая малыми размерами, мембрановысвобожденные микрочастицы становятся уникальными межклеточными регуляторами, переносчиками биологической информации. Предполагается, что микрочастицы способны вызывать адгезию лейкоцитов на поверхность эндотелиальных клеток и их роллинг, активацию системы комплемента, что непосредственно может сказываться на повреждении сосудистой стенки. Высвобождение мембранных микрочастиц представляет собой интегративную часть процесса моделирования состояния клеточной мембраны, в ходе которого происходит экстернализация фосфатидилсерина на поверхности клеточной мембраны, что само по себе уже является мощным прокоагуляционным стимулом (VanWijk M. J., VanBavel E., Sturk A. et al., 2003; Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R. et al., 2006; Tushuizen M. E., Diamant M., Shirk A., Nieuwland R., 2011).

Процесс генерации мембранных микрочастиц в настоящее время недостаточно изучен. Образование мембрановысвобожденных микрочастиц может быть связано с изменением уровня внутриклеточного кальция. Одним из возможных белков, опосредующих этот процесс, является кальпаин, который представляет собой цитозольную протеазу. Кроме того, увеличение концентрации цитозольного кальция приводит к активации киназ и ингибированию фосфатаз, способствуя разобщению белков цитоскелета (Boulanger C. M., Dignat-George F., 2011; Dignat-George F., Boulanger C. M., 2011; Morel O., Jesel E, Freyssinet J.-M., Toti F., 2011).

Изучение механизмов генерации мембрановысвобожденных микрочастиц и модуляция их высвобождения путем воздействия на внутриклеточные сигнальные пути может являться перспективной мишенью профилактики кардиоваскулярных заболеваний (Verma S., Anderson T. J., 2002; Jimenez J. J., Jy W., Mauro E M. et al., 2005; Martinez M. C., Tesse A. et al., 2005; Инжутова А.И. и др., 2007; Pirro M., Schillaci G., Bagaglia F. et al., 2008; Инжутова А. И., Салмина А. Б., Петрова М. М. и др., 2008; Jung K.-H., Chu K., Lee S.-T. et al., 2009; Yuana Yu., Bertina R. M., Osanto S., 2011)

По нашим данным электронной микроскопии уже на протяжении первых 15-30 мин ацидоза при рН крови 7,2 изменяется конфигурация клеточной поверхности эндотелиальных клеток капилляров миокарда. Увеличивается количество микропиноцитозных везикул, которые отрываются и попадают в просвет капилляров. В первую очередь изменяется структура митохондрий. В некоторых эндотелиоцитах митохондрии овоидной формы с плотным матриксом и несколько расширенными кристами, матрикс митохондрий резко просветлен, а кристы оказываются укороченными или полностью редуцированными. В ядрах эндотелиоцитов меняется структура кариоплазмы: ее гранулярные компоненты скапливаются преимущественно около внутреннего листка ядерной

оболочки, перинуклеарное пространство расширяется. Часть эндотелиоцитов находится в состоянии отека: их наружные контуры сильно сглажены, а плазматическая мембрана на отдельных участках обнаруживает признаки деструкции. Дальнейший сдвиг рН до 7,0 продолжительностью 30 мин приводит к деструкции цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов и выходу органелл в просвет капилляров, которые обладают, по-видимому, прокоагулянтной активностью, прослеживается также отрыв от базальной мембраны, а в более поздние сроки – десквамация эндотелиоцитов

Таким образом, молочнокислый ацидоз оказывает влияние не только на механизмы внутреннего пути гемостаза, но в результате нарушения структуры эндотелиоцитов стимулирует процесс свертывания крови по внешнему пути.

Нам представляется механизм развития ДВС при воспалительных, инфекционных и других заболеваниях, в том числе и сопровождающихся путдозом следующим образом. Внедрение микроорганизмов, приводящих к развитию патологического процесса, сопровождается не только повреждением клеток, но и структурированием цитоплазмы. При этом усиливается синтез и экспрессия белков теплового шока (в том числе HSP70), что должно сопровождаться восстановлением структуры цитоплазмы и сохранением нормальной деятельности клетки. Если HSP справляются с этой задачей, то патологический процесс приобретает abortивный или лёгкий характер, а заболевание вскоре заканчивается выздоровлением. При этом может усиливаться постоянное внутрисудистое свёртывание, но никогда не развивается выраженная органная недостаточность. Если же HSP не справляются с отведённой им функцией, то повреждённые клетки получают сигнал к осуществлению запрограммированной смерти – апоптозу. Повреждение клетки, как и её гибель, приводит к образованию микровезикул, зачастую экспрессирующих TF, что значительно усиливает свёртывание тканевой жидкости, лимфы и крови. Одновременно при этом увеличивается концентрация провоспалительных цитокинов (L-1, IL-6, IL-12, TNF α и др.), что сопровождается экспрессией не только TF, но и фактора фон Виллебранда (vWF), а также ингибиторов фибринолиза (в том числе PAI-1 и TAFI. Но содержание провоспалительных цитокинов увеличивается не только в крови, но и непосредственно в патологическом очаге, ибо, как известно, все цитокины проявляют в основном местное действие (Кетлинский С.А. и др., 2008). Недаром содержание цитокинов в жидкостях, связанных с местом возникновения патологического процесса (в ликворе при поражениях головного мозга, в слюне при заболеваниях полости рта, в слезах при заболеваниях глаз), во много раз превышает их концентрацию в крови (Кузник Б.И. и др., 1999; Малезик и др., 2008; Харинцева С.В. и др., 2004; Цыбикова Е.А., 2008). Следовательно, провоспалительные цитокины в первую очередь должны оказывать влияние на свёртывающую и фибринолитическую активность тканевой жидкости и лимфы и лишь затем воздействовать на кровь. Наконец, и сами HSP, главным образом HSP70, стимулируют образование провоспалительных цитокинов; недаром их в ли-

температуре иногда называют шаперокинами (Asea A. et al., 2000). Всё это приводит в конечном итоге к усилению постоянного внутрисосудистого свёртывания крови, появлению сладжей, торможению фибринолиза с выраженными нарушениями микроциркуляции вплоть до развития полиорганной недостаточности со всеми вытекающими отсюда последствиями (Цыбиков Н.Н., 2009; Кузник Б.И., 2009).

Способность HSP защищать повреждённые клетки не безгранична, ибо работа шаперонного механизма энергозависима. Так, спустя 40 минут после наступления окклюзии коронарных артерий дефицит макроэргов составляет более 90%, что практически несовместимо с жизнью клетки. При электронной микроскопии в ишемизированном кардиомиоците обнаруживается конденсация промежуточных филаментов в перинуклеарные агрегаты, реорганизация цитоплазматической сети, скопление активных филаментов вокруг ядра, вакуолизация и исчезновение митохондрий, а также признаки агрегации хроматина ядра и деструкция мембраны (Ивашкин В.Т., 2006).

Как показали данные исследований последних лет, при гипертрофии миокарда, кардиосклерозе, кардиомиопатии, миокардите, а также при метаболическом синдроме (ожирение, сахарный диабет, дислипидемия, гипертоническая болезнь) очень часто (в 30-50% случаев) выявляется именно микрососудистая ишемия миокарда, что позволило рассматривать ее как синдром, свойственный многим заболеваниям (Boche R.J., 1988; Коркушко О.В., Лишневецкая В. Ю., 2003; Дедов И.И., Александров А.А., 2004; Шестакова М.В., 2006). В основе микрососудистой ишемии миокарда могут лежать как обратимые функциональные нарушения кровотока (при дисфункции эндотелия, нарушениях реологических параметров крови, нарушении диастолической функции миокарда), так и необратимая потеря части микрососудистого русла вследствие ремоделирования миокарда при развитии кардиосклероза или несоответствие количества капилляров возросшей массе сердца при его гипертрофии (Cannon R.O., Epstein S.E., 1988).

Значение микрососудистой ишемии миокарда в полной мере не изучено, но показано, что она может играть важную роль в возникновении жизнеугрожающих аритмий, острой и хронической сердечной недостаточности, ухудшать результаты операций реваскуляризации миокарда и даже быть причиной внезапной смерти (Телкова И.А., Фадеев М.В., 2006, 2007). А.Г. Киртаев и соавт., 2005 изучали влияние различных температурных режимов кровообращения на кислотно-щелочное равновесие, параметры метаболизма и тканевой гипоксии при использовании сочетанной анестезии у больных ИБС на фоне поверхностного уровня наркоза. Использование сочетанной анестезии при операции аорто-коронарное шунтирование требует применения искусственного кровообращения в режиме нормотермии или поверхностной гипотермии. По данным Киртаева А.Г. и соавт., 2005 охлаждение пациента в ходе перфузии до 30-32°C, как правило, сопровождается вазоспазмом и неадекватной оксигенацией тканей, что находит свое отражение в более частом возникновении метаболического ацидоза, чем при других температурных режимах. Он особенно

заметен в конце операции и раннем послеоперационном периоде у пациентов с охлаждением до 30-32°C. При этом содержание лактата выше 3 ммоль/л отмечается у 25% больных.

L.Kette и соавт. (1990), применяя метод прямого измерения интрамиокардиального рН во время сердечно-легочной реанимации, показали, что даже короткий период остановки сердца, вызванный фибрилляцией, характеризуется глубоким ацидозом миокарда – после 5 минут остановки сердца, когда рН артериальной крови все еще остается нормальным, а смешанной венозной составляет 7,26, интрамиокардиальный рН снижается до 6,95.

Возможность количественно оценить миокардиальный кровоток и изучить роль в кровоснабжении и метаболизме миокарда всех отделов коронарного русла и интрамуральной сосудистой сети появилась лишь в последние годы, благодаря широкому применению не только коронарографии, но и внедрению в клиническую практику новых методов оценки перфузии миокарда: однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), позитронной эмиссионной томографии, магнитно-резонансной томографии. Было выявлено, что ишемия миокарда может быть обусловлена не только патологией проксимального отдела коронарных артерий (спазм, стеноз, окклюзия), но и изменением его дистального отдела и интрамуральных микрососудов. Поэтому стали различать ишемическую болезнь сердца (ИБС) и микрососудистую ишемию миокарда, которая в случае клинического проявления стенокардией стала обозначаться как кардиальный синдром Х (Коркушко О.В., Лишневецкая В. Ю., 2003; Александров А.А. и др., 2006; Kemp H.G.Jr. et al., 1973; Opherik D. et al., 1981).

Согласно нашим данным на полутонких срезах при сдвиге рН крови до 7,2 мышечные волокна миокарда анастомозируют друг с другом, около волокон проходят капилляры и лимфатические сосуды, мышечные волокна состоят из отдельных кардиомиоцитов. В цитоплазме кардиомиоцитов расположены миофибриллы. Капилляры не содержат элементов крови. Ядра кардиомиоцитов крупные расположены центрально и окружены околядерной зоной саркоплазмы. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитоллиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек.

Дальнейший сдвиг рН до 7,0 приводит к дистрофии и некробиозу кардиомиоцитов, неравномерно выраженная гиперэозинофилия цитоплазмы, происходит гиперхромия и покнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и очаговый глыбчатый распад, периваскулярный и межклеточный отек.

Дальнейший сдвиг уровня рН до 6,9 и ниже приводит к более выраженным изменениям миокарда. Сердечная мышца реагирует неоднородной структурой поражения миокарда: на одних участках обнаруживаются изменения тинкториальных свойств, в других - дискоидный распад и контрактуры, в третьих - полиморфноядерные лейкоциты. Все это свидетельствует о том, что повреждения миокарда в разных его ме-

стах наступают не одновременно. Полученные изменения миокарда свидетельствуют о развитии острого инфаркта миокарда фазе некроза.

Желудочно-кишечный тракт является одним из наиболее уязвимых звеньев при патологических состояниях, сопровождающихся метаболическим ацидозом, шоках различного происхождения и, часто является пусковым звеном в развитии полиорганной недостаточности у больных в критических состояниях (Evans W.E., Darin J.C. (1966). Повреждения тканей ЖКТ сопровождаются развитием ДВС-синдрома и кровотечениями (Шутеу Ю. и др., 1981).

Согласно нашим данным, экспериментальный некомпенсированный лактат-ацидоз различной глубины и продолжительности (от 30 до 180 мин) приводит к неспецифическим морфологическим изменениям в органах пищеварения. Нарушение структуры печени, поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта при сдвиге рН внутренней среды в кислую сторону приводит к однотипным морфологическим изменениям, которые зависят от глубины и продолжительности ацидоза.

Лактат-ацидоз также приводит к неспецифическому морфологическому синдрому, который развивается в различных органах (почки, легкие, сердце) и сопровождается повреждением структуры клеток, межклеточного вещества, тканей и органов. Наиболее характерными из них являются: маргинация и конгломерация хроматина вплоть до карнопикноза, нарушение аппарата Гольджи и структуры эндоплазматического ретикулума; просветление матрикса митохондрий, деформация крист, разрывы внутренней и наружной мембран; разрушение цитоплазматических мембран с выходом содержимого клетки в межклеточное пространство.

По данным электронной микроскопии выраженность нарушения структур субклеточных образований клеток органов пищеварения зависит от глубины рН. При рН 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин обнаруживаются изменения в клеточном ядре. Они выражаются в маргинации хроматина, расслоении в отдельных участках двойной ядерной мембраны. Аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум находится в состоянии отека, митохондрии набухшие, с участками просветления и деформацией крист. Однако, при таком значении рН мембранные структуры различных образований клетки сохраняют свою целостность.

Углубление ацидоза до рН 7,0 и продолжительности 30 мин субклеточные структуры претерпевают более глубокие изменения. В ядрах маргинация и агломерация хроматина сопровождается структурной деформацией, разрывом мембраны.

Аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум вакуолинизируется с потерей рибосом. Наружная и внутренняя мембраны митохондрий разрываются в результате выраженного отека, а их содержимое поступает в тканевую жидкость. Цитоплазматические мембраны отдельных клеток разрушаются, а их содержимое поступает в тканевую жидкость. Наблюдаемые при электронной

микроскопии изменения клеток, приводят к нарушению биосинтетических процессов и ресинтеза АТФ на уровне митохондрий.

В литературе имеются отдельные патологоанатомические работы, в которых приводятся данные, описывающие морфологические нарушения при различных патологических состояниях, сопровождающихся ацидозом. По мере углубления ацидоза морфологические изменения охватывают паренхиму различных органов.

При сахарном диабете наблюдается повреждение эндотелия магистральных сосудов, островкового аппарата поджелудочной железы. При остром экспериментальном панкреатите у собак, вызванном введением в основной проток поджелудочной железы аутожелчи, наблюдается нарушение кровотока и показателей кислотно-основного баланса. Признаки истощения щелочного резерва и метаболического ацидоза, обнаруживались в желудке и двенадцатиперстной кишке. Морфологические изменения выражались в появлении цитоплазматических выростов на поверхности эндотелиоцитов, деформация ядер и перераспределение хроматина, набухание митохондрий, просветление матрикса и редукция крист. В артериолах выявляется периваскулярный отек, гиперемия, признаки плазматического пропитывания стенок и сладжи эритроцитов. В сосудах микроциркуляторного русла обнаруживались микротромбы (Долгов В.В., 1983; Швиренко И.Р. и др., 1991; Zeet H.K. et al., 1989).

Синдром длительного раздавливания также приводит к нарушению структуры печени (Лопатин А.Г., 1979). Нарушение морфологии печени наблюдается при экспериментальном шоке (Селезнев С.А., 1971; Секамова С.М., Бектова Т.П., 1985;) и других повреждениях (Жуков И.А., 1980; Блюгер А.Ф. и др., 1984; 1989; Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л., 1983; 1989). В цитоплазме печени при синдроме раздавливания гликоген не определяется, количество рибосом и полисом уменьшено (Мареева Т.Е. и др., 2000). При экзотоксическом шоке, вызванном метгемоглобинообразующим ядом – нитритом, сопровождается снижением рН и Na^+ и приводит к нарушению структурных образований клеток печени и миокарда. Отмечалась «маргинация» ядра, неравномерное распределение хроматина, уменьшение гликогена, набухание митохондрий, исчезновение шероховатого эндоплазматического ретикулума. Синусоиды печени резко расширяются в результате возникающего отека (Струков М.А. и др., 2001).

Черепно-мозговая травма сопровождается ацидозом и приводит к ультраструктурным изменениям печени (Искандеров А.И. и др., 1996).

Механизм морфологических изменений при развитии некомпенсированного метаболического ацидоза остается не изученным и не расшифрованным. Имеются лишь косвенные данные, которые позволяют в определенной степени трактовать роль накопления протонов при ацидозе в структурных нарушениях на тканевом и клеточном уровнях.

Влияние подкисленных растворов на структуру коллагена изучалось А. Поликар, М.Бесси, (1970). Они наблюдали *in vitro* многократное набухание объема волокон в слегка подкисленной воде и связывали это явление с нарушением интермолекулярных связей и деполимеризацией. α -Цепи коллагена насыщены исключительно глицином и пролином. Гидроксильные группы гидроксипролина образуют межцепочечные водородные связи, участвующие в стабилизации тройной спирали. В эластических волокнах мало гидроксипролина и не содержится гидроксизин, поэтому водородные связи не образуются, а структура эластина поддерживается ковалентными связями.

Таким образом, коллаген благодаря наличию большого количества гидроксильных групп обладает способностью связывать протоны, проявляя буферную емкость. Избыток протонов, вероятно, может приводить к нарушению водородных связей между α -цепями коллагена, чем можно объяснить его деполимеризацию и отек при сдвиге pH в кислую сторону.

На клеточном уровне наиболее чувствительны к ацидозу митохондрии. Нарушение структуры митохондрий при лактат-ацидозе приводит к резкому увеличению ионов кальция в цитозоле, происходит активация мембранных фосфолипаз, что приводит к разрушению фосфолипидных структур мембран и высвобождение свободных жирных кислот (Гехт А.Б., 2000). Одновременно в связи с нарушением работы малат-аспартатного челночного механизма высвобождаются малат и аспартат, которые оказывают дополнительный цитотоксический эффект. Глютамат при недостатке ресинтеза АТФ также способствует выходу ионов кальция из эндоплазматического ретикулума в клетку. Арахидоновая кислота может метаболизироваться в простагландины, лейкотриены и тромбоксаны. Накопление этих продуктов и поступление их в кровеносное русло приводит к агрегации тромбоцитов и усугублению нарушений микроциркуляции. Повреждение клеточных структур, особенно лизосом, ведет к процессам протеолиза и гибели клеток. Между молекулярной и ультраструктурной патологией, которые достаточно хорошо изучены, имеется пограничная зона, чрезвычайно важное значение которой становится все более очевидным в развитии заболеваний (Поликар А., М.Бесси, 1970).

Таким образом, лактат-ацидоз приводит к патологическим процессам, развивающимся на всех уровнях организации организма.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Байрамов А. А., Богданова А. А., Солдатенков П. А. Метаболическая коррекция состояний сердечно-сосудистой системы // РМЖ. 1999. № 6. С. 53.
2. Балуда В. П., Балуда М. В., Деянов И. И., Тлепшуков И. К. Физиология системы гемостаза. – М.: Медицина, 1995. 588 с.
3. Балуда М. В., Тлепшуков И. К. Гипергомоцистеинемия – атеросклероз – артериальный тромбоз – инфаркт миокарда // Материалы V национальной конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови. - Москва, 2000. С. 34-35.
4. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., Изд-во Ньюдиамед, 2001. -
5. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2008. –
6. Блюгер А. Ф., Зальцмане В. К., Карташова О. Я. Ультраструктурная патология печени. Электронно-микроскопический атлас. – Рига: Звайгзне, 1989. 319 с.
7. Блюгер А. Ф., Новицкий И. Н. Практическая гепатология. – Рига: Звайгзне, 1984. 405 с.
8. Бокарев И. Н., Попова Л. В. Венозный тромбоземболизм и тромбоземболия легочной артерии Издательство: Медицинское информационное агентство. 2013. 512 с.
9. Бокарев И. Н. Атеротромбоз – проблема современности // Сб. Трудов VI всероссийской конференции “Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения”. Москва. 2001. С. 35-38.
10. Бокарев И. Н. Концептуальное решение проблемы ДВС-ПВС. Тромбозы, предтромботические состояния, тромбофилии и гиперкоагуляция. // Сб. Трудов V всероссийской конференции “Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения”. Москва, 2000. С. 43-47.
11. Бокарев И. Н. Тромбозы, предтромботические состояния, тромбофилии и гиперкоагуляция // Сб. Трудов V всероссийской конференции “Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения”. Москва, 2000. С. 39-43.
12. Бокарев И. Н. Венозный тромбоземболизм и тромбоземболия легочной артерии Медицинское Информационное Агентство (МИА), 2005, 208 с.
13. Бокерия Л. А., Гудкова Р. Г. Сердечнососудистая хирургия. М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2009. 185 с.
14. Бокерия Л. А., Беришвили И. И. Хирургическая анатомия венечных артерий. + М.: Издательство НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2003. 297 с.
15. Бокерия Л. А., Мерзляков В. Ю., Ключников И. В. И др Сравнение непосредственных результатов хирургической реваскуляризации миокарда у пожилых / Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. – 2008. Т. 9, № 3. С. 41.

16. Бокерия Л. А., Самсонова Н. Н., Плющ М. Г. И др. Применение рекомбинантного активированного VII фактора свертывания крови в клинической практике. *Анналы хир.* 2004. № 1. С. 5—10.
17. Бокерия Л.А. Аневризмы аорты. М.: Медицина. 2001. – 154 с.
18. Бокерия Л.А., Бузиашвили Ю.И., Мацкеплишвили С.Т. и др. Применение мононуклеарных клеток костного мозга в терапии сердечной недостаточности у больных ИБС // *Бюлл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН.* 2005.-Т.6, № 5 (Прилож.). С. 298.
19. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечнососудистая хирургия: Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М: Изд-во НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2003. – 258 с.
20. Бокерия Л.А., Чичерин И.Н. Природа и клиническое значение «Новых ишемических синдромов». М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. 2007. 302 с.
21. Бокерия, Л. А., Пирцхалаишвили З. К., Мерзляков В. Ю. Опыт малоинвазивной реваскуляризации миокарда у больных ИБС с нарушениями мозгового кровообращения в анамнезе / *Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН.* 2006. Т. 7, № 5. С. 51.
22. Болезни сердца и сосудов. Руководство для врачей в четырех томах. Том 1 том. Под редакцией Е. И. Чазова, С. П. Голицына. Из-во: М.: Медицина, 1992. 145 с.
23. Бутылин В. Ю., Бутылин Д. Ю. Интенсивная терапия неотложных состояний. Патология, клиника, лечение. 2003.
24. Бутылин Ю.П., Бутылин В.Ю., Бутылин Д.Ю. Острая сердечно-сосудистая недостаточность (шок) / *Острые и неотложные состояния в практике врача.* № 3. - 2007. С.
25. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Шаповалов П.Я. Механизмы связи гемостаза и перекисного окисления липидов // *Материалы V национальной конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови.* Москва, 2000. С. 52-54.
26. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Шаповалов П.Я. Шаповалова Е.М. Влияние важнейших витаминов-антиоксидантов на непрерывное внутрисосудистое свертывание и толерантность к тромбину. М.: Медицинская книга, 2009. -
27. Гехт А.Б. Лечение больных инсультом в восстановительном периоде // *Consilium medicum.* 2000. № 12. С. 56-63.
28. Горн М.М., Хейтц У.И., Сверингер П.Л. Водно-электролитный баланс и кислотно-основное равновесие. – спб.: Невский диалект, 2000. 325 с.
29. Дедов И.И., Александров А.А. Статины и микрососудистая ишемия миокарда// *Consilium medicum.* 2004. Т.6, № 9. С.620-624.
30. Долгих В.Т. Метаболические нарушения при критических состояниях / В.Т. Долгих, А.Н. Ларин, И.А. Пилипчук // *Политравма.* 2007. № 3.- С. 73-77.

31. Ельчанинов А.П. Некоторые показатели эндотелиально-тромбоцитарного гемостаза, иммунограммы и липидного спектра при церебро-васкулярных синдромах, ассоциированных с волчаночным антикоагулянтом //Материалы V всероссийской конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови. Москва, 2000. С. 71 - 72.
32. Жалко – Титаренко В.Ф. Водно-электролитный обмен и кислотно-основное состояние в норме и при патологии. – Киев: Здоров'я, 1989. – 195 с.
33. Загс И.О., Лобус Т.В., Мороз В.В. Ощелачивающая терапия при сердечно-легочной реанимации – современные возможности // Реаниматология и интенсивная терапия. 1999. № 4. С. 34 - 42.
34. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. – М.: Медицина, 1989. 565 с.
35. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови как основное морфологическое проявление шока //Арх. Патологии. 1983. № 3. С. 13-19.
36. Зубаиров Д.А. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань, 2000. 368 с.
37. Зубаиров Д.М. Современные доказательства концепции непрерывного свертывания крови в организме // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. № 1. С. 17-21.
38. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови, функция и их роль в тромбообразовании. М.: Геотар-Медиа. 2009. 168 с.
39. Зубаирова Л.Д., Зубаиров Д.А. Роль клеточных микровезикул в свертывании крови // Забайкальский медицинский вестник. 2004. № 4. С. 39-43.
40. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. Интернет. 2006. 118 с.
41. Инжутова А. И., Салмина А. Б., Петрова М. М. И др. Роль CD38 в межклеточных взаимодействиях при эндотелиальной дисфункции. Бюл. Экспер. Биол. 2008. № 145 (6). С. 648—652.
42. Инжутова А. И., Сашина А. Б., Петрова М. М. У др. Регистрация блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови как экспресс-метод оценки тяжести состояния больных осложненными формами гипертонической болезни. Бюл. СО РАМН 2007. № 1 (123). С. 6 - 10.
43. Искандаров А.И., Назаров К.Х., Кривцун Л.В., Хамраев Т.М., Абдахатов Б.Д. Ультраструктурные изменения при черепно-мозговой травме // Сб. Научных трудов Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы. Ташкент, 1996. С. 17-20.
44. Костюченко С.С. Кислотно-щелочной баланс в интенсивной терапии Минск, 2009. 268 с.
45. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. Спб: Фолиант. 2008. 550 с.

46. Кижаева Е.С., Закс И.О. Полиорганная недостаточность в интенсивной терапии // Вест. Интенс. Терапии. 2004. № 1. С. 12–24.
47. Коркушко О.В., Лишневецкая В.Ю. Микрососудистая ишемия миокарда современный взгляд на проблему // <http://rgl.net.ua/cardio/j.2004/1/korkushko.htm>.
48. Кузнецов М.Р., Кошкин В.М., Комов К.В. // Ангиология и сосудистая хирургия. 2006. Т. 12. № 1. С. 133-143.
49. Кузник Б.И. Взаимосвязи иммунитета и гемостаза в эксперименте и клинике / Четвёртая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». М. 2009. С. 267-9.
50. Кузник Б.И. Иммунный ответ и ДВС-синдром // Сб. Трудов V всероссийской конференции «Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения». Москва, 2000. С. 102 - 104.
51. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство; 2010. 826 с.
52. Кузник Б. И., Витковский Ю. А., Гвоздева О. В. И др. Состояние иммунитета и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при диффузном токсическом зобе // Мед. Иммунол. — 2010. — Т. 12, No 1–2. — С. 133– 138.
53. Кузник Б.И., Альфонсов В.В. О роли тканевых факторов сосудистой стенки в процессе свертывания крови //Проблемы гематологии и переливания крови. 1964. № 8. С. 15.
54. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М. - Медицина 1989. 319 с.
55. Кузник Б.И., Пинелис И.С., Хавинсон В.Х. Применение пептидных биорегуляторов в стоматологии. Спб, 1999. 142 с.
56. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н. Иммунный механизм регуляции системы гемостаза: роль каталитических аутоантител - абзимов // Тромбоз, гемостаз и реология. 2011. № 3. С. 3-17.
57. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Неспецифическая резистентность, иммунитет и гемостаз - единая защитная гуморальная система организма // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. 2002. № 1. С. 81.
58. Ленинджер А. Основы биохимии / Под ред. В.А. Энгельгардта. – М.: Мир, 1985.
59. Мазина Н.К., Сухоруков В.П., Гоголев Н.В. и др. Вятский мед вестн 2010;1:34—42.
60. Малезик М.С., Пинелис Ю.С., Малезик Л.П. Патогенетическая роль белков теплового шока в развитии иммунного воспаления в полости рта // Рос. Иммунол. Ж., 2008. № 2. С. 145-6.
61. Окорочков А.И. Лечение болезней внутренних органов: Т. 3, кн. 1. Лечение болезней сердца и сосудов: - Мед. Лит., 2002, 464 с.
62. Робинсон Дж. Р. Основы регуляции кислотно-щелочного равновесия. – М.: Медицина, 1969. 72 с.

63. Ройтман Е.В., Дементьева И.И., Котов Ю.Б. Прогнозирование исходов критических состояний на основе мониторинга системы гемостаза и реологических свойств крови // Материалы V всероссийской конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови. – Москва, 2000. С. 143-144.
64. Руда М.Я. Что нужно знать практическому врачу о тромболитической терапии при инфаркте миокарда // Сердце: журнал для практикующих врачей. 2002. № 1 (1). С. 9-12.
65. Руководство по атеросклерозу и ишемической болезни сердца / под ред. Е. И. Чазова [и др.]. М.: Media Medica, 2007. 735 с.
66. Руководство по клинической эндоскопии / В. С. Савельев, Ю. Ф. Исаков, Н. А. Лопаткин ; сост. В. С. Савельев. М.: Медицина, 1982.
67. Руководство по нарушениям ритма сердца / Бокерия Л. А., Востриков В. А., Давтян К. В. И др. ; под ред. Е. И. Чазова, С. П. Голицына; М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 414 с.
68. Руководство по нарушениям ритма сердца / под ред. Е. И. Чазова, С. П. Голицына. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. 414 с.
69. Рыбининцев, В.Ю., Пасечник И.Н., Бондаренко Е.Д. Оценка эффективности гепаринотерапии у больных в критических состояниях // Вестник интенсивной терапии. 2006. Приложение к № 5. С. 77.
70. Рямова К.А., Розенфельд А.С. Особенности дыхания митохондрий при гипоксии и ацидозе // Вестник юргу. 2008. № 19: С. 31-35.
71. Савельев В.С. Кириенко А.И. (ред) Хирургические болезни. В 2-х томах.. Учебник. — 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006
72. Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др. Флебология. Руководство для врачей. Под ред. В.С. Савельева. М: Медицина. 2001. 257 с.
73. Савельев В.С. Кириенко А.И. (ред) Хирургические болезни. В 2-х томах.. Учебник. — 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009
74. Савельев В.С., Затевахин И.И. Эмболии бифуркации аорты и магистральных артерий конечностей (клиника, диагностика, лечение). М.: Медицина, 1970. 167 с.
75. Северина А. С., Шестакова М. В. Нарушение системы гемостаза у больных сахарным диабетом // Сахарный диабет. 2004. № 1. С. 62–67.
76. Секамова С.М., Бекетова Т.П. Морфология печени при экспериментальном шоке // Арх. Патологии. 1985. № 12. С. 3-13.
77. Стрелков Н.С. Постмортальная клинико-фармакологическая оценка влияния введенных в вену растворов лекарственных средств на процесс прижизненного развития ацидоза или алкалоза // Проблемы экспертизы в медицине. 2002 № 3. С 13-16.

78. Тверской А.Л. Лактат-ацидоз // МРЖ. Анестезиология и реаниматология. 1981. № 3. С. 50-57.
79. Телкова И.Л., Фадеев М.В. Возможные механизмы внезапной сердечной смерти при микрососудистом поражении коронарных артерий по данным аутопсии миокарда // Вестн. Аритмологии. 2006, Прилож. Б. С.66-67.
80. Унжаков В.В., Пошатаев К.Е. Методы интенсивной терапии лактат-ацидоза у больных с острой тяжелой черепно-мозговой травмой // Дальневосточный медицинский журнал. 2009. №1. С. 40-41.
81. Фибринолиз и гемостаз при сахарном диабете 2-го типа /Алексеева Н.А., Андреев Г.В., Карабасова М.А. и соавт. //Материалы V всероссийской конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови. Москва, 2000. С. 23-24.
82. Харинцева С.В., Гармаева А.Ш., Голуб Л.А., Логунов Н.А. Роль изменений слезной жидкости и функционального состояния сетчатки у больных диабетической ретинопатией // Бюллетень СО РАМН. 2004. Приложение № 1. С. 80-82.
83. Хашин Р., Шейх Д. Очерки по патологической биохимии. М.: Медицина, 1981. 253 с.
84. Хватов В.Б., Боровкова Н.В., Валетова В.В., Кобзева Е.Н. Особенности и мониторинг трансфузионной гемокоррекции в неотложной хирургии. // Альманах клин. Мед-ы. 2009. № 20. С. 16-20.
85. Цыбиков Н.Н., Кузник Б.И. Иммунный механизм регуляции гемостаза // Гематология и трансфузиология. 1986. № 2. С. 23.
86. Цыбиков Н.Н., Лиханов И.Д., Цыбиков М.Н. Постоянное внутрисосудистое свертывание крови и ДВС-синдром при гнойной хирургической инфекции / Четвёртая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». М., 2009. С. 570-2.
87. Цыбикова Е.А. Некоторые аспекты нейроиммунных нарушений при алкогольном делирии: Автореф. Дис. ... канд. Мед. Наук. Чита, 2008. 22 с.
88. Чазов Е. И. Тромбозы и эмболии в клинике внутренних болезней Издательство: Медицина, 1966 г. 264 с.
89. Чазов Е.И. Неотложная кардиология / [Е. И. Чазов и др.] ; под ред. Е. И. Чазова. Москва : Эксмо, 2011. 222 с
90. Шитикова А. С. Тромбоцитарный гемостаз. — Санкт-Петербург, 2000. — 225 с.
91. Шуркалин Б.К., Фаллер А.П., Горский В.А. Хирургические аспекты лечения распространенного перитонита // Хирургия. 2007. № 2.С. 24-28.
92. Шутеу Ю. Шок. Бухарест: Военное издательство, 1981. 424 с.

93. Щербак А.В., Дзвонкевич Н.Д., Гулый М.Ф. Активация карбоксилирования как фактор коррекции нарушенного обмена веществ при сахарном диабете //Укр. Биох. Журн. 1981. Т. 53, № 1. С. 50-53.
94. Acid-base balance /Edited by R. Hainsworth. – Manchester University Press, 1986. – 157 p.
95. Almus F.E., Rao E.V.M., Rapaport S.I. Functional properties of factor Vila/tissue factor formed with purified tissue factor and with tissue factor expressed on cultured endothelial cells. //Thromb. Haemost. 1989. 62. P. 1067-1073.
96. Asakura H., Kamikubo Y., Goto A., Shiratori Y., Yamazaki M., Jokaji H., et al. Role of tissue factor in disseminated intravascular coagulation //Thromb. Res. 1995. 80. P. 217-224.
97. Astrup T. Tissue activators of plasminogen //Federat. Proc. 1966. N 25. P. 42.
98. Bach R., Rifkin D.B. Expression of tissue factor procoagulant activity: Regulation by cytosolic calcium //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990. 87. 6995-6999.
99. Behmanesh S., Kempinski O. Mechanisms of endothelial cell swelling from lactacidosis studied in vitro // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2000. V. 279, N 4. – P. 1512-1517.
100. Bellomo R. Bench-to-bedside review: lactate and the kidney. Crit Care 2002 Aug. N 6(4). P. 3226.
101. Boulanger C. M., Dignat-George F. Microparticles: an introduction // Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. 2011. V 31. P. 2—3.
102. Cannon R.O., Epstein S.E. Microvascular angina as a cause of chest pain with angiographically normal coronary arteries // Amer. J. Cardiol. 1988. Vol. 61, №11. P. 1338-1343.
103. Chaitin H., Lieberman F. An in vitro study of the relationship of blood ph to blood clotting time // Angiology. 1985. V. 21, N 9. P. 591.
104. Chandy M.J., Ravindra J. Effect of dichloracetate on infarct size in a primate model of focal cerebral ischaemia // Neurol. India. 2000. V. 48, N 3. P. 227-230.
105. Clinical pathology and hemostatic abnormalities in experimental African horsesickness //Skowronek A.J, lafranco L, Stone-Marschat M.A. et al. // Vet. Pathol. 1995. V. 32, N 2. P. 112-221.
106. De Backer D. Lactic acidosis // Intensive Care Med. 2003. V. 29. P. 699-702.
107. Dignat-George F., Boulanger C. M. The many faces of endothelial microparticles // Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. 2011. V. 31: 27—33.
108. Duell T., Mittermuller J., Hiddemann W. Unclear lactate acidosis in a patient with heart failure under long-term diuretic therapy // Dtsch. Med. Wochenschr. 2000. V. 125, N 41. P. 1232-1234.
109. Dunn R.J. Massive sulfasalazine and paracetamol ingestion causing acidosis, hyperglycemia, coagulopathy, and methemoglobinemia // J. Toxicol. Clin. Toxicol. 1998. V. 36, N 3. P. 239-242.

110. Enhanced subclinical coagulation activation during diabetic ketoacidosis / Buyukasik Y., Ileri N.S., Haznedaroglu I.C. et al. // *Diabetes Care*. 1998. V. 21, N 5. P. 868-870.
111. Eriksson M., Nelson D., Nordgren A., Larsson A. Increased platelet microvesicle formation is associated with mortality in a porcine model of endotoxemia // *Acta Anaesthesiol. Scand*. 1998. V. 42, N 5. P. 551-557.
112. Fair D.S. Quantitation of factor VII in the plasma of normal and warfarin-treated individuals by radioimmuno assay // *Blood*. 1983. 62. P. 784-791.
113. Fencel V., Jabor A., Kazda A., Figge J. Diagnosis of metabolic acid-base disturbances in critically ill patients // *Am. J. Respir. Crit Care Med*. 2000. V. 162, N 6. P. 2246-2251.
114. Giesen P.L., Rauch U., Bohrmann B., Kling D., Roque M., Fallon J.T., et al. Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. 96. P. 2311-2315.
115. Glas P., Astrup T. Fibrinolytic and thromboplastic activity of human heart valves // *Fed. Proc*. 1967. N 2. P. 538.
116. Goldman S.A., Pulsinelli W.A., Clarke W.Y. et al. *J Cereb. Blood Flow Metab*. 1989. N 9. P. 471-477.
117. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock // M. Varpula, M. Tallgren, K. Saukkonen [et al.] // *Intensive Care Med*. 2005. V. 231. P. 1066-1071.
118. Hultin MB. Fibrinogen and factor VII as risk factors in vascular disease // *Prog. Hemost. Thromb*. 1991. 10. P. 215-241.
119. Hypothermia and acidosis worsen coagulopathy in the patient requiring massive transfusion / Ferrara A., macarthur J.D, Wright H.K. et al. // *Am. J. Surg*. 1990. V. 160, N 5. P. 515-518.
120. Jimenez J. J., Jy W., Mauro E M. Et al. Endothelial microparticles (EMP) as vascular disease markers. *Adv. Clin. Chem*. 2005. V. 39: P. 131—157.
121. Jung K.-H., Chu K., Lee S.-T. Et al. Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease // *Ann. Neurol*. 2009; V. 66 (2): P. 191—199.
122. Kemp H.G.Jr., Volkonas P.S., Cohn P.T. et al. The anginal syndrome associated with normal coronary arteriograms. Report of a six year experience // *Amer. J. Med*. 1973. Vol.54, № 6. P.735-742.
123. Kette F., Weil M.H., Von Planta M. Buffer agents do not reverse intramyocardial acidosis during cardiac resuscitation // *Circulation*. 1990. V. 81: P. 1660 – 1666.
124. Kirschbaum B. Increased anion gap after liver transplantation // *Am. J. Med. Sci*. 1997. V. 313, N 2. P. 107 – 110.
125. Komiyama Y., Pedersen A.H., Kisiel W. Proteolytic activation of human factors IX and X by recombinant human factor viia: Effects of calcium, phospholipids, and tissue factor // *Biochemistry* 1990. V. 29. P. 9418-9425.

126. Koyama T., Nishida K., Ohdama S., Sawada M., Murakami N., Hirosawa S., et al. Determination of plasma tissue factor antigen and its clinical significance // *Br. J. Haematol.* 1994. V. 87. P. 343-347.
127. Kozuka M., Smith M. L., Siesjo B. K. *J Cereb. Blood Flow Metab.* 1989. N 9. P. 478-490.
128. Luft F.C. Lactic acidosis update for critical care clinicians // *J Am. Soc. Nephrol.* 2001 Feb. N 12 Suppl. 17 P.15-9.
129. Lwaleed B.A., Bass P.S., Chisholm M., Francis J.L. Urinary tissue factor in glomerulonephritis: A potential marker of glomerular injury? // *J. Clin. Pathol.* 1997. N 50. P. 336-340.
130. Maitland K and Newton CR. Acidosis of severe falciparum malaria: heading for a shock? // *Trends Parasitol* 2005 Jan, V.21(1) P. 11-6.
131. Martinez M. C, Tesse A. Et al. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function // *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; V. 288: P. 4—9.
132. Maynard J.R., Dreyer B.E, Slemmerman M.B., Pillick F.A. Tissue-factor coagulant activity of cultured human endothelial and smooth muscle cells and fibroblasts // *Blood.* 1977. 50. P. 387-396.
133. McCallum C.D., Su B.X., Neuenschwander P.F., Morrissey J.H., Johnson A.E. Tissue factor positions and maintains the factor viia active site far above the membrane surface even in the absence of the factor viia Gla domain -A fluorescence resonance energy transfer study // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 30160-30166.
134. McCullough K.D., Martindale J.L., Klotz L.O. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state // *Mol. Cell. Biol.* 2001. Vol. 21. P. 1249–1259.
135. Meade T.W., Mellows S., Brozovic M., Miller G.J., Chakrabarti R.R., North WRS, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: Principal results of the Northwick Park heart study // *Lancet.* 1986. N 2. P. 533-537.
136. Mikhail J. The trauma triad of death: hypothermia, acidosis, and coagulopathy // *AACN Clin Issues.* 1999. V. 10, N 1. P. 85-94.
137. Morrissey J.H. Tissue factor: An enzyme cofactor and a true receptor // *Tromb. Haemost.* 2001. 86. P. 66-74.
138. Morrissey J.H., Macik B.G., Neuenschwander P.F., Comp P.C. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation // *Blood* – 1993. – 81. – P. 734-744.
139. Morrissey JH. Plasma factor viia: Measurement and potential clinical significance // *Haemostasis* 1996. 26. P.66-71.
140. Mulder A.B., Smit J.W., Bom V.J.J., Blom N.R., Ruiters M.H.J., Halie M.R., et al. Association of smooth muscle cell tissue factor with caveolae // *Blood* 1996. 88. P. 1306-1313.

141. Nakagaki T, Foster DC, Birkner KL, Kisiel W. Initiation of the extrinsic pathway of blood coagulation: Evidence for the tissue factor dependent autoactivation of human coagulation factor VII. // *Biochemistry* 1991. 30. P. 10819-10824.
142. Neuenschwander P.F., Fiore M.M., Morrissey J.H. Factor VII autoactivation proceeds via interaction of distinct protease-cofactor and zymogen-cofactor complexes. Implications of a two-dimensional enzyme kinetic mechanism // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 21489-21492.
143. Opherk D., Zebe H., Weihe E. Et al. Reduced coronary dilatory capacity and ultrastructural changes of the myocardium in patients with angina pectoris but normal coronary arteriograms // *Circulation*. 1981. Vol.63, № 4. P.817-825.
144. Otsuka M., Shinozuka K., Hirata G., Kunitomo M. Influences of a shiitake (*Lentinus edodes*)-fructo-oligosaccharide mixture (SK-204) on experimental pulmonary thrombosis in rats // *Yakugaku Zasshi*. 1996. V. 116, N 2. P. 169-175.
145. Pannunzio P., Hazell A.S., Pannunzio M., Rao K.V., Butterworth R.F. Thiamine deficiency results in metabolic acidosis and energy failure in cerebellar granule cells: an in vitro model for the study of cell death mechanisms in Wernicke's encephalopathy // *J Neurosci Res.* 2000. V. 62, N 2. P. 286-292.
146. Pavlakis S.G., Philips P.C., dimauro S. The mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: A distinctive clinical syndrome // *Ann. Neurol.* 1984. V. 16. P. 481-488.
147. Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R. Et al. Increased Ratio of CD317 CD42 microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 2006 V. 26: P. 25—30.
148. Predicting life-threatening coagulopathy in the massively transfused trauma patient: hypothermia and acidosis revisited / Cosgriff N, Moore E.E, Sauaia A, Kenny-Moynihan M, Burch J.M, Galloway B. // *J. Trauma.* 1997. V. 42, N 5. P. 857-862.
149. Ruddock V., Meade T.W. Factor VII activity and ischaemic heart disease: Fatal and non-fatal events // *Q. J. Med.* 1994. 87. P. 403-406.
150. Severe self-poisoning with formol / Ferrandiere M, Dequin P.F, Legras A, Hazouard E, Benchellal Z, Perrotin D. // *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* –1998. – V. 17, N 3. P. 254-256.
151. Sevinsky J.R., Rao L.V.M., Ruf W. Ligand-induced protease receptor trans-location into caveolae: A mechanism for regulating cell surface proteolysis of the tissue factor-dependent coagulation pathway. // *J. Cell. Biol.* 1996. 133. P. 293-304.
152. Shu Q. Antibody response in sheep following immunization with *Streptococcus bovis* in different adjuvants // *Vet. Res. Commun.* 2001. V. 25, N 1. P. 43-54.

153. Simultaneous measurement of hepatic tissue pH, venous oxygen saturation and hemoglobin by near infrared spectroscopy / Soller B.R., Cingo N., Puyana J.C. et al. // Shock. 2001. V. 15, N 2. P 106 – 111.

154. Wada H., Nakase T., Nakaya R., Minamikawa K., Wakita Y., Kaneko T., et al. Elevated plasma tissue factor antigen level in patients with disseminated intravascular coagulation // Am. J. Hematol. 1994. 45. P. 232-236.

155. Zacharias S.R., Offner P., Moore E.E., Burch J. Damage control surgery // AACN Clin. Issues. 1999. V. 10, N 1. P. 95-103.

156. Zwirner P., Wilichowski E. Progressive Sensorineural Hearing Loss in Children With Mitochondrial Encephalomyopathies // Laryngoscope. – 2001. V. 111, N 3. P. 515-521.