

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  
№ государственной регистрации 01201461150  
Инв. №



ОТЧЕТ  
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

В рамках государственного задания №2014/255, проект № 2707

по теме:  
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, этап №2)

Руководитель НИР  
канд. мед. наук, доцент

29.01.2016

Е.В.Альфонсова

Чита 2016

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы,  
канд. мед. наук, доцент

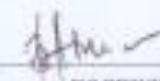
  
\_\_\_\_\_

Е.В. Альфонсова

подпись, дата

29.01.2016

Исполнитель:  
Ассистент кафедры  
Спортивных дисциплин

  
\_\_\_\_\_

В.В. Анисеева

подпись, дата

29.01.2016

## РЕФЕРАТ

Отчет 98 с., 5 ч., 4 табл., рис. 30, 179 источников.

ОСТРЫЙ ЛАКТАТ-АЦИДОЗ, pH, КЩР, ГЕМОСТАЗ, ФИБРИНОЛИЗ, МИОКАРД, ИНФАРКТ МИОКАРДА, ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ, МИОКАРДИОДИСТРОФИЯ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ.

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 (Беленков Ю. Н., Оганов Р. Г., 2007; О कोरोков А. И., 2008, 2010). 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).

Целью исследования явилось изучение воздействия pH среды на состояние системы гемостаза в различных отделах сосудистого русла и изменения структурной организации сердца и сосудов микроциркуляторного русла.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза в различных регионах сердечнососудистой системы в норме и при остром лактатацидозе.
2. Исследовать закономерности и механизмы развития морфологического эквивалента экспериментального ДВС-синдрома в различных отделах сосудистого русла при остром лактатацидозе

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 (pH 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. 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.

2. 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 РМФК. Увеличение глубины ацидоза и его продолжительности приводит к спонтанной агрегации тромбоцитов и потреблению факторов свёртывания крови, что, в конечном итоге, ведет к развитию вторичной гипокоагуляции. При этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда ТЭГ, падает число и уменьшается  $\zeta$ -потенциал тромбоцитов. Прохождение крови через печень изменяет ее гемокоагуляционные свойства, направленные на коррекцию процессов гемостаза.

3. 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.

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

СОДЕРЖАНИЕ .....	6
СОКРАЩЕНИЯ .....	7
ВВЕДЕНИЕ .....	8
Глава 1. Некоторые обзорные данные по исследуемой проблеме .....	11
1.1. Роль метаболических факторов и ацидоза в развитии диссеминированного внутрисосудистого свертывания .....	11
1.2. Роль ацидоза в механизмах формирования полиорганной недостаточности .....	18
Глава 2. Материалы и методы исследования .....	28
Глава 3. Результаты исследования .....	31
3.1. Влияние экспериментального лактат-ацидоза различной глубины и продолжительности на свертывание крови, фибринолиз в различных отделах сосудистого русла в опытах <i>in vivo</i> .....	31
3.2. Нарушение структурной организации сердца при экспериментальном остром лактат- ацидозе .....	34
Выводы .....	48
Глава 4. Результаты теоретических и экспериментальных исследований .....	49
4.1. Систематизация и предварительная оценка полученных результатов .....	49
4.2. Оценка полноты решения задач и достижения поставленных целей .....	50
4.3. Сопоставление и обобщение результатов анализа научно-информационных источников и экспериментальных исследований .....	50
4.4. Оценка эффективности полученных результатов в сравнении с современным научно- техническим уровнем .....	51
4.5. Разработка рекомендаций по возможности использования результатов проведенных НИР в реальном секторе экономики .....	52
4.6. Разработка рекомендаций по использованию результатов НИР при создании научно- образовательных курсов .....	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	54
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	66

## 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<sup>+</sup> - никотинамидадениндинуклеотидфосфат (окисленная форма)  
НАДФН + Н<sup>+</sup> - никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма)  
ПВК – пировиноградная кислота  
ПДФ – продукты деградации фибрина  
ПКС - пороки клапанов сердца  
ТГС – тромбгеморрагический синдром  
ФАД – флавинадениндинуклеотид (окисленная форма)  
ФАДН<sub>2</sub> – флавинадениндинуклеотид (восстановленная форма)  
ШИК – реакция – гистохимическое исследование для выявления гликогена в тканях и соединений белка с углеводами  
рН – стандартный водородный показатель

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Нарушения кислотно-основного баланса являются скорее правилом, чем исключением у больных, находящихся в отделениях интенсивной терапии. Ациidotические 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; Огороков А. И., 2008, 2010). 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 лактацидоза (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. Исследовать закономерности и механизмы развития морфологического эквивалента экспериментального ДВС-синдрома в различных отделах сосудистого русла при остром лактатацидозе

Научная новизна.

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 рН в кислую сторону, образуются сгустки эритроцитов и тромбы.

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 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 кариопикноза, 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.

### Теоретическая и практическая значимость

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.

## Глава 1. Некоторые обзорные данные по исследуемой проблеме

### 1.1. Роль метаболических факторов и ацидоза в развитии диссеминированного внутрисосудистого свертывания

В течение нескольких последних десятилетий в медицине развивается метаболическое направление, цель которого анализ обменных процессов различных уровней как основы или фона развития многих болезней. Особенно активно формируются представления о роли нарушений клеточного метаболизма при сердечнососудистой патологии. Ключевым звеном этого метаболизма является митохондрия – органелла общего назначения, выполняющая жизненно-важные функции. Основная роль митохондрий - обеспечение клеток энергией, которая образуется за счет молекул аденозинтрифосфата в биохимических циклах клеточного дыхания (Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г., 2009).

Больные пороками клапанов сердца (ПКС) составляют значительную часть среди пациентов с заболеваниями сердечно - сосудистой системы и число их растет. Основным методом лечения этой патологии является хирургическая коррекция ПКС (Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г., 2009). За последние десятилетия, благодаря развитию и совершенствованию кардиохирургии, в этой области достигнут значительный прогресс. Однако, у значительной части пациентов, даже после гемодинамически эффективной коррекции ПКС, сохраняется и прогрессирует сердечная недостаточность (Бокерия Л.А. и др., 2005). По современным представлениям это объясняется исходным состоянием (ремоделированием) миокарда - развитием в нем кардиосклероза и гибернации кардиомиоцитов, вследствие хронической гипоперфузии (Camici P.G., 2004). Известно, что гибернация миокарда, характеризующаяся стойким снижением метаболических процессов в кардиомиоцитах и нарушением их сократительной функции, обратима при нормализации кровоснабжения (Fallavolita J.A. et al., 2002; Vanoverschelde J-L.J., Melin J.A., 2005; Senior R., Lahiri A., 2007). Поэтому восстановление адекватного кровоснабжения миокарда является важной задачей комплексного хирургического лечения больных ПКС, решение которой невозможно без полного представления перед операцией характера и уровня нарушения кровотока в сердечной мышце.

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. 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 различают ишемическую болезнь сердца

(ИБС) и микрососудистую ишемию миокарда, которая в случае клинического проявления стенокардией стала обозначаться как кардиальный синдром X (Коркушко О.В., Лишневецкая В. Ю., 2003; Дедов И.И., Александров А.А., 2007; Kemp H.G.Jr. et al., 1973; Opherik D. et al., 1981). Как показали исследования 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 (Коркушко О.В., Лишневецкая В. Ю., 2003; Дедов И.И., Александров А.А., 2007; Шестакова М.В., 2006). В основе микрососудистой ишемии миокарда могут лежать, как обратимые функциональные нарушения кровотока (при дисфункции эндотелия, изменении реологических параметров крови, диастолической дисфункции миокарда), так и необратимая потеря части микрососудистого русла вследствие ремоделирования миокарда при развитии кардиосклероза или несоответствие количества капилляров возросшей массе сердца при его гипертрофии. 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).

Кардиохирургическая операция в большей степени, чем другие инвазивные методы лечения, требует от организма напряжения его функциональных резервов. Длительная искусственная вентиляция легких, применение искусственного кровообращения, обескровливание сердца на период до 2 часов в условиях фармакологической холодовой кардиopleгии, обширные хирургические манипуляции в области мощнейших рефлексогенных зон приводят к серьезным сдвигам в компенсаторных системах организма, в том числе и ацидозу, вызывая перенапряжение и даже срыв компенсации с развитием тяжелых послеоперационных осложнений (Телкова И.А., Фадеев М.В., 2006, 2007).

Пусковым механизмом большинства из них является развитие в послеоперационном периоде острой миокардиальной недостаточности, которая в настоящее время является основной причиной летальных исходов при хирургической коррекции пороков сердца. У большинства больных более 30% в послеоперационном периоде после митральной комиссуротомии, протезирования митрального клапана, оперированных по поводу ВПС наблюдался метаболический ацидоз и сердечная слабость различной степени выраженности. Выраженный метаболический ацидоз со сдвигом рН крови ниже 7,3 в большей степени обусловлен лактат- и пируватемией, о чем свидетельствует значительное повышение активности цитоплазматических ЛДГ и митохондриальных ИЦДГ ферментов в сыворотке крови, а также аденозинтрифосфатазы (Сенчук К.Ю. и др., 1999).

Для коррекции метаболических нарушений в послеоперационном периоде применялись сукцианатсодержащие биологически активные вещества. После введения сукцината отмечается существенное повышение рН крови, увеличение избытка оснований и стандартного бикарбоната, общего содержания буферных систем, снижение концентрации лактата, таким образом, состояние кислотно-щелочного равновесия в целом приближается к нормальным величинам (Сенчук К.Ю. и др., 1999).

Анализ электронограмм биоптатов миокарда позволяет говорить о наличии повышения проницаемости лизосомальных мембран, снижении коэффициента энергетической эффективности митохондрий. Клинические испытания, проведенные на больных с пороками сердца и сердечной недостаточностью, показали, что сукцинат обладает выраженным нормализующим действием при наличии метаболического ацидоза, уменьшает утечку ферментов МВ КФК, ЛДГ, ИЦДГ из клеток, в том числе и из печеночных, во внеклеточную жидкость и кровь. Как стойкая нормализация КЩР, так и стабилизация мембранных структур после введения сукцината, по всей вероятности, связаны с увеличением энергетической обеспеченности тканей (Сенчук К.Ю. и др., 1999).

С середины 90-х годов все чаще стал применяться нормотермический режим перфузии, который лишен недостатков умеренной гипотермии (28-30°C) (Лурье Г.О., 1995; Никитин К.В., 2002). Но в связи с часто встречающимися после искусственного кровообращения неврологическими осложнениями (Regragui I., 1996; Миербеков Е.М. и др., 1997) в последние годы проводят сеансы искусственного кровообращения со спонтанным охлаждением пациентов до поверхностной гипотермии (34°C) (Чичерин И.В., 1999). В последнее время в коронарной хирургии повысился интерес к операциям без искусственного кровообращения, особенно у пациентов с тяжелой патологией и высоким риском проведения искусственного кровообращения. Достаточно широко в литературе обсуждается проблема гемостаза у больных в условиях ИК (Черная М.А. и соавт., 2007, 2009; Bick R.L., 1985; Milas C.H. et al., 2002). При операциях МИАКШ (мини-инвазивное аорто-коронарное шунтирование) после 6 ч операции отмечается усиление генерации тромбина, что является компенсаторной реакцией организма на оперативное вмешательство, при этом отмечают увеличение прокоагулянтной активности в первые 24 часа после МИАКШ. В тоже время происходит угнетение системы естественных антикоагулянтов, в большей степени, антитромбина III. Тромбоцитарное звено гемостаза после операций МИАКШ характеризуется гиперагрегацией тромбоцитов на фоне умеренного снижения их количества. Активация прокоагулянтной активности тромбоцитов в раннем послеоперационном периоде, по-видимому, обеспечивает сохранность системы гемостаза (Morel C.H. et al., 2011; Морозов Ю.А. и др., 2004).

У больных, оперированных в условиях ИК, в послеоперационном периоде отмечается дисфункция тромбоцитов, связанная с длительностью и температурным режимом (Черная М.А. и др., 2009). Через 6 часов после операции наблюдается активация фибринолиза. Этот процесс, скорее

всего, связан с описанным выше увеличением генерации тромбина и носит компенсаторный характер в связи с недостаточностью антикоагулянтов. Некоторые авторы находят повышение Д-димера только у больных с ИК, по данным М.А. Чарной (2007) транзиторный подъем Д-димера отмечается и при МИАКШ. Активация фибринолиза у больных после МИАКШ носит волновой характер с максимальной активацией через 6 часов после операции, что является компенсаторной реакцией на усиление тромбина. Считается, что причиной активации коагуляции и фибринолиза после кардиохирургических операций является использование ИК (Casati V. et al., 2001). В тоже время обширная хирургическая травма, в большей степени, чем ИК, является причиной активации как фибринолиза, так и системы гемостаза за счет выброса тканевых факторов (Черная М.А. и др., 2007).

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что коронарный атеросклероз и острый инфаркт миокарда возникают более часто у людей, которые подвергаются острому или повторяющемуся стрессу, или содержат более высокий уровень катехоламинов (Руда М.Я., 2002; 2010; [Чазов Е.И.](#) и др., 2008, 2010, 2011). Своевременное восстановление кровотока по инфаркт-связанной коронарной артерии является самым эффективным способом ограничения инфаркта миокарда (Руда М.Я., 2002; 2010). Ранняя реперфузия приводит к уменьшению зоны некроза, улучшению функции левого желудочка и повышению электрической стабильности сердца, а в конечном итоге, к увеличению выживаемости, снижению количества осложнений и улучшению качества жизни (De Wood M.A. et al., 1980).

Применение системного и внутрикоронарного тромболитика: фармакологическое растворение сгустков крови может быть выполнено с помощью внутривенной или внутриартериальной инфузии активаторов пламиногена, использованием аспирина и других антиагрегантов (Метелица В.И., 2002; Куприна А.А. и др., 2002; Sabatine M.S. et al., 2005 и др.). У большинства больных острым инфарктом миокарда наблюдается стойкая тромботическая окклюзия коронарной артерии в период формирования некроза (Руда М.Я., 2002). Исходы после тромболитической терапии зависят от полноты реперфузии инфаркт-зависимой артерии. Больные, у которых определяется нормальный кровоток в инфаркт-связанной артерии через 90 минут после начала тромболитической терапии, имеют более благоприятный ближайший и отсроченный прогноз. Несмотря на несомненность пользы реперфузии в ограничении гибели клеток в условиях тяжелой ишемии, реперфузия может обусловить развитие серьезных побочных реакций (Чернецов В.А. и др., 1999, 2000).

Феномен, приводящий к парадоксальной гибели кардиомиоцитов в результате реперфузии ишемизированного миокарда, получил название «реперфузионного повреждения» (Yellon D.M., 2000). «Реперфузионное повреждение» возникает в результате ряда сложных независимых механизмов, к которым относятся продукция реактивного кислорода, микрососудистая и эндотелиальная клеточная дисфункция, нарушенный метаболизм миокарда, активация нейтрофилов, тромбо-

цитов, комплемента. Во время реперфузии идет значительный выход лактата, ионов, КФК, массивный выход кальция, происходит сильное повреждение митохондрий. Предполагается, что поздняя реперфузия не только вымывает все эти вещества, но и усиливает их высвобождение ( Rao V. et al., 2001).

Эти данные показывают, что происходящее повреждение клеточной мембраны приводит к нарушению проницаемости барьеров как для ионов кальция и магния, так и для более крупных молекул – КФК, и в подобной ситуации митохондрии используют восстановленный кислород скорее для транспорта цитозольного кальция, чем для продукции АТФ. Через несколько секунд тотальной ишемии запасы креатинфосфата полностью истощаются. Концентрация АТФ падает медленнее, но после 40 минут тяжелой ишемии запасы АТФ истощаются на 90%. В результате утилизации АТФ прогрессивно повышается концентрация АМФ, АДФ. Аденозинмонофосфат превращается в аденозин, гипоксантин, ксантин. Поскольку эти соединения легко диффундируют через клеточную мембрану – клетка во время ишемии теряет адениновые нуклеотиды. Во время кардиopleгии происходит активация анаэробного миокардиального метаболизма с продукцией лактата (Rao V. et al., 2001). Более того, активность митохондриального пируват-дегидрогеназного комплекса остается ингибированной на 40% в течение 30 минут после реинфузии (Rao V. et al., 1999).

Многочисленные клинические наблюдения свидетельствуют, что оптимизация энергетического метаболизма улучшает состояние жизнеспособных кардиомиоцитов. Важным механизмом развития «реперфузионного повреждения» является продукция избыточного количества реактивного кислорода. Молекулярный кислород, попадая в ишемизированный миокард, подвергается последовательной редукции и приводит к образованию свободных радикалов (Duell T. Et al., 2000; Гордеев И.Г. и др., 2006; Yuana Yu., 2011).

Bolli.R (2001) показал, как супероксиданион, гидроксильный радикал и пероксинитрит образуются в первые несколько минут реперфузии и играют решающую роль в развитии «реперфузионного повреждения». Исследования на животных показывают, что реперфузия после кратковременной ишемии (30-60 минут) не вызывает окислительный стресс, вероятно, в силу того, что защитные механизмы еще способны защитить клетки миокарда от выброса свободных радикалов, образуемых при поступлении с восстановлением кровотока. Реперфузия после более длительной ишемии вызывает необратимые повреждения в клетках миокарда (Ferrari R. et al., 2002).

Свободные радикалы кислорода оказывают повреждающее действие, вступая во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами, приводя к образованию липидных пероксидов, гиперпероксидов, которые повреждают сарколемму и нарушают функцию мембрансвязанных ферментных систем. Кроме того, свободные радикалы кислорода стимулируют высвобождение из эндотелиоцитов фактора активации тромбоцитов. Реактивный кислород подавляет нитрит азота (NO), что усиливает эндотелиальное повреждение и микрососудистую дисфункцию. Реперфузия

приводит к дисфункции эндотелия. Угнетение эндотелий-зависимых вазодилаторов и повышенный ответ на эндотелий-зависимые вазоконстрикторы приводят к сокращению и снижению кровотока, тем не менее, используя определенный тип энергетического субстрата, можно предотвратить последствия ишемии (Steg P.G. et al., 1998).

Определение лактата в крови представляет собой важный метод мониторинга у больных с тканевой гипоксией. Клинически увеличение лактата в крови связано с обострением заболевания и повышением риска неблагоприятного исхода. Клеткам необходима энергия для нормального функционирования и гомеостаза. Это возможно при нормальном функционировании всех метаболических циклов, как внутриклеточных, так и внеклеточных. У пациентов оперированных на «открытом» сердце в условиях искусственного кровообращения, в раннем послеоперационном периоде необходимо мониторировать тканевую оксигенацию и контролировать метаболические процессы, происходящие в организме больного (Грищенко Д.А. и др., 2003, 2006).

У пациентов, оперированных в гипотермическом режиме ИК, уровень лактата и парциального давления кислорода в венозной крови отличается от такового при операции в нормотермическом режиме. У больных, оперированных в гипотермическом режиме ИК, отмечается подъем лактата до 4,2 – 5,6 ммоль/л наряду с повышением уровня  $P_vO_2$ . Через 3 часа после операции уровень  $P_vO_2$  нормализуется, а уровень лактата восстанавливается только в конце первых суток. При нарушении доставки кислорода к тканям компенсаторно увеличивается его утилизация, и если в этих условиях не изменить условия доставки кислорода, в тканях активируется анаэробный метаболизм, что проявляется повышением уровня лактата. Уровень лактата в артериальной крови соответствует уровню  $P_vO_2$  и часто их изменения предшествует клинически значимым гемодинамическим нарушениям. Авторы утверждают, что понижение уровня  $P_vO_2$  ниже 30 мм.рт.ст. при неизменном режиме вентиляции расценивается авторами как проявление сердечной недостаточности и требует назначения инотропной поддержки (адреналин, дофамин и т.д.), нормализация уровня лактата до 1,5-1,7 ммоль/л является основанием для прекращения инотропной поддержки. Уровень лактата крови может быть использован как маркер тканевой гипоксии. У пациентов оперированных на «открытом сердце» в условиях искусственного кровообращения, в раннем послеоперационном периоде необходимо мониторировать тканевую оксигенацию и контролировать метаболические процессы, происходящие в организме больных (Грищенко Д.А. и др., 2003).

Большой интерес представляет изучение аноксических и ацидотических состояний на механизм выделения тканевых факторов свертывания крови из сердца. В.В Альфонсовым и др. (1985) была разработана методика перфузии изолированного сердца собаки, в основу которой положен принцип Langendorf (1895). Аэрированная перфузионная жидкость, подаваемая в аорту собаки, проходила через сосуды и полости сердца и приобретала способность изменять гемокоагуляционные свойства крови. На 8 изолированных и активно сокращающихся сердцах показали, что



обедненный кислородом перфузионный раствор увеличивал интенсивность выхода соединений, обладающих прокоагулянтной активностью, фибринолитическая активность плазмы усиливается на протяжении всего эксперимента, однако наиболее выраженный эффект отмечен на первых минутах гипоксии (Альфонсов В.В и др., 1985-2003).

Аноксия, вызываемая прекращением аэрации жидкости, поступающей к сердцу, является мощным возмущающим фактором, способным привести к значительным сдвигам в свертывающей и фибринолитической активности крови, контактирующей с сердцем. Это может явиться предпосылкой для развития внутрисосудистого тромбообразования. В условиях гипоксии защитные противосвертывающие механизмы, по всей вероятности, работают не достаточно эффективно. Сердце, являющееся органом с хорошо развитыми аэробными механизмами и слабыми гликолитическими процессами, очень чувствительно к гипоксии. Поэтому на гипоксию сердце отвечает рядом биологических защитных реакций, накладывающих отпечаток и на процессы гемокоагуляции.

Присутствие молочной кислоты в перфузионной жидкости приводит к снижению рН проб до 7,067-6,62. Влияние лактата на выброс прокоагулянтных соединений из сердца проявляется приблизительно через 4-6 минут. Фибринолитическая активность крови увеличивается в более поздние сроки перфузии. При этом даже незначительные концентрации молочной кислоты способны стимулировать выход из сердца тканевых соединений, влияющих на гемокоагуляцию и фибринолиз (Альфонсов В.В и др., 1985-2003).

Степень выраженности патологического процесса в том или ином органе часто связана со степенью зависимости его тканевых элементов от эффективности аэробного окисления. Митохондриальная дисфункция приводит к недостаточности энергообеспечения клеток, нарушению многих других важных обменных процессов, дальнейшему развитию клеточного повреждения, вплоть до гибели клетки. Для клинициста оценка степени митохондриальной дисфункции имеет существенное значение как для формирования представлений о сути и степени происходящих на тканевом уровне процессов, так и для разработки плана терапевтической коррекции патологического состояния (Сухоруков В.С., 2004; 2007).

Основными биохимическими процессами, происходящими в митохондриях и имеющими отношение к энергообмену, являются: цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса), окисление жирных кислот, карнитиновый цикл, транспорт электронов в дыхательной цепи и окислительное фосфорилирование (Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. 1992.; Ленинджер А. 1985.; Северин Е.С. и др.; 2000; Luft R., 1994). Несмотря на то, что в основе митохондриальных заболеваний могут быть сотни первичных биохимических дефектов, основные изученные звенья патогенеза, на которых и базируются современные подходы к коррекции митохондриальной недостаточности, связаны с нарушением реакций: окисления пирувата до ацетил-КоА с помощью пируватдегидрогеназного комплекса, состоящего из 3 различных ферментов, нескольких регуляторных пептидов, 5 кофермен-

тов; окисления ацетил-КоА до углекислого газа и образования восстановленных носителей электронов NADH и FADH<sub>2</sub>. Этот процесс состоит из 9 последовательных реакций цикла Кребса; являющегося общим конечным путем окисления белков, жиров и углеводов; реокисления восстановленного коэнзима Q ферментами электронно-транспортной цепи внутренней митохондриальной мембраны (высвобождаемая при этом энергия используется для синтеза АТФ из АДФ и фосфатов); транспорта свободных жирных кислот через мембрану митохондрии в виде эфиров карнитина; окислительного дезаминирования аминокислот с последующим поступлением их углеродного скелета в цикл Кребса (Attardi G., 2001).

При торможении митохондриальных функций в условиях интоксикации, при гипоксических состояниях различной этиологии образование свободнорадикальных молекул происходит особенно интенсивно. Повышенное количество этих молекул не успевает обрабатываться антиоксидантными системами и повреждающе действует на окружающие структуры. А так как последние представлены, прежде всего, самими митохондриями, возникает порочный круг, приводящий к еще большей биоэнергетической и функциональной недостаточности, деструкции клеточных структур, некрозу одних клеток и апоптозу других (Attardi G., 2001).

## 1.2. Роль ацидоза в механизмах формирования полиорганной недостаточности

Полиорганная недостаточность является наиболее тяжелой фазой развития системной воспалительной реакции и представляет собой последствия неспецифической стресс-реакции организма высокой степени выраженности. Эти явления обусловлены прогрессирующим нарушением метаболизма в органах, системах и тканях с развитием синдрома их гиперметаболической гипоксии (Дементьева И.И. 2003; Штейнле А.В. 2009). Гиперлактатемия - одно из самых распространенных метаболических нарушений у больных в критическом состоянии. Установлено, что уровень лактата в крови и / или лактатный клиренс является диагностическим, терапевтическим и прогностическим маркером тканевой гипоксии при шоках различного происхождения (Varpula M. et al. 2005; Хватов В.Б. и др., 2009). В частности для патогенетически обоснованной компенсации острой кровопотери необходимо учитывать не только состояние гемодинамики, но и параметры, характеризующие тканевой обмен с помощью показателей транспорта и потребления кислорода, кислотно-основного состояния венозной крови и ряда метаболитов том числе лактата и пирувата. Последний (норма – 0,03-0,1 ммоль/л) является наиболее чувствительным индикатором клеточной гипоксии. Оценить, с чем связана гиперлактатемия, позволяет также лактат-глюкозный индекс (ЛГИ). В норме уровень ЛГИ составляет 0-10% (Varpula.M et al. 2005; Хватов В.Б. и др., 2009).

По мнению Тимирбаева В.Х., Владимирова Е.С., и др. (2005) мониторинг лактата обязателен у пациентов в состоянии шока. Выявлена прямая зависимость между характером динамики лактата крови на фоне проводимой противошоковой терапии и летальным исходом. Коэффициент

корреляции Пирсона составляет 0,68, и вероятность летального исхода выше у тех пострадавших, у которых, несмотря на проведенную интенсивную терапию, уровень лактата в конце операции повысился. Интраоперационную динамику лактата крови можно использовать в качестве прогноза летального исхода.

Лактат в физиологических условиях поступает в кардиомиоциты (КМЦ) из плазмы крови и с помощью лактатдегидрогеназы (ЛДГ) также превращается в пируват, из которого под влиянием пиркватдегидрогеназы (ПДГ) в митохондриях образуется ацетил-КоА. В условиях же недостаточного поступления кислорода происходит превращение пирувата в лактат, который не утилизируется КМЦ, а секретируется в кровь. Увеличение концентрации лактата в крови в отсутствие значительной физической нагрузки (ФН) при ишемии является первым признаком наступления гликолиза в КМЦ (Stanley W.C., 2002; Stanley W.C., Marzilli M., 2003).

Возникновение синдрома полиорганной недостаточности (ПОН) после перенесенной массивной кровопотери, являющегося частой причиной смерти пациентов, связывают с развитием лактат-ацидоза. Нарушение микроциркуляции и тканевая гипоксия, составляющие основу развития ПОН, ведут к порочной активации иммунной системы, обуславливающей дальнейшее прогрессирование патологического состояния. Кислородный дефицит на периферии в течение от 3 до 24 ч приводит к появлению системного воспалительного ответа, характеризующегося гиперпродукцией эндогенных вазоактивных медиаторов (Bundgaard H. et al., 2003). Было установлено, что чрезмерная продукция молочной кислоты при сепсисе не обязательно связана с анаэробным метаболизмом, она может быть также обусловлена недостаточной доставкой кислорода вследствие воздействия эпинефрина (адреналина) на активность мембранного фермента Na/K-АТФазы. В этом процессе АДФ, генерируемая Na/K-АТФазой, ускоряет аэробный гликолиз и, как следствие, увеличивает концентрацию молочной кислоты. Каскадные реакции острой фазы воспаления приводят к резкому увеличению дефицита кислорода, нарастанию уровня лактата, ацидоза и прогрессированию ПОН (Соколов В.А., Федорова Т.А., 2006; Соколов и др., 2006). При эндотоксикозе и сепсисе производимый лактат является не только результатом гипоксии тканей, но обусловлен повышенным аэробным гликолизом, стимулируемым эпинефрином через активирование Na/K-АТФазы. При этом отмечается пагубное воздействие лактатного голодания на энергетический метаболизм сердца и гемодинамику, и рассматривается роль молочной кислоты как важного топлива для энергетики тканей, а усиленное образование лактата как адаптивное явление, нацеленное на противодействие энергетическому кризису. Данная концепция, безусловно, интересна, но требует дальнейшего изучения как роли лактата, так и выявления точных молекулярных механизмов, ответственных за изменение метаболизма миокарда, которое происходит при сепсисе и шоке (Lovu B. et al., 2000).

При таких состояниях как перитонит, политравма, сепсис, панкреонекроз, шоки различной этиологии, наблюдается обширный комплекс патологических синдромов, которые если не корректировать, в конечном итоге приводят к летальному исходу (Соколов В.А., 2006; Шуркалин Б.К., 2007). К числу таких синдромов относится нарушение обмена веществ, а ведущим патогенетическим факторами являются гипоксия, гипоэргоз, эндотоксемия, метаболический ацидоз, чрезмерная активация процессов перекисного окисления липидов, выраженные нарушения в системе гемостаза (Рыбинцев В.Ю., 2006).

Первичным сдвигом при всех критических состояниях является дисрегуляция кислородного обмена между кровью и тканями. Наличие длительной гипоксии органов становится фактором прогрессивного торможения всех энергозависимых процессов, ответственных за структурное обеспечение внутриклеточных реакций. Формирующаяся гипоксия тканей приводит к увеличению в них содержания молочной кислоты, которая моментально разлагается на ионы водорода и лактат, и тем самым приводит к развитию лактат-ацидоза (Штейнле А.В., 2009). Повышение лактата может быть обусловлено усиленной продукцией, так и пониженным расходом. Молочную кислоту продуцируют все органы и ткани, основное ее количество образуется в мозге, эритроцитах, скелетных мышцах и коже. Откуда она поступает в кровь. В норме лактат утилизируется главным образом в печени, почках и сердечной мышце, где он используется на энергетические цели и синтез глюкозы (глюконеогенез), лишь единично экскретируется с мочой (Тверской Л., 1980; Горн Ю. и др., 2000). На фоне дефицита кислорода и последовательно развивающейся полиорганной недостаточности роль этих органов в снижении концентрации лактата значительно ослабевает и в ряде случаев вообще не проявляется. В частности, при поздних стадиях шока недостаточное использование молочной кислоты печенью в процессах глюконеогенеза (благодаря пониженной перфузии) приводит к тому, что цикл Кори становится не действующим (Дементьева И.И., 2003).

Ситуация усугубляется еще и тем, что раньше всего страдает углеводный обмен (Городецкий В.К., 2006), в результате чего развивается гипергликемия как одна из составляющих гиперметаболического синдрома. Однако запас углеводов невелик, их, если не пополнять, хватает всего лишь на 6 часов, а жиров – на 40 суток (Долгих В.Т., 2002). В связи с этим происходит перестройка энергетического метаболизма с углеводного на жировой, а так как в это время в организме уже развивается недостаток глюкозы и кислорода, окисление жирных кислот тормозится на стадии образования ацетона, ацетоуксусной и  $\beta$ -оксимасляной кислот (Титов В.Н., 2005). Преобладание жирнокислотного пути в условиях ишемии имеет серьезные последствия, т.к. лежит в основе снижения способности миокарда противостоять ишемическому повреждению клеток (Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2006). В этих условиях меняется роль жирных кислот в энергетическом обеспечении миокарда. Сначала происходит последовательное отщепление двууглеродных фрагментов (в виде ацетил-СоА) от карбоксильного конца цепи жирной кислоты в результате

цикла ферментативных реакций. При завершении таких 7 циклов в превращениях 16 -углеродной цепи пальмитиновой кислоты образуется 8 двууглеродных фрагментов в форме ацетил-СоА. В дальнейшем ацетильные остатки ацетил-СоА в митохондриях окисляются через цикл лимонной кислоты до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . На обеих стадиях окисления жирных кислот атомы водорода, или соответствующие им электроны, передаются по митохондриальной цепи переноса электронов на кислород. С этим потоком электронов сопряжен процесс окислительного фосфорилирования АДФ до АТФ. (Ньюсхолм Э., 1977). При ишемии, вследствие высвобождения при гидролизе АТФ значительного количества протонов ( $\text{H}^+$ ) и накопления кислых гликолитических метаболитов (лактата и пирувата), развивается метаболический ацидоз, служащий одной из главных причин нарушения сократительной активности и повреждения миокарда (Grynberg A., 2005).

Компенсаторно для уменьшения внутриклеточного ацидоза и удаления избыточного количества  $\text{H}^+$  из цитоплазмы происходит включение  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника сарколеммы. Это ведет к увеличению внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$ , избыточное количество которого удаляется за счет резкого ускорения работы  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  обменника, но в результате возрастает содержание внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Снижение уровня АТФ подавляет активность  $\text{Ca}^{2+}$  АТФ-азы саркоплазматического ретикулума и ионы  $\text{Ca}^{2+}$  выходят из депо в цитоплазму. Перегрузка клеток ионами  $\text{Ca}^{2+}$  затрудняет фазу расслабления во время диастолы и нарушает сократительную активность. Одновременно высокие концентрации  $\text{H}^+$  подавляют связывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с тропонином, тем самым препятствуя акту мышечного сокращения. Важно, что в условиях ишемии значительные количества АТФ расходуются не на сократительную активность, а на восстановление и поддержание ионных градиентов в клеточных мембранах, что усугубляет снижение механической активности сердца. Следует подчеркнуть, что после реперфузии восстановление сокращения происходит только после нормализации образования АТФ и снижения внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  до нормальных значений (Stanley W.C., Marzilli M.A., 2003).

В сложившихся условиях гипоксии страдает функция всех систем организма, но наиболее чувствительна к ней нервная система: при полном прекращении кровотока признаки повреждения коры головного мозга обнаруживаются через несколько минут. Снижение потребления кислорода на 20% структурами головного мозга вызывает потерю сознания. Через 5-6 минут аноксии мозга возникают глубокие структурные изменения нейронов коры больших полушарий и через 10-15 мин в клеточных элементах продолговатого мозга. В сердечной мышце мелкие очаги некроза появляются через 3-5 мин. с момента ишемии, а крупноочаговый инфаркт формируется уже спустя 20-30 мин (Сидоренко А.Ф., 2000; Чеснокова Л.Ю. и др., 2006). Развивающийся метаболический ацидоз при острой коронарной недостаточности приводит к ограничению процессов окислительного фосфорилирования и активации гликолиза. Появление компенсированного метаболического ацидоза является одним из факторов адаптации сердечной мышцы к гипоксии и

ишемии миокарда. Переход ацидоза в некомпенсированную фазу приводит к альтерации миокардиальных структур. В зоне ацидоза нарушаются процессы мембранной проницаемости, электромеханического сопряжения, формируется аномальная электрическая активность, и активируются процессы клеточной альтерации. Следствием этого является снижение и полная потеря сократительной активности сердца, возникновение аритмий и инфаркта миокарда (Сидоренко А.Ф., 2000).

В результате ПОН возникает дисфункции печени, почек, кишечника появляются новые факторы повреждающего воздействия. В роли таковых выступают промежуточные и конечные продукты нормального обмена в высоких концентрациях (лактат, мочевины, креатинин, билирубин), накопленные в патологических концентрациях компоненты и эффекторы регуляторных систем (свертывающей, калликреин-кининовой, ПОЛ), и извращенного обмена (альдегиды, кетоны, высшие спирты), вещества кишечного происхождения типа индола, скатола, путресцина, что и приводит к развитию эндотоксикоза (Штейнле А.В., 2009).

На детоксикацию организма направлена работа микросомальных ферментов печени и других органов. Деятельность монооксигеназной системы, микросомального окисления и иммунитета сопряжены и функционально скоординированы для обеспечения детоксикации. Дисбалансом этих систем является разобщение окислительного фосфорилирования, что приводит к гибели клетки, либо к снижению ее функциональной активности, прямому токсическому повреждению тканевых структур и прогрессированию полиорганной недостаточности (Штейнле А.В.2009).

Одним из механизмов возникновения ПОН рассматривается развитие митохондриальной дисфункции на фоне метаболического ацидоза (Окороков А.Н., 2002, Васюк Ю.А., 2007). Митохондрии при гипоксии наиболее чувствительны к ацидозу. Нарушение структуры митохондрий при лактат-ацидозе приводит к резкому увеличению ионов кальция в цитозоле. При этом происходит активация мембранных фосфолипаз, что приводит к разрушению фосфолипидных структур мембран и высвобождение свободных жирных кислот (Гехт А.Б., 2000). При высоком уровне внутриклеточного кальция активизируются нейтральные протеазы – кальципаины, разрушающие цитоскелет клетки, в частности, белки фоурин и В-актин, лизирующие рецепторы и протеинкиназу С (Зайчик А.Ш., 2000; Окороков А.Н., 2002). В результате возникает недостаточность механизмов инактивации цитоплазматического кальция и удаления его из клеток в связи с подавлением активности АТФ-зависимого  $Ca^{2+}$ -насоса, натрий-кальциевого обменного механизма, дестабилизацией митохондриальных мембран и мембранэндоплазматического ретикулума, играющих в условиях нормы важную роль в поддержании баланса внутриклеточного кальция. Цитоплазматический кальций взаимодействует с внутриклеточным рецептором кальмодулином С – с последующей активацией кальмодулинзависимых протеинкиназ и включением тех или иных внутриклеточных реакций (Окороков А.Н., 2002; Васюк Ю.А., 2007).

При избытке внутриклеточного кальция усугубляются процессы набухания митохондрий, усиливается дефицит АТФ и подавляются все энергозависимые реакции в клетке (Баркаган З.С., 2001, 2008). Избыток кальция активизирует ядерные эндонуклеазы, фрагментирующие ДНК и индуцирует апоптоз. При гипоксическом некробиозе вокруг гибнущих клеток возникает кальцийзависимая активация системы комплемента, стимуляция коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, фибринолиза и калликреин кининовой системы. Активация под влиянием кальция фосфолипаз приводит к дальнейшей дезинтеграции мембран клеток, активации циклооксигеназы и липооксигеназы с последующим образованием простагландинов, лейкотриенов и свободных радикалов с выраженным цитотоксическим действием (Терещенко И.П., 1993).

К.А. Рямова (2008) изучала влияние рН и повышенных концентраций лактата, как факторов, вносящих свой вклад в развитие митохондриальной дисфункции. Установлено, что повышение концентрации лактата в несколько раз по сравнению с физиологическим уровнем, независимо от величины рН, может вызывать набухание митохондрий, сопровождающееся активацией дыхания и разобщение окислительного фосфорилирования.

Ключевым событием при активизации механизмов повреждения митохондрий при воздействии на клетку оксистеролов и избыточной концентрации свободного холестерина является нарушение микродоменной структуры плазматической мембраны, мембран эндоплазматического ретикулума и митохондрий. Это служит причиной нарушения функций мембранных белков и способствует высвобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из депо в цитозоль, развитию стресса эндоплазматического ретикулума, увеличению продукции активных форм кислорода NADPH-оксидазами и непосредственно нарушению функционирования митохондрий (Судаков Н.П., 2008). Указанный процесс реализуется за счет открытия  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов плазматической мембраны и ЭР, а также как следствие изменения конформации  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз из-за перенасыщения клеточных мембран холестерином и его окисленными формами, что способствует нарушению микродоменной структуры мембран (Massey J.B., 2006). Таким образом, кальцийзависимые митохондриальные механизмы апоптоза, индуцированного 7-кетохолестеролом, являются сложным феноменом, представляющим продукт активации различных проапоптотических и антиапоптотических сигнальных путей (Rho M.C., 2005).

Стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР), сопровождающийся быстрыми осцилляциями внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  активизирует еще один медиатор стрессовых сигналов эндоплазматического ретикулума (IRE-1), индуцирующего экспрессию генов CHOP и шаперона GRP78/Bip (Pedruzzi E., et al., 2004). Последний, в свою очередь, способствует снижению экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, блокирующего формирование митохондриальных апоптотических пор. Показано также, что сверхэкспрессия CHOP приводит к транслокации проапоптотического белка BAX в митохондрии. Проапоптотические гомологи типа BAX нарушают

целостность митохондриальной мембраны, способствуя выходу в цитозоль цитохрома С (McCullough K.D., et al., 2001; Непряхина О.К., 2009). Другим следствием стресса ЭР, опосредованного 7-кетохолестеролом, является активация сигнального пути IRE-1/Jun-NH(2)-terminal kinase (JNK)/AP-1, способствующего экспрессии Nox-4 – гомолога АФК-генерирующей NADPH-оксидазы. Активные формы кислорода, продуцируемые Nox-4, повреждают митохондриальные мембраны и способствуют развитию митохондриальной дисфункции (Pedruzzi E. Et al., 2004). Не исключается непосредственное влияние оксистеролов и избытка свободного холестерина на митохондриальные мембраны (Rho M.C. et al., 2005).

Еще одним механизмом развития критических состояний с присущей им полиорганной недостаточности является изменение активности ферментативных процессов в результате сдвигов рН среды. Даже кратковременные колебания концентрации водородных ионов (протонов) в жидких средах приводит к изменению активности ферментов и течения физиологических процессов (Норманн Г. И др., 2007). В результате снижение уровня активности креатинфосфата (КФ) метаболические нарушения в нервной ткани и миокарде наступают в течение нескольких секунд (Окорочков А.Н., 2002). При несбалансированном гидролизе АТФ во время ишемии происходит накопление АДФ и АМФ. Последний последовательно превращается в аденозин, инозин, гипоксантин и ксантин, который, благодаря гидрофобности, легко проходит через сарколемму и покидает клетки (Stremmel W. Et al., 2001). Таким образом, при ишемии уменьшается содержание адениновых нуклеотидов в кардиомиоцитах (КМЦ), что еще в большей степени затрудняет синтез АТФ. Степень снижения уровня АТФ зависит от скорости наступления ишемии, и ее тяжести.

Величина рН влияет на многие структурные и функциональные свойства клетки. Особенно чувствительна к сдвигам рН в кислую сторону каталитическая активность ферментов, так как оптимум рН для активности энзимов имеет строго определенные пределы. Поэтому поддержание рН на уровне обратимости химических реакций имеет одно из важных значений для поддержания гомеостаза организма (Somero D., 1981).

Как известно, процессы ресинтеза АТФ в митохондриях тесно связаны не только с окислительно-восстановительными реакциями, но и с реакциями гликолиза, липолиза, протеолиза, являющимися поставщиками Ац-СоА для цикла Кребса. Установлено, что регулируемыми ферментами гликолиза являются фосфофруктокиназа, пируваткиназа, поэтому их подавление в условиях гипоксии приводит к уменьшению образования свободной энергии и, в ряде случаев, носит необратимый характер. В то же время роль главного регуляторного фермента в последовательных реакциях гликолиза играет фосфофруктокиназа, которую ингибируют АТФ и цитрат, и стимулируют АМФ и АДФ (Ленинджер А., 1999). Скорость гликолиза в условиях нормы согласована со скоростью функционирования цикла лимонной кислоты: ни пируват, ни лактат, ни ацетил СоА обычно не накапливаются в клетках при нормальной оксигенации тканей. согласо-



ванность между скоростью гликолиза и метаболизмом субстратов в цикле Кребса, объясняется тем, что АТФ и НАД-Н являются общими компонентами для тех и других реакций. В то же время высокое содержание АТФ и НАД-Н ингибирует реакции гликолиза. Продукт первой стадии цикла лимонной кислоты – цитрат – является аллостерическим ингибитором ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы (Ленинджер А., 2002). Таким образом, в условиях гипоксии, в случаях увеличения потенциала фосфорилирования, возникает активация ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы (ФФК) и соответственно возрастает пропускная способность реакции анаэробного гликолиза на начальных этапах ишемического или гипоксического повреждения клеток, что сопровождается усилением мобилизации гликогена и улучшение энергообеспечения тканей. При этом истощаются запасы гликогена, усиливается ацидоз, приводящий на пике своего развития к подавлению ФФК, и полной блокаде энергообеспечения клетки (Зайчик А.Ш., 2000).

Лактат в физиологических условиях поступает в кардиомиоциты из плазмы крови и с помощью лактатдегидрогеназы (ЛДГ) также превращается в пируват, из которого под влиянием ПДГ в митохондриях образуется ацетил-КоА. В условиях же недостаточного поступления O<sub>2</sub> происходит превращение пирувата в лактат, который не утилизируется кардиомиоцитами, а секретируется в кровь (Stanley W.C., Marzilli M.A., 2003). Увеличение концентрации лактата в крови при отсутствии значительной физической нагрузки (ФН) и наличии ишемии является первым признаком наступления гликолиза в кардиомиоцитах (Stanley W.C., 2002).

Компенсаторно для уменьшения внутриклеточного ацидоза и удаления избыточного количества H<sup>+</sup> из цитоплазмы происходит включение Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обменника сарколеммы. Это ведет к увеличению внутриклеточной концентрации Na<sup>+</sup>, избыточное количество которого удаляется за счет резкого ускорения работы Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> обменника, но в результате увеличивается содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Снижение уровня АТФ подавляет активность Ca<sup>2+</sup> АТФ-азы саркоплазматического ретикулума, и ионы Ca<sup>2+</sup> выходят из депо в цитоплазму. Перегрузка клеток ионами Ca<sup>2+</sup> затрудняет фазу расслабления во время диастолы. Одновременно высокие концентрации H<sup>+</sup> подавляют связывание ионов Ca<sup>2+</sup> с тропонином, тем самым препятствуя акту мышечного сокращения. Важно, что в условиях ишемии значительные количества АТФ расходуются не на сократительную активность, а на восстановление и поддержание ионных градиентов в клеточных мембранах, что усугубляет снижение механической деятельности сердца. Следует подчеркнуть, что после реперфузии восстановление сокращения происходит только после нормализации образования АТФ и снижения внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> до нормы (Stanley W.C., Marzilli M.A., 2003).

В свою очередь, избыточное накопление ионов водорода и биологически активных соединений приводит к резкому увеличению проницаемости биологических мембран за счет структурных переходов в белках и липидах, и процессов активации свободнорадикального окисления (Владимиров Ю.А., 2000).

Следовательно, в условиях гипоксии различного генеза блокируются процессы окисления жирных кислот в тканях, в избытке накапливаются кислые продукты, формируется метаболический ацидоз и соответственно развивается дефицит АТФ, а также подавляются все энергозависимые реакции. Нарушение биоэнергетики, обусловленное гипоксией, высокий уровень катехоламинов в крови и метаболический ацидоз могут существенно интенсифицировать процессы ПОЛ в критических состояниях, что в конечном итоге приводит к массивному образованию свободных радикалов и токсичных перекисных соединений (Ленинджер А., 2002).

Супероксидные радикалы оказывают разрушающее действие на клеточные структуры. В частности, инактивация ион-транспортных ферментов в активный центр которых входят тиоловые группы (Na-K- АТФаза, Са- АТФаза), нарушает трансмембранный перенос ионов натрия, калия и особенно кальция. Более того, окисление SH-групп мембранных белков обуславливает появление дефектов в липидном слое мембран, в том числе и митохондрий, что приводит к потере ими способности осуществлять синтез АТФ.

Окилительный стресс приводит к повреждению сосудистой стенки, увеличению прокоагулянтной активности плазмы и тромбоцитов, что является одним из ведущих моментов развития атеросклероза (Бышевский А.Ш., 2000, 2008), а повреждение мембран тромбоцитов, эритроцитов и эндотелия, является пусковым механизмом развития острого инфаркта миокарда, а также мозгового кровообращения (Грицай Н.Н., 2000). Усиление липопероксидации уменьшает стабильность липидного слоя, что может приводить к электрическому пробое мембран кардиомиоцитов собственным мембранным потенциалом (Долгих В.Т., 2007).

Вышеописанные механизмы приводят сначала к электрофизиологическим нарушениям, к диастолической, а затем и к систолической дисфункции миокарда и лишь потом к возникновению болей в грудной клетке. Данная последовательность изменений получила название "ишемического каскада". Очевидно, что ангинозный приступ представляет собой его конечный этап, по сути "верхушку айсберга", в основании которого лежат возникшие из-за нарушений перфузии изменения метаболизма миокарда и прежде всего митохондриальная дисфункция, носящая в данном случае вторичный, приобретенный характер. Терминами "спящий, или гибернирующий миокард" описывается состояние дисфункции ЛЖ в покое, вызванной его длительной гипоперфузией, которая полностью или частично исчезает после улучшения коронарного кровообращения и/или снижения потребности миокарда в кислороде. Первоначально под гибернирующим (hibernating) подразумевался миокард с выраженным стенозирующим поражением коронарного русла, сократительная функция которого улучшалась после успешной хирургической реваскуляризации. В последующих исследованиях было показано наличие других причин, способных вызвать гибернацию миокарда. Во многих случаях миокардиальный кровоток может быть нормальным или почти нормальным в

покое, но при этом имеется снижение коронарного резерва, когда повторяющиеся эпизоды ишемии, индуцированной нагрузкой, вызывают развитие хронической сократительной дисфункции.

Таким образом, лактат-ацидоз вызывает множество разнообразных сдвигов в деятельности органов и систем, и сопровождается взаимообусловленными нарушениями функции крови, кровообращения, печени, почек, дезинтеграцией обменных процессов, что приводит к еще большему нарушению кислотно-основного баланса, замыкая порочный круг. В патогенезе этого патологического состояния до сих пор остается много неясных вопросов.

## Глава 2. Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 87 интактных животных обоего пола (87 кошках). 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 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 15 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

Таблица 1 Объем исследуемого материала	Величина рН в контроле и в опытах					Кол-во исследований
	рН 7,4	рН 7,2	рН 7,1	рН 7,0	рН 6,9	
Показатели						
Кислотно-щелочного равновесия	60	60	60	60	60	300
Показатели системы гемостаза	130	140	140	140	140	690
Морфологические исследования	220	220	220	240	240	1170
Световая микроскопия	130	180	180	120	120	730

Окончание табл. 1						
(качественные показатели)						
Морфометрия и стат.обработка.		120	120	120	120	600
Полутонкие срезы	120	20	20			60
Электронная микроскопия	20	20	20			60
	20					
Итого	730	760	760	680	680	3610

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 (Larrien 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. Си-

стемное 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.

#### 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.

## Глава 3. Результаты исследования

### 3.1. 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 укорачению 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 2).

Таблица 2 - Влияние лактат-ацидоза на показатели свертывания крови, оттекающей от печени

Исучаемые показатели n = 9	Контроль			Опыт		
	До инъекции			После инъекции		
	Бедрен-ная артерия	Нижняя полая вена	Ворот-ная вена	Бедрен-ная 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)*
Тромбино-вое 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)
Тромбино-вое 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: р - достоверность различий между контролем и опытом, n - количество исследований						

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

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 составляет 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 pH в бедренной артерии до 7,2, а в бедренной вене до 7,1 скорость свертывания крови резко воз-



растала 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 3).

Таблица 3 - Влияние различной степени лактат-ацидоза на некоторые показатели гемокоагуляционного гемостаза

Исследуемые 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.

### 3.2. Нарушение структурной организации сердца при экспериментальном остром лактацидозе

Углубление исследований функционирования сердечнососудистой 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). Микрочастицы высвобождаются из клеточной мембраны в результате активации клетки или апоптоза (Boulangier C. M., 2007; Dignat-George F., Boulangier C. M., 2011). Мембрано-высвобожденные 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, мембрано-высвобожденные 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).

Изучение механизмов генерации мембрано-высвобожденных 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., Ju 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. el 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)

Гистологические, гистохимические и электронно-микроскопические исследования миокарда, соединительно-тканного каркаса и сосудов микроциркуляторного русла сердца позволили выявить целый ряд морфологических изменений в зависимости от глубины и продолжительности метаболического ацидоза.

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 (рис. 1). 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 карิโอплазмы: 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 (рис. 2).

В ядрах эндотелиоцитов меняется структура карิโอплазмы: ее гранулярные компоненты скапливаются преимущественно около внутреннего листка ядерной оболочки, перинуклеарное пространство расширяется. В некоторых эндотелиоцитах митохондрии овоидной формы с плотным матриксом и несколько расширенными кристами. Цистерны и каналцы саркоплазматического ретикулума и пластинчатого комплекса расширены. Часть эндотелиоцитов выглядит набухшими: их наружные контуры сильно сглажены, а плазматическая мембрана на отдельных участках обнаруживает признаки деструкции. Цитоплазма эндотелиоцитов светлая и практически не содержит микровезикул. Матрикс митохондрий резко просветлен, а кристы оказываются укороченными или полностью редуцированными. В зернистой цитоплазматической сети и пластинчатом комплексе отмечается значительное расширение цистерн, фрагментирующихся на крупные вакуоли. Количество рибосом резко уменьшено. У многих эндотелиоцитов значительные ультраструктурные изменения претерпевает клеточная поверхность. Эти изменения выражаются в локальной деструкции плазматической мембраны и выходе органелл в просвет капилляров. Прослеживается отрыв отдельных эндотелиоцитов от базальной мембраны, а в более поздние сроки – десквамация эндотелиоцитов (рис. 3).



Рисунок 1 - Миокард кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,2, продолжительность 30 мин.). Капилляр, окруженный перицитами. Цитоплазматические мембраны клеток соединительной ткани разрушены. Выраженная деформация цитоплазматической мембраны эндотелиоцита, образуются выросты или везикулы, которые отрываются и попадают в просвет капилляра. Перикапиллярный отек. Ув. 7000. Электронная микроскопия.

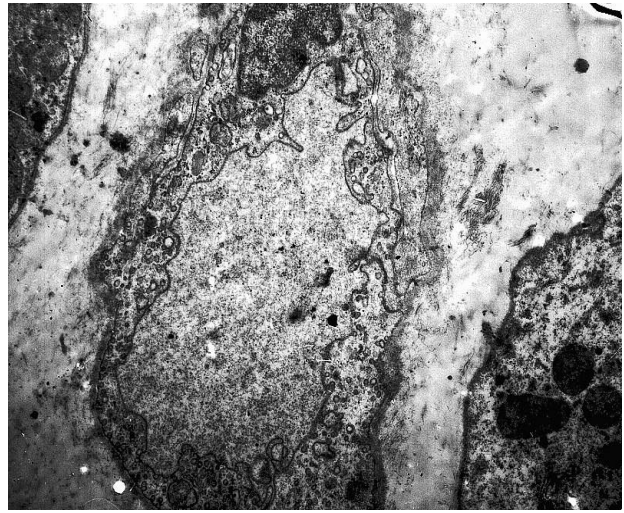


Рисунок 2 - Желудок. Эндотелиоцит при рН крови 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин. Нарушение структуры цитоплазматической мембраны. Перикапиллярный отек. Ув.: 20 000.

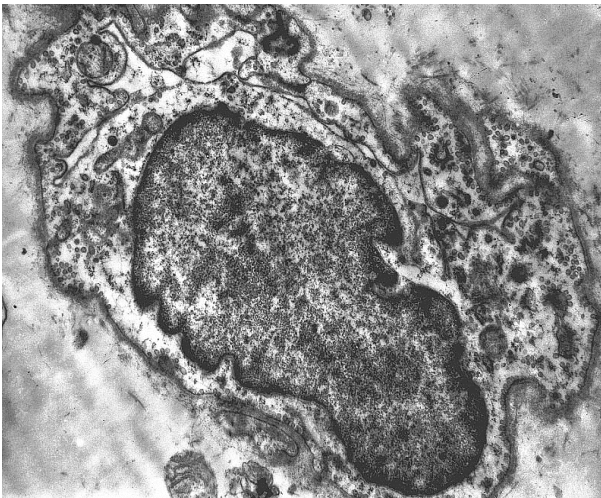


Рисунок 3 - Миокард кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,2, продолжительность 30 мин.). Капилляр. Ядерная оболочка размыта, отмечается маргинация хроматина, цитоплазматическая мембрана несколько деформирована, образует выросты, обращенные в просвет капилляра. Отдельные митохондрии находятся в межклеточном пространстве. Перикапиллярный отек. Электронная микроскопия.

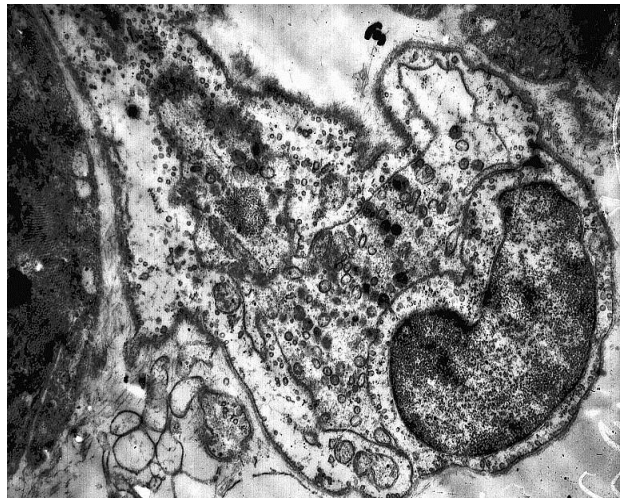


Рисунок 4 - Миокард кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,0, экспозиция 30 мин). Цитоплазматическая мембрана эндотелиоцита разрушена, органоиды клетки поступили в просвет капилляра и в межклеточное пространство. Ув.: 20 000. Электронная микрофотография.

Эндотелий длительное время рассматривался как несмачиваемая полупроницаемая мембрана, отделяющая кровоток от подлежащих тканей. В действительности, эндотелий – динамич-

ный 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 (Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2009). Эндотелиальные клетки секретируют медиаторы, которые регулируют гемодинамику, и ферменты, участвующие в процессах свертывания крови. Это оксид азота, который приводит к вазодилатации и в тоже время тормозит адгезию лейкоцитов, адгезию и агрегацию тромбоцитов и вызывает их дезагрегацию, подавляет миграцию и пролифериацию гладкомышечных клеток. Кроме того, 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. Эндотелиоцитарные микровезикулы при некоторых заболеваниях отражают состояние эндотелиальной дисфункции (Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2009). При ацидозе мы также наблюдали деформацию клеточной мембраны эндотелиоцитов и образование микровезикул.

При продолжительности ацидоза 60 и более минут и сдвиге рН 7,0 в значительном числе мышечных клеток заметны набухшие, увеличенные митохондрии с просветленным матриксом, расширенными межкристинными пространствами, очаговым разрушением крист. Разрушение крист и «вымывание» матрикса в некоторых митохондриях приводит к их вакуолизации (рис. 5, 6).

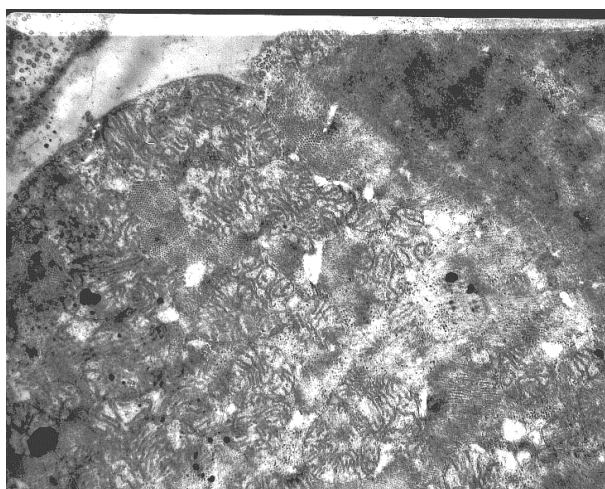


Рисунок 5 - Миокард кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,2, экспозиция 15 мин). Происходит набухание митохондрий, отек, просветление матрикса, имеются разрывы внутренней и наружной мембран митохондрий. Ув.: 20 000. Электронная микрофотография.

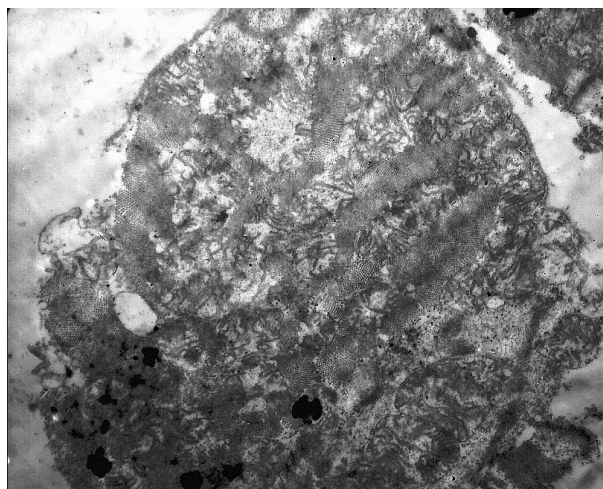


Рисунок 6 - Миокард кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,0, экспозиция 30 мин). Происходит разрушение кардиомиоцитов, клеточная мембрана разрушена, органоиды клетки поступили в межклеточное пространство. В митохондриях миокарда имеются разрывы внутренней и наружной мембран. Ув.: 20 000. Электронная микрофотография.

По данным световой микроскопии на полутонких срезах при сдвиге рН крови до 7,2 отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитолиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитолиз, исчезновение поперечной мышечных волокон рис. 7-10). 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 овоидной формы, неравномерно прокрашенные, отмечается нерезко выраженный межклеточный отек, капилляры с уплощенной эндотелиальной выстилкой.

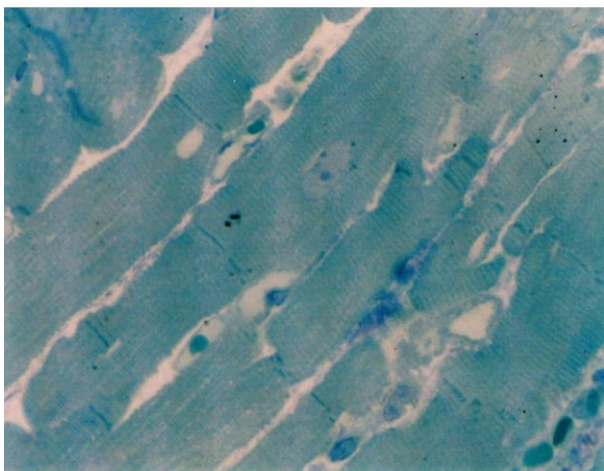


Рисунок 7 - Продольный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитолиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек, капилляры с уплощенной эндотелиальной выстилкой. рН крови 7,2 продолжительность ацидоза 15 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.

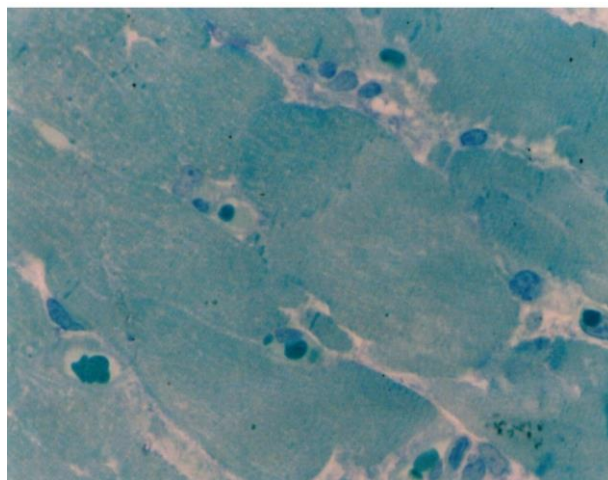


Рисунок 8 - Продольный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитолиз, исчезновение поперечной мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек, капилляры с уплощенной эндотелиальной выстилкой. рН крови 7,2. продолжительность ацидоза 15 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.



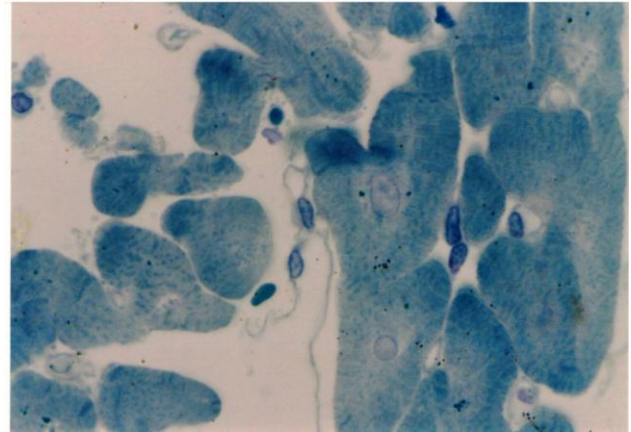
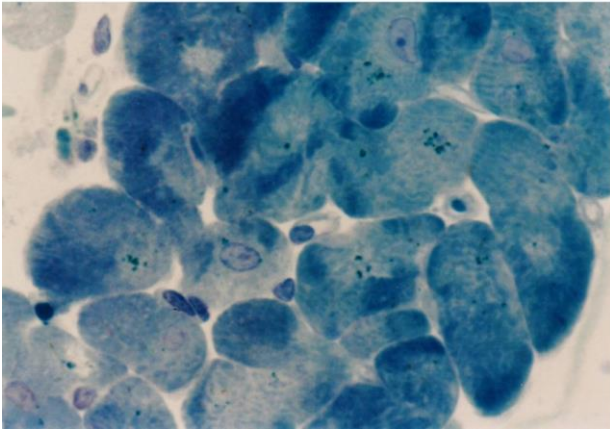


Рисунок 9 - Поперечный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитоллиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек. рН крови 7,2 продолжительность ацидоза 15 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.

Рисунок 10 - Поперечный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается дистрофия кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитоллиз, исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные, нерезко выраженный межклеточный отек. рН крови 7,2 продолжительность ацидоза 15 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.

По данным световой микроскопии в миокарде при экспериментальном лактат-ацидозе развиваются неспецифические изменения, которые зависят от его глубины и продолжительности. При этом страдают кардиомиоциты, соединительно-тканый каркас и микроциркуляторное русло. Сдвиг рН крови до 7,2 продолжительностью 30 мин. сопровождается полнокровием сосудов органов, отеком сосудистой стенки и околососудистого пространства, лимфостазом, агрегацией форменных элементов крови. При оптической микроскопии наблюдаются явления застоя крови различной степени выраженности, начиная с эритроцитов, накопленных в капиллярах и кончая образованием тромбов и микротромбов 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.

Отек, наиболее выраженный в перикапиллярных зонах по ходу мышечных волокон, обнаруживается уже при рН 7,2 на первых 30 минутах ацидоза. 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 более длительной экспозиции ацидоза в соединительнотканых клетках, прилежащих к участкам мышечных волокон, наблюдаются явления миоцитоллизиса, базофилия тел и отростков фибробластов (рис. 12).

В участках миокарда, расположенных в непосредственной близости с капиллярами отчетливо заметен отек саркоплазмы, расширение канальцев саркоплазматического ретикулума. Ядро, миофибриллы сохраняют свое обычное строение. На протяжении 30 минут ацидоза в мышечных

клетках левого желудочка гранулы гликогена почти полностью отсутствуют, 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 (рис. 12).

Метаболический лактат – ацидоз (рН крови 7,0 – 6,9) на протяжении 60 – 128 минут вызывает наиболее резкие и распространенные изменения структуры миокарда. Наряду с клетками, сохраняющими нормальное строение, обнаруживаются большинство клеток с изменениями в миофибрилярном аппарате. Клетки с контрактурой миофибрилл обнаруживаются по одиночке или небольшими группами чаще в левом желудочке, рядом с мелкими сосудами. В окрашенных препаратах мышечные клетки с контрактурой миофибрилл связывают кислые красители (эозин) более интенсивно, чем нормальные клетки. Ядра в таких клетках, как правило, сохранены, хотя выглядят несколько пикнотичными – они компактнее, с более грубой хроматиновой зернистостью. В других клетках отмечается распад гранулярных компонентов кариоплазмы, оболочки их сморщенные, либо вовсе отсутствуют (некроз). Ядра фибробластов представляются гиперхромными, а их хроматиновая структура более грубой, чем у ядер клеток контрольных животных. Таким образом, 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 отек (рис. 11, 12).

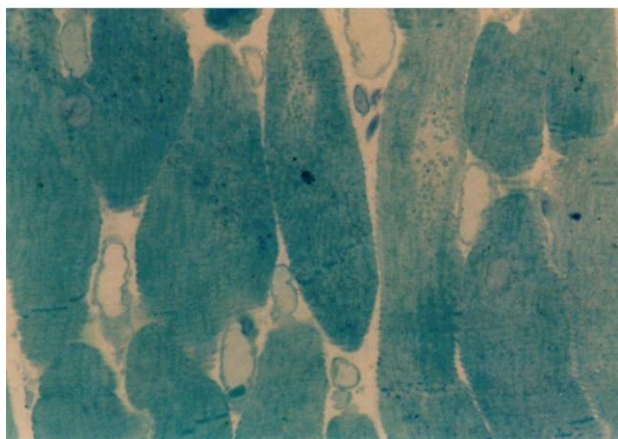


Рисунок 11 - Поперечный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается некробиоз кардиомиоцитов, неравномерно выраженная гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз, капилляры на поперечном срезе с набухшим эндотелием, периваскулярный и межклеточный отек. рН крови 7,0 и продолжительность ацидоза 30 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.



Рисунок 12 - Продольный срез мышечного волокна миокарда кошки. Отмечается дистрофия и некробиоз кардиомиоцитов, неравномерно выраженная гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и очаговый глыбчатый распад, периваскулярный и межклеточный отек. рН крови 7,0 и продолжительность ацидоза 30 минут. Ув.:об.1000. Микрофотография.



В литературе патологический неспецифический процесс в миокарде, развивающийся в ответ на экстремальные воздействия получил название «миокардиодистрофии». Наиболее часто к миокардиодистрофии приводят ишемические повреждения миокарда, как результат неадекватного спроса сердечной мышцы. На протяжении 30-60 минут (рН крови 7,2) ацидоза во всех слоях стенки правого и особенно левого желудочков отек нарастает. Отмечается дистрофия отдельных групп кардиомиоцитов, неравномерно выраженный контрактурный тип поражения результат очагового сокращения миофибрилл, внутриклеточный миоцитоллиз и глыбчатый распад, и как следствие местами отмечается исчезновение поперечных мышечных волокон. Ядра кардиомиоцитов овоидной формы, неравномерно прокрашенные. В миокарде наблюдаются отечные явления, выражающиеся в нерезком периваскулярном и интермышечном отеке. Понижается способность эластических и аргирофильных волокон соответственно окрашиваться фукселином Харта, импрегнироваться азотнокислым серебром. По ходу волокон отмечаются разрывы и фрагментации, зигзагообразная извитость аргирофильных волокон. В микроциркуляторном русле выявляется стаз, сладжи эритроцитов, микрокровоизлияния. Постепенно снижается содержание гликогена в кардиомиоцитах (рис. 13-18).

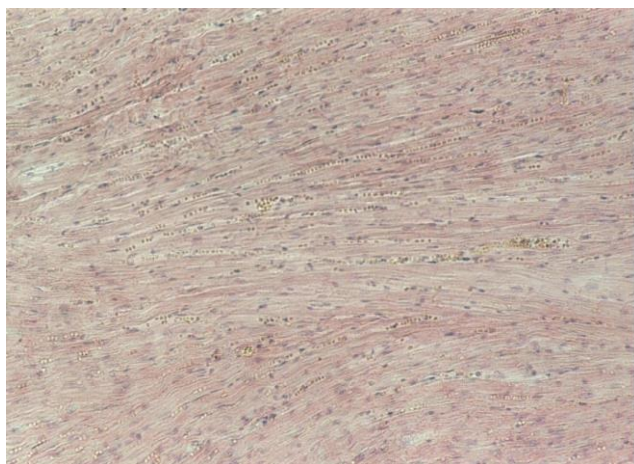


Рисунок 13 - Продольный срез мышечного волокна левого желудочка сердца кошки. Сосуды микроциркуляторного русла большей частью парэтически расширены, отмечается уплотнение цитоплазмы эндотелиальных клеток сосудов, в просветах сосудов и в диапедезных экстравазатах обнаруживаются сферовидные эритроциты, сладжи эритроцитов. В миокарде наблюдаются отечные явления, выражающиеся в нерезком периваскулярном и интермышечном отеке. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Гематоксилин-эозин. Ув.: об. 20. Микрофотография.

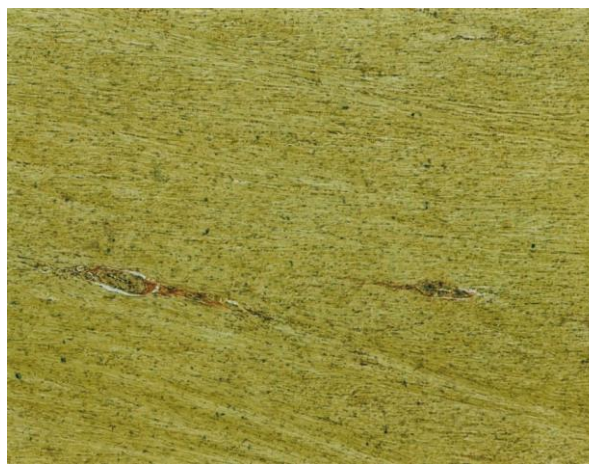
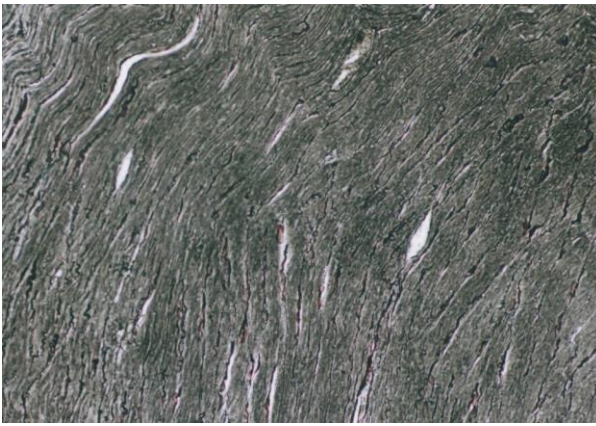
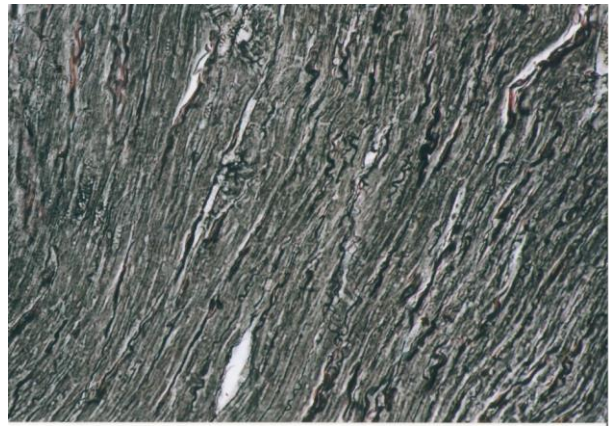


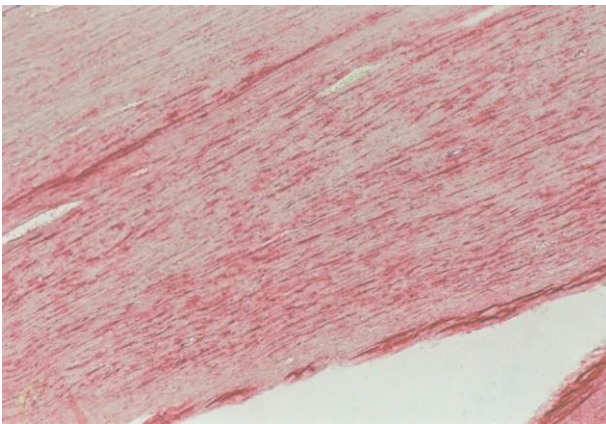
Рисунок 14 - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки. Отмечается очаговое, преимущественно периваскулярное увеличение объема волокнистой соединительной ткани в виде узких прослоек. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Ван-Гизон Ув.: об. 10. Микрофотография



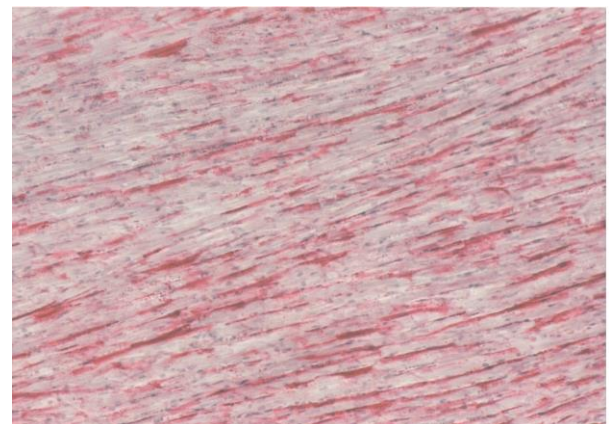
**Рисунок 15** - Продольный срез мышечного волокна правого желудочка сердца кошки. В периваскулярной и межмышечной зонах отмечается зигзагообразная извитость отдельных волокон ретикулярной ткани. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Импрегнация серебром по Футу. Ув.: об. 20. Микрофотография.



**Рисунок 16** - Продольный срез мышечного волокна левого желудочка сердца кошки. В периваскулярной и межмышечной зонах отмечается зигзагообразная извитость отдельных волокон ретикулярной ткани. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Импрегнация серебром по Футу. Ув.: об. 20. Микрофотография.



**Рисунок 17** - Продольный срез мышечного волокна правого желудочка сердца кошки. Отмечается неравномерно выраженное снижение гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Кармином по Бесту. Ув.: об. 10. ок. 10 Микрофотография.

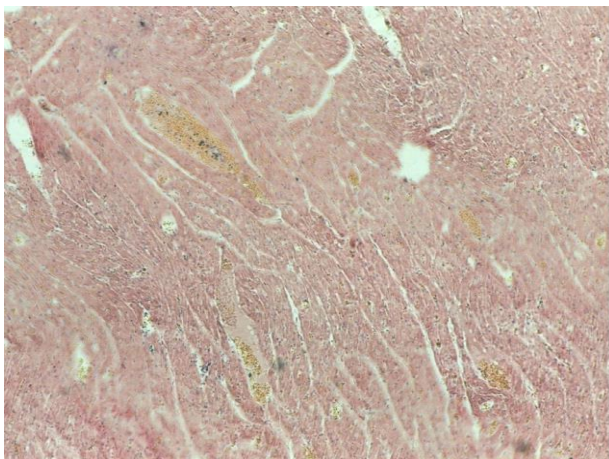


**Рисунок 18** - Продольный срез мышечного волокна левого желудочка сердца кошки. Отмечается снижение содержания гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов. рН крови 7,2 и продолжительность ацидоза 60 минут. Кармином по Бесту. Ув.: об. 20. Ок 20 Микрофотография.

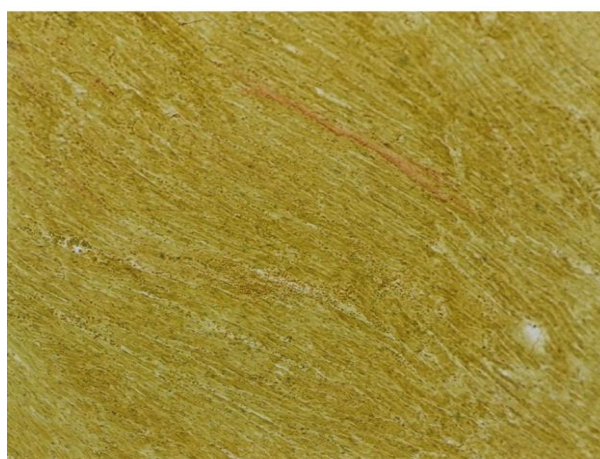
При дальнейшем сдвиге рН до 7,1 и продолжительности более 60 минут обнаруженные изменения в кардиомиоцитах следует трактовать как «необратимые», отмечаются тяжелые изменения кардиомиоцитов при сохраненной строме и минимальных изменениях в сосудистом русле, учитывая выше изложенное, отмеченные изменения следует трактовать как «очаговые повреждения» миокарда. Сосуды микроциркуляторного русла с признаками неравномерного полнокровия, частью расширены, эндотелиальная выстилка уплощена в просветах отдельных сосудов эритроцитарные тромбы, микрокровоизлияния. Отмечается выраженный периваскулярный и межмышечный отек. В периваскулярной и межмышечной зонах отмечается значительно выраженный отек, расслоение, фрагментация и зигзагообразная извитость отдельных волокон ретикулярной ткани. Происхо-



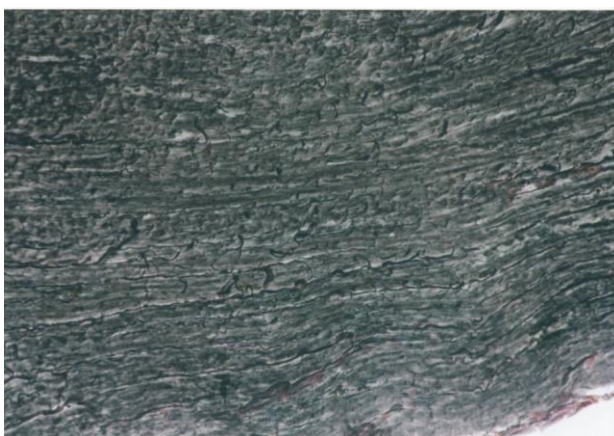
дит значительное снижение содержания гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов. Изменения в миокарде из правых и левых желудочков однотипные (рис. 19-22).



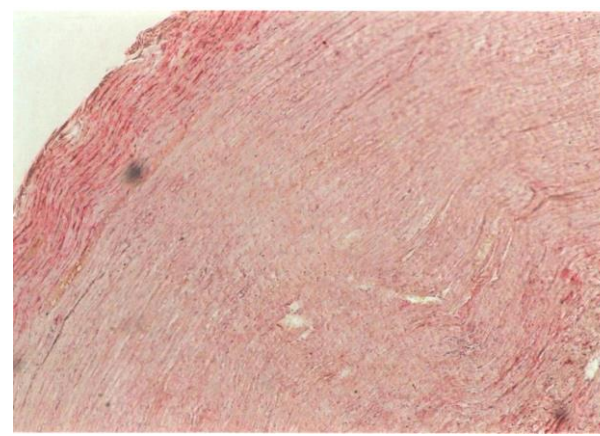
**Рисунок 19** - Продольный срез мышечного волокна кошки, левый желудочек. Сосуды микроциркуляторного русла с признаками неравномерного полнокровия, частью расширены, эндотелиальная выстилка уплощена в просветах отдельных сосудов эритроцитарные тромбы. Выраженный периваскулярный и межмышечный отек. рН крови 7,1 и продолжительность ацидоза 70 минут. Гематоксилин-эозин. Ув.: об. 20. Микрофотография.



**Рисунок 20** - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, левый желудочек. Основная часть микропрепарата представлена мышечной тканью. В одном из участков отмечается периваскулярное увеличение объема волокнистой соединительной ткани в виде узких прослоек. рН крови 7,1 и продолжительность ацидоза 70 минут. Ван-Гизон. Ув.: об. 10. Микрофотография.



**Рисунок 21** - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, правый желудочек. В периваскулярной и межмышечной зонах отмечается значительно выраженная зигзагообразная извитость отдельных волокон ретикулярной ткани. рН крови 7,1 и продолжительность ацидоза 70 минут. Импрегнация соединительной ткани по Футу. Ув.: об. 20. Микрофотография.



**Рисунок 22** - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, правый желудочек. Отмечается значительное снижение содержания гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов. рН крови 7,1 и продолжительность ацидоза 70 минут. Кармином по Бесту. Ув.: об. 10. Микрофотография

При сдвиге рН до 7,0 продолжительностью 60-120 минут Обнаруженные изменения в кардиомиоцитах следует трактовать как «необратимые». Выявляются тяжелые изменения кардиомиоцитов при сохраненной строме и минимальных изменениях в сосудистом русле, учитывая

выше изложенное, отмеченные изменения следует трактовать как «очаги повреждения» миокарда. Отмечается дистрофия и некробиоз кардиомиоцитов, гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и глыбчатый распад, очаги коагуляционного некроза, исчезновение поперечной и очаговая фрагментация, местами дугообразная изогнутость-контрактура мышечных волокон. Значительно выраженный периваскулярный и межмышечный отек. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, эндотелий в состоянии отека, в просветах сосудов единичные эритроциты, тромбы, лейкоцитарная инфильтрация. В периваскулярной и межмышечной зонах, вероятно за счет отека, отмечается снижение, а местами исчезновение зигзагообразной извитости отдельных волокон ретикулярной ткани. Происходит разрушение аргирофильного каркаса органа, отек, фрагментация и разрывы аргирофильных волокон. В кардиомиоцитах происходит резкое снижение гликогена в клетках (рис. 23-28).

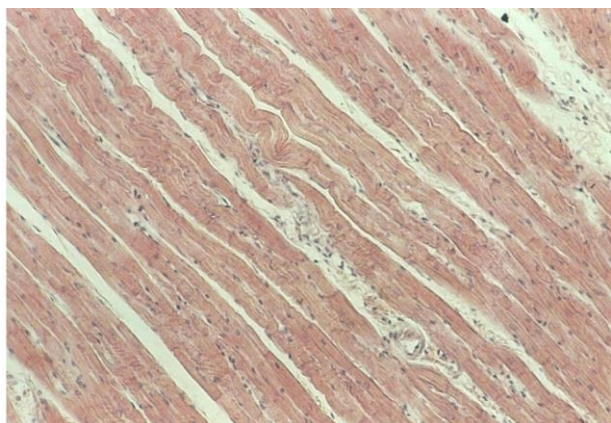


Рисунок 23 - Продольный срез мышечного волокна, левого желудочка кошки. Отмечается дистрофия и некробиоз кардиомиоцитов, гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и глыбчатый распад, очаги коагуляционного некроза, исчезновение поперечной и очаговая фрагментация, местами дугообразная изогнутость-контрактура мышечных волокон. Значительно выраженный периваскулярный и межмышечный отек рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 120 минут. Гематоксилин-эозин. Ув. 20. Микрофотография

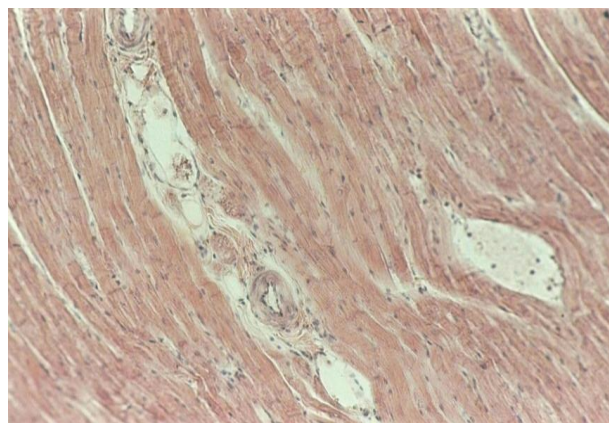


Рисунок 24 - Продольный срез мышечного волокна, левого желудочка кошки. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, эндотелий четко дифференцируется, набухший, сочный в просветах сосудов единичные эритроциты. Значительно выраженный периваскулярный и межмышечный отек рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 120 минут. Гематоксилин-эозин. Ув. 20. Микрофотография



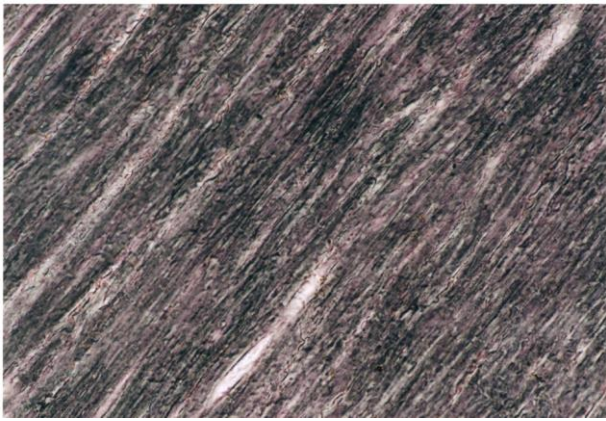


Рисунок 25 - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, левый желудочек. рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 120 минут. Импрегнация соединительной ткани по Футу. Ув. 20. Микрофотография.

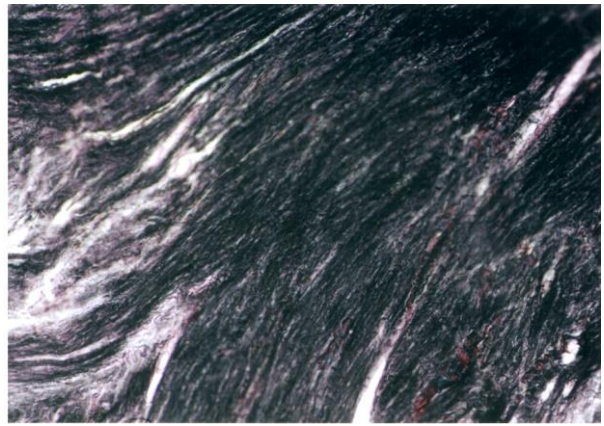


Рисунок 26 - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, правый желудочек. В периваскулярной и межмышечной зонах, вероятно за счет отека, отмечается снижение, а местами исчезновение зигзагообразной извитости отдельных волокон ретикулярной ткани. рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 120 минут. Импрегнация соединительной ткани по Футу. Ув. 10. Микрофотография.

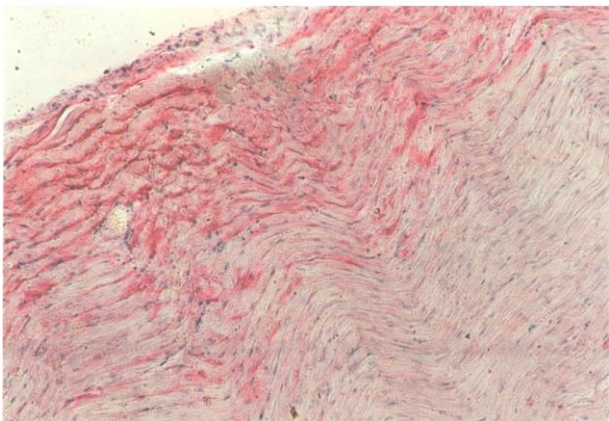


Рисунок 27 - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, правый желудочек. Отмечается значительное снижение содержания гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов в миокарде, лейкоцитарная инфильтрация при сдвиге рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 60 минут. Кармином по Бесту. Ок 10, об. 20. Микрофотография.

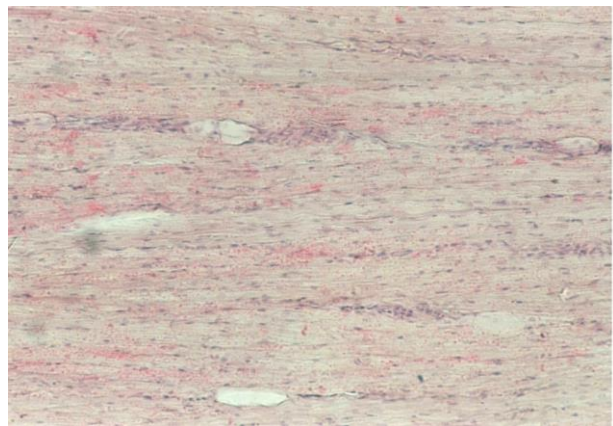
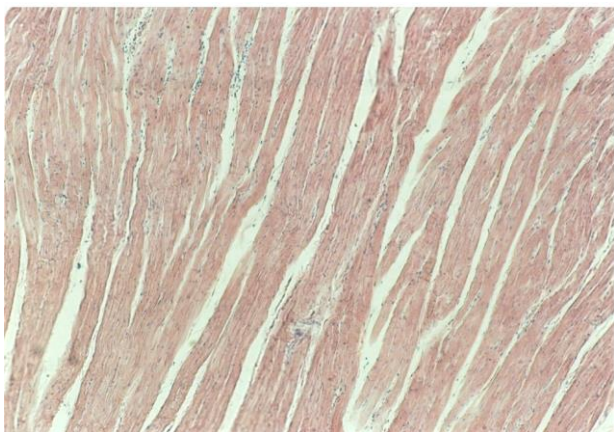


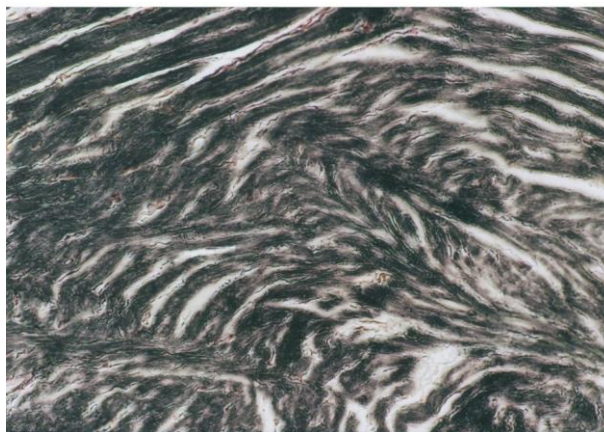
Рисунок 28 - Продольный срез мышечного волокна сердца кошки, левый желудочек. Отмечается значительное снижение содержания гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов в миокарде, отек, лейкоцитарная инфильтрация при сдвиге рН крови 7,0 продолжительность ацидоза 60 минут. Кармином по Бесту. Ок 10. Об. 20. Микрофотография.

Дальнейший сдвиг уровня рН до 6,9 и продолжительности ацидоза 120 минут приводит к более выраженным изменениям миокарда. Отмечается некробиоз и некроз кардиомиоцитов с кариолизисом, гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и пикнотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитоллиз и глыбчатый распад, очаги коагуляционного некроза, исчезновение поперечной кардиомиоцитов и очаговая фрагментация, контрактура мышечных волокон, а также обнаруживаются очаги нейтрофильной лейкоцитарной инфильтрации. В периваскулярной и межмышечной зонах, как след-

ствии отека, отмечается исчезновение зигзагообразной извитость отдельных волокон ретикулярной ткани и разрушение аргирофильного каркаса органа (рис. 29, 30).



**Рисунок 29** - Продольный срез мышечного волокна сердца, левого желудочка кошки. Отмечается дистрофия и некробиоз кардиомиоцитов, некроз кардиомиоцитов с кариолизисом, гиперэозинофилия цитоплазмы, гиперхромия и поскотическое сморщивание ядер, внутриклеточный миоцитолит и глыбчатый распад, очаги коагуляционного некроза, исчезновение поперечной и очаговая фрагментация, местами дугообразная изогнутость- контрактура мышечных волокон, в одном из участков обнаруживаются в небольшом количестве нейтрофильные лейкоциты. рН крови 6,9 и продолжительность ацидоза 105 минут. Гематоксилин-эозин. Ув.: 10 Микрофотография.



**Рисунок 30** - Продольный срез мышечного волокна сердца, правого желудочка кошки. В периваскулярной и межмышечной зонах, как следствие отека, отмечается снижение, а местами исчезновение зигзагообразной извитость отдельных волокон ретикулярной ткани рН крови 6,9 и продолжительность ацидоза 120 минут. Импрегнация соединительной ткани по Футу. Ув.: 10. Микрофотография.

Таким образом, 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 лактатацидозом, 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.

Таблица 4 - Процентное соотношение сладжей и тромбов в органах пищеварительной системы при лактат-ацидозе в сосудах микроциркуляторного русла

Отдел желудочно-кишечного тракта	n	pH крови							
		pH 7,2		pH 7,0		pH 6,8		pH 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.

## Выводы

1. 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.

2. 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 РМФК. Увеличение глубины ацидоза и его продолжительности приводит к спонтанной агрегации тромбоцитов и потреблению факторов свёртывания крови, что, в конечном итоге, ведет к развитию вторичной гипокоагуляции. При этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда ТЭГ, падает число и уменьшается  $\zeta$ -потенциал тромбоцитов. Прохождение крови через печень изменяет ее гемокоагуляционные свойства, направленные на коррекцию процессов гемостаза.

3. 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 миоцитолузу 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.

4. 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.



## Глава 4. Результаты теоретических и экспериментальных исследований

### 4.1. 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 400 литературных источников, в том числе 225 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.

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, возникающих 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.

#### 4.2. 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.

#### 4.3. 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.Kempinski (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 слущивание эндотелия, разбухание фрагментация соединительнотканых элементов. Авторами установлено, что в цитозоле гепатоцитов при ацидо-

зе 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.

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

Впервые на ультраструктурном уровне описаны закономерности и выявлены механизмы структурных изменений в миокарде 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 сердца и сосудов микроциркуляторного русла, а также эндотелиоцитов.

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, а также развития миокардиодистрофии при ацидозе в зависимости от глубины рН и продолжительности ацидоза.

Частичная обработка полученных данных эксперимента нашла отражение в следующих публикациях в российских научных журналах из списка ВАК, журналах из базы данных Scopus.

Выполнены и защищены 3 курсовые работы, 1 дипломный проект, выпущены 2 монографии по исследуемой проблеме, подана заявка на изобретение, продолжается работа над кандидатской диссертацией и монографией «ДВС-синдром в клинике и эксперименте», выпущены 2 учебных пособия с учетом результатов НИР.

4.5. 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.

4.6. 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 курсе 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 «Первая помощь пострадавшим в условиях ЧС» для направлений 032102 «Адаптивная физическая культура»; «Физиология физических упражнений», «Спортивная медицина» по специальностям 032102 «Физическая культура и спорт», 050720 «Физическая культура» и второе учебное пособие «Возрастная анатомия, физиология и гигиена» для направлений 032102 «Адаптивная физическая культура»; «Физиология физических упражнений», «Спортивная медицина» по специальностям 032102 «Физическая культура и спорт» и др. направлений подготовки ФБГОУ ВПО Забайкальский государственный университет.

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

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 взаимосвязи 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  $\text{La}$ , а также от  $\text{pCO}_2$  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, тренирующихся 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 неспортсменов. 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  $\text{La}$  в крови и снижению рН (Davis J.A., 1985; Горн М.М. и др., 2000; De Bekker D., 2003).

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).

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 (Kirchbaum 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 гиперфибринолизу. Компенсированный метаболический ацидоз лежит в основе таких заболеваний, как сахарный диабет, гипертоническая болезнь, заболевания почек, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, атеросклероз и пародонтит (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 (Шестаков В.А., 1968; Альфонсов В.В. и соавт., 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, VII фактор не утрачивает ферментативной активности при более низких рН.

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.

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.

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 постуление 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 при-



емущественно 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., 2009, 2010) 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, сопровождается повреждением структур клеток и межклеточного вещества. Наиболее характерными являются маргинация и конгломерация (структурирование) хроматина, вплоть до кариопикноза, разрушение аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикула, просветление матрикса митохондрий, деформация крист, 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 агломерация хроматина, повреждается мембрана и в ней можно зарегистрировать разрывы. Аппарат Гольджи и саркоплазматический ретикулум вакуолинизируются и теряют рибосомы. Наружная и внутренняя стороны мем-

браны 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) 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, 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 pH 7,2. Плазма содержит обычно 99% неактивного VII фактора в количестве 500 нг/мл и 1% VIIa, который может связываться с факторами ткани 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 (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. Активация происходит при изменении мембранных свойств или при контакте с внутренней поверхностью мембраны другого состава липидов (Sevinsky J.R. 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; Rao L.V.M. et al., 1992). Фактор VII может служить субстратом для VIIa в реакциях автоактивации, которая стимулируется факторами ткани. Эта реакция требует, чтобы комплексы тканевой фактор и VIIa и тканевой фактор и VII соединились друг с другом боковым расположением на мембране. Увеличение уровня VII фактора является фактором риска для возникновения тромбозов, ишемии и стенокардии, осложнений сахарного диабета, уремии, повреждений периферических сосудов (Morrissey J.H., 1996), формировании больших тромбов (Ruddock V. et al., 1994). 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 (Boulanger 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 (Boulanger C. M., 2007; Dignat-George F., Boulanger 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).

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 ка-

пилляров 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.

Механизм развития ДВС при воспалительных, инфекционных и других заболеваниях, в том числе и сопровождающихся пудозом 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 абортный или лёгкий характер, а заболевание вскоре заканчивается выздоровлением. При этом может усиливаться постоянное внутрисосудистое 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 $\alpha$  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; 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 литературе 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 (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 сочетан-

ной 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 случаи клинического проявления стенокардией стала обозначаться как кардиальный синдром X (Коркушко О.В., Лишнева В. Ю., 2003; Дедов И.И., Александров А.А. и др., 2006).

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 местах наступают не одновременно. Полученные изменения миокарда свидетельствуют о развитии острого

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 кариопикноза, 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.

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).

Синдром длительного раздавливания также приводит к нарушению структуры печени. Нарушение морфологии печени наблюдается при экспериментальном шоке и других повреждениях. 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  $\text{Na}^+$  и приводит к нарушению структурных образований клеток печени и миокарда. Отмечалась «маргинация» ядра, неравномерное распределение хроматина, уменьшение гликогена, набухание митохондрий, исчез-



новение 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.

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

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Асташкин Е.И. Фармакологическая регуляция обмена энергетических субстратов в кардиомиоцитах при патологических состояниях, связанных с ишемией / Е.И. Асташкин, М.Г. Глезер // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – V. 5(7). – С. 112-116.
2. Байрамов А.А. Метаболическая коррекция состояний сердечно-сосудистой системы / А.А. Байрамов, А.А. Богданова, П.А. Солдатенков // РМЖ. – 1999. – № 6. – С. 53.
3. Баркаган З.С, Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Изд-во Ньюдиамед, 2001. – 292 с.
4. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.
5. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечнососудистая хирургия. – М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2009. – 185 с.
6. Бокерия Л.А., Бузиашвили Ю.И., Мацкеплишвили С.Т. и др. Применение моноклеарных клеток костного мозга в терапии сердечной недостаточности у больных ИБС / Л.А. Бокерия, Ю.И. Бузиашвили, С.Т. Мацкеплишвили и др. // Бюлл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2005. – Т.6. – № 5 – С. 298.
7. Бутылин Ю.П. Острая сердечнососудистая недостаточность (шок) / Ю.П. Бутылин, В.Ю. Бутылин, Д.Ю. Бутылин // Острые и неотложные состояния в практике врача. – № 3. – 2007. – 444 с.
8. Бутылин Ю.П., Бутылин В. Ю., Бутылин Д. Ю. Интенсивная терапия неотложных состояний. Патопфизиология, клиника, лечение. – Киев: Новый друк, 2003. – 528 с.
9. Бышевский А.Ш. Интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген, липидпероксидация и толерантность к тромбину при дефиците витамина С / А.Ш.Бышевский, Е.М.Шаповалова, А.Ю.Рудзевич // Гематология и трансфузиология. - 2008. - 53. - 4. С.41-46
10. Бышевский А.Ш. Механизмы связи гемостаза и перекисного окисления липидов / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, П.Я. Шаповалов // Материалы V национальной конференции посвященной актуальным вопросам свертывания крови. – Москва, 2000. – С. 52-54.
11. Васюк Ю.А. Вторичная митохондриальная дисфункция при остром коронарном синдроме / Ю.А. Васюк, К.Г. Куликов и др. // Рац. Фарм. в Кардиологии. – 2007. – № 1. – С. 41-47
12. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю.А. Владимиров // Соросов. Образ. Журнал. – 2000. – № 6(12). – С. 13-19.
13. Гехт А.Б. Лечение больных инсультом в восстановительном периоде / А.Б. Гехт // Consilium medicum. – 2000. – № 12. – С. 56-63.

14. Горн М.М., Хейтц У.И., Сверингер П.Л. Водно-электролитный баланс и кислотно-основное равновесие. – С-Пб.: Невский диалект, 2000. – 325 с.
15. Городецкий В.К. Патофизиология углеводного обмена / В.К. Городецкий // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 25-32.
16. Грищенко Д.А. Клиническое значение лактата в определении послеоперационной сердечной недостаточности у больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения / Д.А. Грищенко, А.А. Фурсов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №2. – С. 42-44.
17. Грищенко Д.А. Оценка метаболического статуса тромбоцитов в норме и при ишемической болезни сердца / Д.А. Грищенко, А.А. Савченко, Е.А. Савченко, А.Н. Герасемчук // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – №5. – С. 33-36.
18. Дедов И.И. Статины и микрососудистая ишемия миокарда / И.И. Дедов, А.А. Александров // Consilium medicum. – 2004. – Т.6. – № 9. – С. 620-624.
19. Дементьева И.И. Лабораторная диагностика и клиническая оценка нарушений гомеостаза у больных в критическом состоянии. – М.: Медицина, 2007. – 161 с.
20. Дементьева И.И. Мониторинг концентрации лактата и кислородного статуса для диагностики и коррекции гипоксии у больных в критическом состоянии / И.И. Дементьева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 3. – С. 25-32.
21. Долгих В.Т. Активация процессов перекисного окисления липидов в постреанимационном периоде / В.Т. Долгих, М.А Кочетов., С.И. Еремеев. и др. // Анест. и реаниматол. – 1988. – № 1. – С. 24 – 29.
22. Долгих В.Т. Метаболические нарушения при критических состояниях / В.Т. Долгих, А.Н. Ларин, И.А. Пилипчук // Политравма. – 2007. – № 3. – С. 73-77.
23. Жалко-Титаренко В.Ф. Водно-электролитный обмен и кислотно-основное состояние в норме и при патологии. – Киев: Здоров'я, 1989. – 195 с.
24. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии. – Спб.: Изд-во ЭЛБИ, 2000. – 687 с.
25. Зубаиров Д.А. Молекулярные основы свёртывания крови и тромбообразования. – Казань, 2000. – 368 с.
26. Зубаиров Д.М. Современные доказательства концепции непрерывного свёртывания крови в организме / Д.М. Зубаиров // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – № 1. – С. 17-21.
27. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови, функция и их роль в тромбообразовании. – М.: Геотар-Медиа, 2009. – 168 с.
28. Зубаирова Л.Д. Роль клеточных микровезикул в свёртывании крови / Л.Д. Зубаирова, Д.А. Зубаиров // Забайкальский медицинский вестник. – 2004. – № 4. – С. 39-43.

29. Иванов В.И., Альфонсов В.В. Изменение свертываемости крови и фибринолиза при экспериментальной гипоксии // В кн.: Некоторые вопросы организации и физиологии физического воспитания и спорта в Забайкалье. – Иркутск, 1991. – С. 76-77.
30. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. – Изд-во: [ГЭОТАР-Медиа](#), 2011. – 376 с.
31. Инжутова А. И. Регистрация блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови как экспресс-метод оценки тяжести состояния больных осложненными формами гипертонической болезни / А.И. Инжутова, А.Б. Сашина, М.М. Петрова др. // Бюл. СО РАМН. – 2007. – № 1 (123). – С. 6-10.
32. Инжутова А. И. Роль CD38 в межклеточных взаимодействиях при эндотелиальной дисфункции / А. И. Инжутова, А.Б.Салмина, М.М. Петрова и др. // Бюл. Экспер. Биол. – 2008. – № 145 (6). – С. 648-652.
33. Искандаров А.И. Ультраструктурные изменения при черепно-мозговой травме / А.И. Искандаров, К.Х. Назаров, Л.В. Кривцун, Т.М. Хамраев, Б.Д. Абдахатов // Сб. Научных трудов Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы. – Ташкент, 1996. – С. 17-20.
34. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – С-пб: Изд-во: Фолиант. – 2008. – 550 с.
35. Киртаев А.Г. Анестезиологическое обеспечение сочетанных кардиохирургических операций: диссертация ... докт. мед. наук: 14.00.37. – Москва, 2007. – 352 с.
36. Киртаев А. Г. Влияние температурного режима перфузии на кислотно-основное состояние, газовый состав крови. Концентрацию лактата во время операции реваскуляризации миокарда / А. Г. Киртаев [и др.] // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2005. – N 6. – С. 62-65.
37. Коркушко О.В., Лишневецкая В.Ю. Микрососудистая ишемия миокарда современный взгляд на проблему // [http://rgl.net.ua/cardio\\_j//2004/1/korkushko.htm](http://rgl.net.ua/cardio_j//2004/1/korkushko.htm).
38. Кудряшов Б.А. Комплекс гепарин-антитромбин III, антитромбин-гепарин-тромбин, их антикоагулянтная активность и литическое действие на нестабилизированный фибрин / Б.А. Кудряшов, В.Е. Пасторова, Л.А. Ляпина // Биохимия. – 1981. – № 46 (11). – С. 2024–2029.
39. Кузник Б.И. Белки теплового шока, атеросклероз, ДВС-синдром и тромбоз / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // [Проблемы клинической медицины](#). – 2009. – № 1. – С. 110.
40. Кузник Б.И. Взаимосвязи иммунитета и гемостаза в эксперименте и клинике / Б.И. Кузник // Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии: труды Всероссийской научн.-практ. конференции. – Москва, 2009. – С. 267-269.
41. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 826 с.

42. Куприна А.А. Алтеплаза: клиническая фармакология, перспективы применения при остром инфаркте миокарда, фармакоэкономические аспекты / А.А. Куприна, А.А. Упницкий, Ю.Б. Белоусов // Фарматека. – 2004. – № 19-20. – С. 43-46.
43. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки. – М.: Мир, 1976. – 958 с.
44. Лурье Г.О. Нормотермическое искусственное кровообращение. Тепловая кровяная кардиоплегия / Г.О. Лурье, В.Е. Вольгушев, Л.С. Локшин и др. // Анестезиология и реаниматология. – 1995. – №2. – С. 25-27.
45. Лурье Г.О. Первый опыт нормотермического искусственного кровообращения с постоянной тепловой кровяной кардиopleгией / Г.О. Лурье, Б.В. Шабалкин, В.Е. Вольгушев и др. // Анестезиология и реаниматология. – 1995. – №1. – С. 35-37.
46. Мареева Т.Е. Роль антиоксидантной системы перекисного окисления липидов в патогенезе травматического шока / Т.Е. Мареева, В.Н. Ельский, Т.Я. Заведея [и др.] // Экспериментальная клиническая патофизиология экстремальных и терминальных состояний: материалы симпозиума. – Новокузнецк, 1990. – С. 16-19.
47. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Руководство. Медицина. – Ленинград: Медицина, 1969. – 422 с.
48. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: БИНОМ, 2002. – 926 с.
49. Миербеков Е.М. Катетеризация верхней луковичи внутренней яремной вены и ее идентификация на основе газового анализа крови у кардиохирургических больных / Е.М. Миербеков, Е.В. Флеров, И.И. Дементьева, Е.И. Кукаева // Анестезиология и реаниматология. – 1995. – № 6. – С. 38-40.
50. Миербеков Е.М. Мониторинг метаболизма головного мозга, как основа контроля его адекватной защиты в период остановки кровообращения у условиях глубокой гипотермии / Е.М. Миербеков, Е.А. Кукаева, М.Н. Селезнев, Е. В. Флеров // Анестезиология и реаниматология. – 1996. – № 1. – С. 44-49.
51. Миербеков Е.М. Проблемы безопасности головного мозга при кардиохирургических вмешательствах в условиях искусственного кровообращения (Аналитическая оценка) / Е.М. Миербеков, Е.Ф. Флеров // Анестезиология и реаниматология. – 1997. – № 5. – С. 14-19.
52. Миербеков Е.М. Фиброоптическая оксиметрия крови верхней луковичи внутренней яремной вены при кардиохирургических операциях / Е.М. Миербеков, Е.В. Флеров, И И Дементьева, А.Г. Яворовский, М.М. Шмырин // Анестезиология и реаниматология. – 1997. – № 1. – С. 35-38.

53. Никитин А.В. Зависимость клинического течения ТЭЛА от степени тяжести и сопутствующей патологии легких и сердца / А.В. Никитин // Военно-медицинский журнал. – 2001. – №3. – С. 88-89.
54. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. – Мир, 1977. – С. 111-142.
55. О कोरोков А.И.. Лечение болезней внутренних органов: Т. 3, кн. 1. Лечение болезней сердца и сосудов. – Изд-во: Мед. Лит., 2002. – 464 с.
56. Руда М.М. Циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток при нарушенном углеводном обмене у больных ишемической болезнью сердца / М.М. Руда, Т.И. Арефьева, А.В. Соколова, М.В. Шестакова, Ю.А. Карпов, Е.В. Парфенова // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 13-20.
57. Руда М.Я. Что нужно знать практическому врачу о тромболитической терапии при инфаркте миокарда / М.Я. Руда // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2002. – № 1 (1). – С. 9-12.
58. Руководство по атеросклерозу и ишемической болезни сердца / под ред. Е. И. Чазова [и др.]. – М.: Media Medica, 2007. – 735 с.
59. 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.
60. Руководство по нарушениям ритма сердца / под ред. Е. И. Чазова, С. П. Голицына. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 414 с.
61. Рыбининцев, В.Ю. Оценка эффективности гепаринотерапии у больных в критических состояниях / В.Ю. Рыбининцев, И.Н. Пасечник, Е.Д. Бондаренко // Вестник интенсивной терапии. – 2006. – Приложение к № 5. – С. 77.
62. Рямова К.А. Особенности дыхания митохондрий при гипоксии и ацидозе / К.А. Рямова, А.С. Розенфельд // Вестник ЮУрГУ. – 2008. – № 19. – С. 31-35.
63. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия. – М: Медицина, 2000. – 164 с.
64. Северина А.С. Нарушение системы гемостаза у больных сахарным диабетом / А.С. Северина, М.В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2004. – № 1. – С. 62–
65. Скипетров В.П. Фибринолиз – аварийный механизм системы гемостаза человека. / В.П. Скипетров // Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения: труды V национальной научн.-практ. конференции. – Москва, 2000. – С. 152-154.
66. Соколов В.А. Профилактика и лечение синдрома полиорганной недостаточности у родильниц с массивной кровопотерей / В.А. Соколов, Т.А. Федорова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – Т. 5. – № 6. – С. 41-48.

67. Соколов В.А. Синдром взаимного отягощения повреждений у пострадавших с сочетанной травмой / В.А. Соколов, В.И. Картавенко, Д.А. Гараев, Л.М. Свирская // Вестник хир. – 2006. – № 3. – С. 3-9.
68. Соколов В.А. Синдром взаимного отягощения повреждений у пострадавших с сочетанной травмой / В.А. Соколов, В.И. Картавенко, Д.А. Гараев, Л.М. Свирская // Вестник хирургии. – 2006. – №3. – С. 3-9.
69. Струков М.А. Ультраструктурные изменения миокарда и паренхимы печени при различных методах интенсивной терапии тяжелого экзотоксического шока / М.А. Струков, Д.В. Шевчук, Т.Г. Федоренко // Научно-медицинский вестник ВГМА им. Н.Н. Бурденко. – 19 – № 1. – С. 43-46.
70. Судаков Н.П. Механизмы участия митохондрий в развитии патологических процессов, сопровождающихся ишемией и реперфузией / Н.П. Судаков, С.Б. Никифоров, Ю.М. Константинов, Л.А. Якубов, Р.А. Новикова, А.Н. Карамышева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 5. – С. 332-336.
71. Судаков Н.П. Митохондриальная дисфункция в механизмах атерогенеза / Н.П. Судаков, С.Б. Никифоров, Ю.М. Константинов, С.А. Лепехова, Е.В. Панкратов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 2. – С. 119-123.
72. Судаков Н.П. Роль митохондрий в реализации механизмов программированной гибели клетки / Судаков Н.П., Никифоров С.Б., Константинов Ю.М., Лепехова С.А. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 1. – С. 103-107.
73. Сухоруков В.С. Врожденные дисфункции митохондриальных ферментов и их роль в формировании тканевой гипоксии и связанных с ней патологических состояний // В кн.: Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / Под ред. Л.Д. Лукьяновой и И.Б. Ушакова. – М.: Истоки, 2004. – С. 439-455.
74. Сухоруков В.С. К разработке рациональных основ энерготропной терапии / В.С. Сухоруков // Рациональная фармакотер. – 2007. – № 2. – С. 40-47.
75. Тверской А.Л. Лактат-ацидоз / А.Л. Тверской // МРЖ. Анестезиология и реаниматология. – 1981. – № 3. – С. 50-57.
76. Телкова И.Л. Возможные механизмы внезапной сердечной смерти при микрососудистом поражении коронарных артерий по данным аутопсии миокарда / И.Л. Телкова, М.В. Фадеев // Вестн. Аритмологии. – 2006. – Прилож. Б. – С.66-67.
77. Телкова И.Л. Возможные механизмы внезапной смерти при микрососудистом поражении коронарных артерий по данным аутопсии миокарда / И.Л. Телкова, М.В. Фадеев // Вестн. Аритмологии. – 2007. – № 47. – С.64-67.

78. Терещенко И.П. Роль системы нейтрофильных гранулоцитов в формировании особенностей развития патологического процесса / И.П. Терещенко, А.П. Кашулина // Патофизиология и экспериментальная терапия. – 1993. – № 4. – С. 56-59.
79. Тимирбаев В.Х., Владимирова Е.С., Валетова В.В. Принципы интраоперационной терапии массивной кровопотери в экстренной хирургии / В.Х. Тимирбаев, Е.С. Владимирова, В.В. Валетова // Здравоохранение и медицинская техника. – 2005. – № 10(24). – С. 20-22.
80. Титов В.Н. Иные представления об образовании кетоновых тел, кинетике  $\beta$ - окисления жирных кислот и патогенезе кетоацидоза / В.Н. Титов, Д.М. Лисицин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 3. – С. 3-9.
81. Унжаков В.В. Методы интенсивной терапии лактат-ацидоза у больных с острой тяжелой черепно-мозговой травмой / В.В. Унжаков, К.Е. Пошатаев // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – №1. – С. 40-41.
82. Хватов В.Б., Боровкова Н.В., Валетова В.В., Кобзева Е.Н. Особенности и мониторинг трансфузионной гемокоррекции в неотложной хирургии / В.Б. Хватов, Н.В. Боровкова, В.В. Валетова, Е.Н. Кобзева // Альманах клин. медицины. – 2009. – № 20. – С. 16-20.
83. Цыбиков Н.Н. Постоянное внутрисосудистое свёртывание крови и ДВС-синдром при гнойной хирургической инфекции / Н.Н. Цыбиков, И.Д. Лиханов, М.Н. Цыбиков // Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии: труды IV Всероссийской науч.-практ. конференция. - М., 2009. – С. 570-572.
84. Цыбикова Е.А. Некоторые аспекты нейроиммунных нарушений при алкогольном делирии: автореф. дис. ... канд. мед. наук.: 14.03.03. – Чита, 2008. – 22 с.
85. [Чазов Е.И.](#) Неотложная кардиология / [Е. И. Чазов и др.]; под ред. Е. И. Чазова. – Москва: Эксмо, 2011. – 222 с.
86. Чарная М. А., Морозов Ю. А. Тромбозы в клинической практике. – М.: ГЭОТАР-Медия, 2009. – 224 с.
87. Чарная М. А. Патогенез нарушений системы гемостаза при кардиохирургических операциях: автореф. дисс.... Докт. биол. Наук : 14.03.03. – Москва, 2007. – 40 с.
88. Чарная М.А. Причины повышенной кровоточивости после операций на сердце в условиях искусственного кровообращения / М.А. Чарная, Ю.А. Морозов, Е.В. Ройтман и др. // Грудная и сердечно-сосуд. хир. – 2003. – № 5. – С.41-46.
89. Чернецов В.А. Раннее прогнозирование осложнений инфаркта миокарда / В.А. Чернецов // Врач. – 2000. – №2. – С. 22-24.
90. Чернецов В.А. Прединдикторы возникновения рецидивирующих расстройств коронарного кровообращения у больных крупноочаговым инфарктом миокарда после тромболитической терапии



- / В.А. Чернецов, А.И. Госпадаренко // Российский кардиологический журнал. – 1999. – №6. – С. 7-11.
91. Шестаков В.А. Динамика эндогенного гепарина в условиях ацидоза крови / В.А. Шестаков // В кн.: Физиология, биохимия, фармакология и клиническое применение гепарина. – М.: Медицина, 1973. – С. 346.
92. Штейнле А.В. Патологическая физиология и современные принципы лечения тяжелых сочетанных травм / А.В. Штейнле // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С.119-127.
93. Шуркалин Б.К. Хирургические аспекты лечения распространенного перитонита / Б.К. Шуркалин, А.П. Фаллер, В.А. Горский // Хирургия. 2007. № 2. С. 24-28.
94. Alfonsov V.V. Influence of the tissue factors on the mosaicism of hemostasis in the RABS system // Soviet Medical Reviews, Section C. Hematology reviews. Blood Coagulation, Embolism and Thrombosis. – 1987– V. 1. - С. 46 – 79.
95. Alfonsova E.V. Functional morphology of conjunctive tissue stroma of spleen in the age aspect / E.V. Alfonsova // Advances in Gerontology. – 2013. – Т. 3. – № 1. – С. 35-41.
96. Alfonsova E.V. The role of lactat-acidosis in the development of structure violations of the immune system / E.V. Alfonsova, V.V. Alfonsov, N.V. Bochkarnikova // International Proceedings Division Allergy, Asthma & Immunology. – 2011. – p.138-142
97. Asakura H. Role of tissue factor in disseminated intravascular coagulation/ H. Asakura, Y. Kamikubo, A. Goto, Y. Shiratori, M. Yamazaki, H. Jokaji, et al. //Thromb. Res. – 1995. – N 80. – P. 217-224.
98. Asea A. HSP70 peptidbearing and peptide-negative preparations act as chaperokines / A. Asea, E. Kabingu, M.A. Stevenson, S.K. Calderwood // Cell Stress Chaperones. – 2000. – V. 5, № 5. – P. 425-31.
99. Attardi G. Role of mitochondrial DNA in human aging / G. Attardi // Mitochondrion. – 2001. – N 1 (1). – P. 1-11.
100. Behmanesh S. Mechanisms of endothelial cell swelling from lactacidosis studied in vitro / S. Behmanesh, O. Kempski // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2000. – V. 279, N 4. – P. 1512-1517.
101. Bellomo R. Bench-to-bedside review: lactate and the kidney / R.Bellomo // Crit Care. – 2002. – N 6(4). – P. 322-326.
102. Berringer R. Septic shock (Part 1) / R.Berringer, A.L. Harwood-Nuss // J. Emerg. Med. – 1985. – V. 3, N 6. – P. 475-482.
103. Bick R.L. Hemostasis Defect / R.L. Bick, C. Devic // Associated With, Cardiac, Surgery. – N. 11(3). – 1985. – P. 249-253.

104. Bleeker-Rovers C.P. Hepatic steatosis and lactic acidosis caused by stavudine in an HIV-infected patient / C.P. Bleeker-Rovers, S.W. Kadir, R. van Leusen, C.Richter // *Neth. J. Med.* – 2000. – V. 57, N 5. – P. 190-193.
105. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research / R. Bolli // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2001. – N 33. – P. 1897–1918.
106. Boulanger C.M. Microparticles: an introduction / C.M. Boulanger, F. Dignat-George // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* – 2011. – V 31. – P. 2-3.
107. Camici P.G. Hibernation and heart failure / P.G. Camici // *Heart.* – 2004. – Vol. 90, № 1. – P.141-143.
108. Chandy M.J. Effect of dichloracetate on infarct size in a primate model of focal cerebral ischaemia / M.J. Chandy, J. Ravindra // *Neurol. India.* – 2000. – V. 48, N 3. – P. 227-230.
109. Clinical pathology and hemostatic abnormalities in experimental African horsesickness / A.J. Skowronek, L. Lafranco, M.A. Stone-Marschat et al. // *Vet. Pathol.* – 1995. – V. 32, N 2. – P. 112-221.
110. Davis J.A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research / J.A. Davis // *Med. A Science in Sports f. Exerc.* – 1985. – V. 17, № 17. – P. 6-18.
111. De Backer D. Lactic acidosis / D. De Backer // *Intensive Care Med.* – 2003. – V. 29. – P. 699-702.
112. De Wood M.A. Value and limitation of thrombolytic therapy in early acute transmural myocardial infarction / M.A. De Wood, E.A. Amsterdam // *Cardiology.* – 1985. – Vol.72. – P.255-279.
113. Dietz P.A. Emergency surgery in hematologic patients / P.A. Dietz, M.S. Gold, S.J. Heneghan, R.W. Macmillan, R.M. Moglia, M. Rudnicki // *World J. Surg.* – 1996. – V. 20, N 9. – P. 1133-1140.
114. Dignat-George F. The many faces of endothelial microparticles / F. Dignat-George, C.M. Boulanger // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* – 2011. – V. 31. – P. 27-33.
- 115.
116. Duell T. Unclear lactate acidosis in a patient with heart failure under long-term diuretic therapy / T. Duell, J. Mittermuller, W. Hiddemann // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 2000. – V. 125, N 41. – P. 1232-1234.
117. Dunn R.J. Massive sulfasalazine and paracetamol ingestion causing acidosis, hyperglycemia, coagulopathy, and methemoglobinemia / R.J. Dunn // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 1998. – V. 36, N 3. – P. 239-242.
118. Endoloxemia stimulates skeletal muscle Na K –atpase and raises blood lactate under aerobic conditions in humans / H. Bundgaard, K. Keldsen, K. Suarez Kjrabbé [ et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 284. – P. 1028-1034.

119. Enhanced subclinical coagulation activation during diabetic ketoacidosis / Y. Buyukasik, N.S. Ileri, I.C. Haznedaroglu et al. // *Diabetes Care*. 1998. – V. 21, N 5. – P. 868-870.
120. Eriksson M. Increased platelet microvesicle formation is associated with mortality in a porcine model of endotoxemia / M. Eriksson, D. Nelson, A. Nordgren, A. Larsson // *Acta Anaesthesiol. Scand.* – 1998. – V. 42, N 5. – P. 551-557.
121. Fallavollita J.A. Coronary patency and its relation to contractile reserve in hibernating myocardium / J.A. Fallavollita, M. Logue, J.M.Jr. Canty // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – Vol.55, № 1. – P.131-140.
122. Grynberg A. Effectors of fatty acid oxidation reduction: promising new anti-ischaemic agents / A. Grynberg // *Curr. Pharmaceutical Design*. – 2005. – N. 1(4). – P. 489-509.
123. 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.
124. Hucabee W.E. Laktik – acidosis / W.E. Hucabee // *Am. J. Med.* – 1961. – V. 30. – P. 833 – 839.
125. Hypothermia and acidosis worsen coagulopathy in the patient requiring massive transfusion / A. Ferrara, J.D. Macarthur, H.K. Wright et al. // *Am. J. Surg.* 1990. – V. 160, N 5. – P. 515-518.
126. Jimenez J. J. Endothelial microparticles (EMP) as vascular disease markers / J.J. Jimenez, W. Jy, E.M. Mauro et al. // *Adv. Clin. Chem.* – 2005. – V. 39. – P. 131-157.
127. Jung K.-H. Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease / K.-H. Jung, K. Chu, S.-T. Lee et al. // *Ann. Neurol.* – 2009. – V. 66 (2). – P. 191-199.
128. Kemp H.G.Jr. The anginal syndrome associated with normal coronary arteriograms. Report of a six year experience / H.G.Jr. Kemp, P.S. Volkonas, P.T. Cohn et al. // *Amer. J. Med.* – 1973. – Vol.54, № 6. – P.735-742.
- 129.** Kempski O. Molecular mechanisms of glial swelling in vitro / O.Kempski, F.Staub, F.V. Rosen et al. // *Neurochem Pathol* 1988. N 9: P. 109- 125.
130. Kette F. Buffer agents do not reverse intramyocardial acidosis during cardiac resuscitation / F. Kette, M.H. Weil, M. Von Planta // *Circulation.* – 1990. – V. 81. – P. 1660-1666.
131. Kirschbaum B. Increased anion gap after liver transplantation / B. Kirschbaum // *Am. J. Med. Sci.* – 1997. – V. 313, N 2. – P. 107-110.
132. Komiyama Y. Proteolytic activation of human factors IX and X by recombinant human factor viia: Effects of calcium, phospholipids, and tissue factor / Y. Komiyama, A.H. Pedersen, W. Kisiel // *Biochemistry.* – 1990. – V. 29. – P. 9418-9425.
133. Koyama T. Determination of plasma tissue factor antigen and its clinical significance / T. Koyama, K. Nishida, S. Ohdama, M. Sawada, N. Murakami, S.Hirosawa, et al. // *Br. J. Haematol.* – 1994. – V. 87. – P. 343-347.

134. Kruse J.A. Lactate metabolism / J.A. Kruse, R.W. Carlson // *Crit. Care. Clin.* – 1987. – Oct. N. 3(4). – P. 725-46.
135. Lovy M. L. ADP-Ribosyl cyclase: crystal structures reveal a covalent intermediate / M.L. Lovy, D.M.E. Szebenyi, I. A. Kriksunov et al. // *Structure.* – 2000. – N. 12. – P. 477-486.
136. Luft F.C. Lactic acidosis update for critical care clinicians / F.C. Luft // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2001. – Feb. N. 12. – Suppl. 17. – P.15-19.
137. Luft R. The development of mitochondrial medicine / R. Luft // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – P. 8731-8738.
138. Maitland K. Acidosis of severe falciparum malaria: heading for a shock? / K. Maitland, C.R. Newton // *Trends Parasitol.* – 2005. – V.21(1). – P. 11-16.
139. Mammen, E. F. Coagulation defects in liver disease / E.F. Mammen // *Med. Clin. North. Am.* – 1994. – V. 78, № 3. – P. 545- 554.
140. Martinez M. C, Tesse A. Et al. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function / M.C. Martinez, A.Tesse et al. // *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 288. – P. 4—9.
141. Massey J. B. Membrane and protein interactions of oxysterols / J. B. Massey // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 296-301.
142. Mccallum C.D. The location of the active site of blood coagulation factor viia above the membrane surface and its reorientation upon association with tissue factor - A fluorescence energy transfer study / C.D. Mccallum, R.C. Hapak, P.F. Neuenschwander, J.H. Morrissey, A.E. Johnson // *J. Biol. Chem.* – 1996. – 271. – P. 28168- 28175.
143. Mccallum C.D. 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 / C.D. Mccallum, B.X. Su, P.F. Neuenschwander, J.H. Morrissey, A.E. Johnson // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 30160-30166.
144. Mccullough K.D. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state / K.D. Mccullough, J.L. Martindale, L.O. Klotz // *Mol. Cell. Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 1249–1259.
145. Morel O., Jesel E, Freyssinet J.-M., Toti F. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 2011. V. 31. P. 15—26.
146. Morrissey J.H. Plasma factor viia: Measurement and potential clinical significance / J.H. Morrissey // *Haemostasis.* – 1996. – N. 26. – P.66-71.
147. Morrissey J.H. Quantiation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation / J.H. Morrissey, B.G. Macik, P.F. Neuenschwander, P.C. Comp // *Blood.* – 1993. – 81. – P. 734-744.

148. Morrissey J.H. Tissue factor: An enzyme cofactor and a true receptor / J.H. Morrissey // *Tromb. Haemost.* – 2001. – N. 86. – P. 66-74.
149. NAD(P)H oxidase Nox-4 mediates 7-ketocholesterol-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human aortic smooth muscle cells / E. Pedruzzi, C. Guichard, V. Ollivier et al. // *Mil. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 10703-10717.
150. 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 / D. Opherk, H. Zebe, E. Weihe et al. // *Circulation.* – 1981. – Vol.63, № 4. – P.817-825.
151. Ostrowski R.P. Effect of coenzyme Q (10) on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain / R.P. Ostrowski // *Brain. Res. Bull.* – 2000. – V. 53, N 4. – P. 399-407.
152. Otsuka M. Influences of a shiitake (*Lentinus edodes*)-fructo-oligosaccharide mixture (SK-204) on experimental pulmonary thrombosis in rats / M.Otsuka, K. Shinozuka, G.Hirata, M.Kunitomo // *Yakugaku Zasshi.* – 1996. – V. 116, N 2. – P. 169-175.
153. Pannunzio P. 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 / P.Pannunzio, A.S.Hazell, M.Pannunzio, K.V.Rao, R.F. Butterworth // *J. Neurosci Res.* – 2000. – V. 62, N 2. – P. 286-292.
154. Pasvol G. The treatment of complicated and severe malaria / G.Pasvol // *Br. Med. Bull.* – 2005. – V. 75-76. – P. 29-47.
155. Pirro M. Increased Ratio of CD317 CD42 microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia / M. Pirro, G. Schillaci, R. Paltriccia et al. // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* – 2006. – V. 26. – P. 25—30.
156. Pirro M. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular risk / M.Pirro, G.Schillaci, F. Bagaglia el al. // *Atherosclerosis.* – 2008. – V. 197 (2). – P. 57-67.
157. Rao L.V.M. Factor viia/tissue factor-catalyzed activation of factors IX and X on a cell surface and in suspension: A kinetic study / L.V.M. Rao, T.Robinson, A.D. Hoang // *Thromb. Haemost.* – 1992. – V. 61. – P. 654-659.
158. Regulation of interleukin-8 expression by cellular pH in human pancreatic adenocarcinoma cells / Q. Shi, X.Le, B.Wang, Q.Xiong et al. // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2000. - V. 20, N 11. – P. 1023 – 1028.
159. Role of C5a in Multiorgan Failure During Sepsis / M. Huber-Lang, V.J.Sarma, K.T. Lu et al. // *J. Immunol.* - 2001. - V. 166, N 2. – P. 1193-1199.

160. Senior R. Визуализация метаболических процессов: прогнозирование функционального восстановления миокарда при сердечной недостаточности / R. Senior, A. Lahiri // Сердце и метаболизм. – 2007. – № 20. – С.11-14.
161. Severe self-poisoning with formol / M. Ferrandiere, P.F. Dequin, A. Legras, E. Hazouard, Z. Benchellal, D.Perrotin // Ann. Fr. Anesth. Reanim. – 1998. – V. 17, N 3. – P. 254-256.
162. Sevinsky J.R. Ligand-induced protease receptor trans-location into caveolae: A mechanism for regulating cell surface proteolysis of the tissue factor-dependent coagulation pathway / J.R.Sevinsky, L.V.M.Rao, W.Ruf // J. Cell. Biol. – 1996. – N. 133. – P. 293-304.
163. Shu Q. Antibody response in sheep following immunization with Streptococcus bovis in different adjuvants / Q. Shu // Vet. Res. Commun. – 2001. – V. 25, N 1. – P. 43-54.
164. Siesjo B. K. Molecular Mechanisms of Acidosis-Mediated Damage / B.K.Siesjo, K.Katsura, T.Kristian et al. // In: acta Neurochir. – 1996. – V. 66. – P. 8-14.
165. Somero G.N. PH-temperature interactions on proteins: Principles of optimal ph and buffer system design / G.N. Somero // Marine Biol. Letters. – 1981. – N 2. – P. 163-178.
166. Stacpoole P.W. Lactic acidosis / P.W. Stacpoole // Endocrinol Metab. Clin. North Am. – 1993. – V. 22(2) 22. 45. – P. 8325-284.
167. Stades A.M. Metformin efficacious in poorly controlled diabetes mellitus type 2 / A.M.Stades, F. Holleman, J.B. Hoekstra // Ned. Tijdschr. Geneesk. – 2000. - V 144, N 40). – P. 1897-1900.
168. Stanley W.C. Metabolic therapy in the treatment of ischaemic heart disease: the pharmacology of trimctazidinc / W.C. Stanley, M.Marzilli // Fund Clin. Pharmac. – 2003. – V. 17(2). – P. 133-145.
169. Stanley W.C. Partial fatty acid oxidation inhibitors for stable angina / W.C. Stanley // Expert Opin Investig Drugs. – 2002. – V. 11(5). – P. 615-629.
170. Steg P.G. Conservative management of patients with acute myocardial infarction and spontneous acute patency of the infarct-related artery / P.G.Steg, D.Himbert, H.Benamer et al. // Am. Heart J. – 1997. – Vol.134 (2 Pt 1). – P.248-252.
171. Tushuizen M. E. Cell-derived microparticles in the pathogenesis of cardiovascular disease: friend or foe? / M.E.Tushuizen, M.Diamant, A.Shirk, R. Nieuwland // Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. – 2011. – V. 31. – P. 4—9.