

УДК 616.01/-099

## ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ

<sup>1</sup>Альфонсова Е.В., <sup>2</sup>Кузник Б.И.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Забайкальский государственный университет»,  
Чита, e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия»,  
Чита, e-mail: bi\_kuznik@mail.ru

В статье представлены данные о структурной организации эндотелия при экспериментальном лактат-ацидозе. Было проведено несколько серий опытов, в которых создавали ацидоз введением 3% раствора молочной кислоты различной глубины от pH 7,25 до pH 6,8 и продолжительности от 15 до 180 минут. По мере развития ацидоза в кровеносном русле появляются агрегаты тромбоцитов и эритроцитов, которые при некомпенсированном лактат-ацидозе сменяются тромбами и нарушением микроциркуляции. По данным электронной микроскопии в эндотелиальных клетках выявляются признаки митохондриальной дисфункции. Возникает дезинтеграция цитоплазмы, образование микровезикул и микрочастиц, нарушение структуры ядра, митохондрий, разрывы цитоплазматических мембран отдельных клеток. Сдвиг pH 7,0 приводит к деструкции эндотелиоцитов, поступлению в кровяной поток органелл клеток, обладающих в основном прокоагулянтной активностью.

**Ключевые слова:** лактат, pH, метаболический ацидоз, морфология, эндотелий, микровезикулы

## EFFECT OF METABOLIC ACIDOSIS ON THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF ENDOTHELIUM

<sup>1</sup>Alfonsova E.V., <sup>2</sup>Kuznik B.I.

<sup>1</sup>Zabaikalsky State University, Chita, e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru;

<sup>2</sup>Chita medical Academy, Chita, e-mail: bi\_kuznik@mail.ru

The article contains data about infringement of structural organization of endothelium in metabolic acidosis. Metabolic acidosis, caused in the experiment on 42 animals (cats) by intravenous injection 3% a lactate acid in up to a pH level 7,25–6,8 and duration up to 15–180 min. In the process of acidosis development in blood vessel tract there appear units platelets and erythrocytes, which at non-compensated lactate-acidosis are replaced by blood clots and infringement of the microcirculation. According to the findings of electron microscopy during the first 15–30 minutes of acidosis at blood the pH 7,2 configuration of cellulated surface of endothelial cells of capillaries. In the cells similar changes occur in violation of the structure of the nucleus, mitochondria, disintegration of the cytoplasm, formation of microvesicles or microparticles. The pH shift to the sour party results in the destruction of the endothelial cells, receipt in blood vessel tract organelles of cells mostly, according to our data, the procoagulant activity.

**Keywords:** lactat, pH, metabolic acidosis, morphology, endothelium, microvesicles

Повреждение структуры клеток, межклеточного вещества, тканей и органов, сопровождающееся нарушением их жизнедеятельности, является, как правило, результатом расстройства метаболических регуляций [1]. Нарушение окислительно-восстановительных процессов и внутриклеточного дыхания, приводящее к накоплению в тканях протонов и к развитию ацидоза, приводит к деструктивным и дистрофическим нарушениям в различных органах и тканях. Методом прямого измерения интрамиокардиального pH во время сердечно-легочной реанимации доказано, что даже короткий период остановки сердца, вызванный фибрилляцией, характеризуется глубоким ацидозом миокарда – после 5 минут остановки сердца, когда pH артериальной крови все еще остается нормальным, а смешанной венозной составляет

7,26, интрамиокардиальный pH снижается до 6,95 [6].

Значительную роль отводят ацидозу в механизмах регуляции физиологических функций при физических нагрузках. В процессе напряженной физической работы происходит увеличение содержания кислых продуктов обмена, которые вызывают сдвиги КОС крови. В отдельных случаях pH артериальной крови у высококвалифицированных спортсменов может падать до 7,0 и даже несколько ниже. Накопление кислых продуктов обмена веществ обусловлено, прежде всего, несоответствием между кислородным запросом и его потреблением, что и приводит к увеличению содержания лактата в крови и снижению pH [5, 8].

Снижение pH внутри- и внеклеточной среды оказывает и непосредственное цитотоксическое действие, вызывая

«разрыхление» клеточных мембран, изменяя их физико-химические свойства, способствуя повышенной проницаемости нейронов и эндотелия сосудов. Набухание эндотелиальных клеток усугубляет микроциркуляторные нарушения и вследствие этого постишемическую гипоперфузию, или феномен «невосстановленного кровотока» [4].

В компенсации сдвигов pH всегда участвует внеклеточное пространство. Именно сюда из клетки поступают недоокисленные продукты обмена. В процессе водообмена кислые продукты разносятся по всему организму и перераспределяются в зоны с малой собственной продукцией протонов. В этом отношении значительной катионадсорбционной способностью обладает основное вещество соединительной ткани и коллагеновая сеть. При различных патологических состояниях pH внутриклеточной среды подвержено значительным колебаниям и может снижаться до 6,6–6,4 [5].

В этих условиях особое значение приобретает исследование морфологии тканей при ацидозе различной глубины и продолжительности для понимания динамики патологического процесса при различных заболеваниях.

**Целью исследования** явилось изучение особенностей структурной организации эндотелия при лактат-ацидозе.

#### **Материалы и методы исследования**

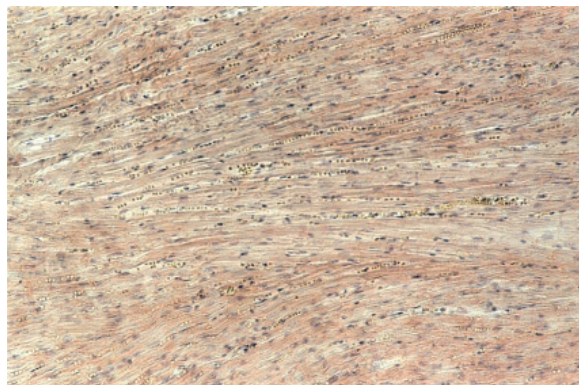
Исследования проведены на беспородных животных (42 кошках). Лактат-ацидоз создавали введением 3% раствора молочной кислоты в изотоническом растворе NaCl в бедренную вену под гексеналовым наркозом. Различный сдвиг pH в кислую сторону достигали дозированным капельным введением лактата обычно от 20 до 38 капель в мин. под контролем pH (pH-метр МР 120ВЕ). Было проведено несколько серий опытов, в которых создавали ацидоз различной глубины (от pH 7,2 до pH 6,9) и продолжительности (от 15 до 180 минут). Для проведения гистологических и гистохимических исследований кусочки тканей сердца 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). Были использованы методы окрашивания морфологического материала: гематоксилин-эозином, гематоксилин-пикрофуксином по Ван – Гизону. Электронная микроскопия производилась при pH 7,4 крови (контроль), 7,2 и 7,0 (опыт) через 15 и 30 мин после начала ацидоза. Ультроструктурный анализ тканей производили с помощью микроскопа ИЕМ-7А (Япония) при ускоряющем напряжении 50 кВ и увеличениях на экране микроскопа 6000–30000 раз. Эвтаназия животных проводилась передозированием гексеналового наркоза. В работе с экспериментальными животными были соблюдены требования, изложенные в «Методических рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» от 1985 г.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

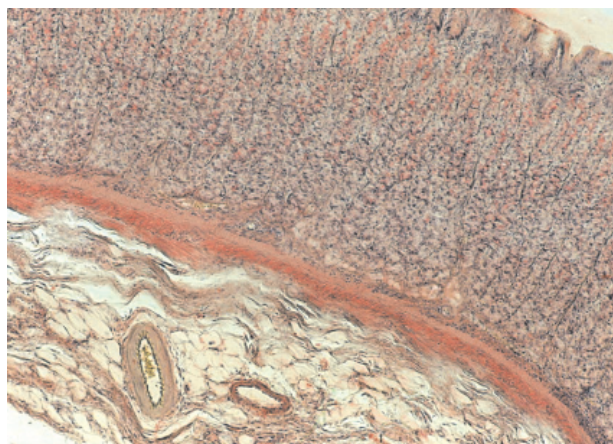
Сдвиг pH крови до 7,25 и ниже продолжительностью 15–60 мин сопровождается полнокровием сосудов органов, отеком сосудистой стенки и околосоудистого пространства, лимфостазом, агрегацией форменных элементов крови. При оптической микроскопии наблюдаются явления застоя крови различной степени выраженности, агрегаты форменных элементов крови, образование тромбов и микротромбов в различных участках сосудистой сети. Морфологические изменения при сдвиге pH до 7,2 приводят не только к изменению агрегатного состояния крови и нарушению микроциркуляции, но и вызывают нарушение структуры сосудистой стенки, эндотелия сосудов (рис. 1, 2).

По данным электронной микроскопии уже на протяжении первых 15–30 мин ацидоза при pH крови 7,2 изменяется конфигурация клеточной поверхности эндотелиальных клеток капилляров. Эти изменения наблюдаются в различных органах – в миокарде, желудке, печени. Увеличивается количество микропиноцитозных везикул, которые отрываются и попадают в просвет капилляров (рис. 3, 4). 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. 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. 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 pH до 7,0 продолжительностью 30 мин приводит к деструкции цитоплазматической мембраны и выходу органелл в просвет капилляров, которые обладают,

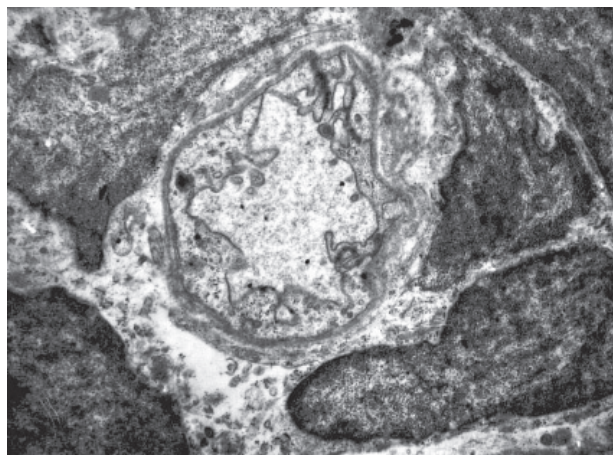
по-видимому, прокоагулянтной активностью, прослеживается также отрыв от базальной мембраны, а в более поздние сроки – десквамация эндотелиоцитов (рис. 5).



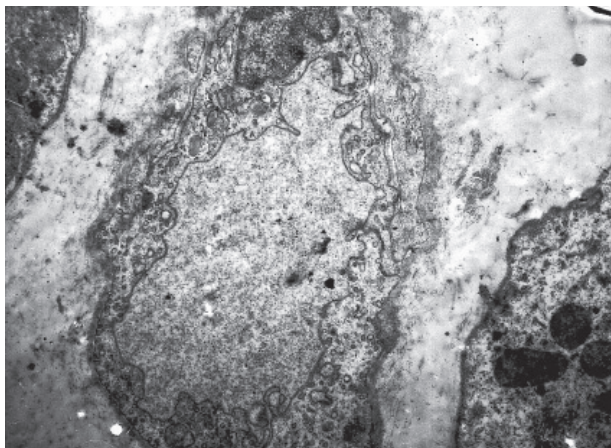
*Рис. 1. Продольный срез миокарда левого желудочка. Сосуды микроциркуляторного русла большей частью паретически расширены, уплотнение цитоплазмы эндотелиальных клеток сосудов, в просветах сосудов и в диапедезных экстравазатах обнаруживаются сферовидные эритроциты, сладжи эритроцитов. рН крови 7,2 – 60 минут. Гематоксилин-эозин.  
Ув.: об. 20. Микрофотография*



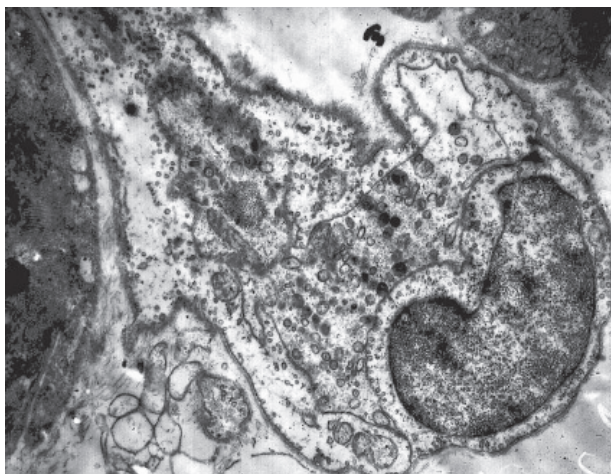
*Рис. 2. Желудок при рН 7,0 и экспозиции ацидоза 120 минут. Выраженный отек подслизистого слоя, тромбоз сосудов, элиминация гликогена в клетках слизистой оболочки.  
Кармин по Бесту, ув. Об. 10 ок. 10*



*Рис. 3. Миокард кошки. Капилляр, окруженный перицитами при метаболическом ацидозе (рН крови 7,2, экспозиция 15 мин). Эндотелиоциты капилляра образуют выросты, которые отрываются и попадают в просвет капилляра. Перикапиллярный отек.  
Ув. 7 000. Электронная микрофотография*



*Рис. 4. Желудок кошки при метаболическом ацидозе (рН крови 7,2, экспозиция 30 мин). Эндотелиоцит при рН крови 7,2 и экспозиции ацидоза 30 мин. Нарушение структуры цитоплазматической мембраны, образование. Перикапиллярный отек.  
Ув.: 15 000. Электронная микрофотография*



*Рис. 5. Миокард, левый желудочек 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.: 25 000. Электронная микрофотография*

Эндотелий – динамичный орган, вовлеченный в широкий круг процессов гемостаза, в который входят поддержание жидкого состояния крови, контроль сосудистого тонуса, перенос питательных веществ между кровью и подлежащими тканями. Сосудистый эндотелий поддерживает жидкое агрегатное состояние крови путем сдерживания свертывания крови, подавления агрегации тромбоцитов [2, 3]. Эндотелиальные клетки секретируют медиаторы, которые регулируют гемодинамику, и ферменты, участвующие в процессах свертывания крови. Это оксид азота, который приводит к вазодилатации и в то же время тормозит адгезию лейкоцитов, адгезию и агрегацию тромбоцитов и вызывает их дезагрегацию, подавляет миграцию и пролиферацию глад-

комышечных 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 диссеминированного коагуляционного процесса. При ацидозе мы также наблюдали деформацию клеточной мембраны эндотелиоцитов и образование микровезикул. Эндотелиоцитарные микровезикулы при некоторых заболеваниях отражают состояние эндотелиальной дисфункции [2]. Мембрановысвобожденные микрочастицы играют важную роль в воспалении, коагуляции и изменении функционирования эндотелия сосудов, что может приводить к атеросклерозу, ар-

териальной гипертензии и даже сахарному диабету [7].

Таким образом, при остром лактат-ацидозе, по данным электронной микроскопии, появляется деформация цитоплазматической мембраны эндотелия, образуются микровезикулы, которые обладают прокоагулянтной активностью. По данным световой микроскопии 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.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания по вузу Минобрнауки РФ, № 2707.*

#### Список литературы

1. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 832 с.
2. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови, функция и их роль в тромбообразовании. – М.: Геотар-Медиа, 2009. – 168 с.
3. Инжутова А.И., Салмина А.Б., Петрова М.М. Роль CD38 в межклеточных взаимодействиях при эндотелиальной дисфункции // Бюл. Экспер. биол. – 2008. – № 145 (6). – С. 648–652.
4. Ginsberg M.D. New Strategies to Prevent Neural Damage from Ischemic Stroke. – 1994. – 34 p.
5. De Backer D. Lactic acidosis // Intensive Care Med. – 2003. – Vol. 29. – P. 699–702.
6. Kette F., Weil M.H., Von Planta M. Buffer agents do not reverse intramyocardial acidosis during cardiac resuscitation // Circulation. – 1990. – Vol. 81. – P. 1660–1666.
7. Pirro M., Schillaci G., Bagaglia F. et al. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at differ-

ent cardiovascular risk // Atherosclerosis. – 2008. – 197 (2). – P. 57–67.

8. Connett R.J., Gaeski T.E., Honig C.H. Lactate accumulation in fully aerobic, working dog gracilis muscle // Am. J. Physiol. – 1984. – 246. – P. 120–128.

#### References

1. Kuznik B.I. Kletochnye i molekulyarnye mehanizmy reguljacii sistemy gemostaza v norme i patologii: monografija. Chita: Yekspress-izdatel'stvo, 2010. 832 p.
2. Zubairov D.M., Zubairova L.D. Mikrovezikuly v krvi, funkcija i ih rol' v tromboobrazovanii. M.: Geotar-Media. 2009. 168 p.
3. Inzhutova A.I., Salmina A.B., Petrova M.M. Rol' CD38 v mezhkletocnyh vzaimodeistvijah pri yendotelial'noi disfunkcii // Byul. yeksp. biol. 2008. no. 145 (6). pp. 648–652.
4. Ginsberg M.D. New Strategies to Prevent Neural Damage from Ischemic Stroke. 1994. 34 p.
5. De Backer D. Lactic acidosis // Intensive Care Med. 2003. Vol. 29. pp. 699–702.
6. Kette F., Weil M.H., Von Planta M. Buffer agents do not reverse intramyocardial acidosis during cardiac resuscitation // Circulation. 1990. Vol. 81. pp. 1660–1666.
7. Pirro M., Schillaci G., Bagaglia F. et al. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular risk // Atherosclerosis. 2008. 197 (2). pp. 57–67.
8. Connett R.J., Gaeski T.E., Honig C.H. Lactate accumulation in fully aerobic, working dog gracilis muscle // Am. J. Physiol. 1984. 246. pp. 120–128.

#### Рецензенты:

Авсеенко Н.Д., д.м.н., профессор кафедры безопасности жизнедеятельности и защиты окружающей среды, Забайкальский институт железнодорожного транспорта, г. Чита;

Бочкарникова Н.В., к.м.н., доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры, Забайкальский государственный университет, г. Чита.

Работа поступила в редакцию 16.12.2014.