

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЛАДОЖСКАЯ-ГАПЕЕНКО
Екатерина Евгеньевна

**СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ
С ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19**

3.1.12. Анетезиология и реаниматология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Храпов Кирилл Николаевич
доктор медицинских наук, доцент

Санкт-Петербург – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Анатомо-физиологические особенности микроциркуляторного русла	13
1.2 Патофизиология микроциркуляции у пациентов в критическом состоянии (современные аспекты)	21
1.3 Современные методы прижизненной диагностики состояния микроциркуляторного русла	25
1.4 Современные возможности терапевтического воздействия на микроциркуляцию	31
1.5 Современные представления о нарушении микроциркуляции при Covid-19	36
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1 Общая характеристика больных.....	41
2.2 Лечение пациентов с тяжелым течением COVID-19 в отделении реанимации и интенсивной терапии	46
2.3 Инструментальные методы оценки состояния микроциркуляторного русла	48
2.4 Методы статистической обработки материалов.....	56
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	57
3.1 Состояние микроциркуляция у пациентов с тяжелым течением COVID-19	57
3.1.1 Результаты витальной капилляроскопии у пациентов с тяжелым течением COVID-19	57
3.1.2 Динамика показателей капилляроскопии в течение трех суток наблюдения	66
3.1.3 Результаты окклюзионной пробы	73

3.2 Результаты исследования микроциркуляции у пациентов при развитии бактериального сепсиса.....	76
3.3 Результаты витальной капилляроскопии у пациентов с хронической сопутствующей патологией, не болевших COVID-19	82
3.4 Состояние микроциркуляции у реконвалесцентов после тяжелого течения COVID-19.....	84
Глава 4 ОБСУЖДЕНИЕ	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
ВЫВОДЫ	101
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Распространение новой коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) повлекло гибель значительного числа людей во всем мире. Острый респираторный дистресс синдром (ОРДС), который развивается приблизительно у 10% заболевших COVID-19, является основной причиной наиболее тяжелых осложнений и смертности среди таких больных [144]. Многочисленные данные, накопленные за период пандемии, свидетельствуют о том, что нарушения лёгочной микроциркуляции могут играть ключевую роль в патогенезе тяжёлой пневмонии при этом заболевании. Известно, что вирус SARS-CoV-2 внедряется в клетку через АПФ₂ и угнетает активность этого фермента, вызывая таким образом дисбаланс в работе ренин-ангиотензиновой системы в сторону вазоконстрикции, провоспалительного эффекта и других проявлений, связанных с основным действием ангиотензина II (АТ-II) [193]. Воспаление, повреждение эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов приводят к снижению адекватной регуляции сосудистого тонуса. Ряд авторов связывают развитие гипоксемии в начальный период развития COVID-19-ассоциированного ОРДС (L-тип) прежде всего с нарушением регуляции перфузии легких, в частности, с вазоплегией и потерей способности к гипоксической вазоконстрикции [37].

В качестве других основных факторов, связанных с повреждением эндотелия, помимо прямого воздействия вируса и дисбаланса АПФ/АПФ₂, рассматривают активацию нейтрофилов и избыточное повышение концентрации цитокинов (явление системного воспаления) [139]. Системное воспаление при COVID-19, которое описывают как «цитокиновый штурм», приводит к многочисленным процессам, как прямо, так и опосредованно влияющих на эндотелий [152].

В ответ на инфекцию SARS-CoV-2 и развитие системного воспаления, повреждающего эндотелий, система гемостаза увеличивает свой протромботический потенциал. При тяжелой форме заболевания развивается микрососудистый тромбоз легких, проявляющийся повышением уровня D-димера, что ассоциировано с плохим прогнозом у пациентов [15]. Образование микротромбов в лёгочных сосудах также способствует нарушению вентиляционно-перфузионных отношений и приводит к ухудшению газообмена [110, 112].

Несмотря на то, что при тяжелом течении COVID-19 в основном поражаются легкие и развивается острая дыхательная недостаточность, другие органы и системы, такие как нервная, сердечно-сосудистая, выделительная (почки), желудочно-кишечный тракт и др. также вовлекаются в патологический процесс [77]. При микроскопии гистологических препаратов внутренних органов, полученных при аутопсии (почки, печень, кишка, лёгкие), выявляются множественные микроагрегаты, окклюзирующие микрососуды [78].

Важно, что изменения микрососудистой перфузии могут происходить в отсутствие глобальных гемодинамических нарушений (т.е. низкого артериального давления, низкого сердечного выброса, гиперлактатемии), т.е. развивается состояние, которое характеризуется «потерей гемодинамической согласованности» [84].

С учетом результатов проведенных исследований и современных представлений о патогенезе COVID-19 многие специалисты констатируют настоятельную необходимость оценки микроциркуляции у больных с COVID-19, находящихся в критическом состоянии, и призывают исследователей к изучению особенностей микроциркуляторных нарушений, как ведущего патофизиологического фактора этого нового заболевания [38, 101].

Прикроватная оценка микроциркуляции в принципе, а в легких – особенно, остается нерешенной проблемой в связи с отсутствием доступных приборов с хорошей диагностической точностью. При этом есть основание предполагать, что изменения периферической микроциркуляции косвенно отражают системные изменения микроциркуляции на органном уровне. Одними из доступных методов

исследования микроциркуляции у пациентов в критическом состоянии на сегодняшний день являются витальная микроскопия ногтевого ложа и лазерная допплеровская флоуметрия. Оба этих метода являются простыми, неинвазивными и безопасными, но в то же время информативными, позволяющими проводить исследование микрососудов прижизненно и в режиме реального времени [12, 74].

Прямое наблюдение за микроциркуляторным руслом может способствовать углублению понимания патогенеза COVID-19 и формированию объективной оценки влияния применяемых методов интенсивной терапии на микроциркуляцию.

Степень разработанности темы исследования

По современным представлениям, COVID-19 является системным заболеванием, при котором в первую очередь поражается эндотелий и, по-видимому, это влечет за собой нарушение микрокровотока и сосудистой регуляции [100]. Немногочисленные работы, посвященные исследованию микроциркуляции, основаны на данных, полученных при помощи сублингвальной микроскопии. Этот метод достаточно прост и удобен в применении «у постели больного», однако не лишен недостатков. В частности, разнонаправленная ориентация капилляров не позволяет количественно оценить скорость кровотока. Кроме того, использование этого метода у больных, находящихся на неинвазивной вентиляции легких, сопряжено с дискомфортом и в некоторых случаях – с риском для пациента, так как требует снятия лицевой маски. По-видимому, именно по этой причине количество таких исследований у пациентов, которым проводили неинвазивную вентиляцию, незначительное. Тем не менее, результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют о наличии серьезных нарушений микроциркуляции у больных с COVID-19, несмотря на стабильные показатели системной гемодинамики. Нарушения микрокровотока характеризуются изменениями скорости и гетерогенности кровотока, ия плотности микрососудов, снижения доли перфузируемых капилляров и др. Впрочем результаты этих исследований достаточно

противоречивы [25, 105, 110]. Так, например, в одной из первых публикаций по этой тематике E. Damiani et al. [110] при выполнении сублингвальной микроскопии у 12 пациентов с пневмонией, вызванной COVID-19, наблюдали снижение плотности микрососудов. Причем этот показатель находился в обратной зависимости с уровнем D-димера, что могло указывать на наличие микротромбоза. В проспективном обсервационном исследовании Edul Kanoore et al. продемонстрировали, что подъязычная микроциркуляция у пациентов с тяжелой формой COVID-19 характеризуется невыраженным снижением доли перфузируемых сосудов ($PPV = 0,96 \pm 0,03$) и качества кровотока ($MFI: 2,79 \pm 0,10$) наряду с высокой плотностью микрососудов ($TVD: 21,9 \pm 3,9$ и $PVD: 21,0 \pm 3,5$ $\text{мм}/\text{мм}^2$) по сравнению с нормальными значениями [105]. В многоцентровом исследовании, в которое было включено 38 пациентов с COVID-19 и ОРДС средней и тяжелой степени тяжести [25] авторы обнаружили, что у пациентов с COVID-19 наблюдались повышенные значения плотности микрососудов и скорости эритроцитов в сравнении с параметрами микроциркуляции здоровых добровольцев; кроме того, они сообщили о нормальных значениях доли перфузируемых микрососудов. Следует отметить, что в большинстве исследований с визуализацией микрокровотока оценку показателей выполняли однократно (обычно при поступлении в ОРИТ) и при этом не проводили оценку регуляции микроциркуляторного русла с применением функциональных проб. Таким образом, на основании проведенных исследований крайне сложно выделить какие-либо определенные изменения показателей микрокровотока, которые характеризуют состояние микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19, соответственно, сложно судить и характере нарушений микроциркуляции у таких пациентов.

Цель исследования

Оценить состояние микроциркуляторного русла у пациентов с тяжелым течением COVID-19.

Задачи исследования

1. Определить характер нарушений микроциркуляции с помощью витальной капилляроскопии ногтевого ложа у пациентов с тяжелым течением COVID-19.
2. Выявить особенности нарушений регуляции микрокровотока у пациентов с тяжелым течением COVID-19 при помощи лазерной допплеровской флоуметрии с применением окклюзионной пробы.
3. Определить характер нарушений микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19 при присоединении бактериальной инфекции с развитием сепсиса.
4. Оценить влияние волемической нагрузки, а также продолжительной гемофильтрации с сорбцией на состояние микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19.
5. Оценить состояние микроциркуляции у реконвалесцентов после тяжелого течения COVID-19 методами витальной капилляроскопии, лазерной флоуметрии и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии легких.

Научная новизна исследования

Впервые выполнена оценка микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением Covid-19 одновременно двумя методами (витальная капилляроскопия и лазерная допплеровская флоуметрия). Были определены информативные качественные и количественные капилляроскопические показатели, а также выявлены признаки нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации, отражающие тяжесть нарушений микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Полученные результаты витальной капилляроскопии позволяют предположить, что существенную роль в патогенезе COVID-19 имеет хроническая эндотелиальная дисфункция. Оценку состояния микроциркуляции проводили в динамике, что позволило оценить изменения микрокровотока при присоединении бактериальной инфекции. Проведенное исследование показало, что нарушения микроциркуляции развиваются в отсутствии изменений

показателей системной гемодинамики и на определенном этапе имеют обратимый характер, а присоединение бактериальной инфекции на фоне инвазивной вентиляции легких приводит к резкому их усугублению. Проведена оценка влияния одного из патогенетических методов лечения (продолжительной гемофильтрации с сорбцией) на состояние микроциркуляции. Выполнена комплексная оценка легочной и периферической микроциркуляции у выздоровевших пациентов, перенесших вирусную пневмонию, вызванную COVID-19. Выявленные диффузные нарушения микроциркуляции легких и длительно сохраняющиеся нарушения эндотелий-зависимой регуляции периферического кровотока подтверждают системный характер нарушений микроциркуляции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования могут использоваться в научных и практических целях. Теоретическая значимость исследования заключается в том, что полученные результаты подтверждают важнейшую роль нарушений микроциркуляции в патогенезе COVID-19. Проведенное исследование продемонстрировало возможность объективной оценки системных нарушений микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Диагностический алгоритм с применением витальной капилляроскопии и лазерной допплеровской флюметрии с выполнением окклюзионной пробой может применяться в стационарах для более точной объективизации состояния пациентов, например, использоваться в качестве скринингового обследования при сортировке больных в приемном отделении, для определения показаний к переводу пациентов из инфекционных отделений в ОРИТ. Кроме того, использованный алгоритм оценки микроциркуляции может быть использован для выявления показаний к проведению определенного вида терапии, а также для оценки эффективности проводимого лечения.

Результаты диссертации внедрены в практику работы центра по лечению новой коронавирусной инфекции Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в соответствии с правилами доказательной медицины в дизайне проспективного обсервационного исследования. В исследовании использовались клинические, лабораторные, аналитические и статистические методы исследования. Объект исследования – пациенты с тяжелым течением COVID-19, находящиеся в отделениях реанимации и интенсивной терапии, а также реконвалесценты после тяжелого течения COVID-19 и не болевшие COVID-19. Все пациенты старше 18 лет. При проведении исследования оценивали клинические данные, результаты лабораторных и инструментальных исследований: клинического, биохимического анализов крови, компьютерной томографии легких, однофотонной эмиссионной компьютерной томографии легких, пульсоксиметрии, витальной капиллярископии ногтевого ложа, лазерной допплеровской флюметрии с выполнением окклюзионной пробы. Проанализировали характер изменений микроциркуляции у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии с благоприятным и неблагоприятным исходами, в том числе под влиянием волемической нагрузки и продолжительной гемофильтрации с сорбцией.

Исследование одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, протокол № 04/2022 от 25 апреля 2022 года.

Положения, выносимые на защиту

1. Для пациентов с тяжелым течением COVID-19 является характерным наличие микроскопических признаков хронической эндотелиальной дисфункции в виде преобладания патологических форм капилляров.

2. Наиболее характерными признаками острых нарушений микроциркуляции при тяжелом течении COVID-19, отражающими развитие эндотелиальной дисфункции, являются: циркуляция микроагрегатов, снижение линейной скорости капиллярного кровотока, увеличение размера периваскулярной зоны, отсутствие постишемической гиперемии. Инфузия коллоидов в ранние сроки пребывания в ОРИТ может приводить к улучшению микроциркуляции за счет увеличения линейной скорости капиллярного кровотока. Гемофильтрация с сорбцией приводит к увеличению размера периваскулярной зоны, что свидетельствует о развитии интерстициального отека.
3. Развитие сепсиса на фоне тяжелого течения COVID-19 сопровождается резким усугублением микроциркуляторных расстройств с уменьшением плотности капиллярной сети, нарастанием интерстициального отека, образованием аваскулярных зон, а также выраженным снижением показателей постокклюзионного кровотока, вплоть до полного отсутствия реактивных изменений (арактивная окклюзионная проба).
4. У пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой форме, в течение длительного времени могут сохраняться признаки нарушения эндотелий-зависимой регуляции, а также снижение показателя микроциркуляции легких на фоне гетерогенности микротоков.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов подтверждается достаточным объемом клинического материала, современными методами исследования и статистического анализа, теоретическим обоснованием полученных результатов. Подготовка, анализ и интерпретация данных проведены с использованием современных методов обработки информации.

Основные положения диссертации доложены: на 4-ом Конгрессе с международным участием «Актуальные вопросы медицины критических состояний» (Санкт-Петербург, 2022); Научно-образовательной конференции

«Актуальные вопросы и инновационные технологии в анестезиологии и реаниматологии» (Санкт-Петербург, 2022); IV съезде Анестезиологов-реаниматологов Северо-запада с участием медицинских сестер анестезиологов (Санкт-Петербург, 2021).

Публикации

По теме исследования опубликовано 3 научных работы, все – в рецензируемых научных изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе 2 публикации в журнале, входящем в международную базу данных Scopus.

Личное участие автора в исследовании

Автор самостоятельно выполнил анализ литературы, проводил сбор данных, их статистическую обработку и анализ полученных результатов.

Личное участие автора также состояло в выполнении неинвазивных исследований микроциркуляции (лазерной допплеровской флюметрии и витальной капилляроскопии), разработке и внедрения алгоритма оценки микроциркуляции «у постели больного», лечении пациентов с тяжелым течением COVID-19 в ОРИТ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 196 библиографических источников (13 отечественных и 183 зарубежных авторов). Диссертация содержит 23 таблицы, находящихся в тексте, 23 рисунка.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Анатомо-физиологические особенности микроциркуляторного русла

Термин «микроциркуляция» был впервые применен в 1954 г. на первой конференции по физиологии и патологии микроциркуляции (США, Гальвестон). При этом начало изучения микроциркуляции относят к 1861 г., когда М. Мальничи первым увидел и описал в легком живой лягушки тончайшие микрососуды, получившие позднее название капилляров [13]. Обычно под термином «микроциркуляция» подразумевают ток крови в мельчайших кровеносных сосудах (артериолы, терминальные артериолы, капилляры и венулы), присутствующих в тканях органов. Основными функциями микроциркуляции являются доставка кислорода и питательных веществ, а также удаление углекислого газа. Существуют различные мнения специалистов в отношении того, какой максимальный размер сосудов, которые следует относить к микроциркуляторному руслу. Исходя из того, что микроциркуляция является конечным местом реализации функции сердечно-сосудистой системы и отвечает за перенос кислорода от эритроцитов к тканям, некоторые авторы считают, микроциркуляторное русло составляют микрососуды диаметром менее 20 мкм (капилляры). Однако, учитывая, что помимо этой функции микроциркуляторное русло выполняет еще функцию обмена жидкости в тканях, обеспечения периферического сосудистого сопротивления, иммунную функцию и т.д., другие авторы считают, что к микроциркуляции следует относить еще и артериолы нескольких порядков, венулы и лимфатические капилляры (прелимфатиксы) (рисунок 1). В этом случае максимальный размер микрососудов может достигать 100 мкм.

Основными особенностями сосудов микроциркуляторного русла являются: большая площадь обменной поверхности (в среднем 1.5 кв. м² на 100 г ткани)

и наличие моторной активности, что является определяющим фактором регуляции общего периферического сопротивления. Весомый вклад в изучение периферического фактора кровообращения был сделан профессором М.В. Яновским, учеником С.П. Боткина. Он и его сотрудники сформировали гипотезу о существовании «периферических сердец» – активного гемодинамического фактора, способствующего периферическому микротоку [10].

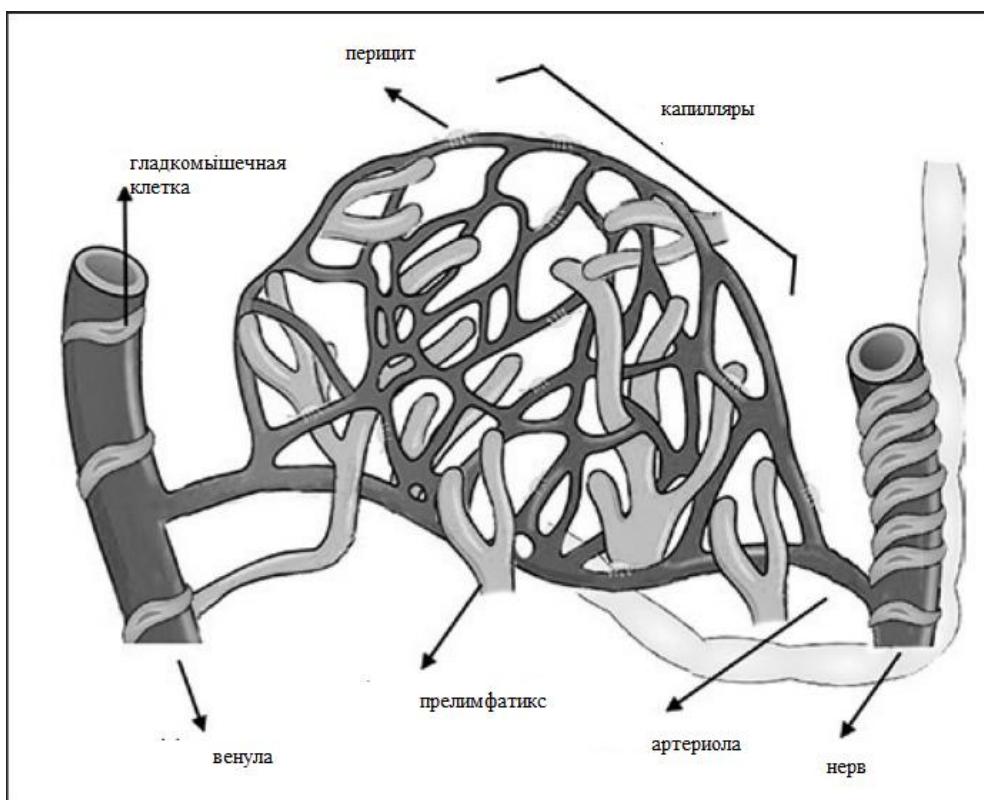


Рисунок 1 – Сосуды микроциркуляторного русла

Сосуды микроциркуляторного русла в зависимости от вида (артериолы, капилляры, венулы) имеют свои морфофункциональные особенности. Артериолы считаются резистивными сосудами. Их диаметр составляет от 50 до 100 мкм, в зависимости от порядка (первого, второго) и состояния тонуса. Стенка состоит из трех оболочек: внутренней, средней и наружной. В свою очередь средняя оболочка состоит из одного, реже – двух слоев гладкой мускулатуры. Терминальные артериолы (прекапиллярные сфинктеры) – чрезвычайно важные

структуры в составе микроциркуляторного русла. Они представлены циркулярно расположенными двумя гладкомышечными клетками на входе в капилляр, их основной функцией является регуляция потока крови, поступающей в капилляр. Они могут изменять свой диаметр от 10-25 мкм до нуля, полностью перекрывая вход в капилляр. Изначально прекапиллярные сфинктеры были выявлены в мезентериальном микроциркуляторном русле, позже было определено, что это постоянная составляющая в составе всех микрососудов [148, 149].

Кровоток в артериолах носит пульсирующий характер, давление в этих сосудах по разным данным составляет от 20 до 50 мм рт. ст. Благодаря мышечным клеткам артериолы могут менять свой диаметр и регулировать поступление крови в дистальные отделы микроциркуляторного русла в соответствии с метаболическими потребностями [163]. Артериолы обеспечивают более 80% общего периферического сопротивления. Следовательно, они выполняют ведущую функцию в регуляции макротономики, обеспечивая необходимый уровень артериального давления и регионарный кровоток [29, 103].

Интима в артериолах традиционно рассматривается как физический барьер между кровью и тканями, она состоит из эндотелия, покрытого слоем гликокаликса, и базальной мембранны [176, 187, 192]. При этом данные современных исследований указывают на то, что все слои стенки артериол взаимосвязаны между собой и имеют размытые морфологические границы. Например, поры внутренней эластической мембранны обеспечивают прямой контакт и связь между эндотелиальными и гладкомышечными клетками. Эти межклеточные взаимодействия необходимы для интеграции процессов регионарной вазоконстрикции и вазодилатации, а также для координации сосудистого ответа в бассейне взаимосвязанных сосудов. Кроме того, структурные характеристики сосудистой стенки артериол, включая поры, клеточные и внеклеточные компоненты, изменяются относительно быстро в ответ на множество физиологических и патологических стимулов. При этом именно эндотелий обеспечивает ведущую роль в регуляции системы микроциркуляции.

Капилляры (терминальная часть кровеносной системы) играют главную роль в обеспечении трофики и тканевого гомеостаза. Они интимно связаны с тканями, в которых располагаются, и могут быть с полным правом отнесены к составным частям органов. Капилляры имеются практически во всех тканях и органах, за исключением ороговевающего эпителия, эмали зубов и роговицы. Капилляры представляют собой мельчайшие сосуды, состоящие из одного слоя эндотелиальных клеток. Диаметр капилляров в различных органах и тканях составляет от 2 до 20 мкм, давление в них составляет от 10 до 20 мм рт. ст. Характер кровотока в капиллярах – не пульсирующий, сопряжен с фазными колебаниями изменения просвета артериол и прекапиллярных сфинктеров. В зависимости от органной локализации различают 3 типа капилляров: соматический, фенестрированный и синусоидный (перфорированный) (Волкова О.В. и соавт., 1975; Волкова О. В., Пекарский М.И., 1976; Бобрик И.И. и соавт., 1984, 1986; Загребин А.М. и соавт., 1986; Roncali L. et al., 1985). Первый тип наиболее распространенный (в легких, в мышцах, в центральной нервной системе, в соединительной ткани). Его отличает плотный контакт эндотелиальных клеток между собой и непрерывная базальная мембрана. Второй тип – фенестрированные капилляры, они присутствуют в железах внутренней и внешней секреции, желудочно-кишечном тракте, почках. Для них характерно наличие щелевых отверстий в базальной мембране для прохождения белковых молекул и менее плотный контакт между эндотелиоцитами. Третий тип – перфорированные капилляры, они встречается в костном мозге и селезенке, для них характерно наличие еще большего расстояния между эндотелиоцитами, чем у второго типа. Кроме того, эти расстояния соответствуют отверстиям в базальной мембране, что обеспечивает прохождение форменных элементов крови. Также капилляры классифицируют в зависимости от их функциональной активности в данный момент времени. Различают: активно функционирующие (открытые) капилляры, плазматические (полуоткрытые) капилляры, без форменных элементов, закрытые (резервные) капилляры. Соотношение между числом открытых и закрытых капилляров обусловлено функциональным состоянием

органа. Если уровень обменных процессов понижен длительное время, то часть их редуцируется. Это происходит, например, в мышцах при длительной гиподинамии. И, наоборот, при увеличении метаболической потребности тканей может происходить неоангиогенез с образованием новых капилляров. Ввиду чрезвычайной функциональной значимости капилляров для жизнеобеспечения тканей и органов, а также большой уязвимости этой структуры (тонкая стенка), капиллярный кровоток имеет многоуровневую регуляцию и многоступенчатую защиту, в которой участвует рецепторная система эндотелия. В ответ на изменяющиеся параметры входного или выходного микрокровотока немедленно изменяются параметры фазных и тонических гладкомышечных сокращений, происходит включение или выключение части капилляров, увеличение или уменьшение амплитуды сокращений прекапиллярных сфинктеров и т.д. [132, 134]. Подобным образом происходит реагирование микроциркуляторного русла при возрастании кислородного запроса, изменении кислотно-основного состояния интерстиция и т.д. Кроме того, для обеспечения оптимальных условий для газообмена, фильтрации и реабсорбции линейная скорость кровотока и гидростатическое давление должны находиться в достаточно строгих пределах, независимо от внешних или внутренних факторов (скорость капиллярного кровотока составляет 500-1000 мкм/сек., у детей до 1500 мкм/сек., давление 15-25 мм рт. ст.) [2].

Венулы – сосуды выходного тракта микроциркуляторного русла, представлены двумя слоями: эндотелиальной выстилкой и адвентицией, диаметр этих сосудов составляет 15-50 мкм. Мышечные клетки в венулах отсутствуют. Однако в некоторых работах описывается наличие небольших гладкомышечных скоплений и клапанов, в тончайших венах и венулах. Одними из таких скоплений являются посткапиллярные сфинктеры, располагающиеся на границе капилляра [185]. Давление в венуле на выходе из капилляра составляет приблизительно 10-15 мм рт. ст.

Артериоловенулярные анастомозы (шунтирующие капилляры) отвечают за перераспределение кровотока внутри микроциркуляторного русла. Эти структуры

впервые описал в 1862 г. французский анатомом J. Sucquet, выделив их в ногтевом ложе, коже и мякоти пальцев кисти. В 1872 г. профессор Варшавского университета Г.Ф. Гойер, применив инъекционную и коррозионную методику, нашел извитые анастомозы между артериолами и венулами в области ушной раковины, губы и хвоста у лабораторных животных. Артериоловенулярные анастомозы представляют собой шунты, по которым артериальная кровь сбрасывается в венозное русло в обход капилляров и формируется так называемый ненутритивный кровоток. Артериоловенулярные анастомозы способны достаточно быстро включаться в работу и также быстро выключаться. Согласно закону Пуазейля кровоток через анастомоз за единицу времени превышает таковой в капилляре в 10^4 , т.е. в 10 тысяч, раз, т.е. один артериоловенулярный анастомоз эквивалентен 10 тысячам капилляров [6].

Помимо кровеносных сосудов интерстициальная жидкость также является одним из звеньев микроциркуляторного русла и непосредственным участником тканевого метаболизма, а ее количество и состав свидетельствуют об эффективности микроциркуляции.

Лимфатические капилляры (прелимфатицы) представляют собой начальную открытую часть лимфатической системы. Они располагаются в непосредственной близости с гемокапиллярами и представляют собой открытые «воронки», устья которых имеют фиксирующие соединительнотканые нити (якорные филаменты). При увеличении гидростатического давления в тканях, филаменты натягиваются, устье раскрывается и интерстициальная жидкость, а также различные частицы, в том числе и размером более 100 мкм (белки, фрагментированные клетки, бактерии), входят в просвет лимфокапилляра. Структурной составляющей лимфокапилляра является лимфангион, обладающей собственной пейсмейкерной активностью и имеющей в своем составе запирающий клапан. Движение лимфы происходит активно, против градиента давления. В систему кровообращения ежесуточно поступает 2-4 л лимфы [7].

Особую роль в структуре и функции микроциркуляторного русла имеет эндотелий, он представляет собой однослойный пласт клеток мезенхимного

происхождения, выстилающий изнутри кровеносные и лимфатические сосуды. По сути, он является самым最大的 эндокринным органом [71]. Эндотелиальные клетки расположены продольно в направлении потока, толщина слоя составляет 0,2-0,5 мкм. В артериолах эндотелиальные клетки имеют длину приблизительно 100 мкм и ширину приблизительно 10 мкм [75]. Это соотношение 10:1 уменьшается по мере уменьшения диаметра расположенных более дистально артериол. Эндотелиальные клетки содержат непрерывные филаменты F-актина, граничащие с мембраной клетки, и пучки F-актина, пересекающие клетку в продольном направлении в виде коротких волокон [75, 183]. Со стороны просвета сосуда эндотелий покрыт гелеобразным слоем толщиной 0,2-0,5 мкм (гликокаликсом). Гликокаликс состоит из 3 основных компонентов: протеогликанов, гликозаминогликанов и белков плазмы, а также содержит различные вещества, такие как антитромбин и супероксиддисмутаза. Все составляющие гликокаликса синтезируются эндотелиальными клетками. Гликокаликс отвечает за несколько важных физиологических процессов, таких как транспорт растворенных веществ, гемостаз и иммунологические функции, а также участвует в регуляции проницаемости сосудов [81, 130].

Эндотелиоциты содержат множественные фенестрации и поры, чрезвычайно богаты различными рецепторами, имеют мощную связь с гладкомышечными клетками, в симбиозе с ними регулируют микрососудистый кровоток преимущественно за счет регуляции тонуса артериол и прекапиллярных сфинктеров. В регуляции тонуса сосудов они участвуют посредством синтеза и высвобождения вазоактивных факторов, которые оказывают действие на гладкомышечные клетки мези. Эндотелиоциты синтезируют и высвобождают вещества, оказывающие контрактильное и дилататорное воздействия на гладкую мускулатуру сосудов [71]. Эндотелий способен синтезировать вазорелаксирующие факторы (оксид азота, эндотелиальный гиперполяризующий фактор (EDHF)), а также вещества с вазоконстрикторной активностью, такие как эндотелин, супероксид и тромбоксаны. Однако в физиологических условиях высвобождение вазодилататорных и антикоагулянтных факторов превалирует

над вазопрессорными и прокоагулянтными. Эндотелий-зависимый фактор гиперполяризации, играет важную роль в дилатации микрососудов (менее 100 мкм). Недавние исследования показали важную роль этого фактора в том числе в регуляции микроциркуляции миокарда [83]. Оксид азота также является мощным вазодилататором, однако к нему чувствительны артериальные сосуды более крупного диаметра. Особенно велика его роль в поток-индуцированной вазодилатации при окклюзионном teste [91].

Описано 3 основных механизма регуляции микротоков: миогенный, метаболический и нейрогуморальный. Эти механизмы чрезвычайно сложны, все процессы взаимодействия до конца не изучены. Однако не так давно идентифицированы два ионных канала: Piezo1 и Piezo2. В эндотелиальных клетках рецепторы Piezo1 действуют как анализаторы объемной скорости кровотока, анализируя смещение цитоскелета эндотелия одновременно в двух плоскостях: в горизонтальной – за счет сдвига линейной скорости кровотока и вертикальной – за счет изменения давления, оказываемого на стенку сосуда. Современные исследования подтверждают, что Piezo1 при стимуляции напряжением сдвига может контролировать высвобождение АТФ, что приводит к активации связанного с Gq/G11 пуринергического рецептора P2Y2 и, таким образом, регулировать образования NO [129]. Имеющиеся данные указывают на то, что деформация цитоскелета эндотелиоцитов, вызванная движением крови, релаксацией или спазмом артериол, инициирует одновременно несколько внутриклеточных сигнальных путей, которые приводят к синтезу и высвобождению вазоактивных факторов, которые в конечном итоге регулируют тонус гладкомышечных клеток для соответствующего контроля диаметра сосудов [157, 170]. Повреждение структуры компонентов цитоскелета эндотелиальных клеток значительно ухудшает регуляцию кровотока [43, 57, 62, 143, 163]. Это свидетельствует о том, что наряду с рецепторным аппаратом внутриклеточная структура эндотелиоцитов играет важную роль в их функциональной активности за счет способности анализировать и преобразовывать механические сигналы и в соответствии с этим синтезировать вазоактивные соединения [70, 99, 102, 146, 150].

Следующей, не менее важной функцией эндотелиальных клеток, напрямую связанной с их структурой, является регуляция проницаемости сосудов. Например, токсемия и воспаление способствуют развитию нарушений в клеточных соединениях (нексусах) и структурах эндотелиального цитоскелета, которые в норме обеспечивают избирательную проницаемость микрососудов, причем наиболее сильно изменяется проницаемость в капиллярах и венулах [121, 182].

Структурные различия в эндотелиальных клетках мезентериальных, почечных и легочных сосудов, позволяют предположить, что существует регионарная функциональная гетерогенность эндотелия [76, 95, 125]. По этой причине проявления эндотелиальной дисфункции, такие как нарушения регуляции, проницаемости и гемостаза, также могут иметь органную специфичность. Функциональная гетерогенность эндотелиальных клеток проявляется различной реакцией на влияние воспалительных агентов и токсинов, эта реакция изменяется также от артериол к венулам.

1.2 Патофизиология микроциркуляции у пациентов в критическом состоянии (современные аспекты)

Для критических состояний характерны тяжелые расстройства жизненно важных систем организма, сопряженные с гипоперфузией. Микроциркуляторные нарушения при жизнеугрожающих состояниях, как правило, носят системный характер. Нарушения микрокровотока влекут за собой расстройство тканевого гемостаза (гипоксию ткани, отек интерстиция, нарушение клеточного метаболизма и т.д.), что приводит к развитию мультиорганной дисфункции. Повреждение эндотелия с последующим формированием острой эндотелиальной дисфункции является одним из важнейших звеньев патогенеза микроциркуляторных нарушений при критических состояниях [9, 60, 116, 154].

Для эндотелиальной дисфункции характерны: смещение сосудистого тонуса в сторону вазоконстрикции, гиперкоагуляция и увеличение синтеза провоспалительных агентов [26, 195]. Механизмы, участвующие в снижении вазодилататорных реакций, включают снижение синтеза оксида азота и гиперполяризующего фактора эндотелия [131]. Повышенный синтез хемокинов, таких как хемоаттрактант-пептид-1, и выработка активатора плазминогена-1 способствуют нарушению внутрисосудистого гемостаза, а увеличение продукции вазоактивных пептидов способствует нарушению проницаемости сосудистой стенки [54]. При активации и дисфункции эндотелия происходит нарушение целостности сосудов и апоптоз эндотелия капилляров, что приводит к обнажению тромбогенной базальной мембранны и активации каскада свертывания крови [165]. Кроме того, активация эндотелия цитокинами (IL-1 β и TNF- α) может также запускать коагуляцию [131]. Одновременно эндотелиоциты начинают секретировать цитокины, которые увеличивают продукцию тромбоцитов. Активация тромбоцитов является основной причиной тромбоза. Тромбоциты также производят фактор роста эндотелия (VEGF), который способствует экспрессии тканевого фактора на клетках эндотелия, основного активатора каскада свертывания крови [120].

Пусковыми механизмами для нарушения микроциркуляции при критических состояниях могут быть: острая ишемия, синдром ишемии-реперфузии, воспаление, гипоксия (механизмы, приводящие к повреждению эндотелия и гликокаликса). В результате нарушаются главные функции эндотелия: барьерная, регуляторная и антиадгезивная (рисунок 2).

Повреждение гликокаликса влечет за собой адгезию и активацию лейкоцитов с развитием воспалительной реакции с последующим повреждением мембранны эндотелия и нарушением рецепторной и, как следствие, регуляторной функции. Нарушение барьерной функции приводит к выходу из микрососудистого русла плазмы и клеток крови, что способствует отеку, снижению скорости капиллярного кровотока и внутрисосудистой агрегации.

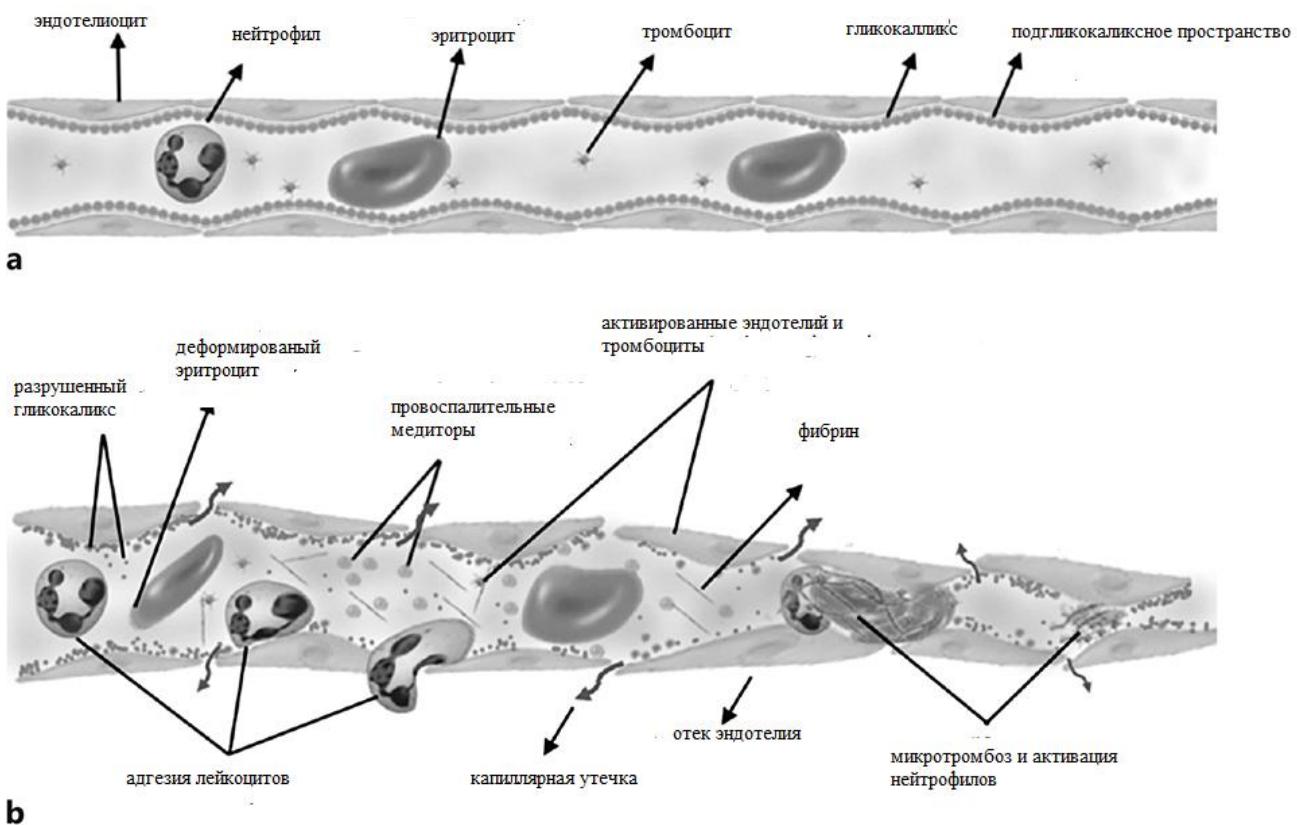


Рисунок 2 – Нарушения микроциркуляции вследствие повреждения эндотелия

В результате активации макрофагов и эндотелиальных клеток под действием эндотоксина, провоспалительных цитокинов или других факторов происходит угнетение синтеза оксида азота (NO), главного вазодилататора и патологическая экспрессия индуцибелльной синтазы оксида азота (iNOS) [85, 159], в результате чего развивается «селективная вазодилатация» с симптомом «обкрадывания», что способствует неравномерному микротоку (с чередованием зон «шикарного кровотока» и зон гипоперфузии), снижению плотности капиллярной сети и развитию шунтирующего кровотока [23, 30]. При этом капиллярное парциальное давление кислорода становится ниже венозного pO_2 . В иностранной литературе это несоответствие было названо «разрывом pO_2 », характеризующим тяжесть шунтирования. Данное нарушение наиболее характерно именно для сепсиса [85, 142, 159].

Микроциркуляторные нарушения носят неоднородный характер: формируется чередование адекватно перфузируемых участков с участками

гипоперфузии, это особенно характерно для септического шока. При этом, чем больше суммарная площадь участков гипоперфузии, тем больше нарушается ответ на лекарственную терапию вследствие снижения биодоступности препаратов [40, 119, 196]. Значительное снижение экстракции кислорода при подобных нарушениях наблюдается даже при сохранении общего притока крови к органу. Решающим аспектом при этом является гетерогенность микрососудистой перфузии. Гетерогенная перфузия может приводить к более серьезным нарушениям оксигенации тканей, чем гомогенно сниженная перфузия [127]. При развитии тканевой гипоксии при однородном снижении перфузии эритроциты играют важную роль в регуляции микроциркуляторного кровотока благодаря своей способности выделять NO. Однако при сепсисе, на фоне неоднородного микрокровотока, эта функция эритроцитов нарушается [41, 64, 123, 160].

Кроме того, лейкоциты, активированные воспалением, генерируют активные формы кислорода, непосредственно повреждающие эндотелий, нарушающие клеточные взаимодействия и коагуляционную функцию эндотелия [171, 190]. Эти и другие медиаторы воспаления нарушают барьерную функцию микроциркуляторного русла, включая эндотелиальный гликокаликс, что приводит к отеку тканей и дальнейшему прогрессированию тканевой гипоксии [68, 188].

На фоне развития острой эндотелиальной дисфункции гладкомышечные клетки артериол теряют свою адренергическую чувствительность, что также усугубляет нарушение микрокровотока [20, 167].

При развитии острой эндотелиальной дисфункции нарушается функциональная координация между макро- и микрогемодинамикой. И нередко, например при сепсисе, наблюдается сохранение нормальных параметров центральной гемодинамики на фоне выраженных микроциркуляторных нарушений [89, 169].

Результаты многих исследований, в которых использовали стандартные методы восстановления адекватных показателей центральной гемодинамики для достижения перфузии органов при шоке, показали невозможность снижения риска развития синдрома мультиорганной дисфункции [94]. Y. Sakr et al.

показали, что нарушение микроциркуляции при сепсисе, не устранимое в течение 24 часов, было единственным независимым фактором, предсказывающим исход болезни [128]. Авторы этой публикации делают вывод, что микроциркуляторная дисфункция, сохраняющаяся в течение продолжительных периодов времени, является ведущим патогенетическим механизмом в органной недостаточности при сепсисе.

1.3. Современные методы прижизненной диагностики состояния микроциркуляторного русла

Среди арсенала методов оценки микроциркуляции можно выделить прямые и косвенные, инвазивные и неинвазивные.

Классические клинические неинвазивные косвенные методы оценки могут использоваться у постели больного в качестве скрининга наличия нарушений микроциркуляции. К этим методам относятся: оценка времени наполнения капилляров (время исчезновения «белого пятна»), показатель пятнистости кожи и температурный градиент между ядром и периферией [92, 118, 179].

Эти методы оценки микроциркуляции рутинно используются у больных в критическом состоянии, при этом доказано, что они достаточно информативны и изменения периферического кровотока отражают и тяжесть нарушений органной перфузии, независимо от состояния системной гемодинамики [92, 118, 179]. Однако они позволяют проводить все же только косвенную оценку микроциркуляции и не дают объективной информации в отношении конкретных патофизиологических изменений на уровне микроциркуляторного русла (тромбоз, экстравазация, снижение скорости кровотока и др.), что могло бы более точно объективизировать степень и характер нарушений и обеспечить возможность подбора терапии [42].

В арсенале анестезиолога-реаниматолога также имеется возможность инвазивной оценки микроциркуляции с помощью таких косвенных показателей, как концентрация лактата и степень насыщения кислородом смешанной венозной крови [163]. Показатель лактата долгое время считался «золотым стандартом» для диагностики тканевой гипоксии и оценки микроциркуляторных нарушений. Тем не менее, возможный дисбаланс между синтезом лактата (концентрацией в тканях) и его концентрацией в крови в условиях гетерогенных нарушений микроциркуляции при критических состояниях ставят под сомнение данный показатель [117]. Венозная сатурация также является спорным показателем для диагностики тканевой гипоксии и оценки микроциркуляторных нарушений, вследствие наличия артериоло-венулярного шунтирования. Например, при сепсисе микроциркуляторное шунтирование может способствовать нормальному значению SvO_2 , но при этом вероятно развитие выраженной тканевой гипоксии. Кроме того, современные исследования показывают, что нормализация показателя венозной сатурации не влияет на выживаемость [111, 159].

Помимо клинических и лабораторных способов оценки микроциркуляции на сегодняшний день в арсенале клинических специалистов имеется достаточное количество инструментальных методов. Однако часть из них неприменимы для диагностики «у постели больного», тем более у пациентов в критическом состоянии, а другие имеют ряд ограничений, связанных с условиями измерения и интерпретации результатов. Одновременное использование нескольких методов оценки микрокровотока потенциально может дать более полную информацию о состоянии системы микроциркуляции. Наиболее часто применяемыми методами микроциркуляции у пациентов в критическом состоянии являются неинвазивные инструментальные методы диагностики. Сублингвальная микроскопия – наиболее часто применяемый неинвазивный метод прижизненной визуализации микрокровотока. Исследование сублингвальной микроциркуляции осуществляется при помощи темнопольного электронного микроскопа или методом спектральной визуализации с ортогональной поляризацией. Оценка скоростных параметров микрокровотока носит полуколичественный характер

(индекс микрососудистого кровотока, MFI). При помощи этих методов визуализации также оценивается ангиоархитектура, общая плотность и плотность перфузируемых микрососудов (TVD и PVD), доля перфузируемых сосудов (PPV), характер микрокровотока (гетерогенный, гомогенный). Недостатком метода является невозможность определения скорости капиллярного кровотока, так как капилляры в этой области ориентированы в разных плоскостях [14, 90].

Спектральная визуализация с ортогональной поляризацией (OPS) – относительно новый неинвазивный метод, разработанный для оценки микроциркуляции, идеально подходящий для изучения микрокапилляров под тонким слоем слизистой оболочки, например языка, конъюнктивы и серозной оболочки. Это устройство состоит из небольшой видеокамеры, прикрепленной к источнику света с фильтрами и подключенной к персональному компьютеру через оптоволоконный соединитель. Исследуемая ткань освещается поляризованным светом (длина волны 548 нм, которая поглощает как дезокси-, так и оксигемоглобиновый свет), что позволяет получить четкое изображение микрососудов. Внутри ткани на глубине почти 300 мкм свет деполяризуется и отражается обратно [73, 189].

Темнопольная микроскопия (SDF) – это дальнейшее развитие технологии визуализации с ортогональной поляризацией (OPS). Метод основан на несколько иных принципах и с другой длиной волны, а также с изоляцией излучающего и освещдающего света. Это обеспечивает лучшее разрешение и четкость, чем при спектральной визуализации с ортогональной поляризацией [158]. Темнопольная микроскопия, так же как и спектральной визуализации с ортогональной поляризацией применяется для исследования микроциркуляции языка, кожи, печени и мозга.

Следующим прямым неинвазивным методом исследования состояния микроциркуляции является витальная микроскопия ногтевого ложа. Этот метод считается золотым стандартом для исследования микроциркуляции *in-vivo*. Его достоинством является хорошая визуализация, неинвазивность и возможность достаточно точного определения капиллярного кровотока за счет того, что

дистальные петли капилляров этой области расположены строго в горизонтальной плоскости. Однако поскольку эта область очень чувствительна к изменениям температуры и сосудосуживающим препаратам, есть некоторые ограничения в его использовании. Этот метод наиболее часто применяется в дерматологии и ревматологии, значительно реже – для пациентов в критическом состоянии. Однако возможность оценки не только структуры капиллярного русла, но и также скоростных параметров кровотока, размеров и плотности капилляров, величины периваскулярной зоны позволяют использовать данный диагностический метод в том числе для диагностики острых нарушений микроциркуляции [24, 93].

Лазерная допплеровская флоуметрия – один из наиболее часто применяемых неинвазивных методов, основанный на отражении лазерного света движущимися эритроцитами. Метод позволяет определять показатель микроциркуляции в небольшом объеме ткани. Показатель микроциркуляции (ПМ) прямо пропорционален произведению количества эритроцитов в зондируемом объеме и их линейной скорости, т.е. косвенно отражает объемную скорость микрокровотока [66]. Кроме того, при помощи амплитудно-частотного преобразования полученного сигнала метод позволяет также оценить вклад различных колебательных механизмов в микрокровоток (эндотелиальные, нейрогенные, миогенные, дыхательные, пульсовые колебания) [5]. Однако с учетом принципа метода оценки микрокровотока, а также выраженной изменчивости характера каждой микроциркуляции в зависимости от температуры, системного давления, положения тела, принимаемых лекарственных препаратов и др., значения ПМ или средней амплитуды колебания микрокровотока являются крайне вариабельными даже у одного и того же человека. По этой причине использование абсолютных числовых значений ПМ не является объективным подходом для оценки состояния микроциркуляции, особенно у пациентов в критическом состоянии. Однако изменения значения ПМ достаточно четко отражают изменения микрокровотока, поэтому использование данного метода для выполнения функциональных тестов (окклюзионная проба,

проба с нагреванием или охлаждением, проба с применением лекарственных препаратов) с целью оценки сохранности механизмов регуляции микроциркуляции может быть очень полезным, в том числе и в условиях ОРИТ.

Наиболее часто используется три вида функциональных тестов. Холодовая проба (cold pressor test) служит для оценки симпатической регуляции микрокровотока. При этом чаще используется локальное охлаждение кисти или стопы погружением в холодную воду (температуру 3-15 °C). В результате охлаждения происходит стимуляция терморецепторов, что влечет симпатическую активацию и приводит к спазму артериол, повышению артериального давления, без изменения частоты сердечных сокращений. Такие же изменения синхронно происходят на контралатеральной конечности. Результаты этого функционального теста характеризуют нейрогенный механизм регуляции микрокровотока.

Тепловая проба проводится локальным нагреванием области исследования до 40-45 °C путем погружения стопы или кисти в горячую воду. При этом оценивается увеличение кровотока во время развития реактивной тепловой гиперемии. Считается, что первичный механизм тепловой дилатации артериол обусловлен нейрогенной активностью (аксон-рефлекс), дальнейшая рефлекторная гиперемия является эндотелий-зависимой, за счет влияния оксида азота (NO).

Окклюзионная (манжеточная) проба, или проба с реактивной гиперемией представляет собой функциональный тест, заключающейся в кратковременном прекращении (от 1 до 3 минут) артериального и венозного кровотока в сосудах конечности (чаще верхней) с последующим резким восстановлением кровотока путем резкого спускания воздуха из манжеты. При этом оценивается максимальный прирост кровотока после сдувания манжетки и среднее значение постокклюзионного кровотока в течение 3-5 минут. Функциональный тест позволяет оценить сохранность механизмов эндотелий-зависимой вазодилатации и информативен для оценки регуляторной функции эндотелия.

Функциональный тест с ацетилхолином является также информативным для оценки эндотелиальной функции. Как и при окклюзионном тесте, оценивается

прирост кровотока на фоне лекарственного воздействия (при аппликации раствора ацетилхолина на участок кожи), который развивается в результате эндотелий-зависимой вазодилатации [61, 124, 133, 164].

Лазерная спекл-контрастная визуализация – это новая неинвазивная методика, которая позволяет оценивать интенсивность микрокровотока в больших областях (до нескольких сотен квадратных сантиметров) при помощи двухмерных изображений. Метод основан на регистрации динамической спекл-интерференционной картины, которая формируется при отражении лазерного света эритроцитами [21]. К преимуществам метода относятся неинвазивность, а также возможность диагностики микроциркуляторных нарушений в реальном времени. Результатом выполнения лазерной спекл-контрастной визуализации является определение значений интенсивности светового потока. Этот показатель коррелирует с интенсивностью микрокровотока.

Для оценки оксигенации тканей (косвенная оценка микроциркуляции) применяют метод перкутанного определения напряжения кислорода. Метод основан на применении закрытого мембранных электрода типа «Кларка», создающего локальную гипертермию. С помощью этого метода оценивают напряжения кислорода в мягких тканях (мм рт. ст.). Данный вид диагностики наиболее часто применяют для оценки регионарных нарушений микрокровотока (при диабетической ангиопатии, облитерирующем атеросклерозе, отморожениях и т.д.).

Метод ближней инфракрасной спектроскопии (NIRS) также направлен на определение регионарной оксигенации и наиболее часто применяется для неинвазивной косвенной оценки микрокровотока головного мозга, т.к. излучение ближнего инфракрасного спектра способно проникать в глубину тканей через кость. Метод основан на анализе соотношения спектров излучения оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина.

Одним из высоко информативных инвазивных методов оценки микроциркуляции органов является однофотонная эмиссионная компьютерная томография. Можно сказать, что это сочетание двух методов: компьютерной

томографии и сцинтиграфии. Исследование выполняется с использованием радиофармпрепарата. С учетом показателя накопления радиофармпрепарата автоматически рассчитывается показатель микроциркуляции. С помощью данного метода определяют показатель средней микроциркуляции в органе, а также локальные значения микроциркуляции в исследуемой области [161, 162]. ОФЭКТ наиболее часто применяют для диагностики нарушений микроциркуляции легких и сердца. Однако для пациентов в критическом состоянии ограничением к его применению является необходимость транспортировки пациента.

1.4 Современные возможности терапевтического воздействия на микроциркуляцию

На сегодняшний день существует не так много методов для улучшения микрокровотока, однако ряд лекарственных препаратов, используемых в интенсивной терапии, могут оказывать положительное влияние на микрокровоток [155]. Клинические проявления острых нарушений микроциркуляции у пациентов в критическом состоянии обычно характеризуются потерей гемодинамической согласованности между макро- и микрокровотоком, при этом улучшение гемодинамических показателей системного кровообращения далеко не всегда приводит к улучшению перфузии и оксигенации органов [94]. В этой связи необходимость мониторинга микроциркуляции для своевременной коррекции микроциркуляторных нарушений представляется неоспоримой.

Некоторые методы лечения, применяемые в интенсивной терапии, хотя и не являются специфическими для улучшения микроциркуляции, однако оказывают на нее существенное влияние. При этом неправильное или несвоевременное их применение может приводить к значительному ухудшению имеющихся расстройств микрокровотока. В идеале терапия, направленная на коррекцию микрокровотока должна воздействовать на один или несколько патогенетических

механизмов, участвующих в развитии микроциркуляторных нарушений. Большинство методов, которые в настоящее время используются для воздействия на макрогемодинамику, могут также в той или иной степени влиять на микроциркуляцию.

Растворы для инфузионной терапии и вазоактивные вещества являются ключевыми компонентами терапии, направленной на улучшение перфузии тканей. Предполагается, что улучшение оксигенации тканей может быть достигнуто улучшение перфузии именно на уровне капиллярного звена. Многие исследования продемонстрировали, что проведение инфузионной терапии может улучшать перфузию тканей, увеличивая долю перфузируемых капилляров и уменьшая неоднородность перфузии [22, 50].

Важно отметить, что в исследованиях микроциркуляторные эффекты были относительно независимыми от системных эффектов. Положительный эффект от проведения инфузионной терапии в основном наблюдают в ранней фазе сепсиса (в течение 24 часов после постановки диагноза), тогда как более позднее (после 48 часов) введение инфузионных растворов не приводит к улучшению микроциркуляции даже при увеличении сердечного выброса [50].

До сих пор ведутся споры о том, какие типы растворов оказывают более выраженный эффект на микроциркуляцию в тканях. Например, некоторые авторы показали, что коллоиды при определенных условиях могут улучшать микроток лучше, чем кристаллоиды [79], при этом данный эффект не удалось подтвердить у пациентов с тяжелым сепсисом [50]. Механизмы, с помощью которых введение инфузионных растворов может улучшать микроциркуляцию, недостаточно изучены, в основном этот эффект связывают с увеличением волемии, улучшением реологических свойств крови, поддержанием перфузионного давления, а также со снижением концентрации эндогенных сосудосуживающих веществ. При этом вопрос длительности и лимита воздействия инфузионной терапии на микроток требует дальнейшего изучения. На эффект «насыщения» указывают наблюдения J. Pottecher et al. [22], которые наблюдали улучшение микроваскулярной перфузии после первого

боляса жидкости. При этом дальнейшее продолжение инфузационной терапии не оказывало никакого эффекта, даже несмотря на дальнейшее увеличение сердечного выброса.

Эффекты от переливания эритроцитной массы также являются вариабельными и могут зависеть от тяжести основных микроциркуляторных изменений. У больных с сепсисом гемотрансфузия не всегда приводит к улучшению микроциркуляции: она может улучшаться у пациентов с более выраженными нарушениями микрокровотока, при этом у пациентов с исходными показателями микроциркуляции, близкими к нормальным может наблюдаться ухудшение микрокровотока [115].

Применение бета-адреномиметиков может улучшать перфузию микрососудов, увеличивая не только конвективный, но и диффузионный транспорт [44, 175], причем эти эффекты не связаны с изменениями системных показателей гемодинамики [175]. При введении низких доз добутамина в течение 2 часов у пациентов с септическим шоком методом сублингвальной микроскопии группой исследователей было обнаружено увеличение количества перфузируемых капилляров (от $48\pm15\%$ до $67\pm11\%$, $p<0,001$), а также улучшение других показателей микроциркуляции, как, например, уровня лактата [175]. Эти эффекты не были связанными с изменениями показателей системной гемодинамики, такими как сердечный индекс или артериальное давление.

В аналогичном исследовании, в которое было включено 23 пациента с септическим шоком, C. Enrico et al. [172] не обнаружили, что добутамин оказал какое-либо существенное влияние на микроциркуляцию (например, в среднем доля перфузируемых капилляров была $81\pm0,21\%$ до назначения добутамина против $83\pm19\%$ после введения добутамина, $p=0,45$). Тем не менее, у пациентов с исходно более тяжелыми нарушениями микрокровотока параметры микроциркуляции в целом улучшились на фоне введения добутамина (например, доля перфузируемых капилляров до- и после применения добутамина составила $57\pm0,3\%$ до- $72\pm0,26\%$ после ($p=0,005$)). Аналогичные эффекты выявлены при применении милринона и левосимендана [97, 98].

Вазопрессорная терапия также может оказывать различное влияние на микроциркуляцию. Коррекция выраженной гипотензии с помощью вазопрессоров до достижения уровня среднего артериального давления приблизительно 65 мм рт. ст. может приводить к улучшению микроциркуляции [52, 147].

Однако повышение значения среднего артериального давления до более высокого уровня (75-85 мм рт. ст. и выше) при использовании вазопрессоров может приводить к ухудшению микроциркуляции. Следует отметить, что эти данные получены в исследованиях с небольшим количеством пациентов и имели большую индивидуальную вариабельность [49, 88, 145].

Интересно, что как и в случае использования добутамина, повышение артериального давления при помощи вазопрессорной терапии нарушило подъязычную микроциркуляцию у пациентов с исходно сохраненным микрокровотоком, тогда как в наиболее тяжелых случаях наблюдали улучшение микроциркуляции [88].

Сосудорасширяющие лекарственные препараты потенциально могут также улучшать микроциркуляцию, поскольку локальная дилатация может способствовать увеличению притока крови к капиллярам и их рекрутированию, а снижение плотности сосудов и тромбирование капилляров могут быть результатом чрезмерной вазоконстрикции питающего сосуда [67, 111]. В то же время в рандомизированном исследовании, включавшем 70 пациентов с септическим шоком, не было выявлено улучшающего влияния нитроглицерина на микроциркуляцию [51]. Однако применение нитроглицерина при кардиогенном шоке со строгим подходом к дозированию, по данным С.А. den Uil et al., оказывало положительное влияние на микрокровоток [45].

D.R. Salgado et al. оценили эффекты ингибиования ангиотензин-превращающего фермента в модели септического шока на овцах [168]. Применение эналаприла предотвращало ухудшение показателей сублингвальной микроскопии в этой гипердинамической модели септического шока (поддержание гемодинамики обеспечивали применением инфузионной терапии и норадреналина) без

существенного влияния на артериальное давление, при этом авторы отметили возможное неблагоприятное воздействие на функцию почек и легких.

Применение других сосудорасширяющих средств, например, таких как сульфат магния, не приводило к улучшению микроциркуляции [108].

В целом на сегодняшний день, исходя из имеющихся результатов исследований, использование сосудорасширяющих средств для улучшения микроциркуляции не может быть рекомендовано. Одной из возможных причин отсутствия положительных результатов при применении этих препаратов является недостаточная их селективность, что способствует расширению как перфузируемых, так и неперфузируемых сосудов, а это способствует «роскошной» перфузии изначально хорошо перфузируемых областей и усугублению нарушений микрокровотока в областях, изначально находящихся в условиях гипоперфузии.

Вариабельность реакции на инфузию, трансфузию эритроцитов, инотропные и вазопрессорные средства предполагает, что систематическое использование этих средств также не может быть рекомендовано для рутинного использования и следует предпочесть подход, ориентированный на пациента, с оценкой влияния каждого вмешательства на микроциркуляцию.

Модуляция эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) представляется одним из перспективных способов воздействия на микроциркуляцию, в том числе и у пациентов в критическом состоянии. eNOS активно участвует в регуляции кровотока на микроциркуляторном уровне, ее стимуляция приводит к увеличению перфузии в тканях [153]. Тетрагидробиоптерин (BH4) является важным кофактором эндотелиальной NOS, а соотношение BH4 и дигидробиоптерина определяет продукцию NO [140]. У здоровых добровольцев, подвергшихся воздействию низких доз эндотоксина, введение BH4 восстанавливало реакцию кровотока предплечья на ацетилхолин. Свойство BH4 восстанавливать эндотелиальную функцию наблюдалось также у пациентов с тяжелой гипергликемией и реперфузионным повреждением [173, 174].

Были также получены данные о положительном влиянии этого препарата на проницаемость микрососудов [173].

Витамин С является еще одним агентом, активным в отношении eNOS [194]. Внутривенное введение витамина С улучшало микроциркуляцию в экспериментальных исследованиях на крысах, у которых моделировали развитие перитонита. Кроме того, введение аскорбиновой кислоты было эффективно при остром нарушении мозгового кровообращения [19, 186].

Антикоагулянты также могут улучшать микроциркуляцию [65, 82]. При этом антикоагулянтный эффект возможно не является решающим для улучшения микроциркуляции при использовании этих препаратов, поскольку, например, гирудин, который является прямым ингибитором тромбина, не улучшал микроциркуляцию у животных с сепсисом [180]. Некоторые экспериментальные данные свидетельствуют о том, что снижение адгезии лейкоцитов и тромбоцитов, восстановление гликокаликса и улучшение эндотелиальной реактивности при введении активированного протеина С являются наиболее вероятными механизмами, участвующими в улучшении микроциркуляции [17, 141, 151].

1.5 Современные представления о нарушении микроциркуляции при Covid-19

Вскоре после начала вспышки эпидемии появились сообщения о том, что COVID-19 приводит не только к развитию повреждения легких, но и увеличивает риск нелегочных осложнений, таких как острое повреждение миокарда, почечная недостаточность, тромбоэмбolicкие осложнения и др. [18, 31]. Результаты многочисленных клинических и патологоанатомических исследований у пациентов с Covid-19 свидетельствуют, что нарушения микроциркуляции являются ведущим звеном патогенеза заболевания и носят характер системного процесса [58, 96, 112].

В случае прогрессирования системных нарушений микроциркуляции развивается мультиорганная дисфункция [77].

В соответствии с современными представлениями, главными причинами острых нарушений микроциркуляции у пациентов с этим заболеванием являются активация и дисфункция эндотелия [3, 55, 59]. С учетом тканевого тропизма SARS-CoV-2 к клеткам, экспрессирующим ACE₂, эндотелий сосудов является органом-мишенью для коронавирусной инфекции [184]. Многочисленные данные показывают, что инфекция SARS-CoV-2 оказывает повреждающее воздействие на эндотелий капилляров, вызывая эндотелиальное воспаление и нарушение рецепторной функции эндотелиоцитов, изменяя целостность сосудистого барьера, способствуя развитию прокоагулятивного состояния [34, 39]. В результате нарушаются важнейшие функции эндотелия микроциркуляторного русла: обеспечение внутрисосудистого гомеостаза, управление проницаемостью сосудов и регуляция сосудистого тонуса [71]. Активированные клетки эндотелия капилляров секретируют хемоаттрактанты, цитокины и молекулы адгезии, что приводит к увеличению проницаемости кровеносных сосудов. В неактивированных эндотелиоцитах синтез этих молекул может подавляться оксидом азота [131]. Кроме того, оксид азота оказывает прямое воздействие на лейкоциты, предотвращая их активацию в подвижные формы, способные проникать в ткани [131]. Известно, что у пациентов с Covid-19 в результате повреждения эндотелия синтез оксида азота нарушен [55, 72, 112, 131].

При оценке состояния коагуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19 выявляются повышенные уровни D-димера и фибриногена, активация тромбоцитов и изменение вязкости крови [80, 178]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что активация коагуляционного каскада с возможным развитием диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) является признаком тяжелой формы COVID-19 [96, 181]. При этом повышение уровня D-димера у пациентов в критическом состоянии при COVID-19 свидетельствует о плохом прогнозе [135]. Для тяжелой легочной формы COVID-19 даже было предложено название – микрососудистый обструктивный тромбовоспалительный

синдром легких при COVID-19 («MicroCLOTS») [112]. Выраженное повышение уровня D-димеров и тромбоцитопению при тяжелой форме COVID-19 можно объяснить развитием дисфункции эндотелия и распространенного микротромбоза [32].

Развитие эндотелиальной дисфункции при тяжелой форме COVID-19 также подтверждается увеличением концентрации маркеров активации как эндотелия, так и тромбоцитов по сравнению с контролем [63]. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе COVID-19 также была показана в исследовании, в котором, помимо оценки микроциркуляции, определяли маркеры эндотелиальной дисфункции (протеаза, расщепляющая фактор Виллебранда (ADAMTS13) и фактор роста эндотелия (VEGF-A)). Обнаружили сильную корреляцию этих показателей с тяжестью состояния пациентов с COVID-19 [114]. Известно, что VEGF-A играет ведущую роль в регуляции ангиогенеза, его синтез активируется в условиях гипоксии. При этом влияние на проницаемость сосудистой стенки VEGF-A в 50 000 раз сильнее гистамина [1].

Жизнеугрожающими клиническими проявлениями тяжелого течения COVID-19 являются цитокиновый шторм, ОРДС, полиорганская недостаточность и коагулопатия [191]. Альвеолярное повреждение, отек стенки сосудов, гиалиновые тромбы, микрокровоизлияния и диффузный тромбоз мелких сосудов стали ключевыми проявлениями повреждения легких при тяжелом COVID-19 [136-138]. На примере серии случаев было показано, что легочные микротромбы и легочная эндотелиальная дисфункция объясняет увеличенное мертвое пространство и физиологию развития шунта у пациентов с тяжелой формой COVID-19 [35]. Выраженный легочный эндотелиит и тромбоз микрососудов, вызванных SARS-CoV2 наблюдали и в другой серии патологических случаев, причем количество тромбозов встречали гораздо чаще по сравнению с пациентами с пневмонией, вызванной вирусом гриппа [139]. В настоящее время принято считать, что нарушение регуляции и тромбоз легочных микрососудов может быть основным механизмом, лежащим в основе явление тяжелой гипоксии,

несмотря на относительно сохраненную механику легких при COVID-19, по крайней мере в начальной стадии заболевания [36].

Эпидемиологические исследования показывают, что тяжелые случаи заболевания или смерти из-за COVID-19 часто сопровождаются сопутствующими заболеваниями, такими как пожилой возраст, гипертония, ожирение, диабет и сердечно-сосудистые заболевания [27, 32, 177]. Эндотелиальная дисфункция, которая формируется в течение многих лет, является общей чертой ключевых этих сопутствующих заболеваний, повышающих риск тяжелой формы COVID-19 [34, 156]. Обострение эндотелиальной дисфункции при COVID-19, по-видимому, может ухудшить перфузию органов и вызывают прокоагуляционное состояние, приводящее как к макро-, так и к микрососудистым тромботическим явлениям.

Исследований микроциркуляторного русла у пациентов с Covid-19 на сегодняшний день выполнено сравнительно немного, однако их значимость сложно переоценить. В основном представлены результаты исследований с применением сублингвальной микроскопии. С помощью этого метода оценивают показатели микрососудистой плотности (артериолы, венулы, капилляры), индекс микрососудистого кровотока (MFI), долю перфузируемых микрососудов, толщину гликокаликса и др. Следует отметить, что результаты этих немногочисленных исследований достаточно противоречивы. В одной из работ авторы акцентируют внимание на снижение у больных с Covid-19 плотности сосудов мелкого калибра (капилляров) и толщины гликокаликса, причем более выраженные изменения были выявлены у пациентов, которым проводили ИВЛ [114]. Некоторые исследователи отмечают нормальные значения общей микрососудистой плотности на фоне снижения количества перфузируемых микрососудов и вялого кровотока [105].

В проспективном исследовании, в котором проводили сравнение показателей у больных с тяжелым течением Covid-19 без сепсиса и у пациентов с септическим шоком без Covid-19, микроциркуляторный индекс оказался ниже во 2-й группе, что можно трактовать как менее выраженные проявления эндотелиальной дисфункции у больных без бактериального повреждения [109].

При сравнении показателей сублингвальной микроскопии в группах пациентов с Covid-19 в тяжелом (без ИВЛ) и критическом состоянии выявлены более высокие скорости в микроциркуляторном русле и более высокая плотность микрососудов у более тяжелых больных (которым проводили ИВЛ) [14]. В этом сравнительно небольшом исследовании (43 пациента) у больных с COVID-19 не наблюдали столь выраженной гетерогенности микротоков, как у пациентов при септическом шоке. Кроме того, у пациентов, находящихся на ИВЛ, отмечали более высокий уровень PaCO_2 , что, по мнению авторов, могло оказывать влияние на микроциркуляцию, в том числе и на скоростные показатели микроциркуляции. С учетом особенностей метода проведения исследования (сублингвальная микроскопия) увеличение скорости кровотока могло быть связано с увеличением доли ненутритивного кровотока (преобладания шунтирования из артериол в венулы, минуя капилляры), а увеличение показателя сосудистой плотности (общий показатель для всех микрососудов) могло быть связано не с большим количеством микрососудов, а с большей их протяженностью. Изменение структуры сосуда нередко сопровождается повышенной извитостью, и эти изменения будут также вносить вклад в общий показатель плотности микрососудов.

Еще в одном исследовании микроциркуляции у пациентов с ОРДС при COVID-19, авторы с помощью сублингвальной микроскопии выявили, что микроциркуляторный паттерн характеризовался повышенными значениями общей плотности сосудов, снижением доли перфузируемых сосудов и уменьшением индекса микросудистого кровотока, а также высокими значениями индекса неоднородности. Продолжительность ИВЛ была связана с уменьшением доли перфузируемых сосудов [104].

С учетом того, что опубликованных работ по исследованию микроциркуляции у пациентов с COVID-19 не так много, а результаты носят весьма противоречивый характер, представляется, что оценка состояния микроциркуляции у пациентов с COVID-19 является научной проблемой, которая требует дальнейшего изучения.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика больных

Исследование проводили в Научно-клиническом центре анестезиологии и реаниматологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова в период с апреля 2020 г. по апрель 2021 г. Всего в исследование было включено 86 пациентов, из них 60 больных с тяжелым течением COVID-19, которые поступили в ОРИТ в связи с прогрессирующей острой дыхательной недостаточностью (основная группа или группа № 1). Основными критериями для включения этих пациентов в исследование были: а) изолированное прогрессирование острой дыхательной недостаточности на фоне полисегментарной вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2; б) первые сутки пребывания в ОРИТ.

Критериями исключения считали: инициацию инвазивной ИВЛ в течение первых суток пребывания в ОРИТ, выраженные проявления синдрома мультиорганной дисфункции (нарушение сознания, наличие острой сердечно-сосудистой недостаточности, острой почечной недостаточности) при поступлении в ОРИТ, и, в частности, необходимость адреномиметической поддержки в течение первых суток пребывания в ОРИТ. Кроме того, критерием исключения было наличие признаков бактериальной инфекции при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии (уровень прокальцитонина более 0,5 нг/мл). Также в исследование не включали пациентов с хронической сердечной недостаточностью III-IV функциональных классов (по NYHA) и хронической болезнью почек, требующей проведения заместительной почечной терапии.

Ретроспективно, с учетом исхода заболевания основная группа (группа 1) была разделена на две подгруппы: 1а – выжившие (33 человека), 1б – умершие (27 человек). Оценку показателей микроциркуляции (вitalная микроскопия,

окклюзионная проба с применением лазерной флоуметрии) проводили ежедневно с первых суток поступления в ОРИТ.

С учетом того, что тяжелое течение COVID-19 наиболее часто наблюдалось у больных с хронической патологией (сердечно-сосудистыми, эндокринными заболеваниями, ожирением и т.д.), была сформирована группа состоящая из пациентов с хроническими сердечно-сосудистыми заболеваниями, но не болевших COVID-19 (2-я группа). Включение в исследование дополнительной группы было обосновано необходимостью выявления особенностей микрорвотока у таких больных, а также для оценки количественных показателей микроциркуляции в сравнении с нормой. В группу вошли 12 пациентов кардиохирургического отделения в дооперационном периоде с хронической сердечной недостаточностью (II-III ф.кл. по NYHA) на фоне ишемической болезни сердца и/или клапанного порока, а также с такими сопутствующими заболеваниями как сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ожирение и др.

Для оценки состояния микроциркуляции в периоде реабилитации была сформирована группа из 14 человек (3-я группа), состоящая из выздоровевших пациентов, перенесшие COVID-19 в тяжелой форме более полугода назад. Основным критерием включения для пациентов этой группы являлось сохранение жалоб на снижение качества жизни в течение более чем 6 месяцев после выписки из стационара: на снижение работоспособности, одышку при физической нагрузке (при отсутствии значимой сердечно-сосудистой патологии), нарушение сна, снижение когнитивных функций, миалгии и т.д. Критерием исключения для пациентов группы реконвалесцентов являлось наличие сопутствующих хронических заболеваний, способных вносить вклад в клиническую симптоматику (хроническая сердечная недостаточность, хронические заболевания легких, онкологические заболевания, хроническая анемия, любое другое хроническое заболевание в стадии декомпенсации).

Начиная с первых суток пребывания в ОРИТ, пациентам первой группы выполняли лабораторные исследования крови, позволяющие в том числе

контролировать динамику развития системного воспаления и в соответствии с результатами анализов своевременно корректировать терапию. Помимо определения кислотно-основного состояния крови, выполнения клинического и биохимического анализов, ежедневно рутинно определялись значения таких показателей как прокальцитонин, С-реактивный белок (СРБ), фибриноген, Д-димер, ферритин. В первые, третьи и пятые сутки пребывания в ОРИТ выполняли забор крови для определения уровня интерлейкинов 6 и 10 (ИЛ-6, ИЛ-10), и проадреномедуллина. Демографические показатели, результаты компьютерной томографии легких, базовые клинико-лабораторные показатели, методы респираторной терапии, применяемые в первые сутки пребывания в реанимационном отделении больных COVID-19, представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Демографические и клинико-лабораторные показатели пациентов с Covid-19 (1-я группа), поступивших в ОРИТ

Показатель	1а подгруппа, выжившие (n=33)	1б подгруппа, умершие (n=27)
Пол м/ж	М – 16 (48,5%) Ж – 17 (51,5%)	М – 21 (77,8%) Ж – 6 (22,2%)
Возраст, лет	62,42±0,34	62,00±0,5
Компьютерная томография (КТ)	–	КТ1 – 1 (3,7%)
	КТ2 – 9 (2,27%)	КТ2 – 4 (14,81%)
	КТ3 – 20 (60,61%)	КТ3 – 10 (37,04%)
	КТ4 – 4 (12,12%)	КТ4 – 12 (44,45%)
Респираторная поддержка	Инсуффляция О ₂ – 27 (81,82%)	Инсуффляция О ₂ – 12 (44,44%)
	ВПО – 2 (6,06%)	ВПО – 5 (18,52%)
	НИВЛ – 4 (12,12%)	НИВЛ – 10 (37,04%)
Лейкоциты (×10 ⁹ /л)	10,80±0,14	10,57±0,22

Продолжение таблицы 1

Показатель	1а подгруппа, выжившие (n=33)	1б подгруппа, умершие (n=27)
Лимфоциты (%)	9,36±0,17	10,2±0,49
СРБ (мг/л)	107,47±1,92	138,92±3,0
D-димер (нг/мл)	1072,94±31,71	3917,65±371,35*
Фибриноген (г/л)	5,79±0,04	6,22±0,06
Примечание – * – $p<0,05$; ВПО – высокопоточная оксигенация; НИВЛ – неинвазивная вентиляция легких.		

Таблица 2 – Демографические характеристики пациентов, не болевших COVID-19 (2-я группа), и реконвалесцентов (3-я группа)

Показатель	2-я группа, не болевшие COVID-19 (n=12)	3-я группа, реконвалесценты (n=14)
Пол м/ж	М – 8 (66,7%) Ж – 4 (33,3%)	М – 10 (71,43%) Ж – 4 (28,57%)
Возраст, лет	71,15±0,49	49,13±0,64

Большинство пациентов, включенных в исследование, имели сопутствующую хроническую патологию (таблицы 3, 4).

Таблица 3 – Сопутствующие заболевания у пациентов с тяжелым течением COVID-19 (1-я группа)

Сопутствующие заболевания	Количество больных, n (%)
Артериальная гипертензия	44 (73,3%)
Ишемическая болезнь сердца	37 (61,7%)
Сахарный диабет	21 (35%)

Продолжение таблицы 3

Сопутствующие заболевания	Количество больных, n (%)
Хроническая сердечная недостаточность	5 (8,3%)
Фибрилляция предсердий	9 (15%)
Хр. обструктивная болезнь легких	5 (8,3%)
Хр. болезнь почек	3 (5%)
Ожирение	22 (36,7%)
Гематологические заболевания	2 (3,3%)
Интерстициальные заболевания легких	1 (1,6%)
Сочетанная патология	41 (68,3%)
Без сопутствующей патологии	2 (3,3%)

Таблица 4 – Сопутствующие заболевания у пациентов, не болевших COVID-19, и реконвалесцентов

Сопутствующие заболевания	Группа 2 (не болевшие COVID-19) n=12 (количество больных, n (%))	Группа 3 (реконвалесценты) n=14 (количество больных, n (%))
Артериальная гипертензия	10 (83,3%)	6 (42,85%)
Ишемическая болезнь сердца	10 (83,3%)	2 (14,28%)
Сахарный диабет	3 (25%)	2 (14,28%)
Хроническая сердечная недостаточность	11 (91,67%)	0
Фибрилляция предсердий	2 (16,66%)	0
Хроническая обструктивная болезнь легких	2 (16,66%)	2 (14,28%)

Продолжение таблицы 4

Сопутствующие заболевания	Группа 2 (не болевшие COVID-19) n=12 (количество больных, n (%))	Группа 3 (реконвалесценты) n=14 (количество больных, n (%))
Хроническая болезнь почек	1 (8/33%)	0
Ожирение	8 (66,7%)	3 (21,43%)
Сочетанная патология	12 (100%)	6 (42,86)
Без значимой сопутствующей патологии	–	5 (35,71%)

Наиболее часто выявляли гипертоническую болезнь, ишемическую болезнь сердца, сахарный диабет и ожирение. Более чем у половины больных выявляли сочетанную патологию.

2.2 Лечение пациентов с тяжелым течением COVID-19 в отделении реанимации и интенсивной терапии

Главным критерием перевода пациентов с COVID-19 в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) являлось прогрессирование дыхательной недостаточности. Значение показателя насыщения гемоглобина кислородом, по данным пульсоксиметрии, при дыхании атмосферным воздухом у них не превышало 85%. Респираторную терапию подбирали с учетом степени гипоксемии, состояния больного, объема поражения легких. Начиная от момента поступления больного в ОРИТ и в течение всего времени его пребывания, вид респираторной поддержки, а также параметры подвергались изменениям

в соответствии с состоянием пациента. При поступлении продолжалась респираторная терапия в соответствии с тяжестью гипоксемии. Следует отметить, что у всех пациентов, включенных в исследование, при поступлении в ОРИТ отмечали стабильные показатели гемодинамики (чаще с тенденцией к артериальной гипертензии) и адекватный темп диуреза. Для достижения целевых значений оксигенации ($SpO_2 = 90\text{-}93\%$), в зависимости от тяжести состояния и клинического эффекта, назначался тот или иной вид респираторной терапии. Так, в первые сутки пребывания в ОРИТ 29 пациентов получали инсуффляцию кислорода через лицевую маску с потоком 10-15 л/мин (при необходимости в пропозиции), у 13 человек применялась высокопоточная оксигенотерапия (ВПОТ) через назальные канюли (20-60 л/мин) с фракцией кислорода 40-75%. Для ВПОТ использовали аппараты ИВЛ Hamilton G5 (Hamilton Medical, Швейцария) с наличием режима HighFlow, позволяющего проводить высокопоточную оксигенацию через контур с назальными канюлями. В зависимости от уровня гипоксемии устанавливали скорость потока и фракцию вдыхаемого кислорода. Неинвазивную вентиляцию легких через полнолицевую герметичную маску в первые сутки пребывания в ОРИТ проводили 18 пациентам. При отсутствии результата от применения неинвазивной вентиляции или высокопоточной оксигенации (быстрое прогрессирование острой дыхательной недостаточности в течение нескольких часов, отсутствие улучшения с учетом коррекции параметров, развитие гиперкапнии, нестабильной гемодинамики, мультиорганной дисфункции, острого психоза) выполнялся немедленный перевод на инвазивную вентиляцию легких.

Лекарственную терапию, которая включала в себя этиотропное, патогенетическое и симптоматическое лечение, у пациентов с тяжелым течением COVID-19 назначали в соответствии с нормативным документом «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19. Временные методические рекомендации» (2020 г.).

Экстракорпоральную гемокоррекцию (продолжительную гемофильтрацию с сорбцией) включали в комплексное лечение на основании решения консилиума для снижения выраженности цитокинового шторма.

2.3 Инструментальные методы оценки состояния микроциркуляторного русла

Для оценки состояния микроциркуляторного русла *in vivo* были использованы взаимно дополняющие друг друга методы, наиболее удобные для применения у постели больного: витальная капилляроскопия ногтевого ложа пальцев кисти и лазерная допплеровская флюметрия. Видеомикроскопическое исследование осуществляли при помощи электронного капилляроскопа ЦАВ С-01 (ЗАО центр «Анализ Веществ»), оснащенного программным обеспечением, позволяющим проводить измерения морфометрических и скоростных параметров капиллярного русла (рисунок 3).

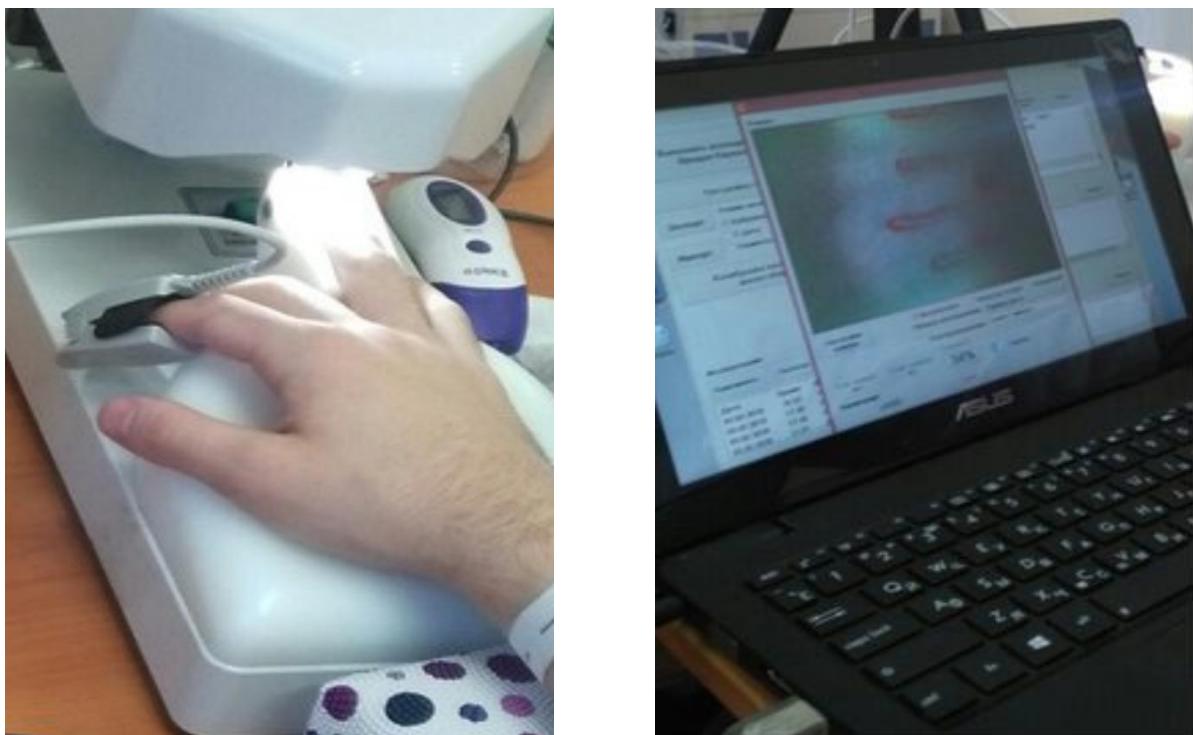


Рисунок 3 – Выполнение капилляроскопии ногтевого ложа с помощью капилляроскопа ЦАВ С-01

При капилляроскопии оценивали следующие количественные показатели:

- плотность капиллярной сети (на 1 мм длины краевой зоны в норме 8-10 капилляров), наличие аваскулярных зон;

- высоту капилляров (в норме 92 - 295 мкм);
- размер периваскулярной зоны (в норме до 100 мкм);
- диаметры артериальной, переходной и венозной частей капилляров (в норме 7-17, 8-21 и 11-20,6 мкм, соответственно);
- процент капилляров визуализируемого поля, содержащих постоянно циркулирующие агрегаты (в норме за 10 сек. может наблюдаться 1-2 агрегата в поле зрения);
- определяли среднюю линейную скорость в капиллярах (в норме 500-1000 мкм/сек.).

Особенностью программного обеспечения капилляроскопа является то, что все числовые измерения выполняются в режиме сохраненной фотографии или видеозаписи (не онлайн). Для выполнения морфометрических измерений в режиме фотографии или стоп-кадр к точке начала измерения подводится курсор в виде «крестика» и при нажатой левой клавиши мыши протягивается «резиновая нить» до точки окончания измерения (рисунки 4, 5).



Рисунок 4 – Морфометрические измерения венозного отдела капилляра в режиме «стоп-кадр»



Рисунок 5 – Морфометрические измерения периваскулярной зоны
в режиме «стоп-кадр»

Оценку линейной скорости капиллярного кровотока проводили в режиме сохраненной видеозаписи с использованием «стоп-кадра» для обозначения начальной и конечной точек измерения. Оценивали скорость на протяжении всей капиллярной петли (артериальный и венозный отдел). Учитывая «мозаичность» капилляроскопической картины с большим разбросом скоростей капиллярного кровотока у больных с тяжелым течением COVID-19, для измерения выбирали 5 капилляров визуализируемого поля с наибольшей линейной скоростью. Далее осуществляли неоднократное измерение (в течение 30 секунд) скорости кровотока в каждой из пяти капиллярных петель и рассчитывали среднюю линейную скорость.

Учитывая сложность оценки степени гетерогенности кровотока при капилляроскопии у пациентов с COVID-19, применялась методика подсчета числа капилляров визуализируемого поля, содержащих множественные агрегаты, а также определялось приблизительное процентное их соотношение к общему

числу визуализируемых капилляров. Для определения степени агрегации была применена упрощенная система оценки по следующим критериям:

«+» – постоянно циркулирующие микроагрегаты определяются в единичных капиллярах визуализируемого поля;

«++» – постоянно циркулирующие микроагрегаты определяются примерно в 50% капилляров визуализируемого поля;

«+++» – постоянно циркулирующие микроагрегаты определяются более чем в 75% капилляров визуализируемого поля.

Помимо оценки количественных показателей, проводили качественный анализ капилляроскопической картины в виде оценки формы капиллярных петель, наличия аваскулярных зон, явлений стаза. В норме аваскулярные зоны и явления стаза отсутствуют, а преобладающая форма капилляров в области ногтевого ложа кисти – в виде шпильки, без перекрутов, извития и локальных утолщений (рисунок 6).



Рисунок 6 – Нормальная форма капилляров ногтевого ложа пальцев кисти

Известно, что при ряде хронических заболеваний (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, сахарный диабет и т.д.) конфигурация капилляров кожи может претерпевать существенные структурные изменения

(рисунок 7) в виде перекрута, извития, неравномерного утолщения, образования кустистых форм [11].



Рисунок 7 – Конфигурации капиллярных петель
(Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Данилогорская Ю.А., Щендрыйгина А.А.) [11]

Лазерную допплеровскую флюметрию выполняли при помощи полиграфа Biopac Systems, Inc, MP-150 (США) с гелий-неоновым лазерным излучателем видимого красного спектра действия и длиной волны 635 нм (диагностический диапазон), снабженный оригинальным программным обеспечением с накожным лазерным допплеровским датчиком TSD 140. Аппарат состоит из излучателя, фотоприемника и световодного датчика, который включает в себя 3 световода, заключенные в светонепроницаемый жгут. По одному световоду на исследуемую поверхность передается лазерное излучение, по двум другим световодам передается отраженное от исследуемой поверхности излучение на фотоприемник. Информация обрабатывается автоматически и выводится на экран компьютера в виде кривой колебаний микротоков, представляющей из себя аналоговый сигнал. На оси абсцисс отображается реальное время в секундах, по оси ординат – значение показателя микроциркуляции (ПМ) или уровня перфузии ткани.

Значение показателя микроциркуляции прямо пропорционально произведению количества эритроцитов в зондируемом объеме ткани на их линейную скорость.

$$\text{ПМ} = \mathbf{N}_{\text{эр}} \times \mathbf{V}_{\text{ср}}, \quad (1)$$

где $\mathbf{N}_{\text{эр}}$ – количество эритроцитов в зондируемом объеме;

$\mathbf{V}_{\text{ср}}$ – средняя скорость эритроцитов.

Данный показатель косвенно отражает объемную скорость микрокровотока. Его значение измеряется в так называемых перфузионных единицах (ВРУ). Ритмические колебания этого показателя обусловлены колебательными процессами в микрососудах (пульсовая волна, дыхательные колебания и собственная вазомоторная активность микроциркуляторного русла). Принято оценивать среднее значение показателя микроциркуляции за определенный промежуток времени, выделяя его курсором на экране компьютера. Расчет осуществляется автоматически.

Для оценки регуляции микрокровотока выполняли окклюзионную (манжеточную) пробу с использованием манжеты тонометра. Накожный лазерный датчик устанавливался на ладонной поверхности запястья. Исходно регистрировали базовый микрокровоток (измеряли средний показатель микроциркуляции за 1 минуту), затем в манжету нагнетали воздух до значения на 30-50 мм рт. ст. выше систолического артериального давления пациента. Далее регистрировали кровоток окклюзии еще в течение одной минуты, затем быстро спускали манжету и регистрировали постокклюзионный микрокровоток еще в течение 3 минут. Классически при окклюзионной пробе осуществляют пережатие кровотока на 3, а иногда на 5 минут. Однако, учитывая, что у пациентов с COVID-19 имеется тенденция к тромбообразованию, в целях безопасности время окклюзии было сокращено до минимально возможного для данного функционального теста (до одной минуты). Оценивали величину исходного среднего показателя микроциркуляции, амплитуду максимального прироста и средний показатель микроциркуляции постокклюзионного кровотока в течение 3 минут (рисунок 8). Считается, что данная проба отражает эндотелий-зависимую

вазодилатацию в ответ на острую ишемию и является информативной для выявления эндотелиальной дисфункции, одним из проявлений которой является уменьшение резерва кровотока (максимального прироста) и отсутствие постишемической гиперемии.



Рисунок 8 – Результаты окклюзионной пробы в норме

Помимо вышеперечисленного пациентам из группы реконвалесцентов выполняли еще и радиологическое исследование микроциркуляции легких – однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ). Исследование выполняли на двухдетекторной гамма-камере Philips Forte 2005 (USA). Пациенту в положении сидя внутривенно вводили радиофармацевтический препарат (РФП) в дозе 1-1,5 мБк на 1 кг веса. Обследование проводилось лежа, в течение 10-12 мин по программе Lung Spect, в положении детекторов 180 градусов, орбита эллиптическая, 32 азимута, 40 с на угол. Двухдетекторное сканирование позволяло получить полипозиционную, трехплоскостную реконструкцию. Обработка результатов исследования проводилась с использованием высокочастотного фильтра Furye, трансформации по методу Henning или Batterword. Для автоматической обработки информации сцинтиграфического исследования использовали компьютерную программу «Анализатор изображений перфузионной сцинтиграфии легких (LungScintAnalyser)», позволяющую получать информацию по трем основным

составляющим изменения кровообращения: обширности, точной локализации нарушений и гемодинамическому состоянию больного, а также выполнять количественную оценку изменений (степень изменения кровотока в% к норме). Расчет показателей накопления радиофармпрепарата проводился в 100 участках каждого легкого, по 50 участков в передней и задней проекции (рисунок 9). Коэффициент накопления гамма-квантов при помощи программного обеспечения преобразовывался в значение микроциркуляции. В используемой программе границы нормы микроциркуляции приняты в пределах от 0,85 до 1,15 .

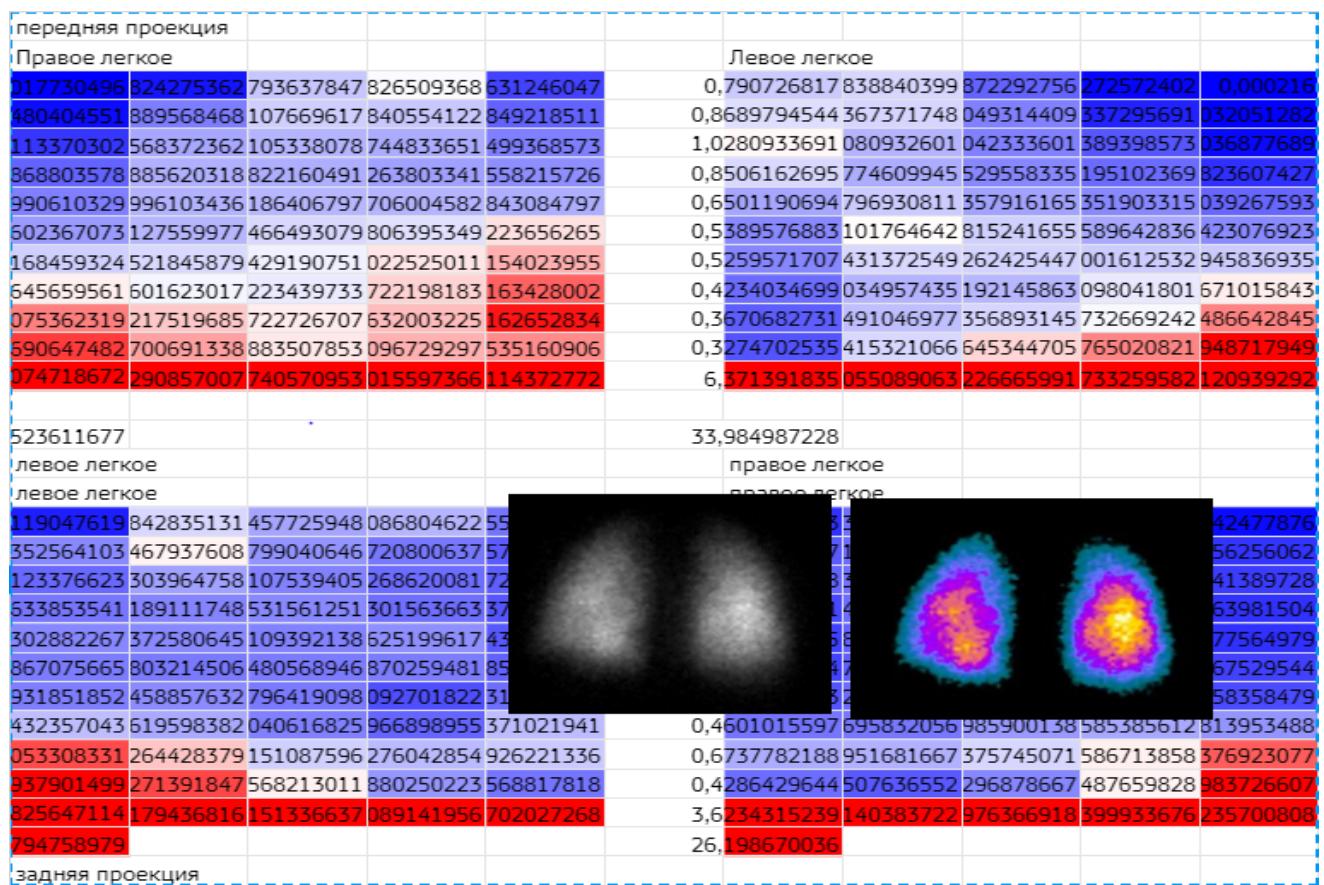


Рисунок 9 – Результат однофотонной эмиссионной томографии легких (в таблицах представлены показатели накопления гамма-квантов, также представлены графические изображения томограмм после контрастирования радиофармпрепаратом)

2.4 Методы статистической обработки материалов

Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение в случае нормального распределения либо в виде медианы с межкварильным интервалом (25; 75) в случае ненормального. Проверку нормальности распределения полученных данных осуществляли с использованием теста Колмогорова–Смирнова, для оценки равенства дисперсий применяли критерий Ливиня. В случае сравнения двух несвязанных выборок межгрупповые различия показателей оценивали при помощи теста Стьюдента в случае нормального распределения данных и однородности дисперсии в группах. В случае ненормального распределения или неоднородности дисперсий сравнение проводилось при помощи теста Манна–Уитни. Для сравнения двух связанных выборок межгрупповые различия показателей оценивали при помощи парного теста Стьюдента в случае нормального распределения данных и однородности дисперсии в группах. В случае ненормального распределения либо неоднородности дисперсий сравнение проводили при помощи критерия Уилкоксона. При сравнении трех и более связанных выборок использовали χ^2 Фридмана с дальнейшим попарным сравнением с помощью критерия Уилкоксона или теста Стьюдента для связанных выборок в зависимости от типа распределения и равенства дисперсий. Для анализа категориальных переменных использовали таблицы сопряженности и χ^2 Пирсона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен в программе IBM SPSS Statistics v. 23.

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

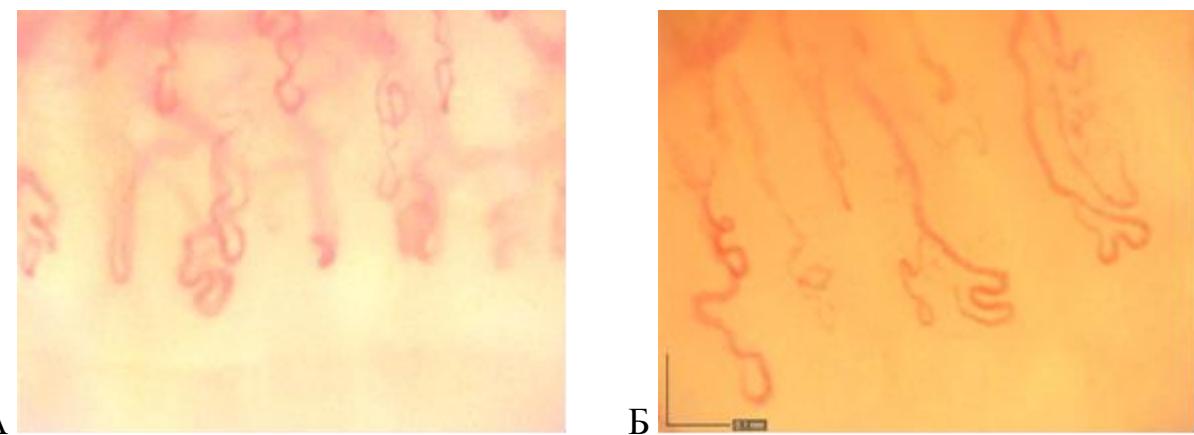
3.1 Состояние микроциркуляции у пациентов с тяжелым течением COVID-19

3.1.1 Результаты витальной капилляроскопии у пациентов с тяжелым течением COVID-19

При выполнении витальной капилляроскопии ногтевого ложа оценивали не только количественные показатели, но и качественные, в частности, конфигурацию капиллярных петель. Именно структурные изменения капилляров могут быть маркерами хронических нарушений микроциркуляции. Так, у пациентов с тяжелым течением Covid-19 в обеих подгруппах в большинстве случаев выявляли изменения конфигурации капиллярных петель, в том числе, и у больных молодого возраста. У 53 (88,3%) пациентов с тяжелым течением Covid-19 при микроскопическом исследовании сосудов ногтевого ложа наблюдали преимущественно извитую форму капилляров с уменьшением высоты капиллярных петель за счет их деформации (рисунок 10). Выявленные изменения микроциркуляторного русла характерны для пациентов с такими хроническими заболеваниями, как гипертоническая болезнь, сахарный диабет, хроническая сердечная недостаточность и т.д. [11].

Спектр сопутствующей патологии у пациентов с тяжелым течением COVID-19 (первая группа) был представлен в таблице 3. У большинства пациентов имелись хронические заболевания, при которых могут возникать структурные изменения микрососудистого русла.

В литературе имеется достаточно сведений, подтверждающих, что при хронических заболеваниях, таких как артериальная гипертензия, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца и др., эндотелий является мишенью для повреждающих факторов, связанных с этой патологией [16, 69, 126].



А – пациент 53 лет, тяжелое течение COVID-19; Б – пациент 39 лет, тяжелое течение COVID-19.

Рисунок 10 – Примеры патологических форм капилляров у пациентов с тяжелым течением Covid-19

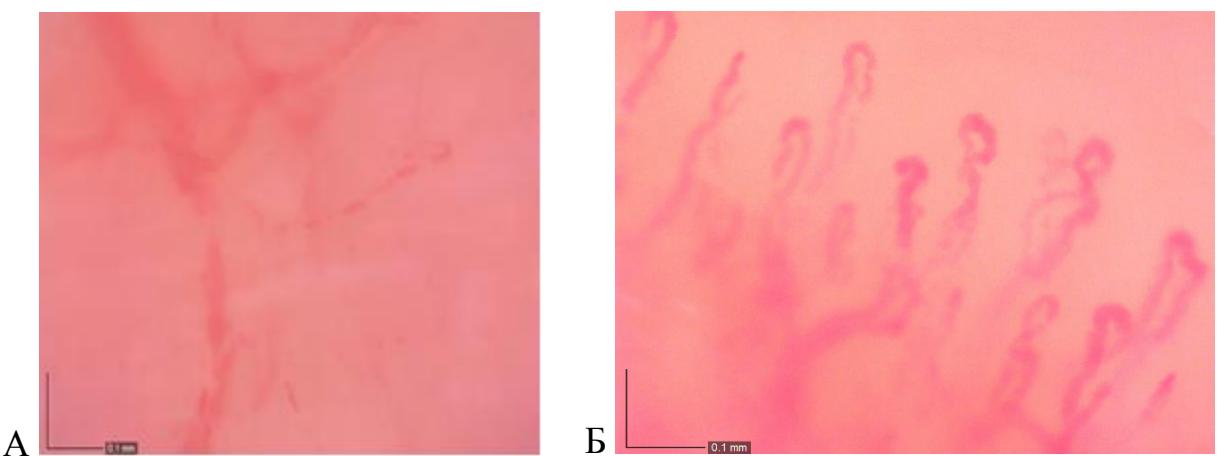
Повреждение эндотелия при хронических заболеваниях развивается в течение длительного периода времени и также имеет хронический характер. При этом изменения сосудов носят системный характер: они обнаруживаются и в крупных сосудах, и микроциркуляторном русле [8]. Учитывая то, что капилляры представляют собой анатомическую структуру, состоящую главным образом из эндотелия, проявления эндотелиальной дисфункции на уровне микроциркуляции особенно выражены. Наличие структурных изменений микрососудистого русла в виде извитости, саккулярного расширения, напрямую связывают с эндотелиальной дисфункцией, которая является следствием усиления пролиферативной активности эндотелия в ответ на повреждение. Эти изменения способствуют нарушению микрогемодинамики, в особенности при нарушении реологических свойств крови. Замедление скорости капиллярного кровотока в таких условиях способствует большей отдаче кислорода тканям. С одной стороны, эти изменения носят компенсаторный характер, с другой стороны, они увеличивают риск внутрисосудистой агрегации эритроцитов, а при одновременном нарушении барьерной функции эндотелия способствует развитию интерстициального отека [4]. Присоединение инфекции с высокой тропностью к эндотелию, как например SARS-CoV-2, создает все предпосылки для усугубления эндотелиальной дисфункции с последующим развитием острых нарушений микроциркуляции.

Следующий качественный признак нарушения микроциркуляции, который мы наиболее часто наблюдали при капилляроскопии у пациентов с Covid-19 – внутрисосудистая циркуляция микроагрегатов. Агрегация эритроцитов – один из важных факторов, обусловливающих нелинейность кривой течения крови. Как правило, общая картина микрокровотока в визуализируемом поле при нарушениях микроциркуляции носит гетерогенный характер, т.е. отмечается «мозаичность». Это явление характеризуется тем, что в части визуализируемых капилляров может быть сохранен однородный кровоток (без видимых включений). Одновременно с этим определяются капилляры с замедленным кровотоком и циркулирующими микроагрегатами (рисунки 11, 12).

При использовании сублингвальной микроскопии для оценки состояния микроциркуляции используют такие показатели, как индекс микрососудистого кровотока (MFI) и индекс неоднородности кровотока. Для расчета индекса MFI изображение делится на 4 квадранта, затем каждому квадранту присваивается номер в соответствии с превалирующим типом кровотока (отсутствие потока – 0; прерывистый поток – 1; вялый поток – 2; непрерывный поток – 3). MFI рассчитывается в баллах и является средним значением баллов в 4-х квадрантах (максимум по 12 квадрантам), т.е. сумма баллов во всех квадрантах, деленная на количество квадрантов. Индекс неоднородности рассчитывается, как отношение разницы между самым высоким и низким MFI к среднему MFI (оценивается несколько изображений) [107]. При таком диагностическом подходе степень агрегации напрямую не оценивается, поскольку подразумевается, что вялый и прерывистый кровоток сопровождается образованием агрегатов.

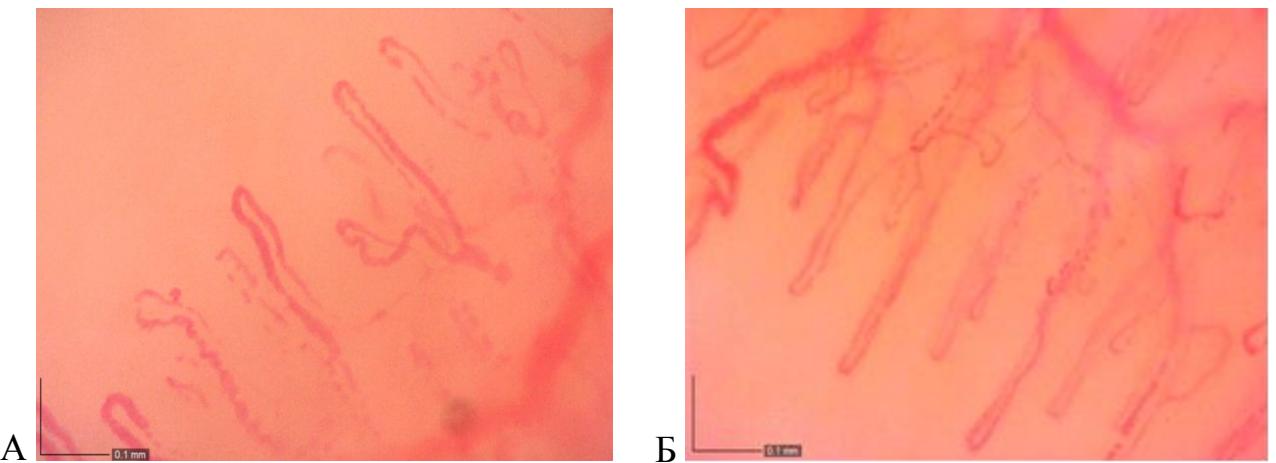
Однако выбранный нами метод (вitalная капилляроскопия ногтевого ложа) предполагает анализ кровотока преимущественно в дистальных капиллярах, которые лежат в строго горизонтальной плоскости. В данном случае деление изображения на квадранты проблематично, так как чем дальше от периваскулярной зоны расположены капилляры, тем меньшая их часть визуализируется. Кроме того, метод позволяет достаточно точно рассчитывать линейную скорость капиллярного кровотока в дистальной области, что является определенным его преимуществом.

Клинический пример. Пациент М., 67 лет с тяжелым течением COVID-19 поступил в ОРИТ в связи с прогрессированием острой дыхательной недостаточности. В первые сутки наблюдения состояние микроциркуляции оценивали с помощью капилляроскопии ногтевого ложа пальцев кисти, одновременно выполняли видеомикроскопическое исследование с использованием мобильного капилляроскопа Dino-Lite CapillaryScope 500 Pro в области слизистой ротовой полости. Представленные изображения демонстрируют схожесть визуализированных изменений капилляроскопической картины у одного и того же пациента в области ногтевого ложа кисти и слизистой полости рта (рисунок 11) в виде наличия циркулирующих агрегатов в просвете капилляров. При оценке видеоизображения отмечается мозаичность и замедление кровотока. Данное наблюдение подтвердило системный характер нарушения микроциркуляции. На изображении, полученном с помощью сублингвальной микроскопии было видно, что микрососуды располагались под разными углами к плоскости изображения, в поле зрения можно было увидеть микрососуды разного диаметра. При капилляроскопии ногтевого ложа пальцев кисти в поле зрения попадало 10-12 капиллярных петель, которые располагались строго в горизонтальной плоскости.



А – слизистая ротовой полости; Б – ногтевое ложе пальца кисти.

Рисунок 11 – Капилляроскопическая картина микроагрегации в просвете капилляров у больной COVID-19



А – микроагрегаты определяются более чем в 75% капилляров;

Б – микроагрегаты определяются примерно в 50% визуализируемых капилляров.

Рисунок 12 – Примеры изображений, полученных с помощью витальной микроскопии, на которых определяются микроагрегаты в просвете капилляров

В проведенном исследовании оценивали скорость движения эритроцитов в наиболее сохранных капиллярах, что могло привести к недооценке тяжести нарушений микроциркуляции, поэтому дополнительно, полуколичественным методом оценивали степень агрегации. Следует отметить, что уже при поступлении в ОРИТ между группами с благоприятным и неблагоприятным исходами определяли различия по степени агрегации (таблица 5).

Таблица 5 – Степень внутрисосудистой агрегации в капиллярах при поступлении в ОРИТ по результатам витальной капилляроскопии

Степень агрегации	1а подгруппа (n=33) (выжившие)	1б подгруппа (n=27) (умершие)	p
+	3 (9,09%)	0	0,108
++	24 (72,73%)	2 (7,41%)	< 0,0001
+++	6 (18,2%)	25 (92,59%)	< 0,0001

В подгруппе выживших у 24 пациентов из 33 определялись циркулирующие агрегаты примерно в 50% визуализируемых капилляров и лишь у 6 человек – в более 75% визуализируемых капилляров. В то же время у 25 пациентов из 27 в группе с последующим неблагоприятным исходом определялась агрегация в более чем 75% визуализируемых капилляров.

При оценке количественных показателей витальной микроскопии выявили статистически значимые различия между подгруппами пациентов с COVID-19 (с благоприятным и неблагоприятным исходом) по трем показателям, оцениваемым в первые сутки нахождения в ОРИТ: средняя линейная скорость капиллярного кровотока, толщина периваскулярной зоны и высота капиллярной петли (рисунки 13-15).

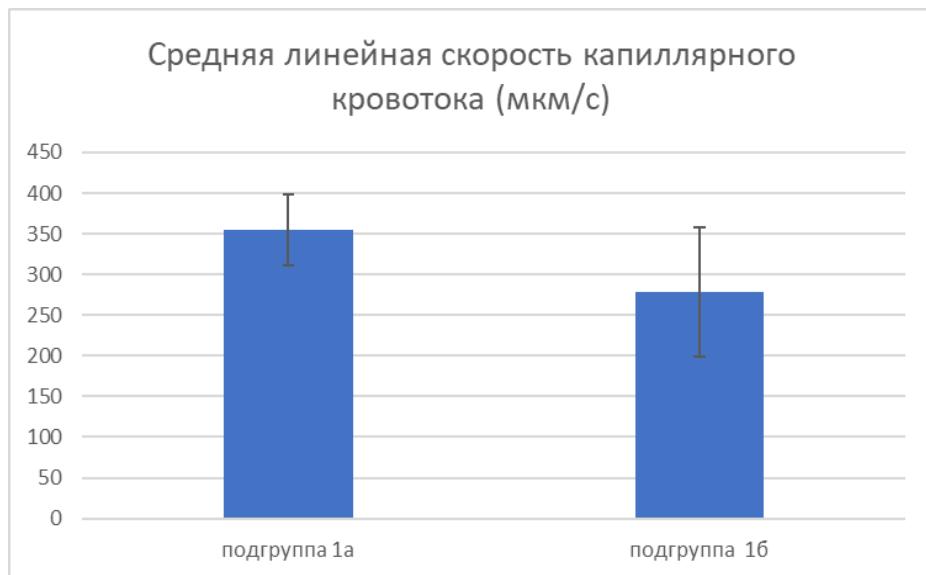


Рисунок 13 – Линейная скорость кровотока у пациентов с тяжелым течением COVID-19 в первые сутки пребывания в ОРИТ

При этом различия по показателям средней линейной скорости капиллярного кровотока между подгруппами умерших и выживших пациентов оказались статистически значимыми: у пациентов с неблагоприятным исходом средняя линейная скорость микротоков оказалась меньше ($278,4 \pm 79,34$ мкм/сек. против $354,33 \pm 43,89$ мкм/сек., $p < 0,0001$). Следует отметить, что показатели системного артериального давления на момент проведения исследования оставались стабильными, адреномиметическую поддержку пациентам не проводили.

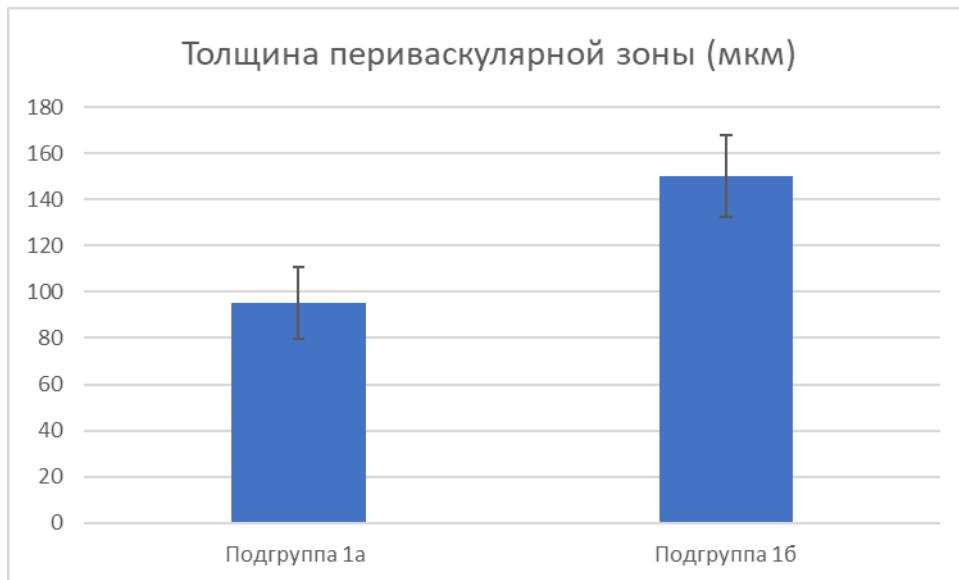


Рисунок 14 – Размер периваскулярной зоны у пациентов с тяжелым течением COVID-19 в первые сутки пребывания в ОРИТ

Кроме того, в группе с неблагоприятным исходом уже при поступлении в ОРИТ определяли существенно больший размер периваскулярной зоны в сравнении с группой выживших ($159,38 \pm 18,00$ мкм против $97,95 \pm 15,5$ мкм, $p < 0,0001$), что свидетельствовало о наличии интерстициального отека, который, вероятно был связан с нарушением барьерной функции эндотелия. В группе с благоприятным исходом (таблица 6) среднее значение этого показателя соответствовало нормальному (менее 100 мкм).

Таблица 6 – Результаты капилляроскопии у пациентов с тяжелым течением COVID-19 в первые сутки пребывания в ОРИТ

Показатель в первые сутки пребывания в ОРИТ	1а подгруппа (n=33) выжившие	1б подгруппа (n=27) умершие	p
Количество капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	$9,94 \pm 2,90$	$9,59 \pm 1,84$	$p=0,662$
Высота капиллярной петли (мкм)	$236,36 \pm 48,73$	$191 \pm 52,67$	$p < 0,0001$

Продолжение таблицы 6

Показатель в первые сутки пребывания в ОРИТ	1а подгруппа (n=33) выжившие	1б подгруппа (n=27) умершие	p
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	97,95±15,5	159,38±18,00	p<0,0001
Диаметр артериального отдела капилляра (мкм)	6,88±1,45	7,67±1,88	p=0,096
Диаметр венозного отдела капилляра (мкм)	13,82±3,64	15,19±4,01	p=0,172
Диаметр переходного отдела капилляра (мкм)	11,36±3,24	11,74±3,08	p=0,438
Средняя линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/сек.)	354,33±43,89	278,4±79,34	p<0,0001

Показатели, характеризующие высоту капиллярной петли, а также диаметры отделов капилляров, у пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом, находились в пределах референсных значений. Однако различия по этому показателю между подгруппами основной группы оказались статистически значимыми (рисунок 15). У пациентов с последующим неблагоприятным исходом высота капиллярной петли составила 191,93±52,67 мкм (ближе к нижней границе нормы), у пациентов с благоприятным исходом среднее значение высоты капиллярных петель составило 236,36±48,73 мкм (ближе к верхней границе нормы). Этот показатель отражает степень деформации и извитости капиллярных петель в результате хронических нарушений микроциркуляции. Степень выраженности деформации сопряжена с уменьшением высоты капиллярной петли, увеличением ее извитости и, вместе с тем, с удлинением самого капилляра, что может неблагоприятно сказываться на микрогемодинамике.

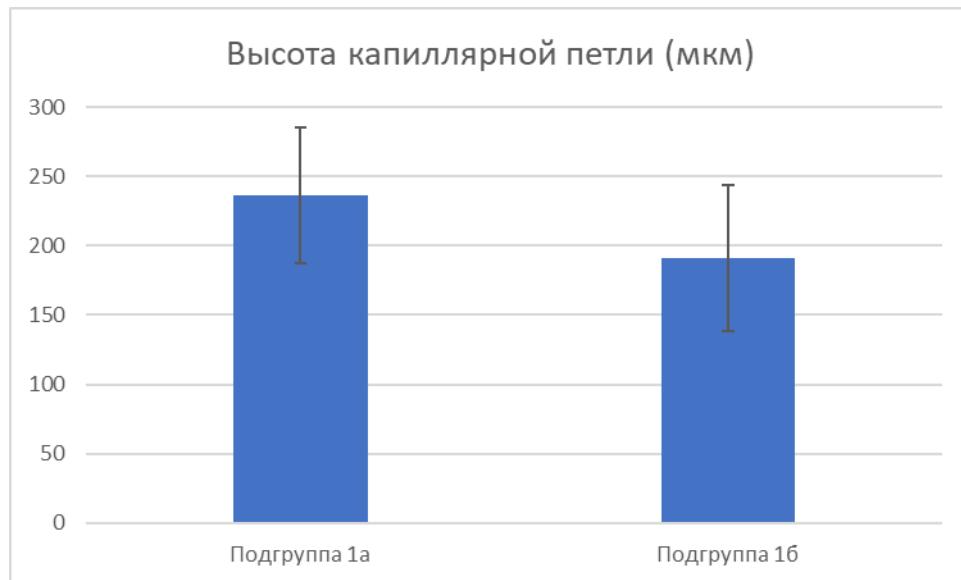


Рисунок 15 – Высота капиллярной петли (мкм)
у пациентов с тяжелым течением COVID-19

Показатели плотности капилляров в первые сутки наблюдения в отделении реанимации у пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом также были в пределах нормальных значений и статистически не различались между собой ($9,94 \pm 2,90$ и $9,59 \pm 1,84$ мкм, соответственно, $p=0,662$).

Всех пациентов с COVID-19, включенных в исследование, объединяла «мозаичность» капилляроскопической картины (определялись капилляры с различной скоростью кровотока, с агрегатами и без них). В капиллярах с циркулирующими агрегатами закономерно отмечена более низкая скорость. В некоторых случаях одновременно определялись капилляры с явлениями маятникообразного движения и стаза. В связи с крайней вариабельности линейной скорости капиллярного кровотока оценку средней линейной скорости выполняли, выбирая пять капилляров визуализируемого поля с наибольшей скоростью кровотока.

3.1.2 Динамика показателей капилляроскопии в течение трех суток наблюдения

Микроскопическое исследование состояния микроциркуляторного русла выполняли пациентам с COVID-19 в ОРИТ ежедневно, начиная со дня поступления (таблицы 7, 8). В подгруппе с благоприятным исходом в течение первых трех суток не было выявлено существенных изменений количественных показателей микроциркуляции. В первые и последующие сутки показатели средней скорости были снижены по сравнению с нормой, а размер периваскулярной зоны в подгруппе №1 в течение первых трех суток оставался в пределах нормы (менее 100 мкм).

Таблица 7 – Динамика показателей капилляроскопии за первые трое суток пребывания в ОРИТ в подгруппе пациентов с благоприятным исходом

Показатель	Подгруппа 1а (n=33) выжившие			p
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Количество капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	9,94±2,90	10,24±2,89	9,85±2,79	p=0,227
Высота капиллярной петли (мм)	236,36±48,74	222,51±39,76	224,15±40,08	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001 p ₂₋₃ =0,293
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	95,35±15,96	100,5±6,90	98,57±8,45	p=0,103
Диаметр артериального отдела капилляра (мкм)	6,88±1,45	6,82±1,67	6,45±1,97	p ₁₋₂ =0,774 p ₁₋₃ =0,065 p ₂₋₃ =0,226

Продолжение таблицы 7

Показатель	Подгруппа 1а (n=33) выжившие			p
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Диаметр венозного отдела капилляра (мкм)	13,81±3,64	14,51±2,75	15,45±3,45	p ₁₋₂ =0,097 p ₁₋₃ =0,007 p ₂₋₃ =0,109
Диаметр переходного отдела капилляра (мкм)	11,36±3,24	12,67±3,09	12,00±3,19	p ₁₋₂ =0,05 p ₁₋₃ =0,042 p ₂₋₃ =0,129
Линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/сек.)	354,33±43,89	357,75±44,52	363,70±59,69	p ₁₋₂ =0,551 p ₁₋₃ =0,276 p ₂₋₃ =0,360

В подгруппе с неблагоприятным исходом были выявлены статистически значимые различия между показателями размера периваскулярной зоны в первые трое суток от момента поступления в ОРИТ (таблица 8), что, вероятно, свидетельствовало о нарушении проницаемости и прогрессировании интерстициального отека. Скоростные показатели существенно не менялись в первые двое суток, при этом отмечено статистически значимое снижение этого показателя на третьи сутки от момента поступления в ОРИТ. В подгруппе пациентов с благоприятным исходом подобного тренда не наблюдали.

Диаметры артериального, венозного и переходного отделов капилляров в период трехдневного наблюдения в обеих группах существенно не изменились и находились в пределах референсных значений (см. таблицы 7, 8), что свидетельствовало об отсутствии нарушений, связанных с артериальным притоком и венозным оттоком.

Показатели плотности капиллярной сети в течение первых трех суток в обеих подгруппах оставались в пределах нормальных значений (см. таблицы 7, 8). Нормальный показатель плотности капиллярной сети может свидетельствовать

об отсутствии необратимых нарушений микроциркуляции, по крайней мере, на момент исследования.

Таблица 8 – Динамика показателей капилляроскопии за первые трое суток пребывания в ОРИТ в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом

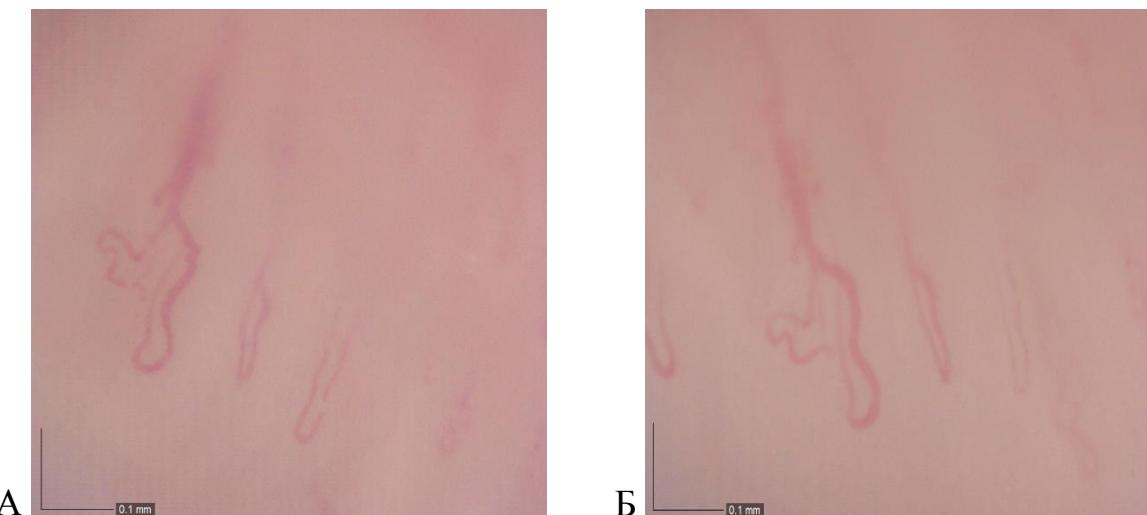
Показатель	Подгруппа 1б (n=27) умершие			p
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Количество капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	9,59±1,84	9,96±2,58	10,52±2,75	p=0,089
Высота капиллярной петли (мм)	191,52±52,67	193,93±52,53	192,0±55,11	p=0,837
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	159,93±19,90	178,38±22,38	253,50±35,39	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001 p ₂₋₃ <0,0001
Диаметр артериального отдела капилляра (мкм)	7,66±1,88	6,15±1,23	7,14±1,95	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,028 p ₂₋₃ =0,008
Диаметр венозного отдела капилляра (мкм)	15,18±4,01	14,37±3,62	16,89±4,11	p ₁₋₂ =0,292 p ₁₋₃ =0,028 p ₂₋₃ =0,01
Диаметр переходного отдела капилляра (мкм)	11,73±1,00	11,77±1,19	12,50±1,29	p ₁₋₂ =0,947 p ₁₋₃ =0,314 p ₂₋₃ =0,265
Линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/сек.)	278,40±79,34	275,67±77,25	241,63±82,66	p ₁₋₂ =0,556 p ₁₋₃ <0,0001 p ₂₋₃ <0,0001

Косвенным подтверждением этой гипотезы могут быть результаты функциональной пробы с волемической нагрузкой, которую выполнили у восьми пациентов при поступлении в отделение реанимации. Тест проводили у пациентов с отсутствием признаков бактериальной инфекции. Нагрузочный тест состоял из внутривенной инфузии 500 мл раствора гелофузина (в течение 15 минут). Во время инфузии осуществляли непрерывную визуализацию микроциркуляторного русла ногтевого ложа пальца кисти (вitalная капилляроскопия). Камера прибора устанавливалась так, чтобы один или несколько капилляров с наиболее низкой скоростью кровотока (но не нулевой) оказались в центральном поле (увеличение в 500 раз). При этом измеряли исходную среднюю линейную скорость кровотока в капилляре, оценивался также характер кровотока. Далее, после начала инфузии и на всем ее протяжении продолжалась видеосъемка. По окончании инфузии осуществляли измерение средней линейной скорости в прицельно визуализируемом капилляре, оценивался характер капиллярного кровотока (таблица 9).

Таблица 9 – Результаты проведения пробы с гелофузином

Пациент (№)	Исходно	После инфузии 500 мл гелофузина	
	средняя линейная скорость в капилляре (мкм/сек.)	средняя линейная скорость в капилляре (мкм/сек.)	p
1	50	413	
2	314	520	
3	243	477	
4	329	506	
5	214	462	
6	288	468	
7	205	405	
8	189	416	
	228,5 (193; 307,5)	465 (413,8; 498,8)	p=0,012

Следует отметить, что во всех восьми случаях удалось обнаружить изменения микрокровотока в ответ на инфузию гелофузина. Уже на седьмой минуте непрерывной инфузии отмечали кратковременные эпизоды увеличения скорости капиллярного кровотока. К моменту окончания инфузии фиксировали стойкое увеличение средней линейной скорости движения эритроцитов, кровоток приобретал гомогенный характер (рисунок 16).



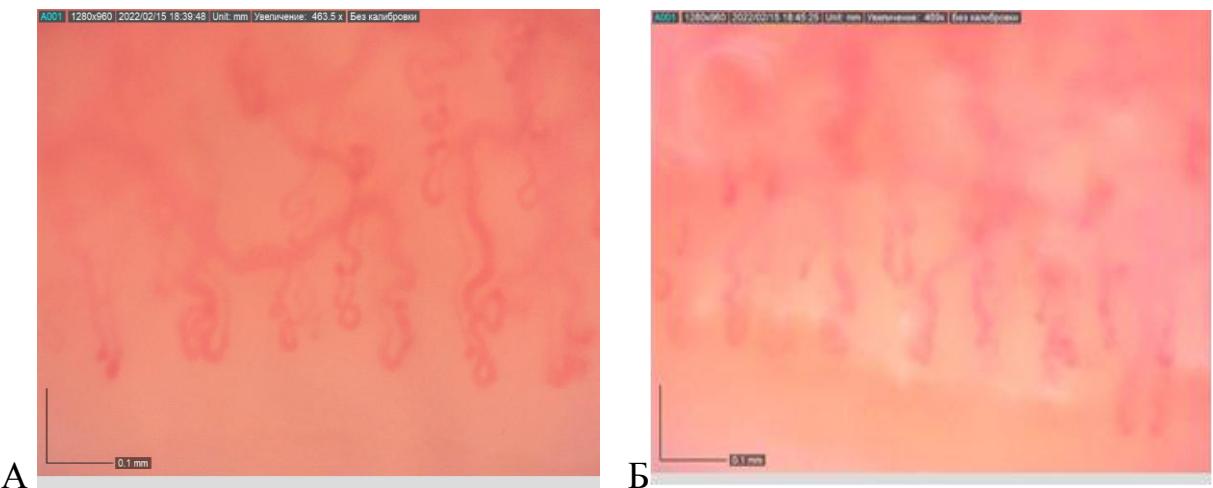
А – до введения гелофузина, определяются агрегаты и неравномерность микрокровотока);
Б – после инфузии 500 мл гелофузина, однородный кровоток.

Рисунок 16 – Пример капилляроскопической картины
до и после проведения пробы с гелофузином

Данный эффект от применения гелофузина можно объяснить коррекцией гиповолемии и улучшением реологических свойств крови. Больные с тяжелым течением COVID-19 имеют высокий риск развития гиповолемии (высокая перспирация при тахипноэ, интоксикация, в ряде случаев отсутствие ощущения жажды). Кроме того, с учетом поражения легких у этих пациентов часто применяют рестриктивный режим водной нагрузки.

У 32 пациентов с тяжелым течением COVID-19 в первые сутки после поступления в ОРИТ проводили сеансы экстракорпоральной гемокоррекции (продленная гемофильтрация с гемосорбцией). Поскольку капилляроскопию проводили в течение первых трех суток, представилась возможность оценить

краткосрочный эффект этого терапевтического воздействия на микроциркуляцию. При ежедневном видеомикроскопическом мониторинге микроциркуляции были выявлены особенности микроциркуляторных изменений у пациентов после проведения ЭКГК (вторые сутки в ОРИТ): отмечено резкое помутнение капилляроскопического фона (рисунок 17) и более выраженное увеличение размера периваскулярной зоны по сравнению с пациентами, не получавших ЭКГК.



А – до начала проведения ЭКГК; Б – через 24 часа от начала проведения ЭКГК.

Рисунок 17 – Пример капилляроскопической картины
до и после проведения сеанса ЭКГК

Эти изменения наблюдали как в подгруппе выживших, так и в подгруппе умерших пациентов (таблицы 10, 11).

У пациентов с благоприятным исходом средний показатель толщины периваскулярной зоны после проведения сеанса ЭКГК увеличился более чем на 20%, причем на следующие сутки наблюдали практически обратную динамику (таблица 10).

В случае неблагоприятного исхода проведение сеанса ЭКГК приводило к увеличению среднего показателя толщины периваскулярной зоны более чем на 40% (таблица 11).

Таблица 10 – Динамика размера периваскулярной зоны в первые трое суток пребывания в ОРИТ у пациентов подгруппы с благоприятным исходом

Показатель	Выжившие (n=33)			p
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Толщина периваскулярной зоны (мкм) у пациентов, получавших ЭКГК (n=17)	92,82±13,22	114,35±11,76	99,59±10,78	p ₁₋₂ =0,01 p ₂₋₃ =0,000 p ₁₋₃ =0,152
Толщина периваскулярной зоны (мкм) у пациентов, не получавших ЭКГК (n=16)	97,87±17,92	103,69±9,31	97,56±8,69	p ₁₋₂ =0,209 p ₂₋₃ =0,069 p ₁₋₃ =0,943

Таблица 11 – Динамика размера периваскулярной зоны в первые трое суток пребывания в ОРИТ у пациентов с неблагоприятным исходом

Показатель	Умершие (n=27)			p
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Толщина периваскулярной зоны (мкм) у пациентов, получавших ЭКГК (n=15)	159,8±54,01	198,13±86,02	270,33±74,27	p ₁₋₂ =0,022 p ₂₋₃ =0,000 p ₁₋₃ =0,000
Толщина периваскулярной зоны (мкм) у пациентов, не получавших ЭКГК (n=12)	148,09±50,45	154,64±49,85	236,73±57,4	p ₁₋₂ =0,351 p ₂₋₃ =0,000 p ₁₋₃ =0,000

При этом динамика показателя толщины периваскулярной зоны в первые трое суток у пациентов, которым не проводили ЭКГК, была несколько иной. При благоприятном исходе этот показатель практически не менялся, у пациентов с неблагоприятным исходом размер периваскулярной зоны исходно был существенно выше нормальных значений, в дальнейшем наблюдали увеличение значений этого показателя.

Вероятно, данные изменения вызваны сочетанием нескольких факторов, в том числе и возможными изменениями онкотического и осмотического давлений на фоне проведения сеансов ЭКГК. С учетом более выраженных исходных нарушений проницаемости в группе с неблагоприятным исходом изменения размера периваскулярной зоны оказались более очевидными. Стоит отметить, что у пациентов с благоприятным исходом уже на трети сутки размер периваскулярной зоны восстанавливался до исходных значений, в то время как у пациентов, впоследствии умерших, этот показатель прогрессивно увеличивался.

3.1.3 Результаты окклюзионной пробы

Пациентам с тяжелым течением COVID-19 окклюзионную пробу с использованием метода лазерной допплеровской флюметрии выполняли ежедневно, параллельно с витальной капилляроскопией. Результаты пробы показали, что у пациентов с тяжелым течением Covid-19 имеется общий признак нарушения эндотелий-зависимой регуляции микрокровотока, а именно отсутствие постишемической гиперемии (прироста среднего значения показателя микроциркуляции (BPU) постокклюзионного кровотока) (рисунок 18). Эти изменения сохранялись в течение всего периода наблюдения (таблица 12). В норме среднее значение величины постокклюзионного кровотока должно превышать среднее исходное значение примерно на 25%. Полученные данные могут свидетельствовать о развитии вазоспастической реакции в ответ на острую ишемию в результате нарушения функции эндотелия.

Кроме того, при сравнении показателей окклюзионной пробы между подгруппами (выжившие и умершие), уже в первые сутки наблюдения были выявлены статистически значимые различия между показателем максимального прироста кровотока после окклюзии (таблица 12). В группе с неблагоприятным исходом этот показатель был существенно меньше (250,5% против 421,1%).



Рисунок 18 – Результат проведения окклюзионной пробы у больного с тяжелым течением COVID-19

Таблица 12 – Показатели окклюзионной пробы у пациентов с тяжелым течением COVID-19 в первые сутки пребывания в ОРИТ

Показатели	1а подгруппа (n=33) выжившие	1б подгруппа (n=27) умершие	p
ПМ исходный (ВРУ)	7,36 (6,38;9,07)	6,23 (4,33; 7,8)	0,06
ПМ окклюзии (ВРУ)	1,24 (0,87; 2,49)	1,18 (0,14; 2,18)	0,41
Максимальный прирост (%)	421,1 (326; 518,6)	250,5 (112; 327,7)	<0,0001
ПМ постокклюзионный (ВРУ)	5,63 (3,8; 8,21)	5,46 (3,71; 8,72)	0,917

В течение всех трех суток наблюдения этот показатель в обеих подгруппах существенно не менялся. Снижение показателя максимального прироста кровотока после окклюзии также свидетельствовало о нарушении регуляции микрокровотока, уменьшении функциональных вазодилататорных резервов.

При оценке показателей окклюзионной пробы у пациентов в течение первых трех суток пребывания в ОРИТ существенной динамики выявлено не было (таблицы 13, 14).

Таблица 13 – Динамика показателей окклюзионной пробы в первые трое суток пребывания в ОРИТ у пациентов с благоприятным исходом

Показатель	1а подгруппа 1 (n=33) выжившие			p
	1	2	3	
ПМ исходный (BPU)	7,36 (6,38; 9,07)	6,32 (5,16; 8,35)	10,38 (8,71; 11,24)	p ₁₋₂ <0,0001 p ₂₋₃ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001
ПМ окклюзии (BPU)	1,24 (0,87; 2,49)	1,38 (0,9; 2,14)	1,52 (0,91; 2,22)	0,166
Максимальный прирост (%)	421,1 (326; 518,6)	473,16 (330,14; 554,6)	425,9 (352,8; 525,91)	0,06
ПМ постокклюзионный (BPU)	5,63 (3,8; 8,21)	5,89 (4,9; 6,98)	10,71 (7,22; 14,01)	–

Также, как и первые сутки пребывания в ОРИТ, наблюдали отсутствие прироста среднего значения показателя микроциркуляции (BPU) постокклюзионного кровотока, снижение показателя максимального прироста кровотока после окклюзии, более выраженное в группе пациентов с неблагоприятным исходом (таблица 14).

Таблица 14 – Динамика показателей окклюзионной пробы в первые трое суток пребывания в ОРИТ у пациентов с неблагоприятным исходом

Показатель	1б подгруппа 2 (n=27) умершие			p
	1	2	3	
ПМ исходный (BPU)	6,23 (4,33; 7,8)	7,08 (6,15; 8,49)	9,27 (7,85; 10,39)	p ₁₋₂ =0,008 p ₂₋₃ =0,001 p ₁₋₃ <0,0001

Продолжение таблицы 14

Показатель	16 подгруппа 2 (n=27) умершие			p
	1	2	3	
ПМ окклюзии (BPU)	1,18 (0,14; 2,18)	1,57 (1,22; 3,53)	2,43 (1,15; 3,95)	p ₁₋₂ =0,421 p ₂₋₃ =0,186 p ₁₋₃ =0,023
Максимальный прирост (%)	250,47 (112,3; 327,6%)	245,24 (206,7; 342,5%)	226,31 (193,0; 265,5%)	p ₁₋₂ =0,186 p ₂₋₃ =0,002 p ₁₋₃ =0,904
ПМ постокклюзионный (BPU)	5,46 (3,71; 8,72)	6,67 (4,55; 9,15)	7,11 (4,86; 9,68)	—

3.2 Результаты исследования микроциркуляции у пациентов при развитии бактериального сепсиса

Отдельно проанализированы результаты исследований 16 пациентов с тяжелым течением COVID-19 из подгруппы умерших, у которых в ходе лечения был диагностирован бактериальный сепсис. Параметры микроциркуляции при помощи витальной капилляроскопии ногтевого ложа и лазерной допплеровской флюметрии ежедневно оценивали от момента поступления в ОРИТ до развития летального исхода.

В таблице 15 представлены значения показателей микроциркуляции при поступлении в отделение, на трети-пятые сутки пребывания (проводили НИВЛ, отсутствовали признаки бактериальной инфекции), а также на трети и седьмые сутки после перевода на инвазивную вентиляцию легких, когда у всех исследуемых пациентов были выявлены лабораторные признаки

присоединившейся бактериальной инфекции (прокальцитонин более 0,5 нг/мл). У всех пациентов, включенных в исследование, присоединение бактериальной инфекции было констатировано после перевода на инвазивную вентиляцию легких, как правило, на 2-3-е сутки от момента перевода. Уровень прокальцитонина оценивали ежедневно.

Таблица 15 – Динамика показателей капилляроскопии у пациентов с тяжелым течением COVID-19 с последующим развитием сепсиса

Показатель	Первые сутки в ОРИТ	III-V сутки (без инвазивной ИВЛ)	ИВЛ III сутки	ИВЛ VII сутки	p
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	122,3 ±77,06	137,92 ±69,1	188,12 ±102,04	267,93 ±143,76	$p_{1-2}=0,501$ $p_{1-3}=0,121$ $p_{1-4}=0,001$ $p_{2-3}=0,196$ $p_{2-4}=0,003$ $p_{3-4}=0,088$
Линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/ сек.)	282,13 ±103,68	279,32 ±85,4	294,57 ±90,09	182,22 ±95,37	$p_{1-2}=0,959$ $p_{1-3}=0,796$ $p_{1-4}=0,049$ $p_{2-3}=0,679$ $p_{2-4}=0,002$ $p_{3-4}=0,006$
Количество капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	9,52 ±1,65	9,67 ±2,76	6,16 ±2,97	5,12 ±2,24	$p_{1-2}=0,918$ $p_{1-3}=0,002$ $p_{1-4}=0,001$ $p_{2-3}=0,011$ $p_{2-4}=0,001$ $p_{3-4}=0,215$

При анализе данных капилляроскопии в динамике обратило на себя внимание прогрессивное изменение трех показателей капилляроскопии: толщины периваскулярной зоны, линейной скорости капиллярного кровотока и плотности капиллярной сети (таблица 15).

При поступлении в ОРИТ уровень прокальцитонина у исследуемых пациентов находился в пределах референсных значений и не превышал 0,3194 нг/мл. В период проведения НИВЛ уровень прокальцитонина у подавляющего большинства пациентов не превышал 0,5 нг/мл. Прогрессирование острой дыхательной недостаточности на этом этапе связывали с течением вирусной пневмонии. После выполнения интубации трахеи и перевода больных на инвазивную вентиляцию легких в течение 2-3-х суток отмечали выраженное повышение уровня прокальцитонина (среднее значение – $6,16 \pm 0,77$ нг/мл), что расценивали как признак присоединения бактериальной инфекции. Следует отметить, что синхронно с нарастанием уровня прокальцитонина, как правило, отмечали ухудшение клинической ситуации, а по данным витальной микроскопии ногтевого ложа – прогрессивное снижение средней линейной скорости капиллярного кровотока, выраженного интерстициального отека, явлениями экстравазации форменных элементов. При снижении линейной скорости менее 200-180 мкм/сек. в части капилляров одновременно определяли нарушения кровотока в виде «маятникообразного» движения. Прогрессирующее увеличение ширины периваскулярной зоны сопровождалось снижением четкости визуализации капилляроскопической картины, что свидетельствовало о прогрессировании синдрома капиллярной утечки и выходе гидрофильных белковых молекул в интерстиций с последующим повышением онкотического давления межклеточной жидкости и увеличением плотности интерстициальной ткани. Уже к концу первой недели проведения инвазивной вентиляции легких на фоне замедления скорости кровотока до 200 мкм/сек. и менее отмечали развитие стаза с формированием аваскулярных (бессосудистых) зон, участков экстравазации, количество которых увеличивалось по мере прогрессирования тяжести заболевания. У пациентов в крайне тяжелом и терминальном состоянии

на фоне развития нестабильности гемодинамики, наличия явлений тяжелой гипоксемии и гиперкапнии, не корригируемых «жесткими» параметрами ИВЛ, наблюдали картину остановки капиллярного кровотока, клинически проявляющуюся явлениями «мраморного цианоза» (рисунки 19, 20).



Рисунок 19 – Пример микроскопической картины сочетания участков капиллярного стаза и аваскулярных зон, движение крови в капиллярах отсутствует, капилляроскопический фон мутный



Рисунок 20 – Явления «мраморного цианоза» с микроскопической картиной капиллярного стаза

Одновременно с микроскопическим исследованием капиллярного русла проводили функциональный тест (окклюзионную пробу) методом лазерной допплеровской флюметрии. Уже в первые сутки пребывания в ОРИТ, как и у всех пациентов с тяжелым течением COVID-19, зафиксировано снижение значения постокклюзионного показателя микроциркуляции (таблица 16).

Таблица 16 – Динамика показателей окклюзионной пробы у пациентов с тяжелым течением COVID-19 с развитием сепсиса

Показатель	Первые сутки в ОРИТ	III-V сутки (без ИВЛ)	ИВЛ III сутки	ИВЛ VII сутки	p
ПМ исходный (BPU)	6,59 (5,03; 9,56)	3,99 (3,02; 7,63)	0,98 (0,13; 9,36)	0,53 (0,29; 5,02)	$p_{1-2}=0,179$ $p_{1-3}=0,301$ $p_{1-4}=0,023$ $p_{2-3}=0,535$ $p_{2-4}=0,049$ $p_{3-4}=0,326$
ПМ окклюзии (BPU)	0,35 (0,11; 0,54)	0,13 (0,09; 0,22)	2,05 (1,08; 5,25)	1,37 (0,16; 2,43)	—
Максимальны й прирост (BPU,%)	34,05 (27,39; 37,74) 491,85 (192,65; 559,67)	21,59 (12,14; 44,9) 463,24 (173,97; 819,02)	—	—	—
ПМ пост- окклюзионный (BPU,%)	7,36 (2,55; 8,52) -26,03 (-44,84; 25,98)	0,02 (0,01; 12,06) -99,46 (-99,75; 120, 55)	2,5 (1,04; 4,0) —	0,08 (0,03; 4,83) —	—

Снижение величины этого показателя по сравнению с исходным ПМ отражает один из признаков эндотелиальной дисфункции (повышение тонуса

в ответ на прекращение ишемии), в то время как в норме должно наблюдаваться противоположное явление (постокклюзионная гиперемия). При присоединении бактериальной инфекции (2-3-и сутки проведения ИВЛ) обнаруживали резкое уменьшение исходного значения показателя микроциркуляции кровотока, в связи с чем, объективно оценить реактивные изменения в ответ на окклюзию не представлялось возможным.

Кроме того, при оценке микроциркуляции на седьмые сутки проведения инвазивной вентиляции легких (при наличии признаков бактериальной инфекции) выявили снижение абсолютного значения исходного показателя микроциркуляции более чем в 2 раза.

По мере прогрессирования заболевания наблюдали ситуацию, при которой отсутствовал какое-либо ответ на проведение окклюзионной пробы. Все показатели (ПМ исх., ПМ окклюзии, ПМ постоккл.) отличались друг от друга незначительно, отсутствовал прирост кровотока после прекращения окклюзии, т.е. наблюдали ареактивный тип окклюзионной пробы в результате грубейших нарушений регуляции кровотока (рисунок 21).

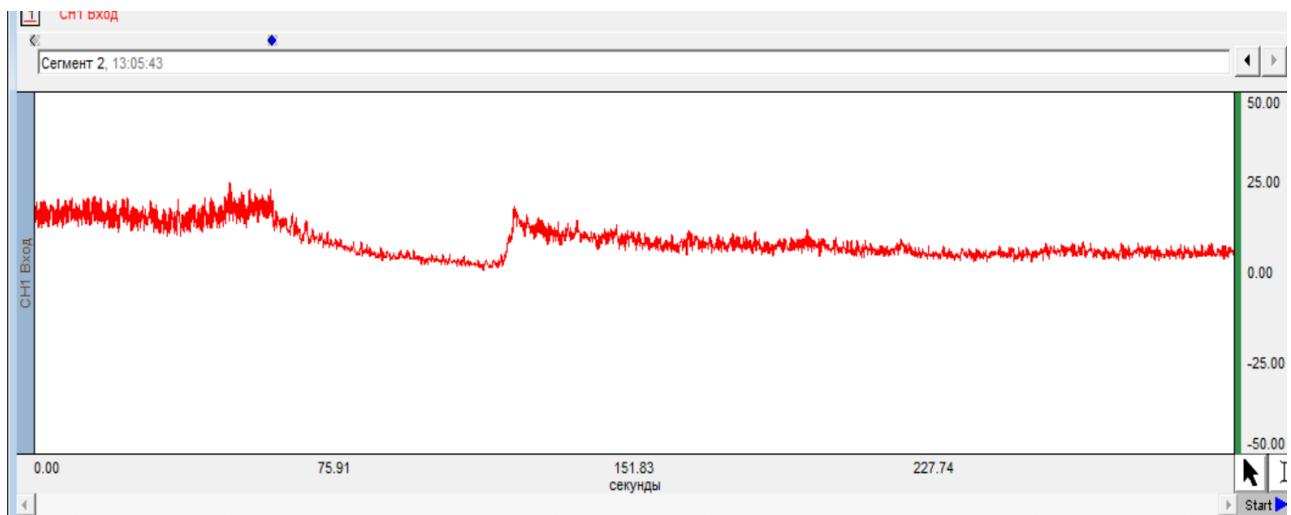


Рисунок 21 – Пример ареактивной пробы
у больного с сепсисом на фоне COVID-19

У части пациентов обсуждаемой группы одновременно с выполнением функционального теста осуществляли забор крови для определения маркера

повреждения эндотелия – проадреномедуллина (всего 18 тестов). Несмотря на ограниченное количество исследований, удалось выявить наличие отрицательной корреляции между значениями проадреномедуллина и амплитудой максимального постишемического прироста кровотока (рисунок 22).

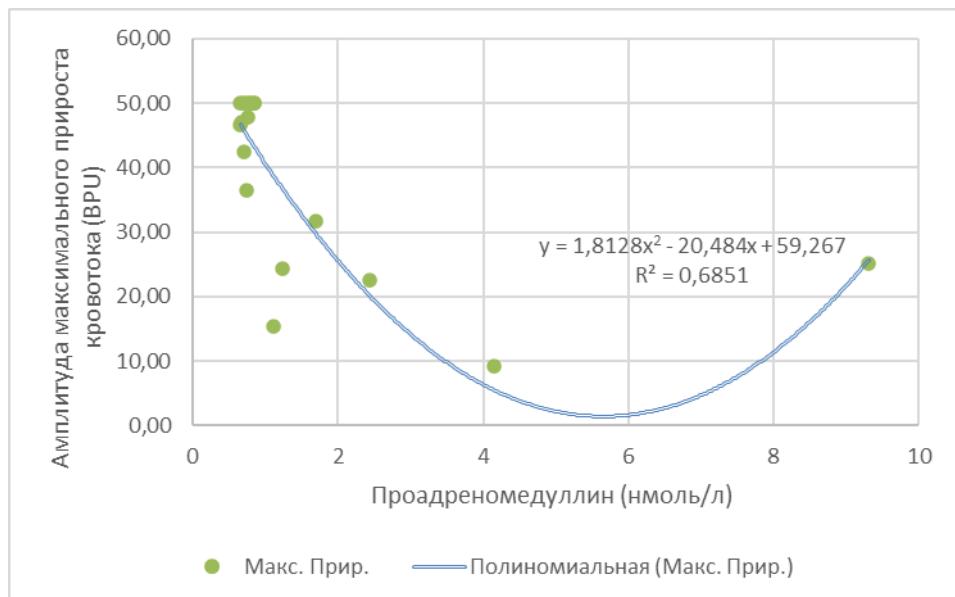


Рисунок 22 – Корреляция уровня проадреномедуллина и амплитуды максимального постишемического кровотока при выполнении окклюзионной пробы

Эти данные свидетельствовать о том, что показатели функциональной пробы могут достоверно отражать степень повреждения эндотелия и подтверждают роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе COVID-19.

3.3 Результаты витальной капилляроскопии у пациентов с хронической сопутствующей патологией, не болевших COVID-19

У пациентов, не болевших COVID-19, которые проходили плановое обследование и подготовку к оперативному вмешательству (кардиохирургическому), в 9 случаях из 12 также выявили преобладание извитых

форм капилляров. Спектр сопутствующей патологии у пациентов этой группы был схожим с группой пациентов с тяжелым течением COVID-19 (см. таблицы 3, 4). При этом в группе пациентов, не болевших COVID-19, средняя линейная скорость капиллярного кровотока была существенно выше, чем у пациентов с COVID-19 при поступлении в ОРИТ, и соответствовала нормальным значениям (таблица 17) несмотря на наличие признаков хронической эндотелиальной дисфункции. Также у пациентов этой группы не было выявлено капилляров с циркулирующими агрегатами, кровоток носил однородный характер.

Таблица 17 – Результаты капилляроскопии у пациентов не болевших COVID-19 (2-я группа)

Показатель	2-я группа (n=12)
Количество капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	10,17±0,94
Высота капиллярной петли (мкм)	214,22±38,25
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	88,23±30,64
Диаметр артериального отдела капилляра (мкм)	7,0±0,85
Диаметр венозного отдела капилляра (мкм)	14,77±3,71
Диаметр переходного отдела капилляра (мкм)	12,93±2,9
Средняя линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/сек.)	687,31±123,34

Несмотря на наличие сопутствующей патологии у большинства больных показатели окклюзионной пробы, также как и показатели линейной скорости кровотока, соответствовали нормальным значениям (таблицы 17, 18). Однако следует отметить, что все эти пациенты получали вазоактивные лекарственные препараты, которые могли оказывать влияние на результаты исследования.

Таблица 18 – Результаты окклюзионной пробы у пациентов, не болевших COVID-19 (2-я группа)

Показатели	2-я группа (n=12)
ПМ исходный (ВРУ)	7,58 (6,67; 11,9)
ПМ окклюзии (ВРУ)	0,59 (0,21; 0,86)
ПМ максимальный (ВРУ), максимальный прирост (%)	48,57 (45,36; 51,9) 493,85 (314,35; 596,57)
ПМ постокклюзионный, (ВРУ)	15,35 (8,07; 16,19)

Таким образом, полученные данные еще раз подтвердили, что уменьшение скорости микрокровотока и наличие микроагрегатов в просвете капилляров, которые мы наблюдали у пациентов основной группы, свидетельствуют о развитии острой эндотелиальной дисфункции.

3.4 Состояние микроциркуляции у реабилитантов после тяжелого течения COVID-19

Для оценки состояния микроциркуляции в периоде реабилитации была также выделена отдельная группа из 14 человек (3-я группа). В нее включены реабилитанты, перенесшие Covid-19 в тяжелой и среднетяжелой форме (исследование проводили не ранее, чем через 6 месяцев после выписки из стационара).

При выполнении витальной капилляроскопии ногтевого ложа, также как и у пациентов с COVID-19, у пациентов этой группы оценивали количественные и качественные показатели. У большей части пациентов были выявлены признаки хронической эндотелиальной дисфункции в виде преобладания патологических форм капилляров. При этом ни в одном случае не было выявлено капилляров с циркулирующими агрегатами, кровоток носил однородный характер.

При анализе количественных показателей витальной капилляроскопии выявлено, что средняя линейная скорость капиллярного кровотока в этой группе соответствовала нормальным значениям (таблица 19).

Таблица 19 – Результаты капилляроскопии у пациентов 3 группы (реконвалесцентов)

Показатель	Группа реконвалесцентов (n=14)	Референсные значения
Кол-во капилляров в 1 мм периваскулярной зоны (шт)	$9,78 \pm 2,53$	9-13
Высота капиллярной петли (мкм)	$227,35 \pm 29,51$	92-295
Толщина периваскулярной зоны (мкм)	$72,14 \pm 22,75$	Не более 100 мкм
Диаметр артериального отдела капилляра (мкм)	$6,29 \pm 0,81$	7-17
Диаметр венозного отдела капилляра (мкм)	$12,26 \pm 3,10$	11-20,6
Диаметр переходного отдела капилляра (мкм)	$13,09 \pm 3,45$	8-21
Средняя линейная скорость капиллярного кровотока (мкм/сек.)	$692,12 \pm 46,59$	500-1000

При анализе результатов окклюзионной пробы, полученных методом лазерной допплеровской флюметрии, выявлено, что в группе реконвалесцентов значение прироста постокклюзионного кровотока оказалось сниженным (менее 25%), что свидетельствовало о нарушении эндотелий-зависимой

вазодилатации и могло быть косвенным признаком проявления эндотелиальной дисфункции (таблица 20).

Таблица 20 – Показатели окклюзионной пробы у реконвалесцентов после COVID-19

Показатели	3-я группа (n=14)	Референсные значения
ПМ исходный, (ВРУ)	8,09 (4,8; 12,81)	–
ПМ окклюзии, (ВРУ)	0,18 (0,1; 0,23)	–
ПМ максимальный (ВРУ), максимальный прирост (%)	55,23 (42,11; 67,58) 552,55 (332,24; 900,34)	300-600%
ПМ постокклюзионный, (ВРУ), прирост в %	9,21 (3,81; 12,77) 4,52 (-31,34; 53,43)	25-50%

Учитывая полученные результаты функционального теста, свидетельствующие о нарушении эндотелий-зависимой вазодилатации, с целью подтверждения системных нарушений микроциркуляции пациентам этой группы было выполнено радиоизотопное исследование микроциркуляции легких – однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ). По данным ОФЭКТ легких, были выявлены выраженные диффузные нарушения микроциркуляции, а именно снижение показателей микроциркуляции более чем в трех анатомических сегментах каждого легкого. Помимо участков гипоперфузии определялись участки компенсаторной гиперперфузии, что, вероятно, свидетельствовало о сохраняющихся нарушениях регуляции микротоков в легких.

Для удобства представления данных были проанализированы значения микроциркуляции в передней и задней проекциях обоих легких, с расчетом среднего показателя микроциркуляции, минимальных ее значений (участки гипоперфузии) и максимальных значений (участки гиперперфузии).

В таблице 21 представлены значения микроциркуляции легких. У пациентов отмечалось снижение среднего показателя микроциркуляции в одном или обоих легких (в одной или двух проекциях). При этом минимальные значения микроциркуляции нередко имели значение ниже 10% от должных величин, что могло быть предпосылкой для последующего формирования фиброза в этих участках легочной ткани.

В таблице 21 представлены значения в процентах от должных (нормальных) величин. Следует отметить, что у всех пациентов отмечено значительное снижение среднего показателя микроциркуляции в одном или обоих легких (в одной или двух проекциях). При этом значение микроциркуляции в участках гипоперфузии нередко составляло менее 10% от должной величины, что могло быть предпосылкой для последующего формирования фиброза в этих участках легочной ткани.

Таблица 21 – Результаты однофотонной эмиссионной компьютерной томографии легких реконвалесцентов после COVID-19

№№	Задняя проекция						Передняя проекция					
	средняя микро- циркуляция, %		max, %		min, %		средняя микро- циркуляция, %		max, %		min, %	
	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое
1	0,83	0,88	1,35	1,62	0,15	0,07	0,94	0,67	2,03	1,60	0,24	0,05
2	0,52	0,67	3,98	4,19	0,04	0,11	0,93	0,85	1,90	1,60	0,24	0,19
3	0,92	0,86	1,28	1,85	0,06	0,06	0,81	0,64	1,29	1,64	0,19	0,19
4	0,75	0,71	1,16	1,29	0,12	0,03	0,65	0,64	1,20	1,44	0,17	0,06
5	0,71	0,78	1,38	1,11	0,05	0,19	0,64	0,82	1,98	2,32	0,03	0,01
6	0,65	0,52	1,33	1,33	0,10	0,27	0,74	0,48	3,83	1,29	0,17	2,50

Продолжение таблицы 21

№№	Задняя проекция						Передняя проекция					
	средняя микро- циркуляция, %		max, %		min, %		средняя микро- циркуляция, %		max, %		min, %	
	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое	правое легкое	левое легкое
7	0,88	0,77	1,99	1,12	0,23	0,04	0,73	0,64	1,45	1,01	0,34	0,34
8	0,77	0,70	1,13	1,18	0,12	0,09	0,854	0,69	1,71	1,17	0,09	0,14
9	0,78	0,84	1,48	1,92	0,04	0,02	0,68	0,77	1,45	1,64	0,07	0,17
10	0,73	0,68	1,46	1,20	0,06	0,11	0,79	0,66	1,53	1,47	0,15	0,15
11	1,01	0,95	1,56	1,79	0,12	0,03	0,77	0,74	1,59	1,25	0,29	0,24
12	0,90	0,90	1,36	2,04	0,06	0,02	0,73	0,71	1,50	1,75	0,28	0,11
13	0,88	0,91	1,19	2,05	0,09	0,05	0,79	0,75	2,05	1,39	0,12	0,25
14	0,87	0,80	1,19	1,26	0,23	0,05	0,67	0,47	1,47	1,33	0,05	0,05
среднее значение	0,80 ±0,06	0,78 ±0,09	—	—	—	—	0,77 ±0,07	0,68 ±0,06	—	—	—	—
Примечание – * – значения нормальной микроциркуляции в используемой программе анализа ОФЭКТ приняты в пределах от 0,85 до 1,15.												

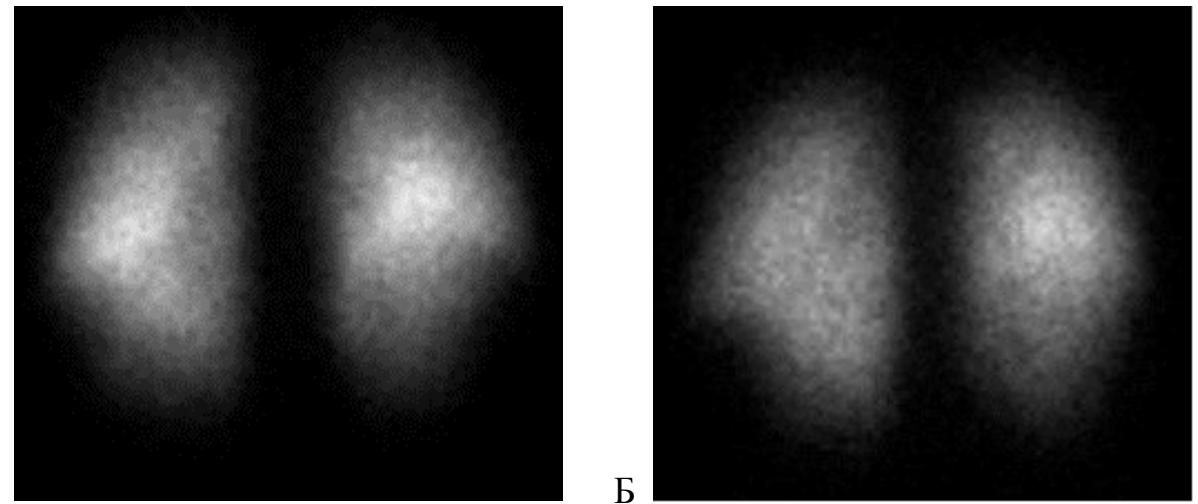
Обращает на себя внимание значительное количество участков гипоперфузии у пациентов данной группы ($62,64 \pm 12,03\%$ от общего количества участков), среднее значение показателя микроциркуляции в этих участках составило $0,53 \pm 0,04$ (таблица 22). За счет большого количества участков с низким значением показателя микроциркуляции средние значения этого показателя для всех проекций легких также были снижены (таблица 22).

Таблица 22 – Однофотонная эмиссионная компьютерная томография легких реконвалесцентов после COVID-19 (участки гипо- и гиперперфузии)

№№	Количество участков гипоперфузии (%)	Средняя микроциркуляция* в участках гипоперфузии	Кол-во участков гиперперфузии (%)	Средняя микроциркуляция* в участках гиперперфузии
1	40	0,57	13	1,36
2	71,5	0,47	9,5	1,79
3	75,5	0,51	8	1,83
4	68	0,50	12	1,81
5	61	0,5	12	1,58
6	63,5	0,56	4	1,35
7	69,0	0,47	10	1,21
8	76	0,46	7,5	2,00
9	57	0,56	6	1,47
10	46,5	0,59	9,5	1,53
11	70,5	0,58	3,5	1,28
12	49	0,55	12	1,36
13	52	0,55	12,5	1,51
14	77,5	0,53	3,5	2,25
В группе	$62,64 \pm 12,03$	$0,53 \pm 0,04$	$8,79 \pm 3,44$	$1,59 \pm 0,30$
Примечание – * – значения нормальной микроциркуляции в используемой программе анализа ОФЭКТ приняты в пределах от 0,85 до 1,15.				

Неравномерное распределение микротоков в виде чередования участков гипо-, гипер- и нормоперфузии свидетельствовало о диффузном характере нарушений микроциркуляции легких.

На компьютерной томограмме легких после контрастирования микроциркуляторного русла радиофармпрепаратором проявлялись диффузные микроциркуляторных нарушения в виде « пятнистой» неоднородности (рисунок 23).



А – в норме;

Б – пациент, перенесший COVID-19, через 6 месяцев после выписки из стационара.

Рисунок 23 – ОФЭКТ легких

Выявленные нарушения микроциркуляции у пациентов с длительно сохраняющимися жалобами на снижение качества жизни после перенесенного COVID-19, по-видимому, носят системный характер, учитывая сохраняющиеся нарушения регуляции периферического микрокровотока и диффузные нарушения микрокровотока в легких (орган-мишень). При этом при капилляроскопии ногтевого ложа не выявлено каких-либо патологических изменений микрокровотока, носящих острый характер (циркуляция агрегатов, увеличение размера периваскулярной зоны, снижение линейной скорости микрокровотока). С высокой вероятностью выявленные нарушения микроциркуляции связаны с недостаточным восстановлением функции поврежденного эндотелия и последствиями микротромбообразования (нарушение микроциркуляции легких).

Глава 4

ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном исследовании предполагалось оценить изменения микроциркуляции у больных с COVID-19 с позиции выявления возможных расстройств функции эндотелия (нарушения внутрисосудистого гемостаза, сосудистой проницаемости и регуляции тонуса). Одним из главных методов диагностики была выбрана витальная капилляроскопия ногтевого ложа пальцев кисти. Данный метод оказался наиболее удобным по нескольким причинам. Во-первых, это отсутствие физического и психологического дискомфорта для больного. Большая часть исследуемых пациентов находилась в ясном сознании, им проводили респираторную поддержку в виде инсуффляции кислорода через лицевую маску или неинвазивную вентиляцию легких. В этом случае выполнение, например сублингвальной микроскопии было бы сопряжено с неудобствами и рисками для больного. Во-вторых, это возможность оценки скорости капиллярного кровотока. Витальная капилляроскопия позволяет изолированно визуализировать дистальный отдел микроциркуляторного русла (капилляры), ответственный за весь тканевой метаболизм. При этом ориентация дистальных капилляров оклоногтевой области является строго горизонтальной, что позволяет более точно оценить линейную скорость капиллярного кровотока.

Традиционный подход для расчета индекса микрососудистого кровотока и индекса неоднородности кровотока при применении сублингвальной визуализации сложно использовать при проведении микроскопии ногтевого ложа. По этой причине в работе оценивали скорость кровотока по всей длине капиллярного русла (метод позволяет), а среднее значение высчитывали по результатам измерения скорости в пяти капиллярах (с наибольшей скоростью) визуализируемого поля. Следует отметить, что по данным исследований с использованием сублингвальной микроскопии линейная скорость кровотока коррелирует со значениями индекса микрососудистого кровотока [33].

Для оценки сохранности эндотелиальной вазорелаксации нами был применен функциональный тест в виде окклюзионной пробы. Считается, что метод лазерной допплеровской флоуметрии с проведением окклюзионной пробы может быть достаточно информативным для оценки поток индуцированной и постишемической гиперемии для выявления признаков дисфункции эндотелия [61, 124, 133, 164].

Функциональные пробы при проведении лазерной допплеровской флоуметрии (окклюзионная, тепловая и фармакологическая) позволяют оценить индуцированную продукцию оксида азота эндотелием. Принцип окклюзионной пробы аналогичен таковому при оценке поток-зависимой вазодилатации плечевой артерии ультразвуковыми методами. Однако при проведении окклюзионной пробы у здоровых лиц с помощью ультразвуковой допплерографии регистрируется увеличение диаметра плечевой артерии в пределах 10-15%, а с помощью лазерной допплеровской флоуметрии увеличение перфузии микроциркуляторного русла может увеличиваться в более чем в 5 раз, что обеспечивает более раннее и доказательное выявление нарушения вазомоторной функции эндотелия. Таким образом, использованные методы функциональной диагностики позволили обнаруживать и количественно характеризовать степень эндотелиальной дисфункции.

Следует отметить, что представленные в литературе результаты сравнительно небольшого числа исследований микроциркуляции у пациентов с COVID-19 достаточно противоречивы. В основном они получены с использованием сублингвальной микроскопии. Так, например, в одной из таких работ, авторы акцентировали внимание на снижении у больных с Covid-19 плотности сосудов мелкого калибра (капилляров) и толщины гликоокаликса, причем более выраженные изменения были выявлены у пациентов, которым проводили ИВЛ [114]. В исследовании, в которое было включено 82 пациента с подтвержденным Covid-19, при госпитализации и на этапе реабилитации наиболее частыми изменениями при капилляроскопии оказались: перикапиллярный отек (80,5%), расширенные капилляры (61,0%), сладжирование

(53,7%), извилистые формы капилляров и снижение плотности капилляров (50,0%) [122]. Другие авторы отметили нормальные значения общей микрососудистой плотности на фоне снижения количества перфузируемых микрососудов и снижения скорости кровотока [105]. E. Damiani et al. также отмечали снижение плотности перфузируемых сосудов у больных с тяжелым течением COVID-19, однако среднее значения этого показателя оставались в пределах нормальных [110]. Авторы выявили обратную зависимость между плотностью микрососудов в визуализированном поле с уровнем Д-димера, на этом основание был сделан вывод, что данные изменения могли быть следствием развития микротромбоза. Иные результаты получили авторы, которые сравнивали показатели микроциркуляции в группах пациентов с Covid-19 в тяжелом и критическом состоянии. У пациентов в критическом состоянии были выявлены более высокая скорость микрокровотока и более высокая плотность микрососудов подъязычной области [14]. Авторы подчеркнули, что такая микроскопическая картина существенно отличается от той, которая обычно наблюдается при тяжелом бактериальном сепсисе (снижение скорости кровотока (MFI), уменьшение плотности перфузируемых микрососудов). Кроме того, авторы обратили внимание на меньший риск развития выраженной мультиорганной дисфункции у пациентов с тяжелым течением COVID-19 по сравнению с пациентами с бактериальным сепсисом.

Исследований микроциркуляции при бактериальном сепсисе выполнено достаточно много, как правило, у пациентов с сепсисом наблюдают снижение плотности перфузируемых капилляров, снижение скорости кровотока и повышение неоднородности кровотока по сравнению со здоровыми людьми. Так, например, используя метод спектральной визуализации с ортогональной поляризацией, D. De Backer et al. оценили сублингвальную микроциркуляцию у 50 пациентов с тяжелым сепсисом, а также у здоровых добровольцев и у неинфицированных пациентов в отделение интенсивной терапии [111]. Наблюдали значительное снижение плотности микрососудов и, что более важно, уменьшение доли перфузируемых мелких сосудов (<20 мкм), в основном –

капилляров (90% в группе контроля и 48% у септических пациентов). Это уменьшение доли хорошо перфузируемых мелких сосудов произошло из-за комбинированного увеличения неперфузированных и сосудов с периодической перфузией. Кроме того, неоднородность между областями, удаленными на несколько микрон, также была увеличена. Эти результаты были подтверждены другими исследователями [47, 48]. Микроскопические изменения могут наблюдаться очень рано при сепсисе, даже в течение нескольких часов после поступления в больницу [47, 48]. Подобные изменения микроциркуляции, только менее выраженные, обнаруживали и после введения небольшой дозы эндотоксина здоровым добровольцам [106]. Признаки нарушения микроциркуляции у пациентов с сепсисом более выражены у пациентов с неблагоприятным исходом по сравнению с выжившими [47, 111, 128]. Кроме того, выявляемые нарушения микроциркуляции быстро разрешались в ответ на терапию у выживших, но сохранялись у пациентов, умерших от острой недостаточности кровообращения или полиорганной недостаточности [128]. Изменения в микрокроватока в течение первого дня интенсивной терапии оказались более тесно связаны с исходом, чем изменения сердечного выброса, артериального давления или SvO_2 [128]. S. Trzeciak et al. показали, что ранние признаки улучшения микроциркуляции в ответ на целенаправленную терапию были связаны с улучшением функции органов [46].

Таким образом, литературные данные свидетельствуют, что изменения микроциркуляции при бактериальном сепсисе изучены более детально, кроме того, сложилось впечатление, что они более выражены, чем у пациентов с COVID-19. В проспективном исследовании, в котором проводили сравнение показателей у больных с тяжелым течением Covid-19 без сепсиса и у пациентов с сепсисом (без Covid-19), микроциркуляторный индекс оказался ниже во 2-й группе, что можно трактовать как более выраженные проявления эндотелиальной дисфункции у больных с бактериальным повреждением [109].

В проведенном исследовании у большинства пациентов с тяжелым течением COVID-19 при витальной микроскопии наблюдали преобладание

извityх форм капилляров, что характерно для больных с хронической патологией (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, сахарный диабет и т.д.). Выявленные структурные изменения капилляров могут рассматриваться как проявление хронической эндотелиальной дисфункции. Полученные результаты позволяют предположить, что пациенты с хроническими заболеваниями, имеющие деформацию капиллярного русла (преобладание патологических форм капилляров), имеют более высокий риск развития тяжелого течения COVID-19. Этот факт также отчасти может объяснять более легкое течение заболевания в детском и молодом возрасте.

Наиболее очевидными микроскопическими признаками острого нарушения микроциркуляции, выявляемыми при поступлении в отделение реанимации (до развития бактериальной инфекции), оказались снижение скорости кровотока, увеличение размера периваскулярной зоны и наличие циркулирующих микроагрегатов в более чем в 50 % капилляров визуализируемого поля.

Представляется, что показатели степени агрегации и скорости микрокровотока тесно взаимосвязаны, однако, нарушения микроциркуляции, как правило, носят неоднородный характер. При сублингвальной микроскопии рассчитывают индекс микрососудистого кровотока и индекс неоднородности кровотока. Эти показатели основаны на субъективной оценке характера кровотока визуализированного поля. В представленном исследовании рассчитывали фактическую скорость движения эритроцитов в наиболее сохранных капиллярах. Однако при таком подходе, несмотря на достаточную точность измерений, имеется риск недооценки тяжести нарушений микроциркуляции, поскольку скорость кровотока измеряли не во всех микрососудах, а только в наиболее сохранных капиллярах. В этой связи, дополнительно, полуколичественным методом оценивали степень агрегации. С другой стороны, наличие микроагрегации при отсутствии макрогемодинамических нарушений, возможно является особенностью развития эндотелиальной дисфункции при COVID-19. Так, например, в одном из исследований сладжирование обнаружили почти у 80% госпитализированных пациентов с COVID-19, причем большинство из них

не поступали в ОРИТ и не требовали респираторной поддержки [122]. Кроме того, авторы этого исследования наблюдали патологическую внутрисосудистую агрегацию эритроцитов и у рековалесцентов.

У всех пациентов с тяжелым течением COVID-19 уже при поступлении в ОРИТ выявлено снижение средней линейной скорости кровотока. При этом у больных с неблагоприятным исходом снижение средней линейной скорости капиллярного кровотока оказалось более существенным по сравнению с выжившими пациентами ($278,4 \pm 79,34$ мкм/сек. против $354,33 \pm 43,89$ мкм/сек., $p < 0,05$).

Важно отметить, что эти микрососудистые изменения наблюдали при стабильных показателях системного артериального давления, в отсутствие признаков острой сердечно-сосудистой недостаточности. В первые трое суток существенной динамики показателя средней линейной скорости кровотока выявлено не было, что отчасти можно связать с методом измерения этого показателя (измеряли скорость в пяти капиллярах с наиболее сохранной скоростью кровотока). Более очевидны изменения за трехдневный период были выявлены в отношении толщины периваскулярной зоны, более того, уже при поступлении в ОРИТ в подгруппе с неблагоприятным исходом определяли существенно больший размер периваскулярной зоны в сравнении с группой выживших ($159,38 \pm 18,00$ мкм против $97,95 \pm 15,5$ мкм, $p < 0,0001$). Увеличение этого показателя свидетельствует о наличии интерстициального отека, который, вероятно, связан с нарушением барьерной функции эндотелия.

Помимо микроскопических изменений важнейшим проявлением эндотелиальной дисфункции является нарушение эндотелий-зависимой регуляции микрокровотока. Для оценки сохранности эндотелий-зависимой вазорелаксации выполняли окклюзионную пробу при помощи метода лазерной допплеровской флюметрии. Считается, что этот метод может быть достаточно информативным для оценки поток-индуцированной и постишемической гиперемии и, соответственно, для выявления признаков дисфункции эндотелия [124].

Нарушение эндотелий-зависимой регуляции диагностировали уже при поступлении пациентов в отделение интенсивной терапии. У пациентов выявляли уменьшение среднего показателя постокклюзионного кровотока ниже среднего показателя исходного кровотока, что говорит не только об отсутствии постишемической гиперемии, но, напротив, о тенденции к вазоспастической реакции в ответ на острую ишемию. Присоединение бактериальной инфекции сопровождалось резким уменьшением показателя максимального прироста кровотока после окклюзии (поток-индукцированной вазодилатации), вплоть до формирования ареактивной окклюзионной пробы. Прямая корреляция между значениями одного из маркеров эндотелиальной дисфункции (проадреномедуллина) и показателем максимального постокклюзионного прироста кровотока (показатель окклюзионного теста) подтверждает значимость оценки нарушений эндотелий-зависимой регуляции микрокровотока с помощью окклюзионного теста.

Степень нарушений регуляции микрокровотока может иметь важное прогностическое значение. Так, например, использование окклюзионного теста в сочетании с методом спектроскопии в ближней инфракрасной области (NIRS) в нескольких исследованиях показало, что пациенты с тяжелым сепсисом часто имеют выраженные изменения в микрососудистой реактивности и что эти изменения связаны с высоким риском развития мультиорганной дисфункции и неблагоприятным исходом заболевания [28, 113].

С целью оценки обратимости микроциркуляторных нарушений в ранние соки пребывания в ОРИТ у восьми пациентов без признаков бактериальной инфекции была выполнена нагрузочная пробы с гелофузином на фоне непрерывной микроскопической визуализации капиллярного русла. У всех исследуемых пациентов выявлена положительная реакция в ответ на пробу, отмечено увеличение линейной скорости микрокровотока. Возможным дополнительным объяснением является наличие гиповолемии у этих пациентов на момент исследования. С учетом малого количества обследованных больных полученные результаты не позволяют сделать какие-либо выводы в отношении

эффективности проведения инфузионной терапии с использованием коллоидных растворов, однако могут быть поводом для дальнейшего изучения эффективности некоторых лечебных воздействий на микроциркуляцию у пациентов с COVID-19. Проведение экстракорпоральной гемокоррекции не оказывало существенного влияния на скоростные показатели микрокровотока, однако, после выполнение сеанса ЭКГК отмечено статистически значимое увеличение размера периваскулярной зоны, что может свидетельствовать о прогрессирование интерстициального отека.

Таким образом, наиболее характерными признаками острого нарушения микроциркуляции при тяжелом течении Covid-19 являются: циркуляция микроагрегатов, снижение линейной скорости капиллярного кровотока ниже 400 мкм/сек. на фоне стабильной гемодинамики, увеличение размера периваскулярной зоны более 100 мкм, уменьшение максимального прироста капиллярного кровотока и отсутствие постокклюзионной гиперемии при окклюзионной пробе. Присоединение бактериальной инфекции приводит к усугублению нарушений микроциркуляции в виде увеличения размера периваскулярной зоны, уменьшения плотности капилляров и показателя максимального прироста кровотока при окклюзионной пробе. Выявленные нарушения микроциркуляции, вероятно носят системный характер и укладываются в понятие «эндотелиальной дисфункции» (нарушение регуляции тонуса в сторону вазоконстрикции, увеличение сосудистой проницаемости, активация внутрисосудистой агрегации).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования подтверждают, что нарушения микроциркуляции при тяжелом течении COVID-19 являются одним из ведущих звеньев патогенеза. При этом характер микроциркуляторных расстройств связан с нарушением основных функций эндотелия (регуляция микрокровотока, внутрисосудистый гемостаз, сосудистая проницаемость). Кроме того, значение эндотелиальной дисфункции подтверждается наличием прямой корреляцией между уровнем проадреномедуллина и значением максимального постокклюзионного прироста микрокровотока. Наиболее информативными показателями, отражающими степень нарушения микроциркуляции, оказались линейная скорость капиллярного кровотока, степень агрегации, размер периваскулярной зоны, максимальный постокклюзионный прирост кровотока. Данные показатели могут иметь прогностическую значимость, а также использоваться в качестве дополнительной информации для контроля эффективности проводимого лечения. Например, увеличение линейной скорости капиллярного кровотока после инфузии коллоидного раствора может свидетельствовать об обратимости выявленных нарушений микроциркуляции и эффективности проведения инфузационной терапии для данного пациента в конкретной ситуации.

Наличие структурных изменений капиллярной сети в виде преобладания патологических форм капилляров у пациентов с тяжелым течением COVID-19 свидетельствует о наличии хронической эндотелиальной дисфункции, которая наиболее часто выявляется при ряде хронических заболеваний, и вероятно, является фактором риска развития тяжелого течения заболевания.

Нарушения микроциркуляции при сепсисе на фоне COVID-19, выявленные в представленном исследовании, не противоречат литературным данным. Однако неблагоприятное развитие событий в виде резкого снижения плотности капиллярной сети, нарастания признаков интерстициального отека и грубого нарушения эндотелий-зависимой регуляции микрокровотока после

присоединения бактериальной инфекции может быть следствием того, что системное повреждение эндотелия с развитием тяжелых нарушений микроциркуляции происходит еще до внедрения бактериального агента. Следовательно присоединение бактериальной инфекции на этом фоне является пусковым фактором декомпенсации микроциркуляторных расстройств.

Сохранение нарушений эндотелий-зависимой релаксации у реконвалесцентов более 6 месяцев после перенесенного COVID-19, в сочетании с диффузными нарушениями микроциркуляции легких и длительно сохраняющимися жалобами на снижение качества жизни, свидетельствуют о системном характере нарушений микроциркуляции.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 при капилляроскопии в большинстве случаев определяются структурные изменения микрососудистого русла, в виде преобладания патологических форм капилляров, что является характерным признаком хронической эндотелиальной дисфункции.
2. Характерными микроскопическими признаками острого нарушения микроциркуляции при тяжелом течении COVID-19 являются: снижение линейной скорости капиллярного кровотока ниже 400 мкм/сек., циркуляция микроагрегатов более чем в 50% капилляров визуализируемого поля, увеличение размера периваскулярной зоны более 100 мкм, что характерно для острой эндотелиальной дисфункции.
3. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 имеются нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации в виде отсутствия постишемической реактивной гиперемии.
4. Инфузия коллоидов в ранние сроки пребывания в ОРИТ может приводить к увеличению скорости капиллярного кровотока. Гемофильтрация с сорбцией приводит к увеличению размера периваскулярной зоны, что свидетельствует об интерстициальном отеке.
5. Развитие сепсиса на фоне тяжелого течения COVID-19 влечет за собой резкое усугубление нарушений микроциркуляции в виде снижения плотности капиллярной сети и формирования аваскулярных зон, значительного нарастания интерстициального отека с увеличением размера периваскулярной зоны более 200 мкм. Усугубление нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации характеризуется резким снижением поток-индуцированного прироста микротоков вплоть до полного его отсутствия (ареактивная окклюзионная проба).

6. У реконвалесцентов с длительно сохраняющимися жалобами имеются нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации в виде снижения показателя постокклюзионного микрокровотока, а также диффузных нарушений микрокровотока легких в виде множественных зон гипо- и гиперперфузии со снижением общего показателя микроциркуляции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Применение витальной капилляроскопии и лазерной допплеровской флюметрии позволяет определить ранние признаки микроциркуляторных нарушений у пациентов с COVID-19, в том числе и прогностически значимых.

1. Комплексную неинвазивную оценку микроциркуляции целесообразно проводить в качестве скрининга. Это может иметь важное значение дальнейшей маршрутизации пациентов.
2. Оценку состояния микроциркуляции целесообразно проводить на всем протяжении лечения в ОРИТ для более точной оценки динамики состояния пациента и эффективности проводимого лечения.
3. Лечение пациентов с тяжелым течением COVID-19 должно включать мероприятия, направленные, в том числе, и на улучшение микроциркуляции: улучшение реологических свойств крови, строгий контроль волемического статуса (недопущение гиповолемии), коррекция анемии и гипопротеинемии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	– артериальная гипертензия
АПФ	– ангиотензин-превращающий фермент
ВПОТ	– высокопоточная оксигенотерапия
ГБ	– гипертоническая болезнь
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИВЛ	– инвазивная вентиляция легких
НИВЛ	– неинвазивная вентиляция легких
ОРДС	– острый респираторный дистресс-синдром
ОРИТ	– отделение реанимации и интенсивной терапии
ОФЭКТ	– однофотонная эмиссионная компьютерная томография легких
ПДКВ	– положительное давление конца выдоха
ПМ	– показатель микроциркуляции
СД	– сахарный диабет
СМОД	– синдром мультиорганной дисфункции
СРБ	– С-реактивный белок
ЭКГК	– экстракорпоральная гемокоррекция
ВН4	– тетрагидробиоптерин
ВРУ	– большие перфузионные единицы
eNOS	– эндотелиальная NO-синтаза
IL	– интерлейкин
iNOS	– индуцибельная синтаза оксида азота
MFI	– индекс микрососудистого кровотока
NIRS	– метод ближней инфракрасной спектроскопии
NO	– оксид азота
NYHA	– Нью-Йоркская классификация сердечной недостаточности
OPS	– спектральная визуализация с ортогональной поляризацией
PaCO ₂	– парциальное давление углекислого газа

PPV	– доля перфузируемых сосудов
PVD	– плотность перфузируемых сосудов
SpO ₂	– оксигенация
SvO ₂	– венозная оксигенация
TNF	– фактор некроза опухоли
TVD	– общая плотность сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борзилова, Ю.А. Васкулоэндотелиальные факторы роста (VEGF): роль и место в патологических процессах / Ю.А. Борзилова, Л.А. Болдырева, И.В. Шлык // Вестник офтальмологии. – 2016. – Т. 132, № 4. – С. 98-103. – <https://doi.org/10.17116/oftalma2016132498-103>.
2. Иванов, К.П. Современные медицинские проблемы микроциркуляции и гипоксического синдрома / К.П. Иванов // Вестник РАМН. – 2014. – № 1-2. – С. 57-63.
3. Covid-19 и сосудистые нарушения (обзор литературы) / Н.Н. Петрищев, О.В. Халепо, Ю.А. Вавиленкова, Т.Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 90-98. – <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98>.
4. Козлов, В.И. Капилляроскопия в клинической практике : монография / В.И. Козлов. – Москва : Практическая медицина, 2015. – С. 79-111.
5. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность : руководство для врачей / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – Москва : ЛИБРОКОМ, 2013. – 496 с.
6. Куприянов, В.В. Микроциркуляторное русло / В.В. Куприянов, Я.Л. Караганов, В.И. Козлов. – Москва : Медицина, 1975. – 216 с.
7. Лобов, Г.И. Роль лимфатической системы в гомеостазе интерстициальной жидкости в легких и плевральной жидкости / Г.И. Лобов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 104-112.
8. Маргиева, Т.В. Участие маркёров эндотелиальной дисфункции в патогенезе хронического гломерулонефрита / Т.В. Маргиева, Т.В. Сергеева // Вопросы современной педиатрии. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 22-30.
9. Моррисон, В.В. Дисфункция эндотелия при синдроме полиорганной недостаточности у больных с термической травмой / В.В. Моррисон,

- А.Ю. Божедомов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2013. – Т. 12, 2 (46). – С. 43-48.
10. Обрезан, А.Г. Теория «периферического сердца» профессора М.В. Яновского: классические и современные представления / А.Г. Обрезан, Т.Н. Шункевич // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – 2008. – № 3. – С. 11.
 11. Структурные и функциональные изменения микроциркуляторного русла на уровне капилляров у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность), которые можно наблюдать в ход / Ю.Н. Беленков, Е.В. Привалова, Ю.А. Данилогорская, А.А. Щендрыйгина // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 49-56.
 12. Фабрикантов, О.Л. Капилляроскопические параметры микроциркуляции ногтевого ложа (обзор литературы) / О.Л. Фабрикантов, М.М. Проничкина // Сибирский научный медицинский журнал. – 2018. – Т. 38, № 2. – С. 62-67. – doi: 10.15372/SSMJ20180210.
 13. Хугаева, В.К. Алексей Михайлович Чернух – основоположник современных исследований микроциркуляции / В.К. Хугаева // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 80-85. – doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-80-85.
 14. Abou-Arab, O. Microvascular flow alterations in critically ill Covid-19 patients: A prospective study / O. Abou-Arab, C. Beyls, A. Khalipha // PLoS One. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. e0246636. – doi: 10.1371/journal.pone.0246636.
 15. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang [et al.] // J. Thromb Haemost. – 2020. – Vol. 18, № 4. – P. 844-847. – doi: 10.1111/jth. 14768.
 16. Achari, A.E. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction / A.E. Achari, S.K. Jain // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 1321. – doi: 10.3390/ijms18061321.
 17. Activated protein C reduces tissue hypoxia, inflammation, and apoptosis in traumatized skeletal muscle during endotoxemia / P. Gierer, J.N. Hoffmann,

- F. Mahr [et al.] // Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 35. – P. 1966-1971. – doi: 10.1097/01.CCM.0000275270.14835.2A.
18. Acute kidney injury in SARS-CoV-2 infected patients / V. Fanelli, M. Fiorentino, V. Cantaluppi [et al.] // Crit. Care. – 2020. – Vol. 24. – P. 155.
19. Ascorbate prevents microvascular dysfunction in the skeletal muscle of the septic rat / J. Armour, K. Tyml, D. Lidington, J.X. Wilson // J. Appl. Physiol. – 2001. – Vol. 90. – P. 795-803.
20. Baker, C.H. Microvascular responses to E.coliendotoxin with altered adrenergic activity / C.H. Baker, F.R. Wilmoth // Circ. Shock. – 1984. – Vol. 12. – P. 165-176.
21. Boas, D.A. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics / D.A. Boas, A.K. Dunn // J. Biomed. Opt. – 2010. – Vol. 15, № 1. – P. 011109. – doi: 10.1117/1.3285504.
22. Both passive leg raising and intravascular volume expansion improve sublingual microcirculatory perfusion in severe sepsis and septic shock patients / J. Pottecher, S. Deruddre, J.L. Teboul [et al.] // Intensive Care Med. – 2010. – Vol. 36. – P. 1867-1874. – doi: 10.1007/s00134-010-1966-6.
23. Bredt, D.S. Endogenous nitric oxide synthesis: Biological functions and pathophysiology / D.S. Bredt // Free Radical Research. – 1999. – Vol. 31, № 6. – P. 577-596. – doi: 10.1080/10715769900301161.
24. Capillaroscopy in Routine Diagnostics: Potentials and Limitations / F. Ingegnoli, V. Smith, A. Sulli, M. Cutolo // Curr. Rheumatol. Rev. – 2018. – Vol. 14, № 1. – P. 5-11. – doi: 10.2174/1573397113666170615084229.
25. Capillary Leukocytes, Microaggregates, and the Response to Hypoxemia in the Microcirculation of Coronavirus Disease 2019 Patients / E. Favaron, C. Ince, M.P. Hilty [et al.] // Crit. Care Med. – 2021. – Vol. 49. – P. 661-670.
26. Carbamylated Low-Density Lipoproteins Induce a Prothrombotic State Via LOX-1: Impact on Arterial Thrombus Formation In Vivo / E.W. Holy, A. Akhmedov, T. Speer [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2016. – Vol. 68, № 15. – P. 1664-1676. – doi: 10.1016/j.jacc.2016.07.755.

27. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) / T. Guo, Y. Fan, M. Chen [et al.] // JAMA Cardiol. – 2020. – Vol. 5. – P. 811-818.
28. Changes in muscle tissue oxygenation during stagnant ischemia in septic patients / R. Pareznik, R. Knezevic, G. Voga, M. Podbregar // Intensive Care Med. – 2006. – Vol. 32. – P. 87-92.
29. Christensen, K.L. Location of resistance arteries / K.L. Christensen, M.J. Mulvany // J. Vasc. Res. – 2001. – Vol. 38. – P. 1-12.
30. Clancy, R.M. The role of nitric oxide in inflammation and immunity / R.M. Clancy, A.R. Amin, S.B. Abramson // Arthritis Rheum. – 1998. – Vol. 41, № 7. – P. 1141-1151. – doi: 10.1002/1529-0131(199807)41:73.0.CO;2-S.
31. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study / X. Yang, Y. Yu, J. Xu [et al.] // Lancet Respir. Med. – 2020. – Vol. 8. – P. 475-481.
32. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou, T. Yu, R. Du [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395. – P. 1054-1062.
33. Comparison of different methods for the calculation of the microvascular flow index / M.O. Pozo, V.S. Kanoore Edul, C. Ince, A. Dubin // Crit. Care Res. Pract. – 2012. – Vol. 2012. – P. 102483. – doi: 10.1155/2012/102483.
34. COVID-19 as a cardiovascular disease: the potential role of chronic endothelial dysfunction / J.F. Bermejo-Martin, R. Almansa, A. Torres [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2020. – Vol. 116. – P. e132-e133.
35. COVID-19 critical illness pathophysiology driven by diffuse pulmonary thrombi and pulmonary endothelial dysfunction responsive to thrombolysis / H.D. Poor, C.E. Ventetuolo, T. Tolbert [et al.] // Clin. Transl. Med. – 2020. – Vol. 10, № 2. – P. e44.

36. COVID-19 does not lead to a "typical" acute respiratory distress syndrome / L. Gattinoni, S. Coppola, M. Cressoni [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2020. – Vol. 201. – P. 1299-1300.
37. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatment for different phenotypes? / L. Gattinoni, D. Chiumello, P. Caironi [et al.] // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46, № 6. – P. 1099-1102. – doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.
38. Covid-19 sepsis and microcirculation dysfunction / A. Colantuoni, R. Martini, P. Caprari [et al.] // Front Physiol. – 2020. – Vol. 11. – P. 747. – doi: 10.3389/fphys.2020.00747.
39. COVID-19: the vasculature unleashed / L.A. Teuwen, V. Geldhof, A. Pasut, P. Carmeliet // Nat. Rev. Immunol. – 2020. – Vol. 20. – P. 389-391.
40. De Backer, D. Septic shock: a microcirculation disease / D. De Backer, F. Ricottilli, G.A. Ospina-Tascón // Curr. Opin Anaesthesiol. – 2021. – Vol. 34, № 2. – P. 85-91.
41. Differential expression of inducible nitric oxide synthase messenger RNA along the longitudinal and crypt-villus axes of the intestine in endotoxemic rats / M.J. Morin, N. Unno, R.A. Hodin, M.P. Fink // Crit. Care Med. – 1998. – Vol. 26. – P. 1258-1264. – doi: 10.1097/00003246-199807000-00031.
42. Disparity between skin perfusion and sublingual microcirculatory alterations in severe sepsis and septic shock: a prospective observational study / E.C. Boerma, M.A. Kuiper, W.P. Kingma [et al.] // Intensive Care Med. – 2008. – Vol. 34. – P. 1294-1298. – doi: 10.1007/s00134-008-1007-x.
43. Disruption of microtubular network attenuates histamine-induced dilation in rat mesenteric vessels / A. Brum Cde, I.D. Duarte, R.C. Webb, R. Leite // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2005. – Vol. 288. – P. C443-449.
44. Dobutamine maintains intestinal villus blood flow during normotensive endotoxemia: an intravital microscopic study in the rat / A. Secchi, R. Wellmann, E. Martin, H. Schmidt // J. Crit. Care. – 1997. – Vol. 12. – P. 137-141. – doi: 10.1016/S0883-9441(97)90043-5.

45. Dose-dependent benefit of nitroglycerin on microcirculation of patients with severe heart failure / C.A. den Uil, K. Caliskan, W.K. Lagrand [et al.] // Intensive Care Med. – 2009. – Vol. 35. – P. 1893-1899. – doi: 10.1007/s00134-009-1591-4.
46. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis / S. Trzeciak, J.V. McCoy, D.R. Phillip [et al.] // Intensive Care Med. – 2008. – Vol. 34. – P. 2210-2217.
47. Early microvascular changes in sepsis and severe sepsis / A. Spanos, S. Jhanji, A. Vivian-Smith [et al.] // Shock. – 2010. – Vol. 33. – P. 387-391.
48. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival / S. Trzeciak, R.P. Dellinger, J.E. Parrillo [et al.] // Ann. Emerg. Med. – 2007. – Vol. 49. – P. 88-98.
49. Effects of changes in arterial pressure on organ perfusion during septic shock / A. Thooft, R. Favory, D.R. Salgado [et al.] // Crit. Care. – 2011. – Vol. 15. – P. R222. – doi: 10.1186/cc10462.
50. Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis / G. Ospina-Tascon, A.P. Neves, G. Occhipinti [et al.] // Intensive Care Med. – 2010. – Vol. 36. – P. 949-955. – doi: 10.1007/s00134-010-1843-3.
51. Effects of nitroglycerin on sublingual microcirculatory blood flow in patients with severe sepsis/septic shock after a strict resuscitation protocol: a double-blind randomized placebo controlled trial / E.C. Boerma, M. Koopmans, A. Konijn [et al.] // Crit. Care Med. – 2010. – Vol. 38. – P. 93-100. – doi: 10.1097/CCM.0b013e3181b02fc1.
52. Effects of vasopressin, norepinephrine, and L-arginine on intestinal microcirculation in endotoxemia / Y. Nakajima, N. Baudry, J. Duranteau, E. Vicaut // Crit. Care Med. – 2006. – Vol. 34. – P. 1752-1757. – doi: 10.1097/01.CCM.0000218812.73741.6C.

53. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients / M.A. Hayes, A.C. Timmins, T.H. Yau [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – Vol. 330, № 24. – P. 1717-1722.
54. Endemann, D.H. Endothelial dysfunction / D.H. Endemann, E.L. Schiffrin // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 15, № 8. – P. 1983-1992. – doi: 10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA.
55. Endothelial activation and dysfunction in Covid-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches / Y. Jin, W. Ji, H. Yang [et al.] // *Signal Transduct Target Ther.* – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 293. – doi: 10.1038/s41392-020-00454-7.
56. Endothelial cation channel PIEZO1 controls blood pressure by mediating flow-induced ATP release / S. Wang, R. Chennupati, H. Kaur [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2016. – Vol. 126. – P. 4527-4536. – doi: 10.1172/JCI87343.
57. Endothelial cytoskeletal elements are critical for flow-mediated dilation in human coronary arterioles / Y. Liu, H. Li, A.H. Bubolz [et al.] // *Med. Biol. Eng. Compu.* – 2008. – Vol. 46. – P. 469-478.
58. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in Covid-19 / A. Bonaventura, A. Vecchié, L. Dagna [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* – 2021. – Vol. 21, № 5. – P. 319-329. – doi: 10.1038/s41577-021-00536-9.
59. Endothelial dysfunction in Covid-19: Current findings and therapeutic implications / M.P. Nägele, B. Haubner, F.C. Tanner [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2020. – Vol. 314. – P. 58-62. – doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.10.014.
60. Endothelial dysfunction in the microcirculation of patients with obstructive sleep apnea / B.T. Patt, D. Jarjoura, D.N. Haddad [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – Vol. 182, № 12. – P. 1540.
61. Endothelial function: role, assessment and limits / C. Puissant, P. Abraham, S. Durand [et al.] // *J. Mal. Vasc.* – 2014. – Vol. 39, № 1. – P. 47-56. – doi: 10.1016/j.jmv.2013.11.004.
62. Endothelial microtubule disruption blocks flow-dependent dilation of arterioles / D. Sun, A. Huang, S. Sharma [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – Vol. 280. – P. H2087-2093.

63. Endotheliopathy in COVID-19- associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study / G. Goshua, A.B. Pine, M.L. Meizlish [et al.] // Lancet Haematol. – 2020. – Vol. 7. – P. e575-e582.
64. Endotoxic shock alters distribution of blood flow within the intestinal wall / J.P. Revelly, T. Ayuse, N. Brienza [et al.] // Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 24. – P. 1345-1351. – P. 10.1097/00003246-199608000-00013.
65. Enoxaparin and fondaparinux attenuates endothelial damage in endotoxemic rats / T. Iba, K. Okamoto, T. Ohike [et al.] // J. Trauma Acute Care Surg. – 2012. – Vol. 72. – P. 177-182.
66. Evaluation of Cerebral Blood Flow Autoregulation in the Rat Using Laser Doppler Flowmetry / L.A. Allen, M. Terashvili, A. Gifford, J.H. Lombard // J. Vis. Exp. – 2020. – Vol. 155. – doi: 10.3791/60540.
67. Failure of nitroglycerin (glyceryl trinitrate) to improve villi hypoperfusion in endotoxaemic shock in sheep / V.S. Edul, G. Ferrara, M.O. Pozo [et al.] // Crit. Care Resusc. – 2011. – Vol. 13. – P. 252-261.
68. Fink, M.P. Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness / M.P. Fink // Curr. Opin Crit. Care. – 2003. – Vol. 9. – P. 143-151. – doi: 10.1097/00075198-200304000-00011.
69. Gimbrone, M.A. Jr. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis / M.A. Gimbrone Jr., G. García-Cardeña // Circ. Res. – 2016. – Vol. 118, № 4. – P. 620-636. – doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
70. Girard, P.R. Shear stress modulates endothelial cell morphology and F-actin organization through the regulation of focal adhesion-associated proteins / P.R. Girard, R.M. Nerem // J. Cell. Physiol. – 1995. – Vol. 163. – P. 179-193.
71. Godo, S. Endothelial Functions / S. Godo, H. Shimokawa // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2017. – Vol. 37, № 9. – P. e108-e114. – doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309813.
72. Green, S.J. Covid-19 accelerates endothelial dysfunction and nitric oxide deficiency / S.J. Green // Microbes Infect. – 2020. – Vol. 22, № 4-5. – P. 149-150. – doi: 10.1016/j.micinf.2020.05.006.

73. Hegyi, A. Hyperspectral imaging with a liquid crystal polarization interferometer / A. Hegyi, J. Martini // Opt. Express. – 2015. – Vol. 23, № 22. – P. 28742-28754. – doi: 10.1364/OE.23.028742.
74. Hern, S. Visualization of dermal blood vessels. – capillaroscopy / S. Hern, P.S. Mortimer // Clin. Exp. Dermatol. – 1999. – Vol. 24. – P. 473-478. – doi: 10.1046/j.1365-2230.1999.00537.
75. Heterogeneous endothelial cell structure along the porcine retinal microvasculature / P.K. Yu, D. Yu, V.A. Alder [et al.] // Exp. Eye Res. – 1997. – Vol. 65. – P. 379-389.
76. Heterogeneous responsiveness of the in situ rat vascular endothelial cells to mechanical stretching in vitro / K. Sugimoto, K. Yoshida, S. Fujii [et al.] // Eur. J. Cell. Biol. – 1995. – Vol. 68. – P. 70-77.
77. Histopathological observations in COVID-19: a systematic review / V. Deshmukh, R. Motwani, A. Kumar [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2021. – Vol. 74, № 2. – P. 76-83. – doi: 10.1136/jclinpath-2020-206995.
78. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series / D.T. Bradley, H. Maioli, R. Johnston [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 396, № 10247. – P. 320-332. – doi: 10.1016/S0140-6736(20)31305-2.
79. Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia / J.N. Hoffmann, B. Vollmar, M.W. Laschke [et al.] // Anesthesiology. – 2002. – Vol. 97. – P. 460-470. – doi: 10.1097/00000542-200208000-00025.
80. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: a report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis / M. Panigada, N. Bottino, P. Tagliabue [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 18. – P. 1738-1742. – doi: 10.1111/jth.14850.
81. Iba, T. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis / T. Iba, J.H. Levy // J. Thromb. Haemost. – 2019. – Vol. 17, № 2. – P. 283-294. – doi: 10.1111/jth.14371.

82. Iba, T. Enoxaparin attenuates endothelial damage with less bleeding compared with unfractionated heparin in endotoxemic rats / T. Iba, T. Takayama // Shock. – 2009. – Vol. 32. – P. 530-534. – doi: 10.1097/SHK.0b013e3181a2e279.
83. Important Roles of Endothelium-Dependent Hyperpolarization in Coronary Microcirculation and Cardiac Diastolic Function in Mice / Y. Ikumi, T. Shiroto, S. Godo [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2020. – Vol. 75, № 1. – P. 31-40. – doi: 10.1097/FJC.0000000000000763.
84. Ince, C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation / C. Ince // Crit. Care. – 2015. – Vol. 19, Suppl. S3. – P. S8.
85. Ince, C. Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock / C. Ince, M. Sinaappel // Crit. Care Med. – 1999. – Vol. 27. – P. 1369-1377. – doi: 10.1097/00003246-199907000-00031.
86. Ince, C. The microcirculation is the motor of sepsis / C. Ince // Crit. Care. – 2005. – Vol. 9, Suppl. 4. – P. S13-19.
87. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19 / F.A. Klok, M.J.H.A. Kruip, N.J.M. van der Meer [et al.] // Thromb. Res. – 2020. – Vol. 191. – P. 145-147. – doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.
88. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: a prospective study / A. Dubin, M.O. Pozo, C.A. Casabella [et al.] // Crit. Care. – 2009. – Vol. 13. – P. R92. – doi: 10.1186/cc7922.
89. International study on microcirculatory shock occurrence in acutely ill patients / N.A. Vellinga, E.C. Boerma, M. Koopmans [et al.] // Crit. Care Med. – 2015. – Vol. 43, № 1. – P. 48-56.
90. Intraoperative Incident Dark Field Imaging of the Human Peritoneal Microcirculation / Z. Uz, A.W. Kastelein, D.M.J. Milstein [et al.] // J. Vasc. Res. – 2018. – Vol. 55, № 3. – P. 136-143. – doi: 10.1159/000488392.
91. Jennings, B.L. Neurally-derived nitric oxide regulates vascular tone in pulmonary and cutaneous arteries of the toad, *Bufo marinus* / B.L. Jennings, J.A. Donald //

- Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 5. – P. R1640-1646. – doi: 10.1152/ajpregu.00057.2008.
92. Joly, H.R. Temperature of the great toe as an indication of the severity of shock / H.R. Joly, M.H. Weil. // Circulation. – 1969. – Vol. 39. – P. 131-138.
93. Jung, P. Capillaroscopy / P. Jung, F. Trautinger // J. Dtsch. Dermatol. Ges. – 2013. – Vol. 11, № 8. – P. 731-736. – doi: 10.1111/ddg.12137.
94. Kara, A. Monitoring microcirculation in critical illness / A. Kara, S. Akin, C. Ince // Curr. Opin Crit. Care. – 2016. – Vol. 22, № 5. – P. 444-452.
95. Kobayashi, N. Heterogeneity in the distribution of actin filaments in the endothelial cells of arteries and arterioles in the rat kidney / N. Kobayashi, T. Sakai // Eur. J. Cell. – 1993. – Vol. 60, № 1. – P. 57-66.
96. Levi, M. Covid-19 coagulopathy vs disseminated intravascular coagulation / M. Levi // Blood Adv. – 2020. – Vol. 4, № 12. – P. 2850. – doi: 10.1182/bloodadvances.2020002197.
97. Levosimendan for resuscitating the microcirculation in patients with septic shock: a randomized controlled study / A. Morelli, A. Donati, C. Ertmer [et al.] // Crit. Care. – 2010. – Vol. 14. – P. R232. – doi: 10.1186/cc9387.
98. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs / L.A. Schwarte, O. Picker, S.R. Bornstein [et al.] // Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 33. – P. 135-142. – doi: 10.1097/01.CCM.0000150653.89451.6F.
99. Loufrani, L. Role of the cytoskeleton in flow (shear stress)-induced dilation and remodeling in resistance arteries / L. Loufrani, D. Henrion // Med. Biol. Eng. Compu. – 2008. – Vol. 46. – P. 451-460.
100. Marini, J.J. Management of COVID-19 Respiratory Distress / J.J. Marini, L. Gattinoni // JAMA. – 2020. – Vol. 323. – P. 2329-2330.
101. Martini, R. The compelling arguments for the need of microvascular investigation in COVID-19 critical patients / R. Martini // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2020. – Vol. 75, № 1. – P. 27-34. – doi: 10.3233/CH-200895.

102. Measurements of strain on single stress fibers in living endothelial cells induced by fluid shear stress / Y. Ueki, Y. Uda, N. Sakamoto, M. Sato // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2010. – Vol. 395. – P. 441-446.
103. Meininger, G.A. Distributions of microvascular pressure in skeletal muscle of one-kidney, one clip, two-kidney, one clip, and deoxycorticosterone-salt hypertensive rats / G.A. Meininger, P.D. Harris, I.G. Joshua // Hypertension. – 1984. – Vol. 6. – P. 27-34.
104. Microcirculatory Alterations in Critically Ill Patients with COVID-19-Associated Acute Respiratory Distress Syndrome / U. Di Dedda, A. Ascari, A. Fantinato [et al.] // J. Clin. Med. – 2022. – Vol. 11, № 4. – P. 1032. – doi: 10.3390/jcm11041032.
105. Microcirculation alterations in severe COVID-19 pneumonia / V.S. Kanoore Edul, J.F. Caminos Eguillor, G. Ferrara [et al.] // J. Crit. Care. – 2021. – Vol. 61 – P. 73-75.
106. Microcirculation and vascular reactivity during endotoxemia and endotoxin tolerance in humans / A. Draisma, R. Bemelmans, J.G. van der Hoeven [et al.] // Shock. – 2009. – Vol. 31. – P. 581-585.
107. Microcirculatory blood flow as a tool to select ICU patients eligible for fluid therapy / A. Pranskunas, M. Koopmans, P.M. Koetsier [et al.] // Intensive Care Med. – 2013. – Vol. 39. – P. 612-619. – <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2793-8>.
108. Microcirculatory changes during open label magnesium sulphate infusion in patients with severe sepsis and septic shock / A. Pranskunas, N.A. Vellinga, V. Pilvinis [et al.] // BMC Anesthesiol. – 2011. – Vol. 11. – P. 12. – doi: 10.1186/1471-2253-11-12.
109. Microcirculatory, Endothelial, and Inflammatory Responses in Critically Ill Patients With Covid-19 Are Distinct From Those Seen in Septic Shock: A Case Control Study / S.D. Hutchings, J. Watchorn, F. Trovato [et al.] // Shock. – 2021. – Vol. 55, № 6. – P. 752-758. – doi: 10.1097/SHK.0000000000001672.

110. Microvascular alterations in patients with SARS-COV-2 severe pneumonia / E. Damiani, A. Carsetti, E. Casarotta [et al.] // Ann. Intensive Care. – 2020. – Vol. 10. – P. 60. – doi: 10.1186/s13613-020-00680-w.
111. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis / D. De Backer, J. Creteur, J.C. Preiser [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 166, № 1. – P. 98-104. – doi: 10.1164/rccm.200109-016oc.
112. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis / F. Ciceri, L. Beretta, A.M. Scandroglio [et al.] // J. Australasian Acad. Crit. Care Med. – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 95-97.
113. Microvascular dysfunction and skeletal muscle oxygenation assessed by phasemodulation near-infrared spectroscopy in patients with septic shock / R.A. De Blasi, S. Palmisani, D. Alampi [et al.] // Intensive Care Med. – 2005. – Vol. 31. – P. 1661-1668.
114. Microvascular dysfunction in Covid-19: the MYSTIC study / A. Rovas, I. Osiaevi, K. Buscher [et al.] // Angiogenesis. – 2021. – Vol. 24, № 1. – P. 145-157. – doi: 10.1007/s10456-020-09753-7.
115. Microvascular response to red blood cell transfusion in patients with severe sepsis / Y. Sakr, M. Chierego, M. Piagnerelli [et al.] // Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 35. – P. 1639-1644. – doi: 10.1097/01.CCM.0000269936.73788.32.
116. Microvascular thrombosis: experimental and clinical implications / M.A. Bray, S.E. Sartain, J. Gollamudi, R.E. Rumbaut // Transl. Res. – 2020. – Vol. 225. – P. 105-130.
117. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches / D. De Backer, G. Ospina-Tascon, D. Salgado [et al.] // Intensive Care Med. – 2010. – Vol. 36, № 11. – P. 1813-1825. – doi: 10.1007/s00134-010-2005-3.
118. Mottling score predicts survival in septic shock / H. Ait-Oufella, S. Lemoinne, P.Y. Boelle [et al.] // Intensive Care Med. – 2011. – Vol. 37. – P. 801-807. – doi: 10.1007/s00134-011-2163-y.

119. Mycophenolate mofetil improves renal haemodynamics, microvascular oxygenation, and inflammation in a rat model of supra-renal aortic clamping-mediated renal ischaemia reperfusion injury / B. Ergin, M. Heger, A. Kandil [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2017. – Vol. 44, № 2. – P. 294-304.
120. Nachman, R.L. Platelets, petechiae, and preservation of the vascular wall / R.L. Nachman, S. Rafii // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 359, № 12. – P. 1261-1270. – doi: 10.1056/NEJMra0800887.
121. Nag, S. Intracerebral arteriolar permeability to lanthanum / S. Nag, D.M. Robertson, H.B. Dinsdale // Am. J. Pathol. – 1982. – Vol. 107. – P. 336-341.
122. Nailfold capillaroscopy findings in patients with coronavirus disease 2019: Broadening the spectrum of COVID-19 microvascular involvement / G. Natalello, G. De Luca, L. Gigante [et al.] // Microvasc. Res. – 2021. – Vol. 133. – P. 104071. – doi: 10.1016/j.mvr.2020.104071.
123. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation / K. Cosby, K.S. Partovi, J.H. Crawford [et al.] // Nat. Med. – 2003. – Vol. 9. – P. 1498-1505. – doi: 10.1038/nm954.
124. Non-invasive diagnostic tools for investigating endothelial dysfunction / L. Ghiadoni, D. Versari, C. Giannarelli [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2008. – Vol. 14, № 35. – P. 3715-3722. – doi: 10.2174/138161208786898761.
125. Ochoa, C.D. New developments in lung endothelial heterogeneity: von Willebrand factor, P-selectin, and the Weibel-Palade body / C.D. Ochoa, S. Wu, T. Stevens // Semin Thromb. Hemost – 2010. – Vol. 36. – P. 301-308.
126. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases / M.A. Incalza, R. D'Oria, A. Natalicchio [et al.] // Vasc. Pharmacol. – 2018. – Vol. 100. – P. 1-19. – doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
127. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock / D. De Backer, D. Orbegozo Cortes, K. Donadello, J.L. Vincent // Virulence. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 73-79. – doi: 10.4161/viru.26482.

128. Persistent microvascular alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock / Y. Sakr, M.J. Dubois, D. De Backer [et al.] // Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 32. – P. 1825-1831. – doi: 10.1097/01.CCM.0000138558.16257.3F.
129. Piezol integration of vascular architecture with physiological force / J. Li, B. Hou, S. Tumova [et al.] // Nature. – 2014. – Vol. 515. – P. 279-282. – doi: 10.1038/nature13701.
130. Pillinger, N.L. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications / N.L. Pillinger, P. Kam // Anaesth Intensive Care. – 2017. – Vol. 45, № 3. – P. 295-307. – doi: 10.1177/0310057X1704500305.
131. Pober, J.S. Evolving functions of endothelial cells in inflammation / J.S. Pober, W.C. Sessa // Nat. Rev. Immunol. – 2007. – Vol. 7, № 10. – P. 803-815. – doi: 10.1038/nri2171.
132. Poole, D.C. Adolph Distinguished Lecture. Contemporary model of muscle microcirculation: gateway to function and dysfunction / D.C. Poole, F. Edward // J. Appl. Physiol. – 2019. – Vol. 127, № 4. – P. 1012-1033. – doi: 10.1152/japplphysiol.00013.2019.
133. Postischemic forearm skin reactive hyperemia is related to cardiovascular risk factors in a healthy female population / P. Vuilleumier, D. Decosterd, M. Maillard [et al.] // Hypertens. – 2002. – Vol. 20, № 9. – P. 1753-1757. – doi: 10.1097/00004872-200209000-00018.
134. Precapillary sphincters maintain perfusion in the cerebral cortex / S. Grubb, C. Cai, B.O. Hald [et al.] // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 395. – doi: 10.1038/s41467-020-14330-z.
135. Predictors of adverse prognosis in Covid-19: a systematic review and meta-analysis / S. Figliozzi, P.G. Masci, N. Ahmadi [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. – 2020. – Vol. 50. – P. e13362. – doi: 10.1111/eci.13362.
136. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans / S.E. Fox, A. Akmatbekov, J.L. Harbert

- [et al.] // Lancet Respir. Med. – 2020. – Vol. 8. – P. 681-686. – doi: 10.1016/S2213-2600(20)30243-5.
137. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer / S. Tian, W. Hu, L. Niu [et al.] // J. Thorac. Oncol. – 2020. – Vol. 15. – P. 700-704. – doi: 10.1016/j.jtho.2020.02.010.
138. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study / L. Carsana, A. Sonzogni, A. Nasr [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2020. – Vol. 20. – P. 1135-1140. – doi: 10.1016/S1473-3099(20)30434-5.
139. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S.E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 383. – P. 120-128. – doi: 10.1056/NEJMoa2015432.
140. Ratio of 5,6,7,8-tetrahydrobiopterin to 7,8-dihydrobiopterin in endothelial cells determines glucose-elicited changes in NO vs. superoxide production by eNOS / M.J. Crabtree, C.L. Smith, G. Lam [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 294. – P. H1530-1540. – doi: 10.1152/ajpheart.00823.2007.
141. Recombinant activated protein C treatment improves tissue perfusion and oxygenation in septic patients measured by near-infrared spectroscopy / A. Donati, M. Romanelli, L. Botticelli [et al.] // Crit. Care. – 2009. – Vol. 13, Suppl. 5. – P. S12. – doi: 10.1186/cc8010.
142. Redistribution of intestinal microcirculatory oxygenation during acute hemodilution in pigs / L.A. Schwarte, A. Fournell, J. van Bommel, C. Ince // J. Appl. Physiol. – 2005. Vol. 98. – P. 1070-1075. – doi: 10.1152/japplphysiol.00861.2004.
143. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by the actin cytoskeleton / Y. Su, S. Edwards-Bennett, M.R. Bubb, E.R. Block // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2003. – Vol. 284. – P. C1542-1549.

144. Remuzzi, A. COVID-19 and Italy: What Next? / A. Remuzzi, G. Remuzzi // Lancet. – 2020. – Vol. 395, № 10231. – P. 1225-1228. – doi: 10.1016/S0140-6736(20)30627-9.
145. Renal arterial resistance in septic shock: effects of increasing mean arterial pressure with norepinephrine on the renal resistive index assessed with Doppler ultrasonography / S. Deruddre, G. Cheisson, J.X. Mazoit [et al.] // Intensive Care Med. – 2007. – Vol. 33. – P. 1557-1562. – doi: 10.1007/s00134-007-0665-4.
146. Reneman, R.S. Wall shear stress as measured in vivo: consequences for the design of the arterial system / R.S. Reneman, A.P. Hoeks // Med. Biol. Eng. Compu. – 2008. – Vol. 46. – P. 499-507.
147. Restoring arterial pressure with norepinephrine improves muscle tissue oxygenation assessed by near-infrared spectroscopy in severely hypotensive septic patients / J.F. Georger, O. Hamzaoui, A. Chaari [et al.] // Intensive Care Med. – 2010. – Vol. 36. – P. 1882-1889. – doi: 10.1007/s00134-010-2013-3.
148. Rhodin, J.A. Architecture of the vessel wall / J.A. Rhodin // Handbook of Physiology // D.F. Bohr, A.P. Somlyo, H.V. Sparks (eds). – American Physiological Soc., Washington, DC, 1980. – P. 1-31.
149. Rhodin, J.A. The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters / J.A. Rhodin // J. Ultrastruct. Res. – 1967. – Vol. 18. – P. 181-223.
150. Role of actin filaments in endothelial cell-cell adhesion and membrane stability under fluid shear stress / H.J. Schnittler, S.W. Schneider, H. Raifer [et al.] // Pflugers Arch. – 2001. – Vol. 442. – P. 675-687.
151. Role of protein C in renal dysfunction after polymicrobial sepsis / A. Gupta, D.T. Berg, B. Gerlitz [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2007. – Vol. 18. – P. 860-867. – doi: 10.1681/ASN.2006101167.
152. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses / H. Li, L. Liu, D. Zhang [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395. – P. 1517-1520. – doi: 10.1016/S0140-6736(20)30920-X.

153. Schmidt, T.S. Mechanisms for the role of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease / T.S. Schmidt, N.J. Alp // *Clin. Sci. (Lond)* – 2007. – Vol. 113. – P. 47-63.
154. Secondary Raynaud's phenomenon is associated with microvascular peripheral endothelial dysfunction / R. Taher, J.D. Sara, T. Toya [et al.] // *Microvasc. Res.* – 2020. – Vol. 132. – P. 10404.
155. Shapiro, N.I. A review of therapeutic attempts to recruit the microcirculation in patients with sepsis / N.I. Shapiro, D.C. Angus // *Minerva Anestesiol.* – 2014. – Vol. 80, № 2. – P. 225-235.
156. Shared features of endothelial dysfunction between sepsis and Its preceding risk factors (aging and chronic disease) / J.F. Bermejo-Martin, M. Martin-Fernandez, C. Lopez-Mestanza [et al.] // *Clin. Med.* – 2018. – Vol. 7. – P. 400.
157. Shear stress regulates forward and reverse planar cell polarity of vascular endothelium in vivo and in vitro / S. McCue, D. Dajnowiec, F. Xu [et al.] // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 98. – P. 939-946.
158. Sidestream Dark Field Imaging of the Microcirculation to Assess Preeclampsia Microvascular Dysfunction / A. Pelland, R.B. George, C. Lehmann, J. Coolen // *J. Clin. Med. Res.* – 2018. – Vol. 10, № 5. – P. 391-395. – doi: 10.14740/jocmr3368w.
159. Sinaasappel, M. Microvascular oxygen pressure measurements in the intestine during hemorrhagic shock and resuscitation / M. Sinaasappel, M. van Iterson, C. Ince // *J. Physiol. (Lond)*. – 1999. – Vol. 514. – P. 245-253. – doi: 10.1111/j.1469-7793.1999.245af.x.
160. Singel, D.J. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin / D.J. Singel, J.S. Stamler // *Ann. Rev. Physiol.* – 2005. – Vol. 67. – P. 99-145. – doi: 10.1146/annurev.physiol.67.060603.090918.
161. Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) Myocardial Perfusion Imaging Guidelines: Instrumentation, Acquisition, Processing, and Interpretation /

- S. Dorbala, K. Ananthasubramaniam, I.S. Armstrong [et al.] // *J. Nucl. Cardiol.* – 2018. – Vol. 25, № 5. – P. 1784-1846. – doi: 10.1007/s12350-018-1283-y.
162. Single Photon Emission Computed Tomography Tracer / H.J. Pietzsch, C. Mamat, C. Müller, R. Schibli // *Recent Results Cancer Res.* – 2020. – Vol. 216. – P. 227-282. – doi: 10.1007/978-3-030-42618-7_7.
163. Spronk, P.E. Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation / P.E. Spronk, D.F. Zandstra, C. Ince // *Crit. Care.* – 2004. – Vol. 8, № 6. – P. 462-468.
164. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: a monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? / C. Binggeli, L.E. Spieker, R. Corti [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 42, № 1. – P. 71-77. – doi: 10.1016/s0735-1097(03)00505-9.
165. Sturtzel, C. Endothelial Cells / C. Sturtzel // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 1003. – P. 71-91. – doi: 10.1007/978-3-319-57613-8_4.
166. Su, Y. Microtubule-active agents modify nitric oxide production in pulmonary artery endothelial cells / Y. Su, S.I. Zharikov, E.R. Block // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P. L1183-1189.
167. Subacute sepsis impairs vascular smooth muscle contractile machinery and alters vasoconstrictor and dilator mechanisms / S.A. Price, D.A. Spain, M.A. Wilson [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1999. – Vol. 83. – P. 75-80. – doi: 10.1006/jsre.1998.5568.
168. Sublingual microcirculatory effects of enalaprilat in an ovine model of septic shock / D.R. Salgado, X. He, F. Su [et al.] // *Shock.* – 2011. – Vol. 35. – P. 542-549. – doi: 10.1097/SHK.0b013e3182115e6a.
169. Sublingual microcirculation in prehospital critical care medicine: A proof-of-concept study / R.R. Bruno, M. Reed, N.Y. Bimpong-Buta [et al.] // *Microcirculation.* – 2020. – Vol. 27, № 5. – P. e12614. – doi: 10.1111/micc.12614.
170. Sun, D. Mechanical compression elicits NO-dependent increases in coronary flow / D. Sun, A. Huang, G. Kaley // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. H2454-2460.

171. Superoxide mediates endotoxin-induced platelet–endothelial cell adhesion in intestinal venules / W.H. Cerwinka, D. Cooper, C.F. Kriegstein [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284. – P. H535-H541.
172. Systemic and microcirculatory effects of dobutamine in patients with septic shock / C. Enrico, V.S. Kanoore Edul, A.R. Vazquez [et al.] // J. Crit. Care. – 2012. – Vol. 27. – P. 630-638.
173. Tetrahydrobiopterin attenuates microvascular reperfusion injury following murine pancreas transplantation / M. Maglione, M. Hermann, P. Hengster [et al.] // Am. J. Transplant. – 2006. – Vol. 6. – P. 1551-1559. – doi: 10.1111/j.1600-6143.2006.01345.x.
174. Tetrahydrobiopterin restores endothelial dysfunction induced by an oral glucose challenge in healthy subjects / N. Ihlemann, C. Rask-Madsen, A. Perner [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 285. – P. H875-882.
175. The effects of dobutamine on microcirculatory alterations in patients with septic shock are independent of its systemic effects / D. De Backer, J. Creteur, M.J. Dubois [et al.] // Crit. Care Med. – 2006. – Vol. 34. – P. 403-408. – doi: 10.1097/01.CCM.0000198107.61493.5A.
176. The Endothelium in Sepsis / C. Ince, P.R. Mayeux, T. Nguyen [et al.] // Shock. – 2016. – Vol. 45, № 3. – P. 259-270.
177. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China / Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response, Chinese Center for Disease Control and Prevention // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. – 2020. – Vol. 41, № 2. – P. 145-151. – doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.003.
178. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome / M. Ranucci, A. Ballotta, U. Di Dedda [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 18. – P. 1747-1751. – doi: 10.1111/jth.14854.
179. The prognostic value of the subjective assessment of peripheral perfusion in critically ill patients / T.C. Lima, J. Jansen, C. van Bommel [et al.] // Crit. Care. Med. – 2009. – Vol. 37. – P. 934-938. – doi: 10.1097/CCM.0b013e31819869db.

180. The thrombin antagonist hirudin fails to inhibit endotoxin-induced leukocyte/endothelial cell interaction and microvascular perfusion failure / J.N. Hoffmann, B. Vollmar, D. Inthorn [et al.] // Shock. – 2000. – Vol. 14. – P. 528-534. – doi: 10.1097/00024382-200014050-00006.
181. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy / T. Iba, J.H. Levy, J.M. Connors [et al.] // Crit. Care. – 2020. – Vol. 24. – P. 360. – doi: 10.1186/s13054-020-03077-0.
182. Thurston, G. Changes in endothelial actin cytoskeleton at leakage sites in the rat mesenteric microvasculature / G. Thurston, A.L. Baldwin, L.M. Wilson // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 268. – P. H316-329.
183. Thurston, G. Endothelial actin cytoskeleton in rat mesentery microvasculature / G. Thurston, A.L. Baldwin // Am. J. Physiol. – 1994. – Vol. 266. – P. H1896-1909.
184. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis / I. Hamming, W. Timens, M.L. Bulthuis [et al.] // J. Pathol. – 2004. – Vol. 203, № 2. – P. 631-637. – doi: 10.1002/path.1570.
185. Tucker, W.D. Anatomy, Blood Vessels / W.D. Tucker, Y. Arora, K. Mahajan // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470401>.
186. Tyml, K. Delayed ascorbate bolus protects against maldistribution of microvascular blood flow in septic rat skeletal muscle / K. Tyml, F. Li, J.X. Wilson // Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 33. – P. 1823-1828. – doi: 10.1097/01.CCM.0000172548.34622.DE.
187. Uchimido, R. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis / R. Uchimido, E.P. Schmidt, N.I. Shapiro // Crit. Care. – 2019. – Vol. 23, № 1. – P. 16.
188. Van den Berg, B.M. The endothelial glycocalyx protects against myocardial edema / B.M. van den Berg, H. Vink, J.A. Spaan // Circ. Res. – 2003. – Vol. 92. – P. 592-594. – doi: 10.1161/01.RES.0000065917.53950.75.

189. Van Zijderveld, R. Orthogonal polarization spectral imaging of conjunctival microcirculation / R. Van Zijderveld, C. Ince, R.O. Schlingemann // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 252, № 5. – P. 773-779. – doi: 10.1007/s00417-014-2603-9.
190. Victor, V.M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis / V.M. Victor, M. Rocha, M. De la Fuente // Int. Immunopharmacol. – 2004. – Vol. 4. – P. 327-347. – doi: 10.1016/j.intimp.2004.01.020.
191. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19 / Y. Jin, H. Yang, J. Wet [al.] // Viruses. – 2020. – Vol. 12. – P. 372. – doi: 10.3390/v12040372.
192. Weinbaum, S. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer / S. Weinbaum, J.M. Tarbell, E.R. Damiano // Ann. Rev. Biomed. Eng. – 2007. – Vol. 9, № 1. – P. 121-167.
193. Wevers, B.A. Renin-angiotensin system in human coronavirus pathogenesis / B.A. Wevers, L. van der Hoek // Future Virol. – 2010. – Vol. 5, № 2. – P. 145-161. – doi: 10.2217/fvl. 10.
194. Wilson, J.X. Mechanism of action of vitamin C in sepsis: ascorbate modulates redox signaling in endothelium / J.X. Wilson // Biofactors. – 2009. – Vol. 35. – P. 5-13. – doi: 10.1002/biof.7.
195. Yau, J.W. Endothelial cell control of thrombosis / J.W. Yau, H. Teoh, S. Verma // BMC Cardiovasc. Disord. – 2015. – Vol. 15. – P. 130. – doi: 10.1186/s12872-015-0124-z.
196. Zafrani, L. Microcirculation in Acute and Chronic Kidney Diseases / L. Zafrani, C. Ince // Am. J. Kidney Dis. – 2015. – Vol. 66, № 6. – P. 1083-1094.