

RUSSIAN BIOMEDICAL RESEARCH

2020, VOLUME 5, N 3

SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL FOR DOCTORS

Рецензируемый
научно-практический журнал
RUSSIAN BIOMEDICAL RESEARCH
РОССИЙСКИЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основан в 2016 году в Санкт-Петербурге

ISSN 2658–6584

eISSN 2658–6576

Ежеквартальное издание
Журнал реферируется РЖ ВИНТИ

Учредители:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России
Фонд НОИ «Здоровые дети — будущее страны»

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР)
ПИ № ФС77–74228 от 02 ноября 2018 г.

Журнал индексируется в РИНЦ. Договор на включение журнала в базу РИНЦ: № 538–10/2016 от 06.10.2016, страница журнала в Российской научной электронной библиотеке http://elibrary.ru/title_about.asp?id=62014.

Проект-макет: Титова Л. А.

Распространяется по подписке.

Электронная версия —
<http://www.gpmu.org/science/pediatrics-magazine/>
Russian_Biomedical_Research, <http://elibrary.ru>

Издатель:

ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России
Титова Л.А. (выпускающий редактор)
Варламова И.Н. (верстка)

Адрес редакции: Литовская ул., 2,
Санкт-Петербург, 194100;
тел/факс: (812) 295–31–55; e-mail: it2007@inbox.ru
Статьи просьба направлять по адресу:
scrcenter@mail.ru

Address for correspondence:

2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia.
Tel/Fax: +7 (812) 295–31–55.
E-mail: it2007@inbox.ru.

Формат 60 × 90/8. Усл.-печ. л. 6,5.
Тираж до 500 экз. Распространяется бесплатно.
Оригинал-макет изготовлен
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России.
Отпечатано ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России
Литовская ул., 2, Санкт-Петербург, 194100.
Заказ 448.
Подписано в печать 30.10.2020.

Полное или частичное воспроизведение материалов, содержащихся в настоящем издании, допускается только с письменного разрешения редакции.
Ссылка на журнал «Российские биомедицинские исследования/ Russian Biomedical Research» обязательна.

Редакционная коллегия: Editorial Board:

Главный редактор Head Editor

д. м. н., профессор А.Г. Васильев Professor A.G. Vasilev, MD, PhD

Зам. гл. редактора Head Editor-in-Chief

д. м. н., профессор Н.Р. Карелина Professor N.R. Karelina, MD, PhD

Технический редактор Technical Editor

М.А. Пахомова M.A. Pahomova

Профессор Г. Алиев (США) G. Aliev, MD, PhD, Prof. (USA)

д. м. н., профессор Е.В. Зиновьев E.V. Zinoviev, MD, PhD, Prof.

чл. корр. РАН, д. м. н., проф. А.М. Иванов A.M. Ivanov, MD, PhD, Prof., corr.member. RAS

чл. корр. РАН, д. м. н., проф. Е.Н. Имянитов E.N. Imianitov, MD, PhD, Prof., corr.member. RAS

д. м. н. профессор А.С. Колбин A.S. Kolbin, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор А.М. Королук A.M. Koroljuk, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор С.А. Лытаев S.A. Lytaev, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор А.Т. Марьянович A.T. Maryanovich, MD, PhD (biology), Prof.

д. м. н., профессор Г.Л. Микирчичан G.L. Mikirtichan, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор А.А. Миронов (Италия) A.A. Mironov, PhD (biology), Prof. (Italy)

д. м. н., профессор И.Б. Михайлов I.B. Mihailov, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор В.И. Николаев V.I. Nikolaev, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор В.О. Полякова V.O. Polyakova, PhD (biology), Prof.

д. м. н., профессор А.М. Савичева A.M. Savicheva, MD, PhD, Prof.

к. м. н., доцент Л.П. Чурилов L.P. Churilov, MD, PhD

д. м. н. профессор П.Д. Шабанов P.D. Shabanov, MD, PhD, Prof.

2020, ТОМ 5, № 3

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

РОССИЙСКИЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ CONTENT

✚ ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

Р. Реннебом

Было ли широко распространено неадекватное лечение тяжелых случаев Ковид-19? Мнение педиатра-ревматолога... 3

✚ ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

А. П. Трашков, Н. В. Цыган,

А. В. Рябцев, А. Г. Васильев,

Натрия-l-аргинина сукцинат повышает антиопухолевую активность цисплатина в модели мышины лимфолейкомы P388..... 14

Я. В. Ивашкевич, А. В. Тишков, Л. П. Чурилов,

Сравнение эффективности поликлинического лечения комбинированными и изолированными таблетированными препаратами у коморбидных пациентов с гипертонической болезнью 23

О. В. Соколова

Морфологическая характеристика и оценка метаболических повреждений ткани миокарда в случаях внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии 31

✚ ОБЗОРЫ

И. Д. Димов, Н. Р. Карелина, А. Д. Кашин,

М. А. Здорикова, Г. Н. Денисова, А. В. Зайцева

Механизмы транспорта липидов через энтероцит кишечной ворсинки 37

✚ ЛЕКЦИИ

Н. Р. Карелина, Т. И. Ким

Перинеология. Анатомия промежности. Мышцы и фасции (лекция) 45

Д. И. Василевский, С. Г. Баландов, К. А. Анисимова,

М. В. Завгородняя

Патогенез артериальной гипертензии (лекция) 60

✚ ИНФОРМАЦИЯ

Правила для авторов 64

✚ EDITORIAL

R. Rennebohm

Has undertreatment of severe Covid illness been widespread? A pediatric rheumatologist's perspective 3

✚ ORIGINAL PAPERS

A. P. Trashkov, N. V. Tsygan,

A. V. Ryabtsev, A. G. Vasiliev,

Sodium-l-arginine succinate enhances cisplatin anti-tumor activity in P388 lymphocytal leukemia model in mice 14

Y. V. Ivashkevich, A. V. Tishkov, L. P. Churilov,

Pill therapy in outpatients with complicated comorbid hypertensive disease: comparison of fixed combined versus isolated modes 23

O. V. Sokolova

Morphological characteristic and evaluation of metabolic damages of myocardial tissue in cases of sudden heart death from alcoholic cardiomyopathy 31

✚ REVIEWS

I. D. Dimov, N. R. Karelina, A. D. Kashin, M. A. Zdorikova,

G. N. Denisova, A. V. Zaitseva

Mechanisms of lipid transcytosis through small intestine enterocytes 37

✚ LECTURES

N. R. Karelina, T. I. Kim

Perineology. Anatomy of perineum. Muscles and fasciae (lecture) 45

D. I. Vasilevsky, S. G. Balandov, K. A. Anisimova,

M. V. Zavgorodnyaya

Pathogenesis of arterial hypertension (lecture) 60

✚ INFORMATION

Rules for authors 64

HAS UNDERTREATMENT OF SEVERE COVID ILLNESS BEEN WIDESPREAD? A PEDIATRIC RHEUMATOLOGIST'S PERSPECTIVE

© Robert Rennebohm

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

Contact Information: Robert Rennebohm — MD, Visiting Professor. Department of Hospital Pediatrics. E-mail: rmmennebohm@gmail.com

Abstract: This article addresses the possibility that undertreatment of patients with severe COVID illness has been widespread and has resulted in a high number of preventable COVID deaths. In most cases of COVID infection (perhaps as many as 98% of those infected) the immune system safely and efficiently neutralizes the virus, such that the patient is either asymptomatic or experiences only mild-moderate symptoms (which may be temporarily miserable, but not life-threatening or organ threatening and do not require hospitalization). A small percentage of patients with COVID experience severe illness, and in most of these cases the most threatening aspects of the illness appear to be due to an excessive immune reaction to the virus — hyperinflammation and “cytokine storm.” This hyperinflammatory state/cytokine storm is not new or unique to COVID infection. For years it has been known that life-threatening hyperinflammation and cytokine storm occur with many bacterial infections and with many other viral infections, including seasonal influenza infection. Over the past four decades, pediatric rheumatologists have developed extensive experience with excessive immune reactions (hyperinflammation/cytokine storm), including how to bring them under control. Much of this experience has come from managing systemic onset juvenile idiopathic arthritis that has become complicated by macrophage activation syndrome and “cytokine storm.” The pediatric rheumatology approach to hyperinflammatory states is characterized by: early, appropriately compulsive, anticipatory, serial monitoring; prompt and appropriately bold immunosuppression of hyperinflammation, carefully using corticosteroid and anti-cytokine therapies (e.g. anakinra); and careful, anticipatory, tailored adjustments along the way — always balancing concerns about risks versus benefits. In this article it is suggested that the pediatric rheumatology approach to control of hyperinflammatory states be applied to the management of severe COVID illness.

Key words: COVID-19, Hyperinflammation, Cytokine Storm, Corticosteroid, Anti-Cytokine Treatment

БЫЛО ЛИ ШИРОКО РАСПРОСТРАНЕНО НЕАДЕКВАТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ СЛУЧАЕВ КОВИД-19? МНЕНИЕ ПЕДИАТРА-РЕВМАТОЛОГА

© Роберт Реннебом

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Контактная информация: Роберт Реннебом — приглашенный профессор, кафедра госпитальной педиатрии. E-mail: rmmennebohm@gmail.com

Резюме: Настоящая статья поднимает вопрос о том, насколько широко распространено недостаточно адекватное лечение пациентов с тяжелым КОВИД-19, и не привело ли это к большому числу смертей от КОВИД, которых можно было бы избежать. В большинстве случаев КОВИД-инфекции (возможно, у 98% инфицированных) иммунная система благополучно эффективно нейтрализует вирус и, таким образом, у пациента или вовсе нет никаких симптомов, или присутствуют симптомы легкой или умеренной тяжести (которые достаточно неприятны, однако не угрожают жизни, нормальной работе органов и не требуют госпитализации). Небольшой процент пациентов с КОВИД-19 болеют тяжело, и в большинстве этих случаев наиболее угрожающий аспект болезни связан с избыточной иммунной реакцией на вирус — гипервоспалением и «цитокиновым штормом». Это гипервоспалительное состояние и цитокиновый шторм встречаются отнюдь не только при КОВИД-инфекции. Много лет известно, что жизнеугрожающее гипервоспаление и цитокиновый шторм имеют место при многих бактериальных инфекциях, а

также при многих вирусных инфекциях, включая сезонный грипп. За последние сорок лет педиатры-ревматологи накопили огромный опыт по проблеме избыточных иммунных реакций (гипервоспалению/цитокиновому шторму) и научились брать их под контроль. Большая часть этого опыта получена благодаря работам по лечению системного начала ювенильного идеопатического артрита, который осложняется синдромом активации макрофагов и «цитокиновым штормом». Педиатрически-ревматологический подход к гипервоспалительным состояниям должен быть: ранним, достаточно упорным, упреждающим, включать серийное мониторирующее, своевременную и достаточно агрессивную иммуносупрессию гипервоспаления, осторожное использование кортикостероидов и анти-цитокиновой терапии (например, анакинра); а также осторожный, опережающий индивидуальный подбор конкретных приемов «на ходу», постоянно имея в виду необходимость балансировать риски и преимущества. В настоящей статье делается предположение, что педиатрически-ревматологический подход к лечению гипервоспаления можно применить для того, чтобы справиться с тяжелыми случаями COVID-инфекции.

Ключевые слова: COVID-19, Гипервоспаление, цитокиновый шторм, кортикостероиды, анти-цитокиновая терапия

“Human experience, which is constantly contradicting theory, is the greatest test of Truth.”
Samuel Johnson

«Изначально противоречивый человеческий опыт — это величайший критерий Истины»
Сэмюэл Джонсон

MAIN TEXT

To what extent have patients with severe COVID illness been under-treated? This is an under-reported, under-investigated aspect of the COVID epidemic in the USA. The hypothesis of this article is that under-treatment of patients with severe COVID illness has been widespread and has resulted in a large number of COVID deaths that could have been prevented? Whether this hypothesis is true remains to be determined. It is a high priority hypothesis to test.

We are not talking here about patients who have not received hydroxychloroquine, azithromycin, zinc, or vitamin D. We are talking about patients with life-threatening and organ-threatening “cytokine storm” and other immune-mediated complications of COVID who may not have received prompt, needed, appropriately aggressive immunosuppressive/immunomodulatory treatment (e.g. corticosteroid and specific anti-cytokine therapies) for these well-known immune-mediated phenomena. As will be explained in this article, effective treatments for these phenomena have long been available (before COVID), but, apparently, have been offered to only a minority of patients with severe COVID illness — often received belatedly when offered.

Among the several questions that beg investigation and answers:

1. What percentage of the patients who have died of true COVID illness could have been saved if harmful immune-mediated aspects of their disease had been detected early and promptly treated with appropriately aggressive immunosuppression/immunomodulation?
2. What percentage of patients who have survived severe COVID illness, but sustained irreversible organ damage, could have been spared that damage, if harmful immune-mediated

aspects of their disease had been detected early and promptly treated with, appropriately aggressive immunosuppression/immunomodulation?

3. What percentage of the reported “COVID deaths” have truly been definite or probable COVID deaths? This question needs to be answered to accurately answer the first two.

BACKGROUND

In most cases of COVID infection (perhaps as many as 98% of those infected?) [1] the immune system safely and efficiently neutralizes the virus, such that permanent viral damage is prevented and the patient is either asymptomatic or experiences only mild-moderate symptoms (which may be temporarily miserable, but not life-threatening or organ threatening and do not require hospitalization). In these cases, the two main phases of immune reactivity work remarkably well together: First, the relatively primitive innate immune system (e.g. Type 1 interferon) quickly senses danger and creates an immediate local anti-viral milieu that thwarts viral replication — thereby diminishing the viral load. Secondly, the innate immune system (again, notably, Type 1 interferon) activates the more sophisticated adaptive immune system (e.g. B cells and T cells) which then produce viral-specific antibodies (first IgM, then IgG), activate cytotoxic T cells (which kill virus-infected cells in order to slow viral propagation to other cells), and create memory B and T cells for future protection against that virus (and, to a lesser extent, against similar viruses). In order for this sequential two-phase process to be safe, efficient, and successful, just the right amount of type 1 interferon needs to be promptly made available; just the right amount of activation of the adaptive immune system needs to occur; and the timing of these two processes needs to be just right. Too little (or too late) or too much Type 1 interferon can be harm-

ful; and too little (or too late) or too much of an adaptive immune response can be harmful. It is all about timing and balance — a careful, coordinated, timely balance.

A small percentage of patients with COVID experience severe illness, and in most of these cases the most threatening aspects of the illness are due to an excessive immune reaction to the virus [2–8]. It is possible that in some cases the type 1 interferon reaction is too slow or otherwise inadequate, such that the virus gets the upper hand and overwhelms the patient. But, most often the problem in patients with severe COVID illness is that their innate immune system, or their adaptive immune system, or both, have become excessively active. Instead of mounting an appropriate, timely, well-coordinated immune reaction, the immune system appears to panic and excessively activate much of its armamentarium — both the innate armamentarium and the adaptive armamentarium. Great imbalance, discoordination, dysfunction, and hyperactivity characterize this “hyperinflammatory state.” The immune system, for example, excessively activates macrophages (a powerful and explosive primitive component of our innate immunity); excessively releases an array of potentially harmful cytokines (resulting in a “cytokine storm”); may excessively activate cytotoxic T cells (which may be dysfunctional, as well); and excessively triggers complement and coagulation cascades. These activations feed-back on each other, accelerate each other, and create vicious cycles that further escalate and perpetuate the excessive immune reactions.

Quite soon, these excessive immune reactions start damaging human cells/tissues: for example, the endothelial cells that line the pulmonary microvasculature may become immunologically injured (my hypothesis) and swell, potentially partially occluding the lumen of these vessels, thereby reducing blood flow to the lung’s air sacs; the lung’s air sacs may become chemically and immunologically injured, inflamed, and potentially fibrosed; the storm of cytokines causes fever, clinical and laboratory signs of systemic inflammation, and immune-mediated injury to multiple organs; and activated coagulation cascades result in micro and macro thrombi, potentially throughout all vasculatures. All organs, including the brain, can be affected by these unfortunate immune-mediated phenomena. Respiratory failure, multi-organ failure, cardiac failure, strokes, and death often result, particularly if these excessive immune reactions are allowed to progress untreated or inadequately treated, as opposed to being detected early and promptly and adequately suppressed.

Indeed, the leading cause of life-threatening/organ threatening complications of COVID appears to be the above-mentioned cytokine storm/hyperinflammation [7]. Development of cytokine storm has appeared to be the major determinant of COVID outcome. Clinical and lab features of cytokine storm have correlated well with poor outcome in COVID [2–8]. Elevated cytokine levels (e.g. IL-6) have been found in most patients dying of COVID [7].

But, this hyperinflammatory state/cytokine storm is certainly not new or unique to COVID infection. For many years it has been known that life-threatening hyperinflammation/cytokine storm occurs with many bacterial infections and with many other viral infections, including seasonal influenza infection [9–17]. In fact,

usual seasonal influenza viruses are major triggers of cytokine storm [2]. In one study of patients who died of H1N1 influenza, 81% had features of cytokine storm [13].

THE PEDIATRIC RHEUMATOLOGY APPROACH TO HYPERINFLAMMATORY STATES (E.G. “CYTOKINE STORM”)

For many years, pediatric rheumatologists have known a great deal about these excessive immune reactions (hyperinflammation/cytokine storm) and how to bring them under control [18–39]. Their knowledge has been the result of extensive individual and collective experience and extensive collaborative international study, including thoughtful development of strict diagnostic and classification criteria and uniform treatment protocols [18, 19, 20, 26, 27] and randomized clinical trials [32–34]. Pediatric rheumatologists have led the way, because many childhood autoimmune diseases (e.g. systemic onset juvenile idiopathic arthritis) become complicated by excessive macrophage activation (macrophage activation syndrome) and “cytokine storm” [18–39].

Nearly 40 years ago, when I was a visiting pediatric rheumatologist at Beijing Children’s Hospital, I vividly remember discussing (with Beijing pediatricians) the excessive macrophage activation and massive cytokine release associated with systemic onset JIA and how to treat it (with high dose corticosteroid, at that time). The concept of excessive macrophage activation/excessive release of cytokines was very new at that time in the USA and Europe and was largely unknown in China. Since then, pediatric rheumatologists around the world have been routinely and successfully treating hyperinflammatory reactions (e.g. macrophage activation syndrome, “cytokine storm,” secondary HLH, and systemic inflammatory response syndrome) with corticosteroid and, more recently, with specific anti-cytokine treatments — either anti-IL-1 treatment (anakinra) or anti-IL-6 treatment (tocilizumab) [32–39]. These treatments have been life-saving and organ-saving, particularly when these hyperinflammatory reactions are recognized early, treated promptly with appropriately aggressive immunosuppression, and monitored compulsively with serial lab testing, with nuanced adjustments being made along the way.

An important lesson learned by pediatric rheumatologists is that if the clinician acts too slowly or too timidly, the patient loses. Early detection, prompt and appropriately bold immunosuppressive treatment, compulsive serial monitoring, and careful adjustments, have been the keys to success. Failure to detect early, failure to promptly treat appropriately aggressively, failure to compulsively monitor, and failure to make wise adjustments can, each by themselves, cause preventable mortality and damage. Personal experiences, collective clinical observations, carefully studied collaborative case series, and, ultimately, randomized clinical trials [32–34] have documented the value of the pediatric rheumatology approach to hyperinflammatory states associated with childhood rheumatic diseases — diseases which, by the way, are often much more explosively hyperinflammatory and life-threatening than their counterparts in adults.

This experience of pediatric rheumatologists has been applied to the recognition and treatment of cytokine storm/hyperinflamma-

tory states triggered by bacterial and viral infection, in adults and children [40–46]. Historically, for many years, Emergency Departments, hospitalists, and ICU pediatricians in children's hospitals have commonly consulted pediatric rheumatologists for help in recognizing and treating infection-triggered cytokine storm. Randomized controlled trials (RCT) of immunosuppressive treatment of infection-related hyperinflammation have been conducted [40–41]. In other words, for many years before COVID arrived on the scene, pediatricians and pediatric rheumatologists (and physicians for adults) had developed considerable experience with the diagnosis and treatment of infection-triggered cytokine storm/hyperinflammation. We learned to serially and anticipatorily test patients for elevated levels of CRP, serum ferritin, D-dimer, PT, PTT, triglycerides, and liver transaminases; and lowered levels of platelets, lymphocytes, albumin, and fibrinogen — early markers of an evolving hyperinflammatory state. And we learned to treat aggressively and promptly, but carefully, with corticosteroid and specific anti-cytokine therapies, such as anakinra — all the while worrying about administering immunosuppression in the context of infection, but not being paralyzed by that worry.

In the beginning, we did not have randomized clinical trials that proved that this treatment for infection-related hyperinflammation was effective, safe, and necessary. We quickly learned, though, that these children were likely to die or sustain irreversible multi-organ damage, if not treated aggressively with immunosuppressive medications. Knowing that these children were faced with a life-threatening and organ-threatening disease process, we (and the child's parents and grandparents) felt morally and ethically obligated to boldly treat these children, despite absence of randomized clinical trials. The alternative, watching them suffer and die, was obviously unacceptable. It seemed to be obviously unethical to withhold corticosteroid and anakinra treatment that had worked so well for hyperinflammatory states associated with childhood rheumatic diseases, simply because no randomized clinical trials had yet been conducted to prove the safety, efficacy, and necessity of such treatment in the context of infection-triggered hyperinflammation. Yes, of course, randomized double-blind, controlled trials would have been ideal, but they were unavailable and would take much time to complete. In the meantime it seemed unacceptable to withhold treatments that were likely to be effective, safe, and necessary.

Our careful boldness resulted in the eventual accumulation of increasingly justifying clinical evidence of the efficacy, safety, and necessity of such treatment — for both hyperinflammatory states associated with childhood rheumatic diseases and hyperinflammatory states associated with infection. Prior to onset of the COVID epidemic, ample ideal randomized controlled trials still had not been completed for treatment of viral-triggered hyperinflammatory states, but lessons from treatment of hyperinflammatory states associated with childhood rheumatic diseases had become well-established and were available for extremely valuable guidance. For several years now, such treatment has become the “standard of care” for cytokine storm/hyperinflammatory responses in children — both when it occurs in the context of a childhood rheumatic disease and in the context of infection. I will not speak for

all pediatric rheumatologists, but many of us, particularly those of us who have seen the sad outcomes of untreated and under-treated children, would not automatically withhold corticosteroid and anakinra from a child suffering from life-threatening viral-triggered cytokine storm/hyperinflammation, and, instead, just watch them suffer and die, un-treated, or only lamely treated, as if there was nothing more we could, or should do, or appropriately try.

Pediatric rheumatologists have also learned how to recognize and treat immune-mediated microvascular endotheliopathies (as occurs in juvenile dermatomyositis and in Susac syndrome) and other immune-mediated phenomena that damage our human cells/tissues/microvasculatures [47]. This is mentioned because it is possible that a proximal cause of the initial hypoxia in COVID is an immune-mediated, ischemia-producing, occlusive microvascular endotheliopathy within the pulmonary microvasculature — with subsequent, consequent ischemic injury to the alveoli (air sacs) [48–51]. If this hypothesis is true, the best treatment would be early, effective immunosuppression, not waiting until the damage has already been done and then putting the patient, fruitlessly and harmfully, on a ventilator.

So, if pediatric rheumatologists were taking care of severely ill COVID patients back in January and February of 2020, what would they have done? Again, I do not want to speak for all pediatric rheumatologists, but here is what many of us would have done:

In the case of each patient, we would have immediately started (early in the hospital course) to compulsively and serially document (via serial lab testing): the extent of the patient's initial viral load and whether it was subsequently increasing or decreasing, and how fast; and, the extent to which cytokine storm, microvascular endotheliopathy, and inappropriate coagulopathy were developing. If evidence of immune over-reactions (hyperinflammation/cytokine storm) were found, and if this hyperinflammation were deemed to be a greater threat than less-than-desirable viral eradication, we would have been quick to carefully, but boldly treat with immunosuppressive/immunomodulatory medications (e.g. corticosteroid and anakinra), while continuing to compulsively monitor the viral load and being prepared to augment viral eradication. This would have been our routine approach.

Yes, we would have worried about the possibility that treating a person with a viral infection with immunosuppressive treatments might adversely interfere with viral eradication and promote viral replication. But, we would have monitored for this and made necessary adjustments. We would have worried that under-treatment (or no treatment) of a viral-triggered immune over-reaction (e.g. cytokine storm/hyperinflammation) would lead to regrettable (and preventable) organ failure and death and represented a considerably greater threat than the virus becoming overwhelming. We would have suspected that in most patients with severe COVID illness the main problem is not the virus infection, itself, but the excessive immune reaction the virus had provoked in that particular patient. We would have concluded that failure to suppress that immune over-reaction would result in high likelihood of death or regrettable organ damage. We would have concluded that the potential benefits of treating such a patient with immunosuppres-

sive medications far outweighed the potential risks of adversely affecting viral eradication. We would have concluded that, for most patients with severe COVID illness, much greater harm is likely to occur without immunosuppressive treatment than with immunosuppressive treatment. We would have applied what we had individually and collectively learned (over the course of 40 years) by treating hyperinflammation/cytokine storm in children.

As mentioned earlier, to be careful, we would have serially and quantitatively tested the patient's viral load before and during any aggressive immunosuppressive treatment — to serially determine the viral load and whether immunosuppressive treatment was interfering with viral clearance to any clinically significant degree; to determine whether certain concomitantly administered anti-viral therapies (e.g. interferon, remdesivir, or convalescent plasma, given in combination with the immunosuppression) was wise and (if used) was providing additional benefits; and to make careful adjustments.

We would have placed great emphasis on the timing, tailoring, and adjustment of treatment; on knowing exactly where the patient stood and how matters were trending, regarding the extent of viral load and the extent of excessive inflammation; and on tailoring treatment to the changing specifics of the individual patient — always balancing concerns about benefits versus risks. Several possible patient characteristics/profiles would have been imagined when a given patient was admitted to the hospital:

1. In some patients the main problem might be hyperinflammation, with little or no problem with ongoing viral infection. That is, the patient's innate immune system (and subsequent adaptive immune system) had adequately subdued the viral infection, but an excessive immune reaction had become the main problem. At least, the threat posed by the hyperinflammation was greater than the threat posed by the viral load at the time. In such a patient, immunosuppression would be appropriate — greater immunosuppression if the viral infection had already been fully eradicated; lesser, more careful immunosuppression if viral eradication had been less complete.
2. In other patients (a minority, probably), inadequate eradication of the virus might be the main problem, without an excessive immune reaction being present. This would result in potentially overwhelming viral infection that needed immune help (interferon, and/or convalescent plasma) and anti-viral therapies (like remdesivir), not immunosuppression. One would want to be careful, however, if type 1 interferon is given (to boost viral eradication), lest it unwittingly create an excessive downstream immunologic reaction (hyperinflammation).
3. In other patients, the problem might be both an inability to eradicate the virus (resulting in varying degrees of worrisome ongoing viral infection) and an inability to control the immune reaction to the virus (resulting in varying degrees of a hyperinflammatory state). Such patients would benefit from both anti-viral therapies (e.g. remdesivir, interferon, and/or convalescent plasma) and immunosuppressive therapies — with the anti-viral therapies being given first, followed by immunosuppressive treatment as soon as it was deemed relatively safe. Serial monitoring would guide the making of adjustments along the way.

Timing, compulsive serial monitoring, tailoring, attention to trends, and prompt informed adjustments would have been of great importance: If a patient in a threatening hyperinflammatory state was found to have a viral load that had become low, or is waning, more aggressive immunosuppression could be promptly given. If a patient in a hyperinflammatory state was found to have a viral load that was still very high, less aggressive immunosuppression might be given, until the viral load lowers, and anti-viral therapies might be initiated, first, to accelerate viral eradication. Compulsive monitoring, compulsive caring, careful timing, tailoring, constant prompt adjustments, and nuanced clinical judgment are the keys.

To maximally learn from the COVID experience, pediatric rheumatologists, starting at the beginning of the epidemic, would have made certain that **all** patients with severe COVID illness were promptly placed on some sort of an appropriately aggressive protocol — consisting of immunosuppressive treatment for those with hyperinflammation, anti-viral treatments for those with poorly controlled viral infection, or both — so that various treatment approaches could ultimately (at least retrospectively) be compared for efficacy, safety, and necessity. For example, please see the Treatment Proposal provided at the end of this article (Addendum). Pediatric rheumatologists would have made certain that no patient with threatening cytokine storm/hyperinflammatory reaction was left untreated — i.e. not given at least some corticosteroid, as early as conditions (benefit/risk ratios) would permit.

Also, it goes without saying that one of the first things pediatric rheumatologists would have done at the start of the epidemic is establish strict, accurate, uniform criteria for what constitutes a “definite COVID death” vs a “probable COVID death” vs a “possible COVID death” vs a “death occurring in the context of either a positive COVID test or exposure to COVID, but not due to COVID.” This is a basic, fundamental principle of scientifically sound clinical research. These categories would not have been lumped together and all counted as “COVID deaths,” which is what has been done (by the Fauci Task force, the CDC, WHO, and Johns Hopkins) and is still being done, to the astonishment of careful scientists.

Furthermore, pediatric rheumatologists would have developed strict criteria to define gradations of the disease severity of patients upon entry to the hospital and ICU — including characterizing and stratifying (both initially and serially) patients according to the severity of their viral load and the severity of any hyperinflammatory reaction.

Finally, pediatric rheumatologists would have emphasized the importance of thorough patient and family education (and Public education), including detailed discussion of the pros and cons (benefits versus risks) of all treatment options. And, family concerns would be honored. Advocacy is an important component of comprehensive pediatric care.

THE APPROACH TAKEN BY THE FAUCI-LED COVID TASK FORCE

Since the beginning of the COVID epidemic in the USA (January-February 2020), have patients with severe COVID illness been approached and treated in the compulsive, caring, anticipatory, ap-

appropriately bold, tailored, and scientific way that many (most) pediatric rheumatologists would have treated them? It does not appear so.

In the beginning (or since), were strict, accurate, uniform criteria established to identify true COVID deaths? For example, has the Task Force made it abundantly clear what percentage of the reported 170,000 "COVID deaths" (as of this writing) have truly been due to COVID? No. They have lumped "definite," "probable," "possible," "conceivable-but-not likely," and "not at all likely, but there has been definite or possible COVID exposure" all together. That is not scientific or helpful.

In the beginning (or since), were strict, accurate, uniform criteria established to define gradations of disease severity and gradations of viral load and hyperinflammation (in each patient)? It appears not.

In the beginning (or since), were all patients immediately, anticipatorily, and serially evaluated for viral load and extent of immune hyperreactivity? It appears not.

In the beginning (or since), were **all** patients placed on one of several appropriate immunosuppressive/anti-viral treatment protocols, stratified according to severity and characteristics, to optimally treat and maximally learn from each and every clinical experience? Did patients and families receive adequate advocacy and education about options? Was the Public informed that treatments (like corticosteroid and anakinra) were available that, if used carefully, could likely save many patients with severe COVID illness. It appears not.

On the contrary, from the beginning, the NIH (the National Institutes of Health, both in the USA and other countries), the CDC, the WHO, the Infection Disease Society of America, and the Fauci-led COVID Task force specifically and strongly discouraged use of corticosteroid and anti-cytokine therapies for COVID [52–55]. Specifically, their guidelines stated that "corticosteroid therapy and specific anti-cytokine therapies are not recommended, unless as part of a clinical trial." Only a small percentage of patients have had realistic access to a clinical trial. Furthermore, this policy had the effect of making clinicians fearful of using these treatments — because if clinicians used them, they would be going against "accepted expert guidelines" and would, thereby, worry about being liable if a patient's outcome became poor (regardless of whether it was due to their treatment decisions).

During the early months of the COVID epidemic, clinical trials were rare, especially in non-academic medical centers. It took months before some clinical trials were started, and now (6–7 months later) there are many in progress (though not completed). To date, most patients with severe COVID have not had access to a clinical trial and have not been treated with corticosteroid or any anti-cytokine therapy. For example, in one of the most widely cited retrospective studies of treatment of severe COVID, only 7.7% of 1806 hospitalized patients had received corticosteroid, while 92.3% had not [56]. In that study, those who had elevated inflammatory markers and were treated with corticosteroid had a better outcome.

Apparently, throughout the bulk of the COVID epidemic, the majority of patients with COVID-related cytokine storm/hyperinflammatory reaction have not been treated with corticosteroid or

anti-cytokine therapy, and many of those who eventually received anti-cytokine treatment (e. g. tocilizumab, an anti-IL-6 therapy) as part of a clinical trial, received it after their cytokine storm/hyperinflammatory reaction was far advanced and had already caused severe damage — i.e. they were treated too late. It is unclear how many of the randomized clinical trials have paid adequate attention to issues of timing, stratification, tailoring, adjustment, and compulsive monitoring (of both viral load and extent of hyperinflammation).

The approach taken by the NIH, CDC, WHO, Infectious Disease Society of America, and the Fauci Task Force has seemed to ignore the extensive earlier-mentioned 40-year experience of pediatric rheumatologists. It has been as if that extensive and well-conducted body of medical knowledge and experience did not exist, or was irrelevant to treatment of COVID — neither of which is true. Instead, the Fauci Task Force and the conventional media have promoted the impression that "we have never seen anything like this before; this is all new; we are constantly being surprised; we must await the results of randomized clinical trials and a vaccine."

Have the eventual, belatedly-conducted clinical trials on immunosuppressive treatment of severe COVID illness supported the pediatric rheumatology approach described above? Yes [57–73]. Corticosteroid treatment and anti-cytokine therapies (anakinra and tocilizumab) have, belatedly (6–7 months too late for thousands of patients), been found to be beneficial, particularly when given in a timely, careful, tailored fashion — just as the many years of pediatric rheumatology experience would have predicted. Granted, the level of ferritin and cytokine elevation in severe COVID illness has, often, not been as dramatic as in other cytokine storm situations, but this does not mean that COVID-related hyperinflammation is not harmful and does not need to be treated with early and appropriately aggressive immunosuppression.

So, what are the answers to the three questions asked at the beginning of this article?

1. What percentage of the patients who have died of COVID could have been saved if they had received prompt, careful, timely, nuanced, appropriately aggressive immunosuppression/immunomodulation for the immune-mediated aspects of their disease, with or without initial anti-viral therapies? Unfortunately, this important question has not been systematically investigated, so we do not know. My educated guess, based on experience with treated versus untreated cytokine storm in pediatric rheumatology, is that perhaps as many as 80% of COVID deaths (particularly among patients younger than 80 years of age) could have been prevented if their cytokine storm and other immune-mediated aspects of their COVID had been detected early and promptly treated with appropriately aggressive immunosuppression/immunomodulation. That is my hypothesis. It will require, and it warrants, thorough investigation to see if it is true.
2. What percentage of patients who have survived severe COVID, but are now dealing with potentially irreversible organ damage could have been spared that damage, if the immune-mediated aspects of their disease had been detected early and treated carefully and promptly with appropriately aggressive immuno-

suppression/immunomodulation? Unfortunately, this important question has not been investigated, so we do not know? My educated guess is that possibly as much as 80% of this damage could have been prevented with early appropriate immunosuppressive/immunomodulatory treatment.

3. What percentage of the 170,000 reported "COVID deaths" have truly been definite or probable COVID deaths? Unfortunately, this important question has not been adequately investigated, so we do not know? Unfortunately, the Fauci-led Task force did not promptly or adequately establish the criteria necessary to answer this question — and still has not. We do not even know how many of the "positive COVID tests" are accurate, because many of these lab tests have been developed by for-profit lab companies and rushed into use without proper quality control. My guess is that the true number of definite or probable COVID deaths is probably around 60,000 and that the other 110,000 "COVID deaths" havenot truly been due to COVID. Whether this guess is true will require and warrant thorough re-examination of all 170,000 "COVID deaths." Such re-examination is imperative and must be done promptly.

If there have truly been only about 60,000 true COVID deaths and 80% of these deaths could have been prevented by a pediatric rheumatologist's approach to care, this would mean that 12,000 COVID deaths would have occurred in the USA — not 170,000. This is in comparison to an average of 41,000 deaths from seasonal influenza in a typical year in the USA and 61,000 seasonal influenza flu deaths during 2017–18, in the USA, according to the CDC [74]. (The possibility that severe influenza illness has also been undertreated, historically, also needs to be evaluated.)

For further perspective, the CDC reported that, during the 2017–18 seasonal influenza epidemic, in the USA, 11 million children developed symptomatic influenza infection and 643 children died. In contrast, during the current much longer COVID epidemic, in the USA, 442,785 cases of COVID positivity have been reported in children, and 92 children have died from (or with) COVID (as of 8/20/20) [75]. Despite this contrast, most people in the USA do not even remember the 2017–18 seasonal flu epidemic, while the COVID epidemic has provoked a prolonged and dreadfully harmful global lockdown. Why did 11 million children with symptomatic influenza illness, including 643 deaths, not provoke a memorable response; while 442,785 childhood COVID cases and 92 deaths has provoked an extreme response that will be among the most memorable events in Human history? The number of children suffering from influenza illness in 2017–18 was more than 20 times the number of children who have been COVID positive in 2020, and the number of children who died from influenza in 2017–18 is more than 6 times the number of children who have died from/with COVID. And, yet, this COVID epidemic is being portrayed as the worst, most lethal epidemic since the 1918 influenza pandemic, and we are all being asked (soon forced?) to view ourselves and others as if we might be carriers of a virus as lethal as smallpox — despite the fact that the infection fatality rate (IFR) for smallpox is 1 in 3, while the IFR of COVID appears to be somewhere between 1 in 5000–10,000, amongst people under age 60 [76–77]. Why?

Incidentally, the most likely reason for the incidence of COVID illness in children being so much less than the incidence of childhood influenza in 2017–18 is that frequent and repeated past childhood exposure to the 4 common coronaviruses has probably conferred children with considerable cross-reactive immunity to COVID (either antibody mediated, memory T-cell mediated, or both). The same could be said about children's teachers, children's parents, and all those in the general population who have had considerable exposure to ordinary coronaviruses. This also is the probable reason for such a high percentage (41%) of COVID positive people being asymptomatic — because they have partial cross-reactive immunity. This, in turn, argues against the initial claims that the novel COVID virus was "so new" that people would have "no immunity to it" and would be quite defenseless against it. It also argues against the initial claim that COVID is extraordinarily contagious — because widespread partial immunity would be expected to at least partially reduce the spread of infection. In short, the above observations argue against the claim that the COVID virus is extraordinarily novel, extraordinarily lethal, and extraordinarily contagious.

Although the above questions and issues remain to be more completely investigated and definitively answered, my concern, as a pediatric rheumatologist, a scientist, and a caring human being, is the very real possibility that massive, widespread undertreatment of severe COVID illness has occurred throughout most of the US health care system, since January 2020 — starting from the top, down (the Fauci-led COVID Task Force, the NIH, the CDC, the Infectious Disease Association of America, and the WHO). If such practice has, indeed, occurred, those responsible must be held accountable and we must never make such a huge mistake again.

I would like to close by emphasizing the conclusion stated in the next paragraph, about the COVID situation in general. This conclusion is more fully explained in a companion article recently published in a peer-reviewed pediatrics journal [77]. That conclusion:

COVID is a serious, potentially life-threatening viral infection, primarily in the elderly and frail, and is quite communicable; BUT, patients with severe COVID illness can be treated far more successfully than has been realized to date. Overall, there is insufficient scientific evidence to conclude that COVID represents a threat that is "far greater" than the worst seasonal flu epidemics we have experienced over the past 10 years (e.g. the 2017–18 seasonal flu). Instead, the most scientifically sound data suggest that the intrinsic deadliness of the COVID virus is comparable to that of the 2017–18 seasonal flu, possibly even less severe. Furthermore, many COVID deaths (and non-COVID deaths associated with this epidemic) could have been prevented by correcting the intrinsic deadliness of the health care system, nursing home model, general housing model, economic system, social system, and culture. Finally, the prolonged lockdown/re-lockdown approach appears to be mis-guided, unnecessary, and extremely harmful. It is dehumanizing and is not "following the science (i.e. good science)." The Swedish approach has been far more scientific, far more responsible, and far more humane. The en-

tire approach to the COVID epidemic in the USA needs thorough, honest, and immediate re-examination — preferably by a new, independent commission of unbiased, impeccably scientific, altruistic individuals (including virologists, epidemiologists, immunologists, rheumatologists, pediatricians, public health specialists, statisticians, nurses, and hospital administrators, as well as social philosophers, economists, political scientists, patients, and community representatives).

APPENDIX

Treatment Proposal for Severe COVID Illness:

This proposal begins with the understanding that patients with severe COVID illness may be severely ill because of one or more of the following reasons:

- Unusual difficulty eradicating the COVID virus:
- Sluggishly produced, or dysfunctional type 1 interferon.
- Sluggishly activated, or dysfunctional NK T-cells (Natural Killer T-cells).
- An unusually large viral load in the first place.
- Unusually low level of cross-reactive coronavirus antibodies or memory T-Cells (that are often provided by past exposure to ordinary non-COVID coronaviruses).
- Combinations of the above.
- Excessive immunologic reactions to the COVID virus — e.g. hyperinflammation/cytokine storm.
- A combination of unusual difficulty eradicating the COVID virus AND excessive immunologic reactions to the COVID virus.
- In addition, illness in some patients is complicated by microvascular and macrovascular thrombosis, triggered by the hyperinflammation/cytokine storm.

This proposal encourages an understanding that, statistically, most patients who become severely ill with COVID primarily do so because of hyperinflammation/cytokine storm, and they may or may not also be dealing with a worrisome, ongoing viral load.

A principle of this proposal is that it is incumbent upon the physician to thoroughly study the patient — both upon entry to the hospital and serially thereafter — to document which of the above factors are responsible for the patient's severe illness. For example, serial testing of viral load and serial testing for evidence of hyperinflammation/cytokine storm are essential aspects of excellent care.

Options for suppression of viral replication (augmentation of viral eradication):

- Remdesivir (possibly in combination with other anti-viral medications) — to interfere with viral replication [67].
- Interferon alpha 2b (possibly in combination with anti-viral medications) — to induce an anti-viral state and further inhibit viral replication [67–69].
- Convalescent plasma (possibly in combination with anti-viral medications and interferon alpha 2b) — to immediately provide high levels of antibody against the COVID virus.
- Specific monoclonal neutralizing antibody(ies) against the COVID-19 virus [78].

- IVIG [65, 70] — to possibly block attachment of virus to receptors on human cells (?); to possibly provide cross-reactive anti-coronavirus antibodies; [70] and to also help subdue an excessive immune response to the virus (which possibly includes an immune-mediated occlusive microvascular endotheliopathy in the pulmonary microvasculature) [47–51].

Options for suppression of COVID-induced “cytokine storm”/hyperinflammation:

- Corticosteroid (e.g. dexamethasone, methylprednisolone) — to comprehensively subdue immune over-reactivity [60, 71].
- IV Anakinra — to selectively block IL-1 and, thereby, shut down “cytokine storm” [40, 61–64, 66, 72].
- Tocilizumab, an anti-IL-6 agent, would be an alternative to anakinra, but anakinra provides more flexibility and has a better safety profile [57–59, 73].

Options for prevention/treatment of abnormal microvascular and macrovascular coagulation:

- Heparinization [48].

The principle of this proposal is that treatment should be tailored and adjusted to the specific (often changing) characteristics of the individual patient. If the primary threat to the patient is hyperinflammation/cytokine storm, immunosuppressive treatment is the most urgent and the most important consideration. If excessive ongoing viral infection is the primary problem/threat, augmentation of viral eradication is the most urgent and important. If both problems are equally responsible/present, both need to be equally addressed, and done so in the most careful, timely, and sequenced fashion. If the primary problem is hyperinflammation/cytokine storm and there is little or no problem with ongoing viral infection, then immunosuppression can be provided more quickly, aggressively, and safely than if worrisome ongoing viral infection is also present. Furthermore, serial monitoring may reveal changes in status that permit or require nuanced adjustments.

Another principle of this proposal is that it is amenable to both tailored treatment and randomized treatment — i.e. parts of the treatment could be tailored to the specific characteristics of the patient, while other parts randomized for research purposes. For example, if a patient's primary problem is hyperinflammation/cytokine storm and that patient, at that time, has little or no problem with ongoing viral infection, then that patient could be randomized to receive either:

- High dose corticosteroid (IV pulses of mega-doses of methylprednisolone, which works faster and better than lower doses), alone
- Lower dose corticosteroid, alone
- Anakinra (or, alternatively, tocilizumab), alone
- Combinations of the above
- And, there would also be an option to randomize to also receive one or more of the treatments that would augment viral eradication.

A point of emphasis is that every patient, since the beginning of this epidemic, has deserved access to an approach like that described above. This pediatric rheumatology approach is not just some ideal, pie-in-the-sky approach that is “not possible in the

real world.” The above immunosuppressive approach has been practiced for decades by pediatric rheumatologists. Pediatric rheumatologists have found this approach to not only be realistic, but to be necessary, if the goal is to save the patient.

Some further comments:

There seems to be some confusion regarding what Hippocrates meant when he said, “Do no harm.” One aspect of this admonition is to avoid causing harm by the treatments/interventions you implement. But, another aspect is to avoid causing harm by your unwillingness to use a treatment/intervention that, yes, has risks, but can be life-saving or otherwise reduce suffering/damage. One aspect is “harm from actions taken;” the other is “harm from actions not taken.” Some physicians seem to think that if harm occurs because of their actions, it is their fault; but, if harm occurs because of their inaction, it is the disease’s fault. In my view, undertreatment of severe COVID illness results in “harm from actions not taken” and is the fault of the physician and/or the health care system, not just the disease.

It is also important to point out that randomized controlled trials (RCTs), though truly ideal, do not always represent the highest quality of evidence and data. It depends on the quality of the RCT. The assumption is that evidence from RCTs is always superior to carefully developed individual and collective experience. But, it should be realized that most RCTs are multi-center studies funded by private, for-profit pharmaceutical companies; not all studies are superbly designed; the physician-participants in RCTs are often enrolling patients and completing data record forms in a rushed fashion; and the final conclusions are typically drawn by a statistician who is being paid by the pharmaceutical company. It is a naïve assumption to believe that the data/evidence produced by all RCTs is always superior to the conclusions of thoughtful, careful, experienced, altruistically-motivated clinicians. Sometimes, carefully studied human experience contradicts the prevailing narrative (including the results of some RCTs) and is the better test of Truth.

Finally, it is important for the Public, particularly future patients, to know whether undertreatment of severe COVID illness occurs and has been widespread. (Hence, this article.) At the very least, for future patients, it is important that the pediatric rheumatology approach discussed in this article be considered for widespread implementation. If we want to save lives, perhaps the pediatric rheumatology approach should become the “standard of care,” or at least be considered for such.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Gieseke J. The Invisible Pandemic. *The Lancet*. Published online May 5, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31035-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31035-7).
- Henderson L.A., Canna S.W., Schulert G.S. et al. On the alert for cytokine storm: immunopathology in COVID-19. *Arthritis Rheumatol* 2020; published online April 15. DOI:10.1002/art.41285.
- Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa248.
- Wang W., He J., Lie P., Huang I., Wu S. et al. The definition and risks of cytokine release syndrome-like in 11 COVID19-infected pneumonia critically ill patients: disease characteristics and retrospective analysis. *MedRxiv* 2020. DOI: 10.1101/2020.02.26.20026989.
- Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* 2020; 395: 1033–4.
- Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*. 2017; 39(5): 529–39. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x.
- Shareef K.A. et al. Cytokine Blood Filtration Responses in COVID-19. *Blood Purification*. Published online: May 28, 2020.
- Cron R.Q., Chatham W.W. The rheumatologist’s role in COVID-19. *J Rheumatol*. 2020; 47: 639–42.
- Karakike E., Giamarellos-Bourboulis E.J. Macrophage activation-like syndrome: a distinct entity leading to early death in sepsis. *Front Immunol*. 2019; 10: 55.
- Rivière S., Galicier L., Coppo P. et al. Reactive hemophagocytic syndrome in adults: a retrospective analysis of 162 patients. *Am J Med*. 2014; 127: 1118–25.
- Kyriazopoulou E., Leventogiannis K., Norrby-Teglund A. et al. Macrophage activation-like syndrome: an immunological entity associated with rapid progression to death in sepsis. *BMC Med*. 2017; 15: 172.
- Kumar B., Aleem S., Saleh H., Petts J., Ballas Z.K. A personalized diagnostic and treatment approach for macrophage activation syndrome and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *J Clin Immunol*. 2017; 37: 638–43.
- Schulert G.S., Zhang M., Fall N., Husami A., Kissell D., Hanosh A. et al. Whole-exome sequencing reveals mutations in genes linked to hemophagocytic lymphohistiocytosis and macrophage activation syndrome in fatal cases of H1N1 influenza. *J Infect Dis*. 2016; 213: 1180–8.
- Zhao C., Qi X., Ding M., Sun X., Zhou Z., Zhang S., Zen K., Li X. Pro-inflammatory cytokine dysregulation is associated with novel avian influenza A (H7N9) virus in primary human macrophages. *J Gen Virol*. 2016; 97: 299–305.
- Kim K.S., Jung H., Shin I.K., Choi B.R., Kim D.H. Induction of interleukin-1 beta (IL1β) is a critical component of lung inflammation during influenza A (H1N1) virus infection. *J Med Virol*. 2015; 87: 1104–12.
- Chiaretti A., Pulitanò S., Barone G., Ferrara P., Romano V., Capozzi D., Riccardi R. IL-1β and IL-6 upregulation in children with H1N1 influenza virus infection. *Mediat Inflamm*. 2013; Article ID 495848:8.
- Keshavarz K. Association of polymorphisms in inflammatory cytokines encoding genes with severe cases of influenza A/H1N1 and B in an Iranian population. *Virology Journal*. 2019; 16:79.
- Ravelli A. et al; for the Paediatric Rheumatology International Trials Organisation, Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance, Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group, and the Histiocyte Society. 2016 Classification Criteria for Macrophage Activation Syndrome Complicating Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis: A European League Against Rheumatism. *American College of Rheumatology. Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. Ann Rheum Dis*. 2016; 75(3): 481–9. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-208982.PMID: 26865703

19. Minoia F. et al; for the Pediatric Rheumatology International Trials Organization; Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group; Histiocyte Society. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66(11): 3160–9. DOI: 10.1002/art.38802.PMID: 25077692
20. Boom et al. Evidence-based diagnosis and treatment of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology.* 2015; 13: 55.
21. Stephan J.L., Kone-Paut I., Galambrun C., Mouy R., Bader-Meunier B., Prieur A.M. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology (Oxford).* 2001; 40: 1285–92.
22. Lin C.I., Yu H.H., Lee J.H., Wang L.C., Lin Y.T., Yang Y.H. et al. Clinical analysis of macrophage activation syndrome in pediatric patients with autoimmune diseases. *Clin Rheumatol.* 2012; 31: 1223–30.
23. Ravelli A., Magni-Manzoni S., Pistorio A., Besana C., Foti T., Ruperto N. et al. Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Pediatr.* 2005; 146: 598–604.
24. Sawhney S., Woo P., Murray K.J. Macrophage activation syndrome: a potentially fatal complication of rheumatic disorders. *Arch Dis Child.* 2001; 85: 421–6.
25. Singh S., Chandrakasan S., Ahluwalia J., Suri D., Rawat A., Ahmed N. et al. Macrophage activation syndrome in children with systemic onset juvenile idiopathic arthritis: clinical experience from northwest India. *Rheumatol Int.* 2012; 32: 881–6.
26. Minoia F., Davi S., Horne A., Demirkaya E., Bovis F., Li C. et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66: 3160–9.
27. Ravelli A., Minoia F., Davi S., Horne A., Bovis F., Pistorio A., Arico M., Avcin T., Behrens E.M., de BF et al. Development and initial validation of classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015. DOI: 10.1002/art.39332. [Epub ahead of print]
28. Crayne C.B. et al. The Immunology of Macrophage Activation Syndrome. *Front Immunol.* 2019; 10: 119. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00119. eCollection 2019.PMID: 30774631
29. Ravelli A. et al. Macrophage Activation Syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015; 29(5): 927–41. DOI: 10.1016/j.hoc.2015.06.010. Epub 2015 Aug 25.PMID: 26461152 Review.
30. Cron R.Q. et al. Clinical features and correct diagnosis of macrophage activation syndrome. *Expert Rev Clin Immunol.* 2015; 11(9): 1043–53. DOI: 10.1586/1744666X.2015.1058159. Epub 2015 Jun 16.PMID: 26082353 Review.
31. Yasin S., Schulert G.S. Systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome: update on pathogenesis and treatment. *Curr Opin Rheumatol.* 2018; 30(5): 514–20.
32. Quartier P. et al. A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial with the interleukin-1 receptor antagonist anakinra in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70: 747–54. [PubMed: 21173013]
33. Ruperto N. et al. Two randomized trials of canakinumabin systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2396–2406. [PubMed: 23252526]
34. De Benedetti F. et al. Randomized trial of tocilizumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2385–95. [PubMed: 23252525]
35. Miettinen P.M. et al. Successful treatment of severe paediatric rheumatic disease-associated macrophage activation syndrome with interleukin-1 inhibition following conventional immunosuppressive therapy: case series with 12 patients. *Rheumatology (Oxford).* 2011.
36. Durand M., Troyanov Y., Laflamme P., Gregoire G. Macrophage activation syndrome treated with anakinra. *J Rheumatol.* 2010; 37: 879–80. [PubMed: 20360206]
37. Bruck N., Suttrop M., Kabus M., Heubner G., Gahr M., Pessler F. Rapid and sustained remission of systemic juvenile idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome through treatment with anakinra and corticosteroids. *J Clin Rheumatol.* 2011; 17: 23–7. [PubMed: 21169853].
38. Schulert G.S. et al. Effect of Biologic Therapy on Clinical and Laboratory Features of Macrophage Activation Syndrome Associated With Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2018; 70(3): 409–19. DOI: 10.1002/acr.23277. Epub 2018 Jan 30. PMID: 2849932950:417–419. [PubMed: 20693540].
39. Elooseily E.M. et al. Benefit of Anakinra in Treating Pediatric Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Arthritis Rheumatol.* 2020; 72(2): 326–34. DOI: 10.1002/art.41103. Epub 2019 Dec 26.PMID: 31513353.
40. Shakoory B., Carcillo J.A., Chatham W.W. et al. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of macrophage activation syndrome: reanalysis of a prior phase iii trial. *Crit Care Med.* 2016; 44: 275–81.
41. Opal S.M., Fisher C.J., Jr., Dhainaut J.F., Vincent J.L., Brase R. et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Critical Care Medicine.* 1997; 25(7): 1115–24.
42. Carcillo J.A., Simon D.W., Podd B.S. How we manage hyperferritemic sepsis-related multiple organ dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome/secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Crit Care Med.* 2015; 16: 598–600.
43. Halyabar O., Chang M.H., Schoettler M.L., Schwartz M.A., Baris E.H., Benson L.A. et al. Calm in the midst of cytokine storm: a collaborative approach to the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis and macrophage activation syndrome. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2019; 17: 7.
44. Rajasekaran S. et al. Therapeutic role of anakinra, an interleukin-1 receptor antagonist, in the management of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis/sepsis/multiple organ dysfunction/macrophage activating syndrome in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med.* 2014; 15(5): 401–8.
45. Sönmez H.E. et al. Anakinra treatment in macrophage activation syndrome: a single center experience and systemic review of literature. *Clin Rheumatol.* 2018; 37(12): 3329–35.
46. Grom A.A. et al. Macrophage activation syndrome in the era of biologic therapy. *Nat Rev Rheumatol.* 2016; 12(5): 259–68.

47. Agamanolis D.P., Prayson R.A., Asdaghi N. et al. Brain microvascular pathology in Susac syndrome: an electron microscopic study of five cases. *Ultrastructural Pathology*. 2019; 43(6): 229–36.
48. Becker R.C. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. May 15, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02134-3> (accessed on 5.23.2020).
49. Ackermann M. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *NEJM*. 2020.
50. Hui Zeng. Human Pulmonary Microvascular Endothelial Cells Support Productive Replication of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses: Possible Involvement in the Pathogenesis of Human H5N1 Virus Infection. *Journal of Virology*. 2011: 667–78.
51. Tian Sufang. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Modern Pathology*. 2020. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41379-020-0536-x> (accessed on 4.1.2020).
52. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus disease (2019). Interim clinical guidance for management of patients with confirmed coronavirus disease (COVID-19). March 2020. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html#clinical-management-treatment%3C>.
53. Bhimraj A. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020.
54. Nicastri E. National Institute for the Infectious Diseases “L. Spallanzani”, IRCCS. Recommendations for COVID-19 clinical management. *Infectious Disease Reports*. 2020; 12: 8543.
55. [Covid19treatmentguidelines.nih.gov](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html#clinical-management-treatment%3C)
56. Keller M.J. et al. Effects of systemic corticosteroid on mortality or mechanical ventilation in patients with COVID-19. *J of Hospital medicine*. Published July 22, 2020. DOI:10.12788/jhm.3497.
57. Chinese Clinical Trial Registry. A multicenter, randomized controlled trial for the efficacy and safety of tocilizumab in the treatment of new coronavirus pneumonia (COVID-19). Feb 13, 2020. <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=49409> (accessed March 6, 2020). DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0. Epub 2020 Mar 16.
58. McGonagle D., Sharif K., O'Regan A., Bridgewood C. Interleukin-6 use in COVID-19 pneumonia related macrophage activation syndrome. *Autoimmunity Reviews* 2020: 102537. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102537
59. Toniati P., Piva S., Cattalini M. et al. Tocilizumab for the treatment of severe COVID-19 pneumonia with hyperinflammatory syndrome and acute respiratory failure: a single center study of 100 patients in Brescia, Italy. *Autoimmun Rev* 2020; published online May 3. DOI:10.1016/j.autrev.2020.102568.
60. Zhou W., Liu Y., Tian D., Wang C., Wang S. et al. Potential benefits of precise corticosteroids therapy for severe 2019-nCoV pneumonia. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020; 5: 18. DOI: 10.1038/s41392-020-0127-9.
61. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C. et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020; 2: e325–31.
62. Huet T., Beaussier H., Voisin O. et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020; 2: e393–400.
63. Aouba A., Baldolli A., Geffray L. et al. Targeting the inflammatory cascade with anakinra in moderate to severe COVID-19 pneumonia: case series. *Ann Rheum Dis* 2020; published online May 6. DOI:10.1136/annrheumdis-2020-217706.
64. Pontali E., Volpi S., Antonucci G. et al. Safety and efficacy of early high-dose IV anakinra in severe COVID-19 lung disease. *J Allergy Clin Immunol* 2020; published online May 11. DOI:10.1016%2Fj.jaci.2020.05.002.
65. Cao W., Liu X., Bai T., Fan H., Hong K. et al. High-dose intravenous immunoglobulin as a therapeutic option for deteriorating patients with coronavirus disease 2019. *Open Forum Infectious Diseases*. 2020; 7 (3): ofaa102. DOI: 10.1093/ofid/ofaa102
66. Conti P., Gallenga C.E., Tete G., Caraffa A., Ronconi G. et al. How to reduce the likelihood of coronavirus-19 (CoV-19 or SARS-CoV-2) infection and lung inflammation mediated by IL-1. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2020; 34(2). DOI: 10.23812/Editorial-Conti-2
67. Hung I.F. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir — ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2020; May 10.
68. Nile S.H., Nile A., Qiu J. et al. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020; May 7.
69. Shalhoub S. Interferon beta-1b for COVID-19. *Lancet*. 2020; May 10.
70. Díez J.M., Romero C., Gajardo R. Currently available intravenous immunoglobulin contains antibodies reacting against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antigens. *Immunotherapy*. 2020; May 13.
71. Goursaud S. Corticosteroid use in selected patients with severe Acute Respiratory Distress Syndrome related to Covid-19. *J Infect*. 2020; May 14.
72. Wolhfarth P., Agis H., Gualdoni G.A. et al. (2019). Interleukin 1 receptor antagonist anakinra, intravenous immunoglobulin, and corticosteroids in the management of critically ill adult patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Intens Care Med*. 2019; 34: 723–31.
73. Capra R. Impact of low dose tocilizumab on mortality rate in patients with COVID-19 related pneumonia. *Eur J Intern Med*. 2020; May 13.
74. CDC; 2020. CDC Estimated Influenza Illnesses, Medical visits, Hospitalizations, and Deaths in the United States — 2017–2018 influenza season. Available at: <https://www.cdc.gov/flu/about/burden/2017-2018.htm> (accessed on 5.23.2020)
75. American Academy of Pediatrics: Children and COVID-19: State-level Data Report. <https://services.aap.org/en/pages/2019-novel-coronavirus-covid-19-infections/children-and-covid-19-state-level-data-report/>
76. Ioannidis J. The infection fatality rate of COVID-19 inferred from seroprevalence data. medRxiv preprint doi, Available at: <https://doi.org/10.1101/2020.05.13.20101253doi> (accessed on 5.21.2020).
77. Rennebohm R.M. Analysis of the COVID-19 epidemic: an additional narrative; an alternative response. *Pediatrician* (St. Petersburg). 2020; 11(3): 23–40. <https://doi.org/10.17816/PED11323-40>.
78. Chen P., Nirula A., Heller B. et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *NEJM*. 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2029849>.

SODIUM-L-ARGININE SUCCINATE ENHANCES CISPLATIN ANTI-TUMOR ACTIVITY IN P388 LYMPHOCYTAL LEUKEMIA MODEL IN MICE

© Alexander P. Trashkov^{1,2}, Nikolay V. Tsygan^{1,2}, Aleksandr V. Ryabtsev², Andrew G. Vasiliev^{1,2,3}

¹National Research Center «Kurchatov Institute», Russia. 123098, Moscow, pl. Academician Kurchatov, 1

²Petersburg Institute of Nuclear Physics B.P. Konstantinov, National Research Center «Kurchatov Institute», Russia. 188300, Leningrad region, Gatchina, Orlova Roscha, 1

³ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

Contact Information: Alexander P. Trashkov — Candidate of Medical Sciences, Head of the Center for Preclinical and Clinical Research. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com

Abstract: Low effectiveness of antitumor therapy is one of basic problems in oncology. Besides searching for novel antitumor medicines there is another important vector of this trend for the treatment of oncologic patients namely intensification of existing medicines' effectiveness without changing their safety profile. One of possible approaches to this goal is combining cytostatics with angioprotecting medicines — nitric oxide donors. The present study focuses at plausible change of Cisplatin effectiveness and safety profile on the background of nitric oxide donor — Sodium-L-Arginine Succinate administration. Murine P388 Lymphocytal Leukemia was used as oncogenesis model. The study involved 6 month old male CDF₁ mice (BALB/C female × DBA/2 male). Cisplatin was used as anti-tumor medicine, it was administered once 48 hours after tumor transplantation 8 mg/kg. The animal groups involved with maintaining therapy in addition to cytostatic one also got 12.5 ml/kg of Sodium-L-Arginine Succinate (NAS) solution. The results of the study point out at statistically significant increase of Cisplatin antitumor activity in case of combination with NAS: extended tumor development latent period and lifespan of tumor-carriers. The toxic effect of cytostatic therapy upon vascular endothelium proved to be evened-out by NAS: nitric oxide synthesis increased parallel to endothelin-1 production decrease. The study gives grounds to consider NAS a promising participant in combination with Platinum-containing antitumor drugs in prophylaxis and treatment of their toxic effects upon circulatory system and possibly also as a medicine boosting their effectiveness without increasing negative side-effects' rate.

Key words: Cisplatin, nitric oxide, arginine, vasodilation, P-388 leukemia, Sodium-L-arginine succinate

НАТРИЯ-L-АРГИНИНА СУКЦИНАТ ПОВЫШАЕТ АНТИОПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА В МОДЕЛИ МЫШИНОЙ ЛИМФОЛЕЙКОМЫ P388

©Александр Петрович Трашков^{1,2}, Николай Васильевич Цыган^{1,2}, Александр Владимирович Рябцев², Андрей Глебович Васильев^{1,2,3}

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», Россия. 123098, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

²Петербургский Институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский Институт», Россия. 188300, Ленобласть, Гатчина, Орлова Роща, 1

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Контактная информация: Александр Петрович Трашков — к.м.н., заведующий центром доклинических и клинических исследований. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com

Резюме: Низкая эффективность антиопухолевой терапии — одна из основных проблем в онкологии. Наряду с поиском новых антиопухолевых лекарств имеется еще один важный вектор этого направления, а именно поиск средств для повышения эффективности уже существующих антиопухолевых препаратов без изменения их

профиля безопасности. Один из возможных подходов для достижения этой цели — комбинация цитостатиков и ангиопротекторов, — доноров оксида азота. Настоящее исследование нацелено на возможность изменения эффективности и профиля безопасности цисплатина на фоне донора оксида азота, натрия-L-аргинина сукцината. В качестве модели опухолевой патологии использовали мышиную лимфолейкому P388. В исследовании использовали 6-месячных мышей-самцов CDF₁ (BALB/C female × DBA/2 male). В качестве антиопухолевого препарата выступал Цисплатин; его вводили однократно в дозе 8 мг/кг через 48 часов после трансплантации опухоли. Основные подопытные группы животных в дополнение к цитостатику также получали 12.5 мл/кг раствора Натрия-L-аргинина сукцината (НАС). Результаты исследования указывают на статистически достоверное увеличение антиопухолевого эффекта Цисплатина в случае комбинации с НАС: зарегистрировано удлинение латентного периода развития опухоли и увеличение продолжительности жизни животных опухоленосителей. НАС уменьшал токсическое действие цитотоксической терапии на сосудистый эндотелий: параллельно с уменьшением продукции эндотелина-1 увеличивался синтез оксида азота. Исследование дает основание для того, чтобы рассматривать НАС в качестве многообещающего участника в комбинации с платина-содержащими лекарствами для профилактики и лечения их токсических эффектов на сосудистую систему, а возможно, также в качестве усилителей их эффективности без повышения величины отрицательных побочных эффектов.

Ключевые слова: Цисплатин, оксид азота, аргинин, вазодилатация, лейкома P-388, Натрия-L-аргинина сукцинат

INTRODUCTION

Dozens of new anti-tumor agents and treatment routines appear every year in the world. The leading chemotherapy trend is concerned with increased specificity of its influence upon tumor cells and associated stromal elements side by side with minimization of systemic effects upon various organs and tissues that are not directly involved in the pathologic process. However various complications of chemotherapy are still considered to be a wide-spread phenomenon in clinical practice responsible for strict limitations of treatment tactics and worsening the disease prognosis.

Circulatory lesions namely endothelial dysfunctions constitute a considerable part of anti-tumor-therapy complications [1,2,3]. Taking into consideration the role of blood vessels in all physiological and pathological processes elaboration of new medicines for correction of microcirculatory disorders is a very attractive goal for pharmacologists. However, before introducing angioprotectors into clinical practice one should compare the expected benefits of their use with serious risks caused by profound integration of circulatory system into oncogenesis pathogeny.

The important role of blood vessels in the development of malignant tumors is caused by their metabolic and migrational needs. In spite of their ability to survive without adequate oxygen and nutrients supply providing macroergic molecules' synthesis through anaerobic energy-providing mechanisms' activation any tumor cell still needs oxygen and substrates [4]. Invasion of lymphatic and blood vessels with tumor cells and intensive neoangiogenesis create the necessary prerequisites for activation of tumor cells metastatic dissemination with biological fluids flow.

Malignant neoplasms growth inhibition through angiogenesis inducing factors and their receptors block (or direct destruction

of microvessels wall) concept was initially proposed by Moses Judah Folkman in 1971 [5]. Nowadays the number of known angiogenesis inhibitors is over one thousand and many of them are used as medicines in combination with traditional cytostatic therapy because of their ability to cope with tumors' multiple drug resistance mechanisms [6,7].

However, neoangiogenesis mechanisms, stages and structural and functional peculiarities of newly-formed blood vessels that provide tumor tissue blood-supply are still under close scrutiny and most of these phenomena aspects and consequences for anti-tumor therapy are yet to be discovered. In spite of considerable scope of studies and detailed pathogenial substantiation the use of antiangiogenic drugs in oncology is still limited and in some cases is empiric in nature. Some researchers also point out target angiogenic therapy with simultaneous increase of chemotherapy toxicity low effectiveness in case of certain tumors [8], reduction of relapse-free period, increase of tumor growth rate and their invasive and metastatic potential [9,10]. Apparently these issues require more profound scrutiny.

Wide introduction of target antiangiogenic therapy in everyday practice is also hindered by possible decrease of basic cytostatic therapy effectiveness through limiting anti-tumor drug access to tumor cells due to impairment or destruction of microcirculatory network in the tumor and peritumorose area. It is this limitation that is the most probable basis for the studies of combined application of cytostatics and maintaining therapy aimed at endothelial dysfunction and hemostasis impairment correction and general angioprotection.

Exogenous nitric oxide (NO) donors namely L-arginine derivatives constitute a promising pharmacologic group in this maintaining therapy trend. The researchers' interest towards arginine is mostly explained by its precursor role in nitric oxide synthesis [11]. Nitric oxide is produced by attaching molecular oxygen to

L-arginine guanidine group resulting in NO and L-citrulline formation [12].

NO is one of mediators participating in many a physiologic function realization primarily vascular tone and transcapillary exchange regulation. NO effects are due to its activation effect upon soluble (cytosole) guanilate-cyclase haem group. This enzyme synthesizes cyclic guanosine monophosphate (cGMP) controlling membrane ionic channels, protein phosphorilation and phosphodiesterase activity [13]. In smooth-muscle cells of blood vessels NO-induced cGMP buildup causes miocyte relaxation and consequently vasodilatation, increased blood vessels' permeability and transcapillary exchange [12].

Nowadays a great amount of data is accumulated explaining the role of NO in oncogenesis [14,15,16], direct effect of increased NO concentration upon tumor cells [17,18] and combined effects of NO and traditional cytostatics for overcoming neoplasms' multiple drug-resistance phenomenon [19,20,21]. However contradictory nature of results of the study does not allow a simple conclusion of advisability vs unreasonableness of nitric monoxide donors' inclusion into tumor therapy routines and demands an extension of the studies.

Taking all his into consideration we deemed it intriguing to accomplish studies of Cisplatin, L-arginine and succine acid combination demonstrating pronounced endothelium-protecting effect and contributing to nitric monoxide production in preliminary studies.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Animals.

All experiments involving animals were carried out in accordance with ethical principles regulated by active Russian legislation and European Convention for Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg. 18.III.1986. European Treaty Series — № 123.

The study involved 6-month-old male CDF₁ mice (BALB/C female × DBA/2 male). The animals were kept at standard conditions of vivarium, 5–6 in a cage with free access to food and drinking water. The light conditions were 12 hours of light and 12 hours of darkness. During the entire study the animals were examined on a daily basis with assessment of their behavior, appetite, body mass, hair condition, activity. The animals were euthanatized inside a hermetic box by inhalation of diethyl ether.

2.2. Tumor models.

Murine P388 Lymphocytal Leukemia strain obtained from Cancerogenesis and Ageing Laboratory of The Oncologic Institute named after N.N. Petrov was used as neoplasm model. P388 Leukemia is frequently used in studies of malignant lymphoid tumors [22,23,24]. It has a high invasive potential and a tendency to generalization since the first day after transplantation.

Neoplasm model was realized through direct transplantation of malignant cells from tumor-carrying animals. Solid variant of P388 Leukemia was modeled by subcutaneous injection of 10⁹ leukemic cells per animal diluted in 0.2 ml of 0.9 % NaCl solution into the right flank of the animal, whereas the ascitic one — by

means of intraperitoneal infusion of the same amount of tumor cells.

2.3. Chemicals and Medicines.

Cisplatin (CP) (Cisplatin-Ebeve, Ebeve Pharma, Austria) was used as anti-tumor medicine.

For maintaining therapy (MT) a 14 g/l isotonic solution of Sodium-L-Arginine Succinate ($\text{Na}^+[\text{NH}=\text{C}(\text{NH}_2)\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}] + [\text{OOC}(\text{CH}_2)_2\text{COO}]^{2-}$) balanced to blood plasma regarding Sodium ions (147 mmol), Potassium (4 mmol), Chlorides (109 mmol) and Magnesium (1.26 mmol), with physiologic value of hydrogenium index that places no limitations in its application.

2.4. Experimental groups.

120 CDF₁ male mice were randomly divided into 7 groups. The first one (Control, n=6) was used for yielding endothelial markers physiological parameters. The animals of groups 2 — 4 were used for modeling P388 leukemia solid variant (S), while those from groups 5 — 7 — the ascitic one (A). Groups 2 (P388_S, n=22) and 5 (P388_A, n=16) were used for studying oncogenesis and endothelial markers' dynamics without additional influence. Mice from groups 3 (P388_S + CP, n=22) and 6 (P388_A + CP, n=16) 48 hours after tumor transplantation started getting Cisplatin (8 mg/kg). Mice from groups 4 (P388_S + CP + NAS, n=22) and 7 (P388_A + CP + NAS, n=16) 48 hours after tumor transplantation started getting Cisplatin (8 mg/kg) and also in one hour after tumor transplantation Sodium-L-Arginine Succinate solution (12.5 ml/kg).

2.5. P388 Leukemia development assessment.

The following parameters of growth and development of P388 Leukemia were studied:

1. Term of solid tumor node emergence (days).
2. Dynamics of solid tumor node growth (three perpendicular sizes; mm³). Measurements were made on the 10th, 14th, 22nd and 26th day after tumor transplantation.
3. Tumor growth inhibition (TGI): $\text{TGI} (\%) = [\text{Vcontrol} - \text{Vexperiment}] / \text{Vcontrol} * 100\%$, where V — size of the tumor (mm³). Clinically substantial level is over 50%.
4. Mean life span (MLS) of experimental animals (days).
5. Life span extension (LSE): $\text{LSE} = [(\text{MLS}(\text{experiment}) - \text{MLS}(\text{control})) / \text{MLS}(\text{control})] * 100\%$. Clinically substantial level is over 25%.

2.6. Assessment of endothelium condition markers' dynamics.

Using Sodium-L-Arginine Succinate as nitric oxide donor necessitates the assessment of its influence upon metabolism of NO and its antagonist Endothelin-1. These parameters were measured with the aid of "Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Parameter Assay Kit, R&D Systems" and "Mouse Endothelin 1, ET-1 ELISA Kit, Cusabio" commercial kits on the 5th and 15th day in mice with ascitic form of the tumor.

2.7. Statistical analysis.

The results were statistically analyzed using SPSS software. All data obtained directly are presented as $M \pm SD$. The distribution pattern was audited by means of Cholmogorov-Smirnov

criterion. The independent samples' means were compared with the aid of Student's t-criterion (in case of normal distribution) or Mann-Whitney U-criterion (in case of distribution different from normal). The mean values of dependent samplings were compared using Friedman's χ^2 -criterion. Correlation analysis was carried out using Pierson's criterion. Precise confidence intervals (CI) were calculated with the aid of Clopper-Pierson method using CONFINT software. Probability over 95% was considered to be a valid level of difference ($p < 0.05$).

3. RESULTS.

3.1. The influence of Cisplatin and Sodium-L-Arginine Succinate combination upon the development of P388 leukemia solid form

Subcutaneous transplantation of P388 leukemia proved to be successful in 100% of the cases. Primary node was revealed on day 9.8 ± 3.62 after transplantation. Cytostatic therapy reliably increased this latent period by 3.9 days ($p = 0.029$). Combined Cisplatin and Sodium-L-Arginine Succinate (NAS) therapy increased it even more — by 4.9 days ($p = 0.011$). However there was no statistically significant difference between groups "P388_s + CP" and "P388_s + CP + NAS" ($p = 0.494$; fig. 1).

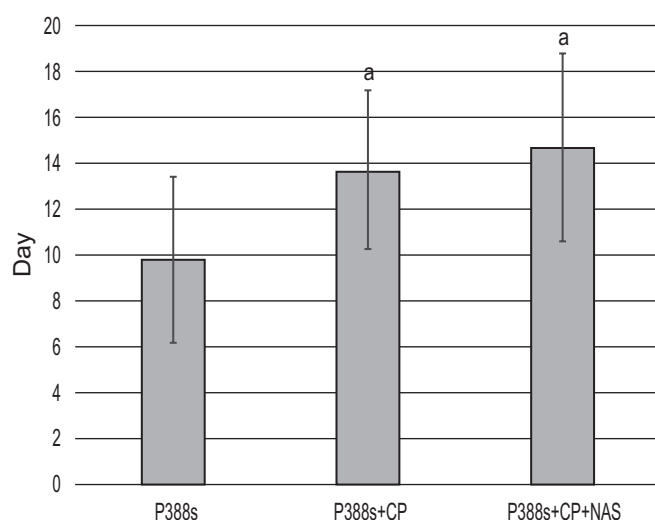


Fig. 1. Term of primary P388 leukemia node debut (days) after transplantation in mice with solid form of neoplasm growth. a — difference from "P388_s" group is valid ($p < 0,05$)

Strong correlation was revealed between the term of solid P388 leukemia node revelation and the tempo of the tumor growth ($r = -0.909$, $p < 0.001$). Experimental therapy of the neoplasm with Cisplatin as well as with Cisplatin and NAS combination has been producing a reliable clinically significant effect upon this parameter throughout the entire experiment (table 1).

The increase of the tumor development latent period in mice of groups "P388_s + CP" and "P388_s + CP + NAS" has predictably caused a valid increase of mean lifespan of these animals (fig. 2).

Direct correlation was revealed between the term of the tumor node debut and life span of mice with P388 leukemia ($r = -0.940$;

Table 1

Influence of Sodium-L-Arginine Succinate upon the inhibition of P388 leukemia solid node on the background of cytostatic Cisplatin therapy

Group	Term after P388 leukemia transplantation (days)	TGI, %
P388 _s	---	---
P388 _s + CP	14	64,1*
	18	69,7*
	22	54,2*
P388 _s + CP + NAS	14	69,4*
	18	74,7*
	22	54,3*

Commentary: TGI — tumor growth inhibition, * — clinically significant level ($> 50\%$). Assessment of tumor growth inhibition on the 10th and 26th day after tumor transplantation was not made because of insufficient amount of observations on these days.

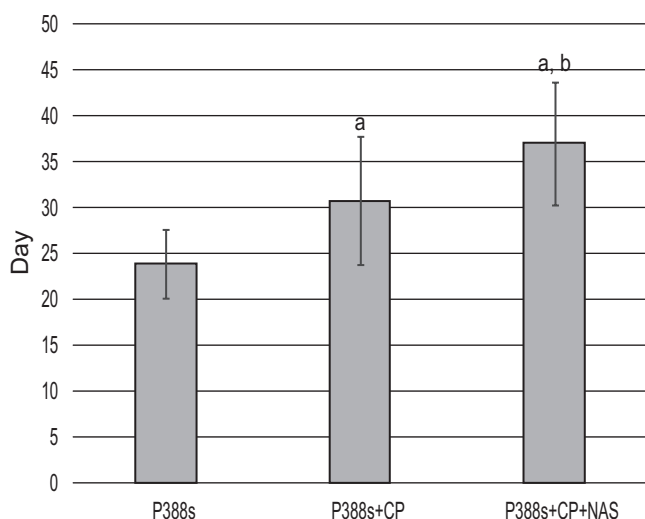


Fig. 2. Mean lifespan of mice with P388 leukemia (solid form of neoplasm growth). a — difference from "P388_s" group is valid ($p < 0,05$), b — difference from "P388_s + CP" group is valid ($p < 0,05$)

$p < 0.001$). Adding NAS to cytotoxic therapy "P388_s + CP + NAS" resulted in additional 6.2 day increase of this parameter in comparison with "P388_s + CP" group ($p = 0.028$).

3.2. The effect of Cisplatin and Sodium-L-Arginine Succinate combination upon the development of P388 leukemia ascitic form

The development of P388 leukemia ascetic form on the background of Cisplatin and Sodium-L-Arginine Succinate combination therapy was similar to that of the tumor solid variant (fig. 3).

Therapy of P388 leukemia with Cisplatin increased mean lifespan of mice with ascetic form by 5.6 days ($p = 0.024$) while combination therapy with Cisplatin and NAS increased this parameter even more — by 12.4 days (225%; $p < 0.001$) in com-

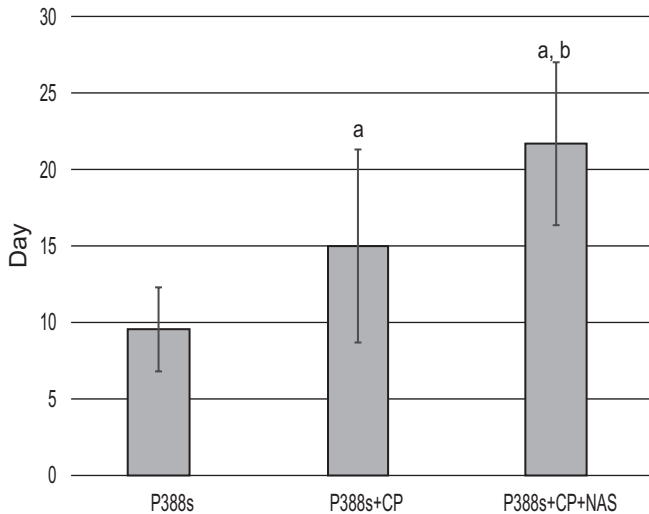


Fig. 3. Mean lifespan of mice with P388 leukemia (ascitic variant of neoplasm growth). a — difference from “P388_a” group is valid ($p < 0,05$), b — difference from “P388_a + CP” group is valid ($p < 0,05$)

parison to group “P388a” and by 6.8 days (144%; $p = 0.023$) in comparison to group «P388a + CP».

3.3. The effect of Cisplatin and Sodium-L-Arginine Succinate combination upon the state of blood vessels’ endothelium in mice with P388 leukemia

The development of P388 leukemia solid form caused moderate gradual increase of NO blood concentration (fig. 4). This parameter on the 5th and 15th day was found to have increased by 4.4 $\mu\text{mol/l}$ ($p = 0.631$) and 12.5 $\mu\text{mol/l}$ ($p = 0.128$) in comparison to the control values. Therapy with Cisplatin caused a pronounced tendency to NO production inhibition on the 5th day of the experiment (fig. 4).

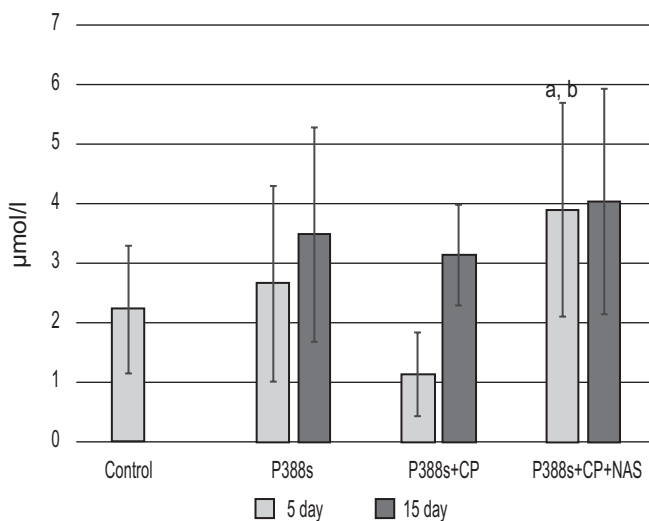


Fig. 4. NO blood concentration changes in mice with P388 leukemia (solid form of neoplasm growth). a — difference from “control” group is valid ($p < 0,05$), b — difference from “P388_s + CP” group is valid ($p < 0,05$)

Adding NAS to cytotoxic therapy reversed this process, i.e. NO level in blood of “P388_s + CP + NAS” group significantly (by 16.4 $\mu\text{mol/l}$) surpassed that of intact mice and was 27.7 $\mu\text{mol/l}$ higher than in mice of “P388_s + CP” group ($p = 0.010$).

Analogous tendency of NO blood concentration changes has been revealed in case of P388 leukemia ascitic form development (fig. 5).

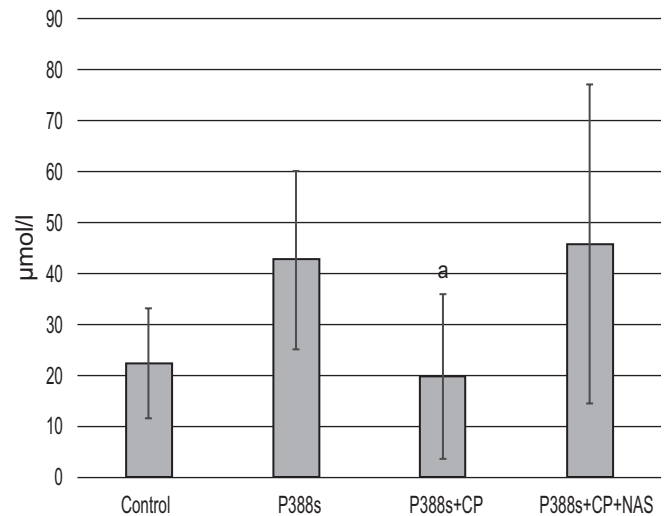


Fig. 5. NO blood concentration changes in mice with P388 leukemia (ascitic form of neoplasm growth). a — difference from “P388_a” group is valid ($p < 0,05$)

Increased NO production in mice with transplanted P388 leukemia obviously affected endothelin-1 concentration changes (fig. 6–7).

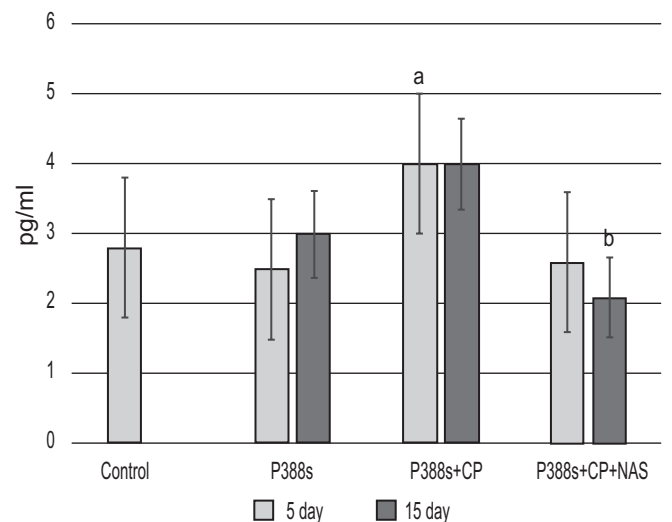


Fig. 6. Endothelin-1 blood concentration changes in mice with P388 leukemia (solid form of neoplasm growth). a — difference from “P388_s” group is valid ($p < 0,05$), b — difference from “P388_s + CP” group is valid ($p < 0,05$)

Mice with P388 leukemia solid form demonstrated maximum endothelin-1 concentration in the group treated with Cisplatin. On the 5th day this parameter in group “P388_s + CP” was significantly

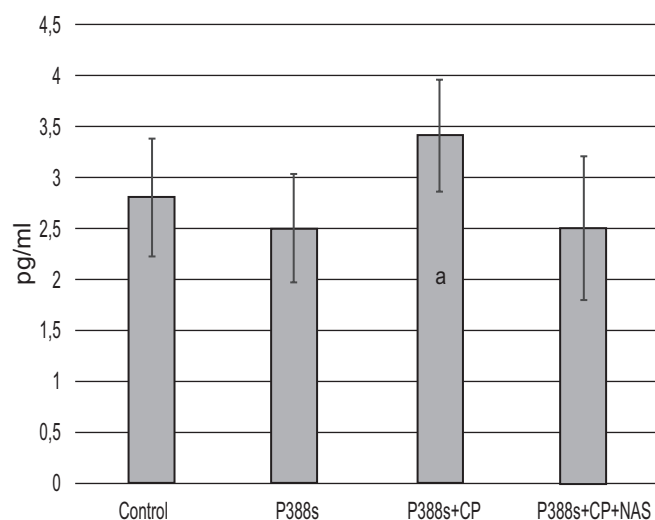


Fig. 7. Endothelin-1 blood concentration changes in mice with P388 leukemia (ascitic form of neoplasm growth).

higher than in mice with tumor not getting cytostatic therapy by 1.2 pg/ml ($p=0.041$) and it stayed increased during the entire experiment (fig. 6). Endothelin-1 blood concentration in mice with P388 leukemia ascitic variant proved not to change significantly (fig. 7).

Adding maintaining therapy with NAS caused a critical drop of Endothelin-1 production (fig. 6). On the 15th day of the experiment Endothelin-1 level in "P388_s + CP + NAS" group was lower than in group "P388_s + CP" by 1.9 pg/ml ($p=0.013$).

4. DISCUSSION

The major goal of the study was to ascertain whether it was possible to combine Cisplatin with Sodium-L-Arginine Succinate — nitric oxide donor and a potential instrument of maintaining therapy during the development of vascular pathology in oncologic patients.

Cisplatin was selected for cytostatic therapy because of its sufficient effectiveness against P388 leukemia proved in multiple studies [25,26,27]. Besides Cisplatin is known to produce a distinct toxic effect upon vascular endothelium [28,29], thus making our antitumor therapy model relevant for the assessment of drugs with possible angioprotective effect.

Sodium-L-Arginine Succinate (NAS) is an active combination of arginine and succine acid in isotonic solution. The influence of NAS upon vascular endothelium is of utmost interest. L-arginine is well-known to be a natural substrate for NO production. This reaction is controlled by an NO-synthases family including this enzyme's three major isoforms: the neuronal, macrophagal (inducible) and endothelial ones. The neuronal and endothelial synthases permanently present within the cells are Ca²⁺-dependant and can synthesize relatively minor amount of NO while the macrophagal NO-synthase activated by specific exposure (e.g. by lipopolisaccharides or cytokines) can contribute to comparatively high NO yield [12]. NO as a signaling molecule is known to rapidly

diffuse through cytoplasmatic membrane into intercellular space and easily permeate target cells; this process is not receptor-mediated. However high reactivity of NO does limit its half-life period to 1–5 seconds and its possible diffusion distance is very short (25–35 μm) [30,31]. Therefore NO blood concentration is normally permanent enough mostly thanks to endothelial synthase.

In the present study we have revealed a moderate tendency to NO production increase during P388 leukemia development which might be a sign of major endotheliocytes' and paravasal cells' role in the development of this tumor that corresponds to previous studies [32,33]. The treatment of P388 leukemia with Cisplatin was successful: in groups of mice that received cytotoxic therapy the neoplasm-forming latent period increased and the tumor growth slowed down increasing the life-span of tumor carriers. Cisplatin was shown to produce a substantial effect upon blood vessels' endothelium significantly shifting balance of vasodilating and vasoconstrictive influences in favor of vasoconstriction — decreased NO production and increased endothelin-1 synthesis (fig. 4–7).

Adding NAS to experimental anti-tumor therapy resulted in boosting anti-tumor effect of Cisplatin: there was a statistically significant extension of tumor development latent period as well as mean lifespan both in case of P388 leukemia solid form (less active) and quickly developing primarily generalized ascitic variant. The use of NO donating NAS as a tool for maintaining therapy contributed to evening-out of Cisplatin effect upon vascular endothelium. Moreover, NAS was shown to significantly boost NO production not only in comparison to mice that had been getting Cisplatin but also in comparison to intact animals (fig. 4). Administration of NAS also proved to inhibit endothelin-1 synthesis (fig. 6) thus additionally testifying to its favorable effect on vascular endothelium functioning.

We did not initially plan to ascertain precise mechanisms of registered Cisplatin antitumor activity changes in case of its combination with NAS. However we would like to suggest a few of plausible variants in the context of scientific discussion.

Firstly the observed increase of Cisplatin effectiveness in case of combination with NAS may be due to augmented access of the cytostatic to tumor cells. Blood vessels associated with tumor are known to possess considerable morphological and functional peculiarities in comparison to vessels of intact tissue: incomplete coating of the inner surface with endotheliocytes, insufficient basal membrane, varying diameter, chaotic disposition and crimpiness of blood vessels. In many a case blood supply of the tumor may be realized through primitive vessel-like channels lacking endothelium and directly connected to circulatory system — so called "vasculogenic mimicry" of neoplasm phenomenon [34, 35, 36]. In combination with observed hemostasis system activation and consequent tumorigenic thrombotic and tromboembolic complications it might upset the access of antitumor drugs to neoplasm and decrease their effectiveness. On this background vasodilation caused by exogenous NO donor administration may increase perfusion of the entire tumor node and augment cytostatic access to target cells.

Another plausible explanation may be in modification of immune system functioning on the background of NAS administra-

tion due to evening-out of Cisplatin immunotoxic effect, modification of tumor cells metabolism producing better conditions for cytostatic influences, direct modifying effect of Cisplatin through chemical bonds with NAS components or a combination of all these mechanisms. All these issues require additional studies and mechanisms of observed antitumor effects of Cisplatin in combination with NAS are not evident at present.

5. CONFLICT OF INTERESTS.

Conflicts of interest: none.

The work was supported by the NRC «Kurchatov Institute» (№1363)

Работа поддержана НИЦ «Курчатовский институт» (№1363)

ЛИТЕРАТУРА

- Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments., *Nat. Rev. Cardiol.* 2015; 12: 547–58. DOI:10.1038/nrcardio.2015.65.
- Soultati A., Mountzios G., Avgerinou C., Papaxoinis G., Pectasides D., Dimopoulos M.-A., Papadimitriou C., Endothelial vascular toxicity from chemotherapeutic agents: preclinical evidence and clinical implications. *Cancer Treat. Rev.* 2012; 38: 473–83. DOI:10.1016/j.ctrv.2011.09.002.
- Curigliano G., Cardinale D., Suter T., Plataniotis G., de Azambuja E., Sandri M.T., Criscitello C., Goldhirsch A., Cipolla C., Roila F., ESMO Guidelines Working Group, Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy, targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines., *Ann. Oncol.* 2012; 23(7): 55–66. DOI:10.1093/annonc/mds293.
- Al-Husein B., Abdalla M., Trepte M., Deremer D.L., Somanath P.R., Antiangiogenic therapy for cancer: an update., *Pharmacotherapy.* 2012; (32): 1095–111. DOI:10.1002/phar.1147.
- Folkman J., Tumor angiogenesis: therapeutic implications., *N. Engl. J. Med.* 1971; 285: 1182–6. DOI:10.1056/NEJM197111182852108.
- Chung A.S., Ferrara N., Developmental and Pathological Angiogenesis, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2011; 27: 563–84. DOI:10.1146/annurev-cellbio-092910-154002.
- Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., Cartwright T., Hainsworth J., Heim W., Berlin J., Baron A., Griffing S., Holmgren E., Ferrara N., Fyfe G., Rogers B., Ross R., Kabbinavar F., Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. 2004. DOI:10.1056/NEJMoa032691.
- Poveda A.M., Selle F., Hilpert F., Reuss A., Savarese A., Vergote I., Witteveen P., Bamias A., Scotto N., Mitchell L., Pujade-Lauraine E. Bevacizumab Combined With Weekly Paclitaxel, Pegylated Liposomal Doxorubicin, or Topotecan in Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: Analysis by Chemotherapy Cohort of the Randomized Phase III AURELIA Trial., *J. Clin. Oncol.* 2015; 33: 3836–8. DOI:10.1200/JCO.2015.63.1408.
- Ebos J.M.L., Lee C.R., Cruz-Munoz W., Bjarnason G.A., Christensen J.G., Kerbel R.S., Accelerated Metastasis after Short-Term Treatment with a Potent Inhibitor of Tumor Angiogenesis, *Cancer Cell.* 2009; 15: 232–9. DOI:10.1016/j.ccr.2009.01.021.
- Pàez-Ribes M., Allen E., Hudock J., Takeda T., Okuyama H., Viñals F., Inoue M., Bergers G., Hanahan D., Casanovas O., Antiangiogenic Therapy Elicits Malignant Progression of Tumors to Increased Local Invasion and Distant Metastasis, *Cancer Cell.* 2009; 15: 220–31. DOI:10.1016/j.ccr.2009.01.027.
- Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine., *J. Nutr.* 2007; 137: 1650S — 5S. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17513442>.
- Khazan M., Hdayati M. The Role of Nitric Oxide in Health and Diseases, *Scimetr.* 2014; 3. DOI:10.5812/scimetr.20987.
- Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87: 315–424. DOI:10.1152/physrev.00029.2006.
- Huerta S., Chilka S., Bonavida B. Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). *Int. J. Oncol.* 2008; 33: 909–27. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949354>.
- Xu W., Liu L.Z., Loizidou M., Ahmed M., Charles I.G. The role of nitric oxide in cancer. *Cell Res.* 2002; 12: 311–20. DOI:10.1038/sj.cr.7290133.
- Lechner M., Lirk P., Rieder J., Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin., *Semin. Cancer Biol.* 2005; 15: 277–89. DOI:10.1016/j.semcancer.2005.04.004.
- Zeillinger R., Tantscher E., Schneeberger C., Tschugguel W., Eder S., Sliutz G., Huber J.C. Simultaneous expression of nitric oxide synthase and estrogen receptor in human breast cancer cell lines., *Breast Cancer Res. Treat.* 1996; 40: 205–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8879687>.
- Zhao S., Tong X., Zhu F. Nitric oxide induces oral squamous cell carcinoma cells apoptosis with p53 accumulation., *Oral Oncol.* 2005; 41: 785–90. DOI:10.1016/j.oraloncology.2005.04.002.
- Aranda E., López-Pedraza C., De La Haba-Rodríguez J.R., Rodríguez-Ariza A., Nitric oxide and cancer: the emerging role of S-nitrosylation., *Curr. Mol. Med.* 2012; 12: 50–67. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22082481>.
- Bonavida B., Baritaki S., Huerta-Yepez S., Vega M.I., Chatterjee D., Yeung K. Novel therapeutic applications of nitric oxide donors in cancer: roles in chemo- and immunosensitization to apoptosis and inhibition of metastases. *Nitric Oxide.* 2008; 19: 152–7. DOI:10.1016/j.niox.2008.04.018.
- Kanayama N., Yamaguchi K., Nagasaki Y., PEGylated Polymer Micelle-based Nitric Oxide (NO) Photodonor with NO-mediated Antitumor Activity, *Chem. Lett.* 2010; 39: 1008–9. DOI:10.1246/cl.2010.1008.
- Waud W.R., Parker W.B., Gilbert K.S., Secrist J.A., Isolation and characterization of a murine P388 leukemia line resistant to thiara-bine., *Nucleosides. Nucleotides Nucleic Acids.* 2012; 31: 14–27. DOI:10.1080/15257770.2011.637099.
- Trafalis D., Geromichalou E., Dalezis P., Nikoleousakos N., Sarli V. Synthesis and evaluation of new steroidal lactam conjugates with aniline mustards as potential antileukemic therapeutics., *Steroids.* 2016; 115: 1–8. DOI:10.1016/j.steroids.2016.07.009.
- Gatouillat G., Magid A.A., Bertin E., El btaouri H., Morjani H., Lavaud C., Madoulet C. Medicarpin and millepurpan, two flavonoids

- isolated from *Medicago sativa*, induce apoptosis and overcome multidrug resistance in leukemia P388 cells. *Phytomedicine*. 2015; 22: 1186–94. DOI:10.1016/j.phymed.2015.09.005.
25. Lu D.-Y. Inhibitions of Several Antineoplastic Drugs on Serum Sialic Acid Levels in Mice Bearing Tumors, *Sci. Pharm.* 2013; 81: 223–31. DOI:10.3797/scipharm.1209–18.
 26. Zaletok S.P., Gulua L., Wicker L., Shlyakhovenko V.A., Gogol S., Orlovsky O., Karnashenko O. V., Verbinenko A., Milinevska V., Samoilenko O., Todor I., Turmanidze T. Green tea, red wine and lemon extracts reduce experimental tumor growth and cancer drug toxicity. *Exp. Oncol.* 2015; 37: 262–71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26710838>.
 27. Voelcker G. Enhancement of antitumor activity of the oxazaphosphorine cytostatic SUM-IAP by N-methylformamide., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2016; 142: 1183–9. DOI:10.1007/s00432-016-2132-5.
 28. Altena R., Fehrmann R.S.N., Boer H., de Vries E.G.E., Meijer C., Gietema J.A. Growth differentiation factor 15 (GDF-15) plasma levels increase during bleomycin- and cisplatin-based treatment of testicular cancer patients and relate to endothelial damage., *PLoS One*. 2015; 10: e0115372. DOI:10.1371/journal.pone.0115372.
 29. Bodiga V.L., Kudle M.R., Bodiga S., Silencing of PKC- α , TRPC1 or NF- κ B expression attenuates cisplatin-induced ICAM-1 expression and endothelial dysfunction., *Biochem. Pharmacol.* 2015; 98: 78–91. DOI:10.1016/j.bcp.2015.08.101.
 30. Bryan N.S., Grisham M.B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples., *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 43: 645–57. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026.
 31. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids., *Free Radic. Res.* 2005; 39: 797–815. DOI:10.1080/10715760500053651.
 32. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova E.S., Korablev R.V., Pechatnikova V.A., Vasiliev A.G., Anisimov V.N. P-388 Leukemia in CDF1 mice as a tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation test system. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015; 158: 497–9. DOI:10.1007/s10517-015-2793-0.
 33. Goszczyński T.M., Filip-Psurska B., Kempirńska K., Wietrzyk J., Boratyński J. Hydroxyethyl starch as an effective methotrexate carrier in anticancer therapy, *Pharmacol. Res. Perspect.* 2014; 2: e00047. DOI:10.1002/prp2.47.
 34. Folberg R., Hendrix M.J., Maniotis A.J. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 361–81. DOI:10.1016/S0002-9440(10)64739-6.
 35. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78(3): 17–21.
 36. Струков Д.В., Александрович Ю.С., Васильев А.Г. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока. 2014; 5(2): 81–7.
 37. Curigliano G., Cardinale D., Suter T., Plataniotis G., de Azambuja E., Sandri M.T., Criscitello C., Goldhirsch A., Cipolla C., Roila F., ESMO Guidelines Working Group, Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy, targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines., *Ann. Oncol.* 2012; 23(7): 55–66. DOI:10.1093/annonc/mds293.
 38. Al-Husein B., Abdalla M., Trepte M., Deremer D.L., Somanath P.R., Antiangiogenic therapy for cancer: an update., *Pharmacotherapy*. 2012; (32): 1095–111. DOI:10.1002/phar.1147.
 39. Folkman J., Tumor angiogenesis: therapeutic implications., *N. Engl. J. Med.* 1971; 285: 1182–6. DOI:10.1056/NEJM197111182852108.
 40. Chung A.S., Ferrara N., Developmental and Pathological Angiogenesis, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2011; 27: 563–84. DOI:10.1146/annurev-cellbio-092910-154002.
 41. Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., Cartwright T., Hainsworth J., Heim W., Berlin J., Baron A., Griffing S., Holmgren E., Ferrara N., Fyfe G., Rogers B., Ross R., Kabbinavar F., Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. 2004. DOI:10.1056/NEJMoa032691.
 42. Poveda A.M., Selle F., Hilpert F., Reuss A., Savarese A., Vergote I., Witteveen P., Bamias A., Scotto N., Mitchell L., Pujade-Lauraine E. Bevacizumab Combined With Weekly Paclitaxel, Pegylated Liposomal Doxorubicin, or Topotecan in Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: Analysis by Chemotherapy Cohort of the Randomized Phase III AURELIA Trial., *J. Clin. Oncol.* 2015; 33: 3836–8. DOI:10.1200/JCO.2015.63.1408.
 43. Ebos J.M.L., Lee C.R., Cruz-Munoz W., Bjarnason G.A., Christensen J.G., Kerbel R.S., Accelerated Metastasis after Short-Term Treatment with a Potent Inhibitor of Tumor Angiogenesis, *Cancer Cell*. 2009; 15: 232–9. DOI:10.1016/j.ccr.2009.01.021.
 44. Pàez-Ribes M., Allen E., Hudock J., Takeda T., Okuyama H., Vifñals F., Inoue M., Bergers G., Hanahan D., Casanovas O., Antiangiogenic Therapy Elicits Malignant Progression of Tumors to Increased Local Invasion and Distant Metastasis, *Cancer Cell*. 2009; 15: 220–31. DOI:10.1016/j.ccr.2009.01.027.
 45. Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine., *J. Nutr.* 2007; 137: 1650S — 5S. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17513442>.
 46. Khazan M., Hdayati M. The Role of Nitric Oxide in Health and Diseases, *Scimetr.* 2014; 3. DOI:10.5812/scimetr.20987.
 47. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87: 315–424. DOI:10.1152/physrev.00029.2006.
 48. Huerta S., Chilka S., Bonavida B. Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). *Int. J. Oncol.* 2008; 33: 909–27. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949354>.
 49. Xu W., Liu L.Z., Loizidou M., Ahmed M., Charles I.G. The role of nitric oxide in cancer. *Cell Res.* 2002; 12: 311–20. DOI:10.1038/sj.cr.7290133.
 50. Lechner M., Lirk P., Rieder J., Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin., *Semin. Cancer Biol.* 2005; 15: 277–89. DOI:10.1016/j.semcancer.2005.04.004.

REFERENCES

1. Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments., *Nat. Rev. Cardiol.* 2015; 12: 547–58. DOI:10.1038/nrcardio.2015.65.
2. Soultati A., Mountzios G., Avgerinou C., Papaxoinis G., Pectasides D., Dimopoulos M.-A., Papadimitriou C., Endothelial vascular toxic-

17. Zeillinger R., Tantscher E., Schneeberger C., Tschugguel W., Eder S., Sliutz G., Huber J.C. Simultaneous expression of nitric oxide synthase and estrogen receptor in human breast cancer cell lines., *Breast Cancer Res. Treat.* 1996; 40: 205–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8879687>.
18. Zhao S., Tong X., Zhu F. Nitric oxide induces oral squamous cell carcinoma cells apoptosis with p53 accumulation., *Oral Oncol.* 2005; 41: 785–90. DOI:10.1016/j.oraloncology.2005.04.002.
19. Aranda E., López-Pedreira C., De La Haba-Rodríguez J.R., Rodríguez-Ariza A., Nitric oxide and cancer: the emerging role of S-nitrosylation., *Curr. Mol. Med.* 2012; 12: 50–67. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22082481>.
20. Bonavida B., Baritaki S., Huerta-Yepes S., Vega M.I., Chatterjee D., Yeung K. Novel therapeutic applications of nitric oxide donors in cancer: roles in chemo- and immunosensitization to apoptosis and inhibition of metastases. *Nitric Oxide.* 2008; 19: 152–7. DOI:10.1016/j.niox.2008.04.018.
21. Kanayama N., Yamaguchi K., Nagasaki Y., PEGylated Polymer Micelle-based Nitric Oxide (NO) Photodonor with NO-mediated Antitumor Activity, *Chem. Lett.* 2010; 39: 1008–9. DOI:10.1246/cl.2010.1008.
22. Waud W.R., Parker W.B., Gilbert K.S., Secrist J.A., Isolation and characterization of a murine P388 leukemia line resistant to thiara-bine., *Nucleosides. Nucleotides Nucleic Acids.* 2012; 31: 14–27. DOI:10.1080/15257770.2011.637099.
23. Trafalis D., Geromichalou E., Dalezis P., Nikoleousakos N., Sarli V. Synthesis and evaluation of new steroidal lactam conjugates with aniline mustards as potential antileukemic therapeutics., *Steroids.* 2016; 115: 1–8. DOI:10.1016/j.steroids.2016.07.009.
24. Gatoullat G., Magid A.A., Bertin E., El btaouri H., Morjani H., Lavaud C., Madoulet C. Medicarpin and millepurpan, two flavonoids isolated from *Medicago sativa*, induce apoptosis and overcome multidrug resistance in leukemia P388 cells. *Phytomedicine.* 2015; 22: 1186–94. DOI:10.1016/j.phymed.2015.09.005.
25. Lu D.-Y. Inhibitions of Several Antineoplastic Drugs on Serum Sialic Acid Levels in Mice Bearing Tumors, *Sci. Pharm.* 2013; 81: 223–31. DOI:10.3797/scipharm.1209–18.
26. Zaletok S.P., Gulua L., Wicker L., Shlyakhovenko V.A., Gogol S., Orlovsky O., Karnaushenko O. V., Verbinenko A., Milinevska V., Samoylenko O., Todor I., Turmanidze T. Green tea, red wine and lemon extracts reduce experimental tumor growth and cancer drug toxicity. *Exp. Oncol.* 2015; 37: 262–71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26710838>.
27. Voelcker G. Enhancement of antitumor activity of the oxazaphosphorine cytostatic SUM-IAP by N-methylformamide., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2016; 142: 1183–9. DOI:10.1007/s00432–016–2132–5.
28. Altena R., Fehrmann R.S.N., Boer H., de Vries E.G.E., Meijer C., Gietema J.A. Growth differentiation factor 15 (GDF-15) plasma levels increase during bleomycin- and cisplatin-based treatment of testicular cancer patients and relate to endothelial damage., *PLoS One.* 2015; 10: e0115372. DOI:10.1371/journal.pone.0115372.
29. Bodiga V.L., Kudle M.R., Bodiga S., Silencing of PKC- α , TRPC1 or NF- κ B expression attenuates cisplatin-induced ICAM-1 expression and endothelial dysfunction., *Biochem. Pharmacol.* 2015; 98: 78–91. DOI:10.1016/j.bcp.2015.08.101.
30. Bryan N.S., Grisham M.B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples., *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 43: 645–57. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026.
31. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids., *Free Radic. Res.* 2005; 39: 797–815. DOI:10.1080/10715760500053651.
32. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova E.S., Korablev R.V., Pechatnikova V.A., Vasiliev A.G., Anisimov V.N. P-388 Leukemia in CDF1 mice as a tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation test system. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015; 158: 497–9. DOI:10.1007/s10517–015–2793–0.
33. Goszczyński T.M., Filip-Psurska B., Kempirska K., Wietrzyk J., Boratyński J. Hydroxyethyl starch as an effective methotrexate carrier in anticancer therapy, *Pharmacol. Res. Perspect.* 2014; 2: e00047. DOI:10.1002/prp2.47.
34. Folberg R., Hendrix M.J., Maniotis A.J. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 361–81. DOI:10.1016/S0002–9440(10)64739–6.
35. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolicheskaya terapiya mochekamennoy bolezni na razlichnykh modelyakh porazheniya pochek u krysa. [Metabolic therapy of urolithiasis in various kidney affection models in rats]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2015; 78(3): 17–21. (In Russian).
36. Strukov D.V., Aleksandrovich Yu.S., Vasil'yev A.G. Aktual'nyye problemy sepsisa i septicheskogo shoka. [Actual problems of sepsis and septic shock]. *Pediatr.* 2014; 5(2): 81–7. (In Russian).

PILL THERAPY IN OUTPATIENTS WITH COMPLICATED COMORBID HYPERTENSIVE DISEASE: COMPARISON OF FIXED COMBINED VERSUS ISOLATED MODES

©Yana V. Ivashkevich^{1,2}, Artem V. Tishkov³, Leonid P. Churilov^{1,4}

¹ St. Petersburg State University, Faculty of Medicine. 199034, St. Petersburg, Universitetskaya nab., bld. 7–9

² Consultative and diagnostic polyclinic number 12. 117042, Moscow, Yuzhnobutovskaya st., 87.

³ I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. 197022, St. Petersburg, L'va Tolstogo st., bld. 6–8

⁴ St. Petersburg Research Institute of Phthiopulmonology, Ministry of Health of the Russian Federation. 191036, St. Petersburg, Ligovsky pr. 2–4.

Contact Information: Leonid P. Churilov — MD, PhD, Full Member of the International Academy of Sciences (Health and Ecology), Chairman of Pathology Dept., Faculty of Medicine, Deputy-Head of the Laboratory of Mosaic of Autoimmunity, Saint Petersburg State University. E-mail: elpach@mail.ru

Abstract: Hypertensive disease is a chronic systemic entity characterized by constant blood pressure level elevation above 130/80 mm Hg induced on genetic background by complex of etiological factors causing disorders of vascular tonus and/or cardiovascular system regulation. We compared the treatment effect of the fixed combination pill (lisinopril, amlodipine, rosuvastatin) with the isolated pill therapy that contained ACE inhibitor (ramipril, lisinopril, perindopril), diuretic (thiazide or loop), statins, calcium channel blocker from minimum to maximally titrated doses — from 5 + 10 + 10 and 2.5 + 12.5 to 10 + 20 + 20 and 5 + 25 in the treatment of the main diseases — hypertensive disease, ischemic heart disease, dyslipidemias, diabetes mellitus type 2, and in postoperative patients (aortocoronary shunts, angioplasty). **Methods.** Randomized clinical trial with 104 outpatients both male and female older than 40 years. Patients of control group (with diagnosis of hypertensive disease and cholesterol level above 6,0) were recommended the following medicines: ACE inhibitors, thiazide diuretics once daily in the morning, rosuvastatin 10 mg or atorvastatin 20 mg once daily in the evening. Additionally, in cases of poorly controlled hypertension — calcium channel blockers: nifedipine 20 mg in the evenings, and for those with implanted stents and angioplasty — aspirin 75 mg in the evening. Patients of the main group were offered fixed combination pill (lisinopril, amlodipine, rosuvastatin) 5 + 10 + 10 or 10 + 20 + 20 once daily in the evening and aspirin 75 mg in the evening or glucose lowering medication. **Results.** There was statistically significant difference of pre- and post-treatment values found of systolic blood pressure registered in both groups ($p < 0.001$) and diastolic blood pressure for control group ($p < 0.001$). There was statistically significant difference between control and main groups in total cholesterol level. Cholesterol levels were statistically significantly reduced in patients with fixed combined therapy compared to isolated therapy mode ($p < 0.01$). Fixed combined therapy combination treatment was noticed to be more beneficial both in regards to arterial hypertension and concurrent diseases such as diabetes mellitus type 2, congestive heart diseases, and metabolic syndrome as well as in postoperative patients with aorto-coronary shunts, angioplasty, stent placement, strokes and myocardial infarctions episodes.

Key words: arterial hypertension, dyslipidemia, diabetes mellitus, statins, combined pill therapy, isolated pill therapy, body mass index, cholesterol, creatinine, triglycerides, angiotensin converting enzyme inhibitors

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ КОМБИНИРОВАННЫМИ И ИЗОЛИРОВАННЫМИ ТАБЛЕТИРОВАННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ У КОМОРБИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

© Яна Валерьевна Ивашкевич^{1,2}, Артем Валерьевич Тишков³, Леонид Павлович Чурилов^{1,4}

¹Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

²Консультативно-диагностическая поликлиника № 12. 117042, Москва, Южнобутовская ул., д. 87.

³ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8.

⁴Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр. 2–4.

Контактная информация: Леонид Павлович Чурилов — доцент, заведующий кафедрой патологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, зам. руководителя лаборатории мозаики аутоиммунитета, действительный член Международной академии наук (Здоровье и экология). E-mail: elpach@mail.ru

Резюме: Гипертоническая болезнь — хроническое системное заболевание, характеризующееся стойким повышением цифр АД более 130/80 мм рт ст, вызванное нарушением регуляции тонуса сосудов и работы сердечно-сосудистой системы. Мы сравнили эффект терапии комбинированным препаратом (амлодипин, лизиноприл, розувастатин) с изолированными препаратами группы ингибиторов ангиотензин-конвертазы (рамиприл, лизиноприл, периндоприл), диуретиками (тиазидными и петлевыми), статинами, блокаторами кальциевых каналов — от минимально до максимально титруемых доз — от 5 + 10 + 10 и 2.5 + 12.5 до 10 + 20 + 20 и 5 + 25 мг в ходе терапии основных нозологических форм (гипертоническая болезнь 2-й стадии и степени тяжести, ишемическая болезнь сердца, дислипидемия, сахарный диабет 2-го типа, состояние после аортокоронарного шунтирования или стентирования). **Методы.** Рандомизированное клиническое исследование, в котором приняли участие 104 пациента мужского и женского пола возрастной группы старше 40 лет. Пациентам контрольной группы с диагнозом гипертоническая болезнь 2-й стадии и степени тяжести и уровнем холестерина выше 6,0 мм/л назначались: ингибитор ангиотензин-превращающего фермента + тиазидные диуретики один раз в день утром, розувастатин 10 мг вечером либо аторвастатин 20 мг вечером. Также дополнительно пациентам назначались блокаторы кальциевых каналов нифедипин 20 мг вечером и при установленных аортокоронарных стентах — кардиомагнил 75 мг на ночь. Пациентам основной группы назначался комбинированный препарат, содержащий в одной таблетированной форме лизиноприл, амлодипин и розувастатин в дозировке 5 + 10 + 10 либо 10 + 20 + 20 один раз в день вечером. **Результаты.** Были выявлены статистически значимые различия до и после лечения в систолических показателях артериального кровяного давления в обеих группах ($p < 0.001$) и диастолического его уровня в контрольной группе ($p < 0.001$). Между контрольной и основной группами статистически значимые различия были выявлены в значениях общего холестерина — уровень общего холестерина был статистически значимо ниже у пациентов основной группы ($p < 0.01$). Комбинированная терапия оказывает более быстрый эффект в достижении целевых уровней как холестерина, так и цифр артериального кровяного давления. Эффективность комбинированной терапии отмечается как у пациентов без сопутствующих заболеваний, так и у пациентов с рядом сопутствующих заболеваний, таких, как инфаркт миокарда или инсульт в анамнезе, сахарный диабет 2-го типа, метаболический синдром.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, дислипидемия, сахарный диабет, статины, комбинированная таблеточная терапия, изолированная таблеточная терапия, индекс массы тела, уровень холестерина, креатинин, триглицериды, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента

INTRODUCTION

Hypertensive disease is a chronic systemic entity characterized by constant blood pressure level elevation above 130/80 mm Hg induced on genetic background by complex of etiological factors causing disorders of vascular tonus and/or cardiovascular system regulation. It starts as essential arterial hypertension and, in its progress, involves and joins secondary arterial hypertension mechanisms of various kinds [1]. Cardiovascular diseases accompanied by arterial hypertension and their fatal complications such as stroke and myocardial infarction are the leading causes of morbidity and mortality worldwide [11]. Hypertensive disease has a negative impact on both cardiovascular and renal systems. Even in high-income countries population still suffers from poorly controlled hypertension disease. Main strategies that are implemented nowadays to control hypertension involve initiating treatment on time, modification of the way of living (high

level of aerobic physical activity, DASH [Dietary Approaches to Stop Hypertension] diet, and exposure to fresh air), as well as possible shift from monotherapy to combined therapy and usage of fix-dosed combinations in one pill. Benefits of proper controlling of arterial hypertension are evident. Sometimes combining therapy can become a useful way out to reach the most adequate prolonged hypertension control. [11]

There are several studies that indicate that in practice at least two anti-hypertensive drugs are necessary to reach a successful control of the disease. The main classes of medicines recommended include: ACE inhibitors, calcium channel blockers, diuretics and beta-adrenoblockers. All medications can be recommended separately or in one fixed combined pill [24]. Currently there is a tendency to abandon the combination of beta-adrenoblockers and diuretics due to their adverse effects. The preferred method is a combination of renin-angiotensin system inhibitor/ACE inhibitor or a sartan with a calcium channel blocker or a diuretic [20].



The classic of Russian literature Nikolay Alekseevich Dobrolyubov (1836–1861), although he was not a medical doctor, nevertheless wisely noticed, that among all living beings, the Homo gets sick and recovers in the most complicated way [2]. Quite in the spirit of his thought, it should be noted that the efficient therapy of hypertensive disease is possible with proper adherence to treatment regimen only, as well as with regular education of the patients about the risks and benefits of hypertension control. It is especially essential for effective achievements of outpatient care purposes.

We decided to implement the fixed therapy — consisting of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor, calcium channel blocker and a sartin (lisinopril, amlodipine, or rosuvastatin) in a one combined pill and compare the effectiveness of this mode of treatment to an isolated mode of therapy that included the same classes of medications, but given in the separate pills, in order to see how combined fixed pill therapy can affect blood pressure targeted levels, total cholesterol level, patient's adherence to the recommended treatment, and several other blood biochemical parameters, including blood levels of alanin-aminotransferase (ALT), aspartate-aminotransferase (AST), creatinine, potassium, sodium and triglycerides. We decided to evaluate dynamics of Quetelet's body mass index (BMI) as well. Subsequently we tried to evaluate how adherence to treatment can influence complication risks such as stroke and myocardial infarction, improve quality of life and prolong survival in patients with hypertensive disease and usual concurrent comorbidities, such as diabetes mellitus type 2 and dyslipidemia [4].

THE AIM OF THE STUDY

was to determine if there are any statistically significant differences between blood pressure control numbers, total cholesterol values, blood biochemical profile, blood electrolytes and BMI in two groups of complicated comorbid arterial hypertension outpatients, *using either fixed or isolated anti-hypertensive pills' combinations.*

MATERIAL AND METHODS

The study was a prospective randomized clinical trial with 104 outpatients involved, both males and females, aged older than 40 years. We studied them in Moscow, at the Consultative and Diagnostical Outpatient Clinic # 121.

The main treatment efficiency criteria were: 1) Targeted blood pressure levels achieved less than 130/80 mm Hg; 2) Total cholesterol level achieved less than 5 mM/l; 3) the best adherence possible; 4) BMI stable; 5) blood electrolytes (potassium, magnesium, sodium), and blood levels of creatinine, uric acid, phosphokinase — tending to normal.

Additionally, in order to determine adherence to the recommended treatment, patients were asked to fill out the questionnaire. Most questions included factors that could form proper adherence to the recommended therapy and that could also de-

termine lack of adherence as one of the possible factors of poor treatment efficacy.

The study continued during 4 months.

The patients were randomly assigned to either control or main (experimental) group. Both groups contained male and female patients older than 40 years old with the following diagnosis in both groups: ischemic heart disease, hypertensive disease stage 2, congestive heart failure, metabolic syndrome, diabetes mellitus type 2, atherosclerosis, chronic kidney disease, arrhythmia, and dyslipidemias. Some patients underwent angioplasty, aortocoronary shunts and had episodes of stenocardia, strokes and heart attacks in anamnesis.

There were 63 patients in the control group and 41 patients in the main group.

The major patient complaints included headache, uncontrolled blood pressure values, uncontrolled glucose levels, fatigue, malaise, excessive weight, loss of energy, as well as complaints of postoperative patients who underwent aortocoronary shunt and angioplasty interventions.

Patients' age in control group 62.2 (12.1) and experimental group 61.2 (9.2) were statistically equal ($p=0.64$). Gender distributions in control group 43f (68.3%) / 20m (31.7%) and experimental group 30f (73.2%) / 11m(26.8%) are also differed non-significantly ($p=0.59$).

Patients of control group with hypertensive disease and cholesterol levels more than 6,0 mM/l were recommended the following groups of medicines: ACE inhibitors, thiazide diuretics (Ramipril and hydrochlorothiazide 5+25 mg) once daily in the morning, rosuvastatin 10 mg or atorvastatin 20 mg once daily in the evening. Additionally, in case of poorly controlled arterial hypertension we applied calcium channel blockers nifedipine 20 mg in the evenings, and for those cases with implemented stents and angioplasty — aspirin 75 mg in the evening. In case of concurrent comorbidities of diabetes mellitus type 2 — metformin 1000 mg daily, or diabeton 3,5 mg daily was used.

Patients of the main (experimental) group were offered fixed combination pill (lisinopril, amlodipine, rosuvastatin in one tablet) 5+10+10 or 10+20+20 once daily in the evening and aspirin 75 mg in the evening or glucose lowering medication.

We compared the effectiveness of the fixed combination pill (lisinopril, amlodipine, rosuvastatin) therapy with the isolated pill therapy that included in separate tablets an ACE inhibitor (ramipril, lisinopril, perindopril), a diuretic (thiazide or loop diuretic), statins, calcium channel blocker from minimum to maximal titrated doses (from 5+10+10 and 2.5+12.5 to 10+20+20 and 5+25 in the treatment of the main diseases.

Descriptive statistics for quantitative data consisted of mean value and standard deviation for normally distributed samples and median with first and third quadriles for other samples. Statistical significance of effect for paired samples were studied by paired t-test for normal samples and Wilcoxon test for other ones. For independent samples t-test was applied when data displayed normal pattern of distribution, and Mann-Whitney test if not. Normality was studied using Kolmogorov-Smirnov test.

Nominal data were described with frequencies and percentages of the total for each attribute's value. Significance of difference between groups was studied by χ -squared test.

For all tests P-values less than 0.05 were considered as an indication of statistical significance.

RESULTS

Table 1 shows if any differences in main studied parameters measured before and after treatment were found and if they were statistically significant comparing two groups of patients. There was statistically significant difference of pre- and post-treatment values found of sys-

tolic blood pressure registered in both groups ($p < 0.001$) and diastolic blood pressure for control group ($p < 0.001$). But there was no statistically significant difference as regards to these parameters between main and control groups. There was statistically significant difference between combined pill treatment and separate pills treatment groups in cholesterol levels achieved. Cholesterol levels were statistically significantly reduced in patients with fixed-mode therapy compared to those on separate-mode one ($p < 0.05$). There were no statistically significant changes between two groups of patients concerning BMI, as well as in blood levels of glucose, creatinine, ALT, AST, triglycerides, potassium, magnesium, and sodium, as well as in their pulse rates, that is why the above-mentioned values are absent in the table.

Table 1

Statistically significant changes in main parameters studied (N stands for number of patients)

Attribute	Main group, N = 63			Control group, N = 41		
	Mean(SD) Me (Q1;Q3)	Mean (SD) Me (Q1;Q3)	P value	Mean(SD) Me (Q1;Q3)	Mean(SD) Me (Q1;Q3)	P value
Systolic Blood Pressure (mm Hg)	159 (19)	128(37)	< 0.001	160 (21)	127 (19)	< 0.001
Diastolic Blood Pressure (mm Hg)	95 (90;100)	83 (80;90)	0.09	100 (90;100)	80 (73;87)	< 0.001
Total Cholesterol (mM/l)	5.77(1.60)	4.77 (1.40)	0.015	5.18 (1.19)	4.73 (1.23)	0.12

Total cholesterol level (TC) in blood was reduced after treatment by 0,45 mM/l in the control group that was, however, not statistically significant, but its reduction by 0,99 mM/l in the main group was statistically significant (Fig. 1).

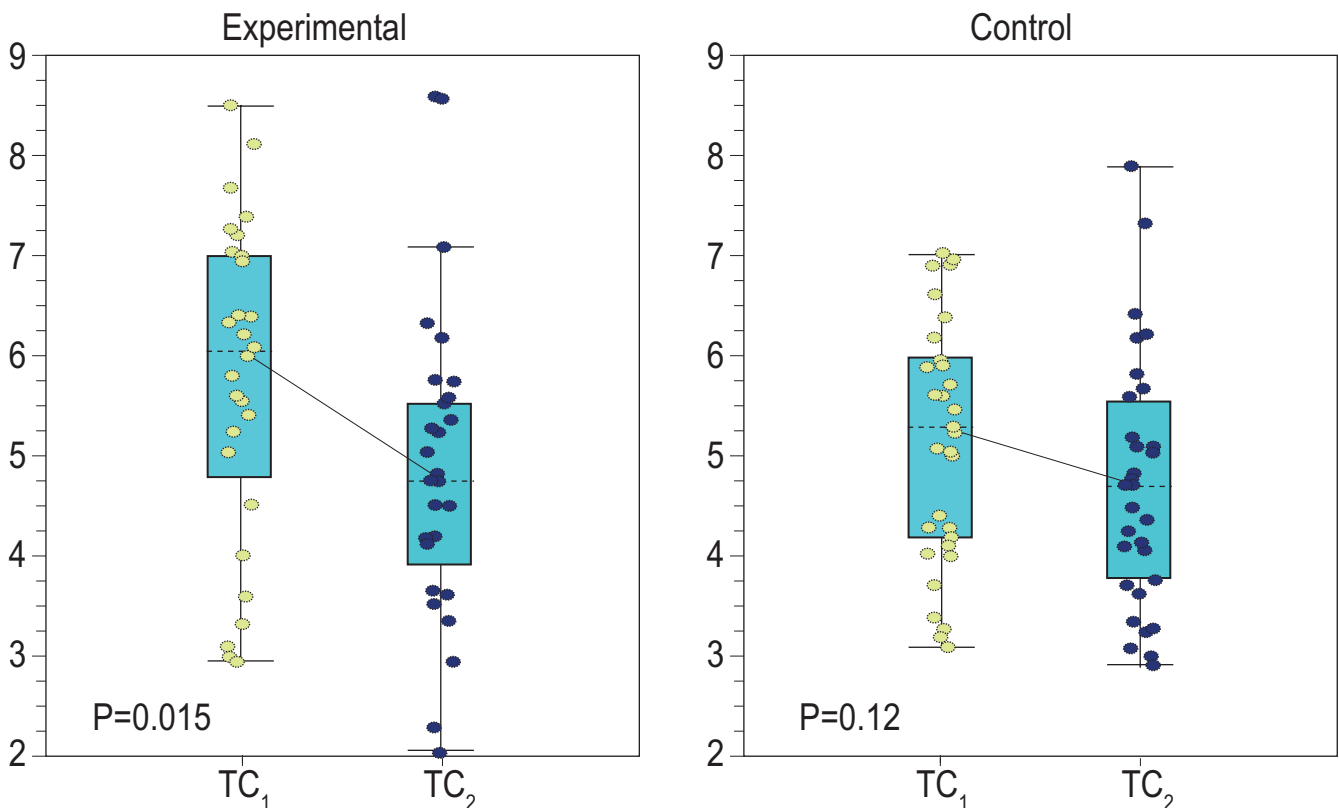


Fig. 1. Total blood cholesterol (TC) levels in combined pill treatment group (left) and isolated pill treatment group (right) groups before (1) and after (2) treatment

DISCUSSION

Fixed combination therapy was noticed to be more beneficial in both patients with essential hypertension only and patients with concurrent comorbidities such as diabetes mellitus type 2, congestive heart failure, metabolic syndrome and postoperative patients with aortocoronary shunts operations and stent placement, as well as with strokes and myocardial infarctions episodes in the anamnesis. Similar effects were noticed in the research made by J. Redon et al. [19]. There was also a tendency noticed in the patients to abstain from sartan use due to possible side effects and rare liver damage side effects described in mass media. Having sartans in the combination pill therapy resulted not only in statistically significant cholesterol level reduction, according to present study, but also in significant decrease in such hemodynamic and echocardiographic parameters as diastolic and systolic blood pressure level, myocardial mass and heart rate, according to O.M. Bochar et al. [6].

We concluded that fixed therapy is more efficient in both blood pressure and dyslipidemias control. Fewer side effects were noticed after fixed combination therapy and lower dose of the titration, compared to isolated treatment [8].

Primary care physicians and general practitioners are specialists responsible for the effective management of hypertensive disease and lifestyle modifications associated with better blood pressure and hyperlipidemia control. We conducted our study on the base of the primary healthcare system institution — an outpatient consultative and diagnostic polyclinic.

Both social and biological factors have great impact on individual efficacy of chronic arterial hypertension control in treatment of outpatients, and the matter is studied extensively.

Studies of the primary healthcare system conducted in China showed that BMI, age and living in urban areas compared to rural areas have been considered negative factors in achieving blood pressure targeted numbers. Positive factors turned out to be better education and lower baseline systolic blood pressure [24]. Negative consequences of uncontrolled high blood pressure included not only high risk of stroke and myocardial infarction, but also elevated blood levels of both asymmetric dimethylarginine (ADMA) and creatinine [17].

Studies conducted by M.E. Statsenko and M.V. Derevyachenko that included 30 patients with diabetes mellitus type 2 and arterial hypertension showed that the combination of an ACE inhibitor and a diuretic can be effective not only in achieving blood pressure goals but also safe for recovering endothelial function in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2. The results of occlusion tests were used as the method to determine the concentration of NO metabolites and endothelin-1 in urine and serum [23].

C.A.C. da-Silva et al., 2019 in their studies tried to establish the correlation between certain occupation (police officers), metabolic syndrome, overweight/obesity, hyperlipidemia and hypertension. They have figured out that there is a tendency to develop certain diseases with certain occupational skills and time frame of working [7].

L.C. Baptista et al. conducted a study where the implemented exercise for both group — control and experimental — was used. They divided patients age 60 or more into two treatment groups — first group got only ACE inhibitors, second got ACE inhibitor and combined therapy. The results showed that the functional status improved significantly in both groups. Monotherapy with ACE inhibitor significantly reduced both blood pressure and body mass index, and combined therapy reduced hip-to-waist ratio and blood pressure. ACE inhibitors and exercise can both be implemented successfully to achieve targeted blood pressure results and improve health-related quality of life [4].

There are also studies showing that fixed combination of calcium channel blockers, diuretic and ACE inhibitors showed high rate of achievement of target blood pressure levels [15]. One should keep in mind though that vigorous early hypertension treatment can worsen renal outcome by reducing renal perfusion — there are recent studies conducted by R. Greite et al., that proved this concept. Adding calcium channel blocker to the scheme of ACE inhibitor + diuretic showed significantly better results of achieving target blood pressure levels in the study conducted by T.M. Solomennchuk et al. (which allowed to achieve target levels of blood pressure in 79% — 86% of cases). Combined treatment was characterized by good endurance and high adherence to treatment scheme [22].

There have been several studies conducted on molecular level: Recently S. Zhang et al. showed a positive correlation between lengthening of leukocyte telomere size and decreased systolic blood pressure and pulse pressure. They concluded that arterial hypertension is associated with telomere length [24]. M. He et al. studied a transmembrane serine protease named corin that activates atrial natriuretic peptide and tried to associate the corin structure with the underline mechanism of hypertension [13].

The relationship between adherence to antihypertensive drugs and the risk of death has been assessed in the study by S.H. Rea et al., 2020. The adherence was measured as the risk of death in frail and non-frail elderly individuals. Adherence was measured by the proportions of the follow-ups covered by prescriptions. High-adherence patients exhibited statistically significant lower risk of all-cause mortality as well as cardiovascular mortality compared to low-adherence [18].

There is also possible positive effect on the patient's cognitive function with better hyperlipidemia and hypertension control, that helps to prevent dementia and retard the progressing of Alzheimer disease. An additional antihypertensive drug guanfacine was proved to be effective in the treatment of arterial hypertension due to its favorable antihypertensive action, few side-effects, and the possibility of administration in daily single doses [10]. In patients with heart failure with preserved ejection fraction, several months of pulmonary arterial hypertension-specific treatment proved to increase both right ventricular and left ventricular stroke volumes [14].

We measured adherence and compliance according to the questionnaires. Patients compliant with the medication who have not forgotten to take the prescribed combined or monotherapy,

had shown better results according biochemical values and blood pressure control numbers achieved.

There has been a trend towards poor hypertension disease control worldwide. Different studies concluded that there is an association between various biological and psycho-social factors and failure of treatment. At the same time patient education and treatment compliance significantly contribute towards better control of elevated blood pressure [3]. Most common factors that can contribute to the increased blood pressure include ethnicity/race and country of origin (for example, it was demonstrated that population of Hispanic origin is less susceptible to hypertension compared to US-born people). The lifestyle and risk behaviors such as alcohol consumption and tobacco smoking are of strong significance also [25–27].

There have been numerous clinical trials showing patients with arterial hypertension require at least two or more antihypertensive drugs to reach adequate blood pressure control. Current European guidelines for the arterial hypertension treatment recommend combined therapy once monotherapy failed. In certain situations, such as markedly elevated blood pressure values, very high cardiovascular risks and lower than 130/80 targets are required — combined therapy can be used as a first line. Among the most common advantages of combined therapy: Earlier and more efficient therapeutic effect, fewer side effects and lower titration doses used [9]. Our study shows better adherence with fixed combined therapy pill, statistically significant systolic and diastolic blood pressure control and statistically significant total cholesterol level reduction compared to isolated mode of therapy. Several other works provided similar data. There is proved evidence that combined therapy reduces cardiovascular morbidity and mortality rate. Combined therapies with an angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) and a calcium channel blocker (CCB) is one of the combinations recommended by the European Society of Hypertension. There were identified 122 potentially relevant studies. 38 included combined therapies in one or both treatment schemes. A total of 12 publications were retrieved and provided data on the effects of the combined therapy with an ACEI and a CCB on cardiovascular mortality/morbidity in patients with HT [19]. The study of M.J. Schuemie et al., 2020 demonstrated the application of the Large-scale Evidence Generation and Evaluation across a Network of Databases (LEGEND) principles to hypertension treatments [21]. Patients who took fixed combined pill had reached statistically significant cholesterol level reduction and blood pressure control levels. Their adherence to the recommended therapy turned out to be better [16]. The advantage of combined fixed therapy included fast and more significant effect, better patient adherence to the recommended therapy, fewer side effects compared to isolated therapy and lower titration doses compared to isolated therapy [5, 9]. Efficacy of the fixed combined therapy was proved in patients without comorbid conditions and with comorbidities and concurrent diseases such as stroke/infarction, chronic heart disease, ischemic heart disease, diabetes mellitus type 2, metabolic syndrome. The effectiveness of the blood pressure and cholesterol levels' control in the outpatient settings can be evaluated and subsequently mod-

ified based on the results of our study — fixed pill combinations can be successfully used to achieve targeted cholesterol values, target blood pressure numbers, improve heart rate, and help prevent cardiovascular complications.

ЛИТЕРАТУРА

1. Практикум по экспериментальной и клинической патологии. Под ред. Л.П. Чурилова. Изд. 3-е. СПб.: СпецЛит; 2017: 334–5. (In Russian).
2. Добролюбов Н.А. Органическое развитие человека в связи с его умственной и нравственной деятельностью. Избранные философские сочинения. Под ред. М.Т. Иовчука. М.: ОГИЗ, ГИПЛ; 1945: I. URL:http://az.lib.ru/d/dobrolyubow_n_a/text_1500.shtml (дата доступа 13.09.2020) (in Russian).
3. Azeez I. A., Dairo M. D., & Akinyemi J. O. Treatment Response in Adult Patients with Hypertension Attending a Secondary Health Care Center in South-West Nigeria. *Ann Ib Postgrad Med.* 2019; 17(2): 138–44.
4. Baptista L. C., Amorim A. P., Valente-Dos-Santos J., Machado-Rodrigues A. M., Verissimo M. T., & Martins R. A. Antihypertensive monotherapy or combined therapy: which is more effective on functional status? *Clin Exp Hypertens.* 2018; 40(7): 686–94. DOI:10.1080/10641963.2018.1425419.
5. Birabaharan M., Strunk A., & Martin T. C. S. Burden of Hypertension, Diabetes, Cardiovascular, and Lung Disease Among Women Living with HIV in the United States. *Clin Infect Dis.* 2020. DOI:10.1093/cid/ciaa1240.
6. Bochar O. M., Sklyarova H. Y., Faynyk A. F., Bochar V. T., Kuzminov Y. B., & Bazylevych A. Y. The effect of therapy with olmesartan or telmisartan in patients with arterial hypertension combined with obesity. *Wiad Lek.* 2020; 73(2): 321–4.
7. da-Silva C.A.C. et al. Association of dyslipidemia, hypertension and overweight/obesity with work shift and duration of employment among police officers in a small town in Northeastern Brazil. *Rev Bras Med Trab.* 2019; 17(4): 537–44.
8. Egan B. M., & Sutherland S. E. Antihypertensive Treatment in Elderly Frail Patients: Evidence From a Large Italian Database. *Hypertension.* 2020; 76(2): 330–2. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14786.
9. Escobar C., & Barrios V. Combined therapy in the treatment of hypertension. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010; 24(1): 3–8. DOI:10.1111/j.1472-8206.2009.00749.x
10. Faluhelyi A., & Szentkereszty A. Estulic monotherapy and combined antihypertensive therapy. *Ther Hung.* 1991; 39(2): 87–9.
11. Gorostidi M., & Prieto-Diaz M. A. Combination for initial therapy in hypertension, is it useful. *Hipertens Riesgo Vasc.* 2017; 34(1): 19–24. DOI:10.1016/S1889-1837(18)30059-X
12. Greite R., Derlin K., Hensen B., Thorenz A., Rong S., Chen R., Gueler F. Early antihypertensive treatment and ischemia-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020. DOI:10.1152/ajprenal.00078.2020.
13. He M., Zhang Y., Li H., Liu M., Dong N., & Wu Q. A common CORIN variant in hypertension reduces corin intracellular trafficking by ex-



- posing an inhibitory N-terminus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020; 530(1): 35–41. DOI:10.1016/j.bbrc.2020.07.023.
14. Huis In't Veld A. E., Oosterveer F. P. T., De Man F. S., Marcus J. T., Nossent E. J., Boonstra A., Handoko M. L.. Hemodynamic Effects of Pulmonary Arterial Hypertension-Specific Therapy in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and With Combined Post- and Precapillary Pulmonary Hypertension. *J Card Fail.* 2020; 26(1): 26–34. DOI:10.1016/j.cardfail.2019.07.547.
 15. Кобалава З. Д., Троицкая Е. А., Толкачева В. В. Комбинированная терапия артериальной гипертензии тройной комбинацией фиксированных доз амлодипина / индапамид / периндоприла аргинина в реальной клинической практике: организация и основные результаты доказательного исследования. *Кардиология.* 2018; 58(9): 21–30.
 16. Morales-Salinas A., Olsen M. H., Kones R., Kario K., Wang J., Beilin L., Marrugat J. Second Consensus on Treatment of Patients Recently Diagnosed With Mild Hypertension and Low Cardiovascular Risk. *Curr Probl Cardiol.* 2020; 100653. DOI:10.1016/j.cpcardiol.2020.100653.
 17. Подзолков В.И., Сафронова Т.А. и Наткина Д.Ю. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией. *Тер. арх.* 2019; 91(9): 108–14.
 18. Read S.H. and S.H. Wild, Prevention of premature cardiovascular death worldwide. *Lancet.* 2020; 395(10226): 758–60.
 19. Redon J., Trenkwalder P. R., & Barrios V. Efficacy of combination therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitor and calcium channel blocker in hypertension. *Expert Opin Pharmacother.* 2013; 14(2): 155–64. DOI:10.1517/14656566.2013.748037.
 20. Rosolová H. Kombinovaná terapie arteriální hypertenze. *Vnitř Lek.* 2013; 59(5): 366–9.
 21. Schuemie M. J., Ryan P. B., Pratt N., Chen R., You S. C., Krumholz H. M., Suchard M. A. Large-scale evidence generation and evaluation across a network of databases (LEGEND): assessing validity using hypertension as a case study. *J Am Med Inform Assoc.* 2020. DOI:10.1093/jamia/ocaa124.
 22. Solomennchuk, T. M., Slaba, N. A., Prots'ko, V. V., & Bedzai, A. O. Changes of twenty-four-hour profile blood pressure and its correction of patients with arterial hypertension on the background of combined antihypertensive therapy application. *Wiad Lek.* 2014; 67(2 Pt 2): 254–7.
 23. Стаценко М.Е., Деревянченко М.В. Возможности коррекции эндотелиальной дисфункции на фоне комбинированной антигипертензивной терапии у больных артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2 типа. *Кардиология.* 2015; 55(3): 17–20. (in Russian).
 24. Zhang S., Li R., Yang Y., Chen Y., Yang S., Li J., Zhang W. Longitudinal Association of Telomere Attrition with the Effects of Antihypertensive Treatment and Blood Pressure Lowering. *Aging Dis.* 2020; 11(3): 494–508. DOI:10.14336/AD.2019.0721
 25. URL: <https://www.eshonline.org/>
 26. International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. 2020; 75(6). URL: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>
 27. URL: <https://rarediseases.org/organizations/american-society-of-hypertension/>
- ## REFERENCES
1. *Praktikum po eksperimental'noy i klinicheskoy patologii.* [Practicum in Experimental and Clinical Pathology]. 3rd edition, Ed.: Churilov L.P. Saint Petersburg: SpezLit Publ.; 2017: 334–5. (In Russian).
 2. Dobrolyubov N.A. Organicheskoye razvitiye cheloveka v svyazi s yego umstvennoy i npravstvennoy deyatel'nost'yu. [The organic development of a person in connection with his mental and moral activity]. *Izbrannyye filosofskiyе sochineniya.* Ed. M.T. Iovchuk, Moscow: OGIZ, GIPL Publ.; 1945: I. URL:http://az.lib.ru/d/dobroljubow_n_a/text_1500.shtml (дата доступа 13.09.2020). (In Russian).
 3. Azeez I. A., Dairo M. D., & Akinyemi J. O. Treatment Response in Adult Patients with Hypertension Attending a Secondary Health Care Center in South-West Nigeria. *Ann Ib Postgrad Med.* 2019; 17(2): 138–44.
 4. Baptista L. C., Amorim A. P., Valente-Dos-Santos J., Machado-Rodrigues A. M., Verissimo M. T., & Martins R. A. Antihypertensive monotherapy or combined therapy: which is more effective on functional status? *Clin Exp Hypertens.* 2018; 40(7): 686–94. DOI:10.1080/10641963.2018.1425419.
 5. Birabaharan M., Strunk A., & Martin T. C. S. Burden of Hypertension, Diabetes, Cardiovascular, and Lung Disease Among Women Living with HIV in the United States. *Clin Infect Dis.* 2020. DOI:10.1093/cid/ciaa1240.
 6. Bochar O. M., Sklyarova H. Y., Faynyk A. F., Bochar V. T., Kuzminov Y. B., & Bazylevych A. Y. The effect of therapy with olmesartan or telmisartan in patients with arterial hypertension combined with obesity. *Wiad Lek.* 2020; 73(2): 321–4.
 7. da-Silva C.A.C. et al. Association of dyslipidemia, hypertension and overweight/obesity with work shift and duration of employment among police officers in a small town in Northeastern Brazil. *Rev Bras Med Trab.* 2019; 17(4): 537–44.
 8. Egan B. M., & Sutherland S. E. Antihypertensive Treatment in Elderly Frail Patients: Evidence From a Large Italian Database. *Hypertension.* 2020; 76(2): 330–2. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14786.
 9. Escobar C., & Barrios V. Combined therapy in the treatment of hypertension. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010; 24(1): 3–8. DOI:10.1111/j.1472–8206.2009.00749.x
 10. Faluhelyi A., & Szentkereszty A. Estulic monotherapy and combined antihypertensive therapy. *Ther Hung.* 1991; 39(2): 87–9.
 11. Gorostidi M., & Prieto-Diaz M. A. Combination for initial therapy in hypertension, is it useful. *Hipertens Riesgo Vasc.* 2017; 34(1): 19–24. DOI:10.1016/ S1889–1837(18)30059-X
 12. Greite R., Derlin K., Hensen B., Thorenz A., Rong S., Chen R., Gueler F. Early antihypertensive treatment and ischemia-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020. DOI:10.1152/ajprenal.00078.2020.
 13. He M., Zhang Y., Li H., Liu M., Dong N., & Wu Q. A common CORIN variant in hypertension reduces corin intracellular trafficking by exposing an inhibitory N-terminus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020; 530(1): 35–41. DOI:10.1016/j.bbrc.2020.07.023.
 14. Huis In't Veld A. E., Oosterveer F. P. T., De Man F. S., Marcus J. T., Nossent E. J., Boonstra A., Handoko M. L.. Hemodynamic Effects of

- Pulmonary Arterial Hypertension-Specific Therapy in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and With Combined Post- and Precapillary Pulmonary Hypertension. *J Card Fail.* 2020; 26(1): 26–34. DOI:10.1016/j.cardfail.2019.07.547.
15. Kobalava Z. D., Troitskaya Ye. A., Tolkacheva V. V. Kombinirovannaya terapiya arterial'noy gipertenzii troynoy kombinatsiyey fiksirovannykh doz amlodipina / indapamida / perindopрила arginina v real'noy klinicheskoy praktike: organizatsiya i osnovnyye rezultaty dokazatel'nogo issledovaniya. [Combined therapy of arterial hypertension with a triple combination of fixed doses of amlodipine / indapamide / perindopril arginine in real clinical practice: organization and main results of an evidence-based study]. *Kardiologiya.* 2018; 58(9): 21–30. (In Russian).
 16. Morales-Salinas A., Olsen M. H., Kones R., Kario K., Wang J., Beilin L., Marrugat J. Second Consensus on Treatment of Patients Recently Diagnosed With Mild Hypertension and Low Cardiovascular Risk. *Curr Probl Cardiol.* 2020; 100653. DOI:10.1016/j.cpcardiol.2020.100653.
 17. Podzolkov V.I., Safronova T.A. & Natkina D.Yu. Endotelial'naya disfunktsiya u patsiyentov s kontroliruyemoy i nekontroliruyemoy arterial'noy gipertenziiyey. [Endothelial dysfunction in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension]. *Ter Arkh.* 2019; 91(9): 108–14. (In Russian).
 18. Read S.H. and S.H. Wild, Prevention of premature cardiovascular death worldwide. *Lancet.* 2020; 395(10226): 758–60.
 19. Redon J., Trenkwalder P. R., & Barrios V. Efficacy of combination therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitor and calcium channel blocker in hypertension. *Expert Opin Pharmacother.* 2013; 14(2): 155–64. DOI:10.1517/14656566.2013.748037.
 20. Rosolová H. Kombinovaná terapie arteriální hypertenze. *Vnitř Lek.* 2013; 59(5): 366–9.
 21. Schuemie M. J., Ryan P. B., Pratt N., Chen R., You S. C., Krumholz H. M., Suchard M. A. Large-scale evidence generation and evaluation across a network of databases (LEGEND): assessing validity using hypertension as a case study. *J Am Med Inform Assoc.* 2020. DOI:10.1093/jamia/ocaa124.
 22. Solomennchuk, T. M., Slaba, N. A., Prots'ko, V. V., & Bedzai, A. O. Changes of twenty-four-hour profile blood pressure and its correction of patients with arterial hypertension on the background of combined antihypertensive therapy application. *Wiad Lek.* 2014; 67(2 Pt 2): 254–7.
 23. Statsenko M.Ye., Derevyanchenko M.V. Vozmozhnosti korrektsii endotelial'noy disfunktsii na fone kombinirovannoy antigipertenzivnoy terapii u bol'nykh arterial'noy gipertoniiyey i sakharnym diabetom 2 tipa. [Possibilities of endothelial dysfunction correction against the background of combined antihypertensive therapy in patients with arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus]. *Kardiologiya.* 2015; 55(3): 17–20. (In Russian).
 24. Zhang S., Li R., Yang Y., Chen Y., Yang S., Li J., Zhang W. Longitudinal Association of Telomere Attrition with the Effects of Antihypertensive Treatment and Blood Pressure Lowering. *Aging Dis.* 2020; 11(3): 494–508. DOI:10.14336/AD.2019.0721.
 25. URL: <https://www.eshonline.org>.
 26. International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. 2020; 75(6). URL: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>.
 27. URL: <https://rarediseases.org/organizations/american-society-of-hypertension/>.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ТКАНИ МИОКАРДА В СЛУЧАЯХ ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ ОТ АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

© Ольга Витальевна Соколова

Бюро судебно-медицинской экспертизы. 195067, Санкт-Петербург; Екатерининский пр., 10.

Контактная информация: Ольга Витальевна Соколова — д.м.н., доцент, врач патологоанатом, врач судебно-медицинский эксперт.
E-mail: last_hope@inbox.ru

Резюме: Проведено морфологическое исследование ткани миокарда с целью характеристики и оценки метаболических повреждений в случаях внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии. Возникновение метаболических повреждений в ткани миокарда в случаях алкогольной кардиомиопатии является ярким отражением токсического воздействия на сердечную мышцу этанола и его метаболитов. Токсическое повреждение основных структурных компонентов сосудов микроциркуляторного русла способствует нарушению транспорта электролитов и питательных веществ с развитием трофических нарушений и нарастающих явлений гипоксии, что в совокупности является причиной для возникновения дистрофических и некробиотических изменений в ткани миокарда. Выявленные в поляризованном свете контрактурные повреждения кардиомиоцитов, внутриклеточный миоцитоллиз и глыбчатый распад миофибрилл носили мозаичный характер и играли непосредственную роль в возникновении нарушений сердечного ритма. Иммуногистохимическое исследование экспрессии десмина может быть рекомендовано в качестве маркера ишемических и некробиотических изменений в кардиомиоцитах, развитие которых возможно на фоне субтоксических концентраций этанола в крови. Результатами проведенного морфометрического исследования паренхиматозного компонента ткани миокарда установлено, что относительная площадь паренхимы не находится в прямой зависимости от возраста и половой принадлежности умерших от алкогольной кардиомиопатии. В судебно-медицинской практике для диагностики алкогольной кардиомиопатии следует рекомендовать использовать совокупность морфологических методов, включающих в себя световую микроскопию, методы поляризационной микроскопии, а также иммуногистохимический метод исследования.

Ключевые слова: метаболические повреждения миокарда, десмин, алкогольная кардиомиопатия.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC AND EVALUATION OF METABOLIC DAMAGES OF MYOCARDIAL TISSUE IN CASES OF SUDDEN HEART DEATH FROM ALCOHOLIC CARDIOMYOPATHY

© Olga V. Sokolova

Forensic Medical Bureau. 195067, Saint-Petersburg; Ekaterininsky pr., 10.

Contact Information: Olga V. Sokolova — MD, associate professor, pathologist, forensic expert. E-mail: last_hope@inbox.ru

Abstract: A morphological study of myocardial tissue was carried out to characterize and evaluate metabolic lesions in cases of sudden cardiac death from alcoholic cardiomyopathy. The occurrence of metabolic damages in myocardial tissue in cases of alcoholic cardiomyopathy is a vivid reflection of the toxic effects on the cardiac muscle of ethanol and its metabolites. The toxic damage of the main structural components of the vessels of the microcirculatory bed contributes to the disruption of the transport of electrolytes and nutrients with the development of trophic disorders and the increasing phenomena of hypoxia, which together is the cause for the occurrence of dystrophic and necrobiotic changes in myocardial tissue. The contracture damages of cardiomyocytes, intracellular myocytolysis, and cationic decomposition of myofibrils were revealed in polarized light, they were mosaic in nature and played a direct role in the occurrence of cardiac rhythm disturbances. An immunohistochemical study

of desmin expression can be recommended as a marker of ischemic and necrobiotic changes in cardiomyocytes, the development of which is possible against a background of subtotal concentrations of ethanol the blood. The results of a morphometric study of the parenchymal component of myocardial tissue have established that the relative area of the parenchyma is not directly related to the age and sex of those who died from alcoholic cardiomyopathy. It is recommended to use a combination of morphological methods, including light microscopy, polarization microscopy methods and immunohistochemical method of investigation for the diagnosis of alcoholic cardiomyopathy in forensic practice.

Key words: Key words: metabolic myocardial damages, desmin expression, alcoholic cardiomyopathy.

Длительное токсическое воздействие этанола и его метаболитов приводит к угнетению процессов клеточного энергетического метаболизма, что, несомненно, может приводить к тяжёлым дистрофическим и некробиотическим изменениям в миоцитах, вызывающим электрическую нестабильность миокарда с развитием внезапной сердечной смерти. Явления альтерации кардиомиоцитов, обусловленные метаболическими нарушениями на фоне токсического воздействия этанола и его метаболитов, приводят к нарушению сократительной функции сердечной мышцы [1, 2, 4, 5].

Метаболические повреждения миокарда могут привести к нарушению синтеза белков, являющихся компонентами цитоскелета клетки. Цитоскелет клетки представляет собой сложную, подвижную внутриклеточную структуру, направленную на поддержание целостности и формы клетки при воздействиях внешних факторов, на участие в процессах экзоцитоза и эндоцитоза, а также на обеспечение активного внутриклеточного транспорта и её деления. Являясь клеточным каркасом, цитоскелет состоит из множества белков, формирующих внутри цитоплазмы живой клетки многофункциональные структурные элементы, такие как микрофиламенты, промежуточные филаменты и микротрубочки [5, 11].

Одним из главных структурных белков цитоскелета сердечных поперечно-полосатых мышечных волокон является десмин, входящий в состав промежуточных филаментов, располагающихся вблизи с Z-линией в саркомерах, являющихся, в свою очередь, сократительным аппаратом сердечных миоцитов [12, 13]. Необходимо отметить, что десмин связывает миофибриллы, соединяя при этом Z-диски, вокруг которых формирует структуры, присоединяющие Z-диски к цитоплазматической части мембраны миоцита. При этом десмин соединяет сократительный аппарат с основными органеллами клетки, что в целом поддерживает структурную и обеспечивает механическую целостность кардиомиоцита [11, 12, 13, 14].

В настоящее время имеется много научных исследований, посвящённых изучению процессов метаболизма в миокарде при разной патологии сердечно-сосудистой системы [3–10]. Тем не менее, вопрос о метаболических повреждениях миокарда в случаях алкогольного поражения сердца до сих пор остаётся до конца не раскрытым, что вызывает определённые трудности в возможностях разработки алгоритма микроскопического исследования, а также установки диагностических критериев алкогольной кардиомиопатии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить метаболические повреждения миокарда в случаях внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили акты судебно-медицинских вскрытий как из архива, так и текущего материала СПб ГБУЗ «БСМЭ» в количестве 900 исследуемых случаев (435 женщин и 465 мужчин) за период с 2014г. по 2020г. В зависимости от возраста все умершие были разделены на следующие возрастные группы: I группа 25–35 лет (163 мужчин, 137 женщин); II группа 36–45 лет (171 мужчина, 129 женщин); III группа 46–60 лет (131 мужчина, 169 женщин). Данное распределение материала по группам было обусловлено классификацией ВОЗ для взрослых. По результатам судебно-медицинских исследований СПб ГБУЗ «БСМЭ» во всех исследуемых случаях в группах непосредственной причины смерти явилась острая недостаточность сердца, обусловленная алкогольной кардиомиопатией. Во всех исследуемых случаях у лиц, умерших от алкогольной кардиомиопатии, в крови и в моче был выявлен этанол от 0,3‰ до 1,5‰.

Для проведения гистологического исследования были использованы парафиновые блоки аутопсийного материала с изготовлением парафиновых срезов толщиной 5 мкм с размещением их на подготовленных предметных стёклах. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП-метод по Ли), железным гематоксилином по методу Рего, хромотропом 2Б — водным голубым по методу Н.З. Слинченко. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование было выполнено на срезах с парафиновых блоков с использованием моноклональных антител к Monoclonal Mouse Antibody Desmin (Diagnostic BioSystems). Результаты иммуногистохимического окрашивания оценивали качественно на всём исследуемом протяжении гистологического препарата. При помощи поляризационной микроскопии изучали и оценивали степени сокращения саркомера и его патологические изменения.

Морфометрическое исследование паренхиматозного компонента ткани миокарда проводилось на сканах гистологических

препаратов, полученных на аппарате 3D HISTECH Panoramic MIDI. Морфометрическое исследование проводилось в 20 полях зрения в каждом препарате при увеличении микроскопа $\times 400$. Обработка полученных данных проводилась в программе Panoramic Viewer version 1.15.4 с вычислением относительных показателей от общей площади исследуемой ткани в полях зрения.

Полученные значения были представлены в виде средневыборочного, полуширины доверительного интервала и медианы ($M \pm m$, Me), и для выявления различий между выборками был выбран критерий U-Манна-Уитни, а для определения связей — коэффициент корреляции r-Спирмана. Различия считались значимыми при уровне значимости $p < 0,01$. Для обработки данных был использован пакет прикладных программ с применением программного обеспечения IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 20.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе обзорной световой микроскопии во всех исследуемых образцах миокард по своему строению был гетероморфен. Участки гипертрофированных кардиомиоцитов чередовались с участками кардиомиоцитов с признаками атрофии. В саркоплазме кардиомиоцитов определялись мелкозернистые эозинофильные структуры и вакуоли с прозрачным содержимым, умеренно смещающие ядра на периферию мышечного волокна. При этом кардиомиоциты содержали ядра разной формы: палочковидной, овоидной, круглой и полигональной формы. Ядра в отдельных кардиомиоцитах были пикнотичными, а в отдельных миоцитах — просветлены. По полюсам ядер миоцитов определялись скопления зёрен липофусцина, которые распространялись от полюсов ядер по саркоплазме в виде тонких и клиновидных полосок.

В интрамуральных отделах исследуемого миокарда отмечались очаги фрагментированных миоцитов, рядом с которыми располагались участки выражено истончённых с волнообразной деформацией кардиомиоцитов с неравномерным исчезновением в них поперечной исчерченности. Необходимо отметить, что в отдельных полях зрения исследуемого миокарда были обнаружены гигантские многоядерные кардиомиоциты с участками ветвления мышечных волокон и избыточного формирования беспорядочно расположенных перемычек между миоцитами.

Особого внимания заслуживали морфологические изменения в сосудистом русле. В процессе исследования отмечалось равномерное распределение сосудов как в субэндокардиальных, интрамуральных, так и в субэпикардиальных отделах исследуемых образцов ткани миокарда. Вены были расширены и выражено полнокровные с равномерно уплотнённым эндотелием. Неравномерно полнокровные артерии с несколько суженным просветом; эндотелиоциты выбухали в просвет сосуда и располагались частоколом, а внутренняя эластическая мембрана извита, ядра гладкомышечных клеток средней оболочки сосудистой стенки были укорочены. Стенки

полнокровных мелких артерий и сосудов микроциркуляторного русла были с признаками плазматического пропитывания и с наличием мелкофокусных периваскулярных кровоизлияний вокруг отдельных сосудов. Выраженное полнокровие капилляров с резко набухшими с признаками пролиферации эндотелиоцитами, которые частично располагались в виде частоколом на относительно одинаковом расстоянии друг от друга. В просвете отдельных капилляров определялись эритроцитарные стазы с явлениями сладж-феномена с умеренным отёком периваскулярных пространств.

При исследовании образцов ткани миокарда субэндокардиальных отделов левого желудочка и межжелудочковой перегородки в окраске по методу Рего во всех исследуемых полях зрения миокард был окрашен в коричневый цвет. В данных образцах диффузно располагались в исследуемом миокарде мышечные волокна, окрашенные частично или полностью в чёрный или тёмно-серый цвет.

При окраске исследуемых образцов ткани миокарда субэндокардиальных отделов левого желудочка и межжелудочковой перегородки хроматропом 2В определялись зоны ацидофилии саркоплазмы в области контрактурных изменений миоцитов. В свою очередь, в миоцитах с явлениями внутриклеточного миоцитолита зоны ацидофилии были слабо выражены или отсутствовали, а в кардиомиоцитах с глыбчатым распадом миофибрилл в саркоплазме отмечались окрашенные ацидофильные глыбки.

В исследуемых фрагментах ткани миокарда преимущественно в субэндокардиальных отделах левого желудочка, межжелудочковой перегородке и в сосочковой мышце при окраске по Ли отмечалась фуксинофилия как отдельных, так и небольших групп миоцитов, располагающихся диффузно в образцах сердечной мышцы. Следует отметить, что в исследуемой ткани субэпикардиальных отделов миокарда отмечалась фуксинофилия лишь отдельных кардиомиоцитов. При исследовании образцов ткани миокарда, окрашенных по Ли, в поляризованном свете были обнаружены поля свечения в кардиомиоцитах, совпадающие с фуксин-положительными очагами в миоцитах, располагающихся в субэндокардиальных отделах левого желудочка, межжелудочковой перегородке и в сосочковой мышце. Поля однородного свечения участков саркоплазмы с исчезновением поперечной исчерченности в участках пересокращения сегментов миофибрилл и сохранением поперечной исчерченности между фокусами сокращения саркомеров (субсегментарные контрактуры). Также, в исследуемом миокарде были визуализированы очаги сегментарных контрактур в виде однородного свечения всего кардиомиоцита.

При исследовании в поляризованном свете в исследуемых срезах миокарда субэндокардиальных отделов левого желудочка и межжелудочковой перегородки отмечались единичные или в виде небольших групп миоциты с признаками внутриклеточного миоцитолита, которые характеризовались исчезновением очагов анизотропии с исчезновением поперечной исчерченности из-за разрушения I-дисков миофибрилл. В единичных

миоцитах исследуемых срезов определялся глыбчатый распад миофибрилл, который при световой микроскопии определялся в виде неравномерной окраски саркоплазмы с чередованием плотных и светлых участков, а в свою очередь, при исследовании в поляризованном свете был визуализирован по исчезновению поперечной исчерченности в кардиомиоцитах с наличием в местах её отсутствия множественных глыбок анизотропных субстанций с ярким свечением.

Согласно результатам, полученным в ходе иммуногистохимического исследования, экспрессия десмина в исследуемых образцах ткани миокарда была равномерно выраженной в миоцитах во всех полях зрения и была представлена в исследуемых мышечных волокнах в виде поперечной исчерченности. Однако в исследуемых образцах ткани миокарда субэндокардиальных отделов левого желудочка, межжелудочковой перегородки и в сосочковой мышце в отдельных полях зрения отмечались единичные, местами небольшие группы кардиомиоцитов, экспрессия десмина в которых была менее интенсивной, а в нескольких сегментах отдельных миоцитов отсутствовала полностью.

По результатам морфометрического исследования значения относительной площади паренхимы в исследуемой группе I составляли $(81,21 \pm 0,13)\%$; при $Me = 80,88$); в исследуемой группе II — $(80,34 \pm 0,13)\%$; при $Me = 80,78$); в исследуемой группе III — $(77,32 \pm 0,14)\%$; при $Me = 77,23$). Выявленные значения относительной площади паренхимы в исследуемых группах алкогольной кардиомиопатии были практически одинаковыми и достоверно значимых различий между данными показателями обнаружено не было ($p > 0,01$). В результате морфометрического исследования паренхиматозного компонента ткани миокарда установлено, что относительная площадь паренхимы не находится в прямой зависимости от возраста и половой принадлежности умерших от алкогольной кардиомиопатии.

Таким образом, обнаруженные в кардиомиоцитах контрактурные повреждения, внутриклеточный миоцитоз и глыбчатый распад миофибрилл носили мозаичный характер и играли непосредственную роль в возникновении нарушений сердечного ритма. Причиной развития тяжёлых дистрофических и некробиотических изменений в кардиомиоцитах явилась совокупность метаболических нарушений, возникших вследствие токсического воздействия на сердечную мышцу этанола и его метаболитов. Этанол и ацетальдегид подавляют активность Na^+K^+ -АТФазы, что приводит к накоплению в кардиомиоцитах ионов натрия и потере ионов калия. В результате нарушения деятельности кальций-АТФазы наблюдается массивное поступление в кардиомиоциты ионов кальция. Возникающие нарушения электролитно-ионного гомеостаза способствуют разобщению процессов возбуждения и сокращения кардиомиоцитов, что, в свою очередь, приводит к нарушению сократительной функции сердечной мышцы.

Этанол и его метаболиты вызывают гиперкатехоламинию вследствие усиления синтеза и высвобождения из

надпочечников большого количества катехоламинов, высокий уровень которых повышает потребность миокарда в кислороде, стимулирует метаболизм свободных жирных кислот по пути свободнорадикального (перекисного) окисления, оказывает кардиотоксическое действие, способствует нарушению сердечного ритма и перегрузке миокарда ионами кальция. Непосредственно под действием этанола и его метаболитов происходит угнетение процесса метаболического окисления свободных жирных кислот и активация процессов их перекисного окисления с образованием перекисей и свободных радикалов, что оказывает повреждающее действие на мембраны миоцитов. Действием этанола и его метаболитов подавляется активность митохондриальных окислительных ферментов и ферментов цикла Кребса, ингибируется окислительное фосфорилирование, вследствие чего в сердечной мышце уменьшается образование энергии. Возникающие водно-электролитные изменения и нарушения процессов энергетического обмена в ткани миокарда играют непосредственную роль в формировании процессов возбуждения и отражаются на состоянии сократительного аппарата сердца.

Необходимо отметить, что выявленные морфологические изменения эндотелиальной выстилки сосудов микроциркуляторного русла являются отражением не только прямого цитотоксического действия этанола и его метаболитов, но и результатом действия клеточных медиаторов, выброс которых происходит вследствие раздражения реактивных клеток. Несомненно, набухание и деформация эндотелиоцитов, повышение активности клеточных мембран эндотелия и расширение межклеточных пространств с формированием повышенной проницаемости эндотелиальной выстилки изменяют транспорт электролитов и питательных веществ с развитием выраженных трофических нарушений и явлений гипоксии, что в своей совокупности является субстратом для возникновения дистрофических и некробиотических изменений в основных структурных компонентах сердечной мышцы.

В свою очередь, выявленная слаболожительная экспрессия десмина, местами её полное отсутствие в миоцитах исследуемых срезов субэндокардиальных отделов левого желудочка, межжелудочковой перегородки и в сосочковой мышце, вероятнее всего, обусловлена тем, что десмин, принимая активное участие в регуляции кислородного и энергетического процессов в клетке, исчезает из области Z-полос миоцита вследствие ишемического повреждения кардиомиоцита и развития в нём некробиотических изменений. Данный факт позволяет нам предположить, что выявленные ишемические и некротические изменения в сердечной мышце в случаях алкогольной кардиомиопатии могут развиваться даже на фоне низких концентраций этанола. Несомненно, выявленные особенности экспрессии десмина в случаях алкогольной кардиомиопатии подтверждают влияние токсического действия этанола и его метаболитов на сердечную мышцу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое гистологическое исследование ткани миокарда в случаях алкогольной кардиомиопатии выявило, что возникновение в сердечной мышце метаболических повреждений является ярким отражением токсического действия этанола и его метаболитов. Исследованием установлено, что в развитии тяжёлых дистрофических и некробиотических изменений в кардиомиоцитах важную роль играет токсическое поражение стенок сосудов микроциркуляторного русла с развитием выраженных трофических изменений и нарастающих явлений гипоксии непосредственно в паренхиматозном компоненте миокарда. Метаболические повреждения миокарда носят мозаичный характер и лежат в основе нарушения процессов возбуждения и сокращения сердечной мышцы в случаях её алкогольного поражения. Выявленные ишемические и некробиотические изменения в кардиомиоцитах могут развиваться на фоне субтоксических концентраций этанола в крови. Иммуногистохимическое исследование экспрессии десмина может быть рекомендовано в качестве маркера ишемических и некробиотических изменений кардиомиоцитов в случаях алкогольной кардиомиопатии. Для исследования и диагностики алкогольной кардиомиопатии в судебно-медицинской практике следует рекомендовать использование совокупности морфологических методов, включающих в себя световую микроскопию, методы поляризационной микроскопии, а также иммуногистохимический метод исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витер В.И., Кунгурова В.В., Коротун В.Н. Судебно-медицинская гистология. Руководство для врачей. Ижевск-Пермь: Экспертиза; 2011.
2. Пермяков А.В., Витер В.И. Патоморфология и танатогенез алкогольной интоксикации. Ижевск: Экспертиза; 2002.
3. Пиголкин Ю.И., Морозов Ю.Е., Мамедов В.К. Судебно-медицинская диагностика острой и хронической алкогольной интоксикации. Судебно-медицинская экспертиза. 2012; 55 (1): 30–3.
4. Соколова О.В. Морфологические изменения ткани миокарда при внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии. Судебно-медицинская экспертиза. 2016; 59(1): 3–6.
5. Соколова О.В., Ягмуров О.Д., Насыров Р.А. Судебно-медицинская оценка морфологических изменений в миокарде, влияющих на его сократительную способность в случаях смерти от алкогольной кардиомиопатии. Педиатр. 2018; 9(1): 23–8.
6. Струков Д.В., Александрович Ю.С., Васильев А.Г. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока. Педиатр. 2014; 5(2): 81–7.
7. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С., Кorableв Р.В., Печатникова В.А., Васильев А.Г., Анисимов В.Н. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неоангиогенеза и гиперкоагуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 158(10): 500–2.
8. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78(3): 17–21.
9. Ягмуров О.Д. Гистогематический барьер как диагностический критерий при морфологических исследованиях в судебной медицине. Судебно-медицинская экспертиза. 2013; 56(1): 58–62.
10. Ягмуров О.Д. Гистогематический барьер сердца как морфологический критерий в судебно-медицинской диагностике алкогольной кардиомиопатии. Судебно-медицинская экспертиза. 2015; 58(3): 4–8.
11. Costa M.L., Escalera R. A., Cataldo A., Oliveria F., Mermelstein C. S. Desmin. Molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2004; 37(12): 1819–30.
12. Feinberg A.W., Alford P.W., Jin H., Ripplinger C.M., Werdich A.A., Sheehy S.P., Grosberg A., Parker K.K. Controlling the contractile strength of engineered cardiac muscle by hierarchical tissue architecture. Biomaterials. 2012; 33(23): 7523–5741.
13. Jafri M.S. Models of excitation-contraction coupling in cardiac ventricular myocytes. Methods in Molecular Biology. 2012; 910(1): 309–35.
14. Shah S., Davis J., Weisleder N., Kostavassili I., McCulloch A., Ralston E., Capetanaki Y., Lieber R. Structural and Functional Roles of Desmin in Mouse Skeletal Muscle during Passive Deformation. Biophysical Journal. 2004; 86(5): 2993–3008.

REFERENCES

1. Viter V.I., Kungurova V.V., Korotun V.V. Sudebno-medicinskaya gistologiya. Rukovodstvo dlya vrachej. [Forensic histology. A guide for doctors]. Izhevsk-Perm': Ekspertiza; 2011. (In Russian).
2. Permyakov A.V., Viter V.I. Patomorfologiya i tanatogenez alkohol'noj intoksikacii [Morbid Anatomy and thanatogenesis of the alcoholic intoxication]. Izhevsk: Ekspertiza; 2002. (In Russian).
3. Pigolkin Yu.I., Morozov Yu.E., Mamedov V.K. Sudebno-medicinskaya diagnostika ostroj i hronicheskoj alkohol'noj intoksikacii. [Forensic diagnosis of sharp and chronic alcohol intoxication]. Sudebno-medicinskaya ehkspertiza. 2012; 55(1): 30–3. (In Russian).
4. Sokolova O.V. Morfologicheskie izmeneniya tkani miokarda pri vnezapnoj serdechnoj smerti ot alkohol'noj kardiomiopatii. [The morphological changes in the myocardial tissue after sudden cardiac death from alcoholic cardiomyopathy]. Sudebno-medicinskaya ehkspertiza. 2016; 59(1): 3–6. (In Russian).
5. Sokolova O.V., Jagmurov O.D., Nasyrov R.A. Sudebno-medicinskaja ocenka morfologicheskijh izmenenij v miokarde, vlijajushhih na ego sokratitel'nuju sposobnost' v sluchajah smerti ot alkohol'noj kardiomiopatii. [Forensic medical assessment of morphological changes in the myocardium, affecting its contractile capacity in cases of death from alcoholic cardiomyopathy]. Pедиатр. 2018; 9(1): 23–8. (In Russian).
6. Strukov D.V., Aleksandrovich Yu.S., Vasiliev A.G. Aktual'nyye problemy sepsisa i septicheskogo shoka. [Actual problems of sepsis and septic shock]. Pедиатр. 2014; 5(2): 81–7 (In Russian).
7. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova Ye.S., Korablev R.V., Pechatnikova V.A., Vasil'yev A.G., Anisimov V.N. Leykemiya R-388 u

- myshey linii CDF1 kak test-sistema opukhol'-assotsirovannogo neoangiogeneza i giperkoagulyatsii. [R-388 Leukemia in CDF1 mice as a tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation test system]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 158(10): 500–2. (In Russian).
8. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolicheskaya terapiya mochekamennoy bolezni na razlichnykh modelyakh porazheniya pochek u krysa. [Metabolic therapy of urolithiasis in various kidney affection models in rats]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015; 78(3): 17–21. (in Russian).
 9. Yagmurov O.D. Gistogematicheskij bar'er kak diagnosticheskij kriterij pri morfologicheskikh issledovanijah v sudebnoj medicinine. [The histohematogenous barrier as a diagnostic criterion for morphological studies in forensic medicine]. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2013; 56(1): 58–62. (In Russian).
 10. Jagmurov O.D. Gistogematicheskij bar'er serdca kak morfologicheskij kriterij v sudebno-meditsinskoj diagnostike alkogol'noj kardiomiopatii. [The myocardial histo-hematic barrier as a morphological criterion to be used for forensic medical diagnostics of alcoholic cardiomyopathy]. *Sudebno-meditsinskaya jekspertiza*. 2015; 58(3): 4–8. (In Russian).
 11. Costa M.L., Escalera R. A., Cataldo A., Oliveria F., Mermelstein C. S. Desmin. Molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004; 37(12): 1819–30.
 12. Feinberg A.W., Alford P.W., Jin H., Ripplinger C.M., Werdich A.A., Sheehy S.P., Grosberg A., Parker K.K. Controlling the contractile strength of engineered cardiac muscle by hierarchical tissue architecture. *Biomaterials*. 2012; 33(23): 7523–5741.
 13. Jafri M.S. Models of excitation-contraction coupling in cardiac ventricular myocytes. *Methods in Molecular Biology*. 2012; 910(1): 309–35.
 14. Shah S., Davis J., Weisleder N., Kostavassili I., McCulloch A., Ralston E., Capetanaki Y., Lieber R. Structural and Functional Roles of Desmin in Mouse Skeletal Muscle during Passive Deformation. *Biophysical Journal*. 2004; 86(5): 2993–3008.

МЕХАНИЗМЫ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ И НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© Александр Дмитриевич Кашин¹, Мария Александровна Здорикова¹, Иван Добромиров Димов², Наталья Рафаиловна Карелина², Ирина Сергеевна Сесорова¹

¹ Ивановская государственная медицинская академия. 153012, Россия, Ивановская область, г. Иваново, Шереметевский пр., 8

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Контактная информация: Иван Добромиров Димов — к.б.н., ассистент кафедры анатомии человека. E-mail: doktordimov@mail.ru

Аннотация: В статье приведены основные молекулярные механизмы формирования лимфатических сосудов в онтогенезе. Приведены морфологические доказательства того, что лимфатический эндотелий имеет происхождение как из «венозных», так и из «не венозных» предшественников в разных эмбриональных тканях. Проанализирована роль лимфангиогенеза в развитии наследственных патологий лимфатической системы. Образование и специализация лимфатического эндотелия зависит и контролируется рядом белков: Prox1, CCBE, VEGF-C, VEGFR-3 и CCBE1, CoupTFII, Gata2 и Hhex и других на более поздней стадии развития. Наблюдение лимфагенеза на модельном объекте показало, что синтез фактора транскрипции Prox1 является критическим в образовании лимфатических сосудов. При его блокаде в случае нормального развития кровеносной системы лимфатическая система не образуется. Синтез Prox1 приводит к увеличению другого транскрипционного фактора — белка Sox18, мутация которого приводит к формированию редкого наследственного синдрома гипотрихоз–лимфедема–телеангиэктазия, последствиями которого, в том числе, являются нарушения формирования лимфатических сосудов. Наиболее тяжелые патологии наблюдаются в результате мутаций ключевых белков-участников лимфангиогенеза. Мутации рецептора лимфогенного фактора роста VEGFR3, транскрипционного фактора Sox18, генов *FOXC2* и *FAT4* принимают участие в разных этапах формирования лимфатических сосудов и приводят к возникновению различных синдромов, последствиями которых является лимфедема.

Ключевые слова: лимфангиогенез, лимфатическая система, лимфатические сосуды, белки, лимфатический эндотелий, лимфедема

LYMPHANGIOGENESIS MECHANISMS IN EMBRYOGENESIS AND THE LYMPHATIC VESSELS' HEREDITARY PATHOLOGY. REVIEW

© Aleksandr D. Kashin¹, Maria A. Zdorikova¹, Ivan D. Dimov², Natalia R. Karelina², Irina S. Sesorova¹

¹ Ivanovo State Medical Academy. 153012, Russia, Ivanovo region, Ivanovo, Sheremetevsky pr., 8

² Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

Contact Information: Ivan D. Dimov – Candidate of Biological Sciences, Assistant at the Department of Human Anatomy. E-mail: doktordimov@mail.ru

Abstract: The review describes basic molecular mechanisms of the formation of lymphatic vessels in ontogenesis. Morphological evidence has been obtained that the lymphatic endothelium is derived from both “venous” and “non-venous” precursors in different embryonic tissues. The role of lymphangiogenesis in the development of hereditary pathologies of the lymphatic system is analyzed. The formation and specification of lymphatic endothelium is dependent and controlled by a number of proteins: Prox1, CCBE, VEGF-C, VEGFR-3 and CCBE1, CoupTFII, Gata2 and Hhex, and others at a later stage of development. Observation of lymphagenesis on a model object [zebrafish] showed that

the synthesis of the transcription factor Prox1 is critical in the formation of lymphatic system. If it is blocked, then with the normal development of the circulatory system, the lymphatic system does not form. In turn, the synthesis of Prox1 leads to an increase in another transcription factor, the Sox18 protein, the mutation of which leads to the formation of a rare hereditary hypotrichosis – lymphedema – telangiectasia syndrome, the consequences of which, among other things, are disorders in the formation of lymphatic vessels. Thus, the most severe pathologies are observed as a result of mutations of key proteins participating in lymphangiogenesis. Mutations in the VEGFR3 lymphogenous growth factor receptor, Sox18 transcription factor, FOXC2 and FAT4 gene are involved in different stages of lymphatic vessel formation and lead to various syndromes, the consequences of which are lymphedema.

Key words: lymphangiogenesis, lymphatic system, lymphatic vessels, proteins, lymphatic endothelium, lymphedema

Эмбриональное происхождение лимфатических сосудов было исследовано уже в начале XX века [11]. В последние годы появились новые методы визуализации клеточной и молекулярной биологии, которые позволили значительно дополнить наши знания об этом процессе и продвинуться в понимании патогенеза лимфатической системы. В данном обзоре будут представлены ключевые молекулярные механизмы формирования лимфатических сосудов в онтогенезе и роль лимфангиогенеза в развитии наследственных патологий лимфатической системы. Традиционно считается, что лимфатические сосуды (ЛС) развиваются из венозных сосудов [1, 2, 11]. В то же время получены морфологические доказательства, что лимфатический эндотелий имеет происхождение как из «венозных», так и «невенозных» предшественников в разных эмбриональных тканях [4, 12].

Помимо транс-дифференцировки из венозного эндотелия, эмбриональным источником лимфатического эндотелия становятся: гемогенный эндотелий брыжеечных лимфатических сосудов [12]; группы клеток капилляров дермы [13], не дифференцированная популяция [14] клеток дорсальной дермальной лимфатической сосудистой сети; популяция клеток предшественников на вентральной стороне сердца [3, 15]. Наблюдение лимфагенеза на модельном объекте показало, что через 5 дней после оплодотворения яйцеклетки рыбки данио рерио между дорсальной аортой и задней кардиальной веной обнаруживаются тонкие и извитые ЛС, способные захватывать вещества из интерстиция [5, 16].

Образование и спецификация лимфатического эндотелия зависит и контролируется рядом белков: Prox1, CCBE, VEGF-C, VEGFR-3 и CCBE1 [17], Sox18 [18], CoupTFII [19], Gata2 [20] и Nhex [21] и ряда других на более поздней стадии развития. Критическим в образовании лимфатических сосудов является синтез фактора транскрипции Prox1 (Prospero-related homeobox protein-1). Если у эмбриона данио рерио заблокировать синтез данного белка, то у взрослой рыбки при нормальном развитии кровеносной системы лимфатическая система не образуется [16].

У мышей на девятой неделе эмбриогенеза на одной стороне кардиальной вены некоторые эндотелиальные клетки (ЭК) начинают экспрессировать белок Prox1 и белок-рецептор LYVE1 [22]. Повышенная концентрация белков Prox1, Coup TFII и Sox18 в эндотелиальных клетках определенного

участка вены вызывает образование в стенке венозного сосуда почек и запускает процесс их дифференцировки [23]. В свою очередь, синтез Prox1 приводит к увеличению другого транскрипционного фактора — белка Sox18. Будущие эндотелиальные клетки лимфатических сосудов мигрируют от центральных венозных сосудов и, сливаясь, образуют в интерстиции эмбриональные лимфатические мешки лимфатических сосудов (яремные, подвздошные, срединные, подмышечные), которые впоследствии дадут начало первичному лимфатическому сплетению.

Образование мешков ЛС происходит в тех областях, где мезодерма синтезирует специфический фактор роста эндотелия сосудов VEGF C-типа. Он имеет специфические рецепторы фактора роста сосудистого эндотелия VEGFR-3 (тип 3) и VEGFR-2 (тип 2), обладающие тирозинкиназной активностью [24]. Фактор роста эндотелия сосудов VEGF C-типа взаимодействует с сосудистым эндотелием через данные рецепторы, и влияет на их устойчивость к повреждающим факторам, модулирует миграцию и пролиферацию клеток. VEGF C-типа является специфическим фактором роста лимфатических сосудов. На примере модели рыбки данио рерио у данного фактора роста эндотелия была обнаружена способность к формированию паттернов Тьюринга, что приводит к возможности контроля образования лимфатических сосудов у эмбрионов рыбок за счет его взаимодействия с коллагеном I и MMP2.

Для прорастания лимфатических сосудов важно повышение синтеза белка нейропиллина-2 (Nrp2) и β 1-интегрина, которые присутствуют на поверхности эндотелиальных клеток [25]. Нейропиллин-2 специфически взаимодействует с VEGF-C и запускает процесс миграции эндотелиальных клеток и образования сосудистых почек. Антитела против нейропиллина-2, которые препятствуют связыванию VEGF-C, подавляют миграцию, но не пролиферацию эндотелиальных клеток лимфатических сосудов.

Молекула адгезии, белок β 1-интегрин образует комплексы фокальной адгезии с внутриклеточными киназами и адаптерными белками в ответ на механический стимул, увеличивает объем интерстициального пространства и способствует фосфорилированию и активации киназы VEGFR3-рецептора [26]. Показано, что антитела против β 1-интегрина подавляют точную подвижность и индуцированную VEGF-C [6, 26].

Комплекс VEGF-C-VEGFR-3 запускает миграцию и связывание между собой эндотелиальных клеток, в то время как комплекс VEGF-C-VEGFR-2 способствует увеличению размеров лимфатического сосуда, но не влияет на образование отростков [27]. При удалении у мышей одного из генов, кодирующих рецептор, возникает недоразвитая лимфатическая система, которая вовсе не образуется при удалении обоих генов [24]. Первые эмбриональные лимфатические капилляры располагаются в непосредственной близости от эмбриональных артериальных сосудов, что реализуется через систему сигнальной трансдукции, действующую на основе белков Notch/Dll4 [28]. По-видимому, такая локализация не случайна и важна для последующей нормальной работы внутристеночного «клапана», она связана с изменением давления в интерстиции за счет пульсации артерий.

После образования первичного лимфатического сплетения, запускается процесс дифференцировки лимфаносного русла. Так, у мышей, начиная с 15-го дня эмбриогенеза русло дифференцируется на лимфатический капилляр, преколлекторы и коллекторы. Первым признаком образования собирательных лимфатических сосудов является временное повышение синтеза фактора транскрипции Foxc2 [29]. Этот ген относится к семейству Forkhead транскрипционных факторов, которые характеризуются различными ДНК-связывающими forkhead доменами.

При блокаде или удалении белка Foxc2 созревание лимфатических капилляров в собирательные сосуды и образование клапанов лимфатических сосудов тормозятся [29]. Кроме того, для созревания ЛС необходимы: взаимодействие белков Foxc2 и NFAT [29] и функционирование белка ephrin-B2 [28].

В последующем в эндотелии лимфатического капилляра снижается синтез Prox1, VEGFR-3, LYVE1 и Ccl21, клетка начинает синтезировать и секретировать компоненты базальной мембраны, к которой снаружи начинают примыкать гладкие мышечные клетки (ГМК).

ГМК лимфатических сосудов отличаются от гладких миоцитов кровеносных сосудов как структурой, так и функциональными особенностями. Они синтезируют и содержат факторы, которые характерны как для гладкой мышечной ткани, так и поперечнополосатых мышечных волокон [30]. Как и в кровеносных сосудах для привлечения мышечных клеток важна экспрессия белка PDGFB в эндотелии собирающих лимфатических сосудов и его опосредованное связывание с матриксом [31]. Привлечение ГМК к будущим ЛС также регулируется с помощью взаимодействия семафорина и нейропилина, в частности, через Sema3a и нейропилин-1 [32], а также ангиопоэтин-2 [33].

Поляризация клеток, формирование и поддержание просвета являются ключевыми взаимозависимыми событиями в развитии лимфатических сосудов. Формирование правильной полярности эндотелиальных клеток важно не только для роста и функционирования сосудов, поскольку клетка должна правильно реагировать на прорастание и управляющие молекулы, но и для развития клапана.

Были выявлены ключевые регуляторы полярности эпителиальных клеток: Celsr1, Vangl2, Pkd1, Pkd2, и Fat4, которые также важны для развития клапана [34]. Белки полярности обеспечивают связь с цитоскелетом, лежащих в основе изменений формы и ориентации клеток [35]. Удлинение эндотелиальных клеток индуцируется механическим сигналом потока жидкости в сосудах [34]. В регуляции диаметра сосуда, а также целостности межклеточных контактов решающее значение имеет взаимодействие белков Rasip1 и Ras [36].

На месте устья сосудистой почки начинает формироваться клапан, за образование которого отвечают белки: Foxc2, NFAT, эфрин-Б2 [ephrin-B2]. Мутации каждого из них ведут к нарушению образования створок клапанов. Дефект створки возникает также при потере α -интегрина [37].

Во время всего периода онтогенеза эндотелиальные клетки клапанов активно синтезируют факторы транскрипции Foxc2 и Prox1 [29]. Кроме того, для формирования правильной конструкции клапана важна форма и ориентация эндотелиальных клеток, которые поддерживают белки полярности и цитоскелет [35].

Генетические дефекты участников лимфангиогенеза приводят к развитию ряда патологий лимфатической системы, подробный обзор которых представлен в статье Оливера с соавт., 2020 г. [39]. При этом наиболее тяжелые патологии наблюдаются в результате мутаций ключевых участников лимфангиогенеза.

Так, мутация рецептора лимфогенного фактора роста VEGFR3, изменяющая его тирозин-киназную активность, приводит к врожденной двусторонней лимфедеме нижних конечностей или синдрому Нонне–Милроя [40]. Данный синдром наследуется по аутосомно-доминантному типу с неполной пенетрантностью. Лимфедема — это хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся постоянным отеком мягких тканей, в основном нижних конечностей, которое связано с нарушением оттока лимфы по лимфатическим сосудам. Синдром Нонне–Милроя характерен тем, что отеки ног обнаруживаются уже при рождении.

Мутация транскрипционного фактора Sox18 приводит к формированию редкого наследственного синдрома гипотрихоз–лимфедема–телеангиэктазия, демонстрирующего, в том числе, нарушения лимфангиогенеза [41]. Соответственно, характерными признаками являются отеки конечностей, сосудистые звездочки (сосудистые расширения невоспалительного характера), которые проявляются на ладонях и подошвах чаще, чем на коже головы, ногах и гениталиях, и гипотрихоз или алопеция (патологическое выпадение волос, вплоть до их полной потери). Данный синдром связан как с аутосомно-доминантным, так и с аутосомно-рецессивным типом наследования. Лимфедема обычно проявляется в нижних конечностях в период полового созревания. Волосы обычно выпадают в младенчестве.

Мутация гена FOXC2 вызывает синдром лимфедемы-дистихиаза, при котором наблюдается дистихиаз (рост ресниц в несколько рядов) при рождении и двусторонняя лимфедема

ма нижних конечностей, развивающаяся в период полового созревания. Этот дефект связан с аномальным развитием и нарушением функции клапанов и структуры эндотелиального монослоя в собирательных лимфатических сосудах [39].

Большинство мутаций гена *FOXC2* представляют собой вставки или делеции нескольких пар нуклеотидов. Данные генетические изменения приводят к синтезу усеченных форм соответствующего белка. Дупликация и мутация со сдвигом рамки считывания приводит к тому же результату [7, 8, 9, 10].

В норме белок, кодируемый геном *FOXC2*, представляет собой транскрипционный фактор, который обладает доменом разветвленной головки (forkhead domain), предназначенным для связывания с ДНК. Этот белок участвует в развитии мезенхимальных тканей, в том числе лимфатических сосудов, области глаз, легких, почек, вен.

Люди с синдромом лимфедемы-дистихиаза имеют дополнительный ряд ресниц при рождении, а лимфедема у них развивается позже, в период полового созревания или после 40 лет, в очень редких случаях не развивается совсем. У мужчин обычно лимфедема появляется раньше, чем у женщин. Лечение синдрома лимфедемы-дистихиаза в настоящее время не найдено. Метод иммуногистохимии применялся для исследования этого заболевания на животной модели [42].

Недавно были обнаружены редкие варианты гена *LAMA5*, которые способны вызывать нарушения нормального функционирования лимфатической системы. Мутации гена *LAMA5* встречались в сочетании с мутациями генов *FOXC2* или *FLT4* у пациентов с синдромом лимфедемы-дистихиаза и синдромом Нонне–Милроя соответственно. Однако точный вклад мутаций гена *LAMA5* в развитие этих заболеваний пока не определен [43].

Белок ССВЕ важен для протеолитического расщепления и активации комплекса VEGFR3-VEGFC, поскольку он контролирует процесс отпочковывание будущих ЭК ЛС от эндотелия эмбриональных вен. Этот белок очень консервативен, а его мутация у человека вызывает наследственную болезнь — лимфатическую дисплазию с задержкой роста и умственного развития [44].

Лимфатическая дисплазия, приводящая к лимфедеме, объясняется несколькими возможными этиологическими причинами. Большинство пациентов с лимфедемой имеют гипоплазию или аплазию периферических лимфатических сосудов, а у некоторых детей отмечается недостаточность лимфатических клапанов, из-за которой лимфа течет в обратном направлении из грудного протока. Лимфатическая дисплазия является редкой причиной врожденного хилоторакса, при которой выявляются цитозный асцит и лимфедема, она описана у пациентов с рефрактерным врожденным хилотораксом, связанным с трисомией 21 [45].

Мутация гена *FAT4*, вызывающая формирование атипичного катгерина, идентифицирована у пациентов с синдромом Хеннекама (Тип-2), у которых происходит нарушение развития клапанов лимфатических сосудов, структуры эндотелиального монослоя и, как следствие, развивается периферическая лимфедема. Тип-3 этого синдрома также приводит к

формированию лимфедемы. Заболевание вызвано мутацией гена *ADAMTS3*, кодирующего фермент, необходимый для активации белка VEGF-C.

Таким образом, большинство генов, мутации которых вызывают тяжелые патологии лимфатической системы, участвуют в разных этапах лимфангиогенеза в процессе эмбрионального развития. Детальное понимание молекулярных механизмов расширяет наши представления о формировании патологий лимфатических сосудов человека и открывает новые возможности для разработки перспективных методов их лечения...

ЛИТЕРАТУРА

1. Казакова Т.Е., Димов И.Д., Карелина Н.Р., Сесорова И.С., Кашин А.Д., Миронов А.А. Ультраструктура энтероцита кишечной ворсинки мыши в состоянии относительного функционального покоя. Вестник новых медицинских технологий. 2018; 25 (4): 46–50.
2. Карелина Н.Г. Морфогенез, микроскопическая анатомия и ультраструктура ворсинок тощей кишки (экспериментально-морфологическое исследование): автореферат дис. ... доктора медицинских наук. М.; 1993.
3. Карелина Н.Р., Димов И.Д., Пелих К.И., Беззусенко Г.В., Сесорова И.С., Миронов А.А. Структурно-функциональные основы всасывания в кишечной ворсинке. Russian Biomedical Research. 2017; 2 (2): 34–43.
4. Карелина Н.Р., Димов И.Д., Казакова Т.Е., Сесорова И.С. Энтероцит и всасывание липидов. Морфология. 2018; 153 (3): 129–129а.
5. Миронов А. А., Миронов В.А. Микроангиоархитектоника (внутриорганные кровеносные русла). Иваново; 1990.
6. Миронов А.А. Комиссарчик Я.Ю. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб.: Наука; 1994.
7. Сесорова И.С., Казакова Т.Е., Димов И.Д., Миронов А.А. Транспорт липидов через комплекс гольджи в энтероците кишечной ворсинки. Морфология. 2019; 155 (2): 257.
8. Струков Д.В., Александрович Ю.С., Васильев А.Г. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока. Педиатр. 2014; 5 (2): 81–87.
9. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С., Кораблев Р.В., Печатникова В.А., Васильев А.Г., Анисимов В.Н. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неоангиогенеза и гиперкоагуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 158 (10): 500–502.
10. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78 (3): 17–21.
11. Sabin F.R. On the origin of the lymphatic system from the veins and the development of the lymph hearts and thoracic duct in the pig. Am. J. Anat. 1902; 1: 367–389.
12. Stanczuk L., Martinez-Corral I., Ulvmar M.H., Zhang, Y., Lavin'a B., Fruttiger M., Adams R.H., Saur D., Betsholtz C., Ortega S. et al.

- cKit Lineage Hemogenic Endothelium-Derived Cells Contribute to Mesenteric Lymphatic Vessels. *Cell Rep.* 2015; 10: 1708–1721.
13. Pichol-Thievend C., Betterman K.L., Liu X., Ma W., Skoczylas R., Lesieur E., Bos F.L., Schulte D., Schulte-Merker S., Hogan B.M. et al. A blood capillary plexus-derived population of progenitor cells contributes to genesis of the dermal lymphatic vasculature during embryonic development. *Development.* 2018; 145.
 14. Martinez-Corral I., Ulvmar M.H., Stanczuk L., Tatin F., Kizhatil K., John S.W., Alitalo K., Ortega S., Makinen T. Nonvenous origin of dermal lymphatic vasculature. *Circ. Res.* 2015; 116:1649–1654.
 15. Lioux G., Liu X., Temino S., Oxendine M., Ayala E., Ortega S., Kelly R.G., Oliver G., Torres M. A Second Heart Field-Derived Vasculogenic Niche Contributes to Cardiac Lymphatics. *Cell.* 2020; 52: 350–363.
 16. Yaniv K., Isogai S., Castranova D., Dye L., Hitomi J., Weinstein B.M. Live imaging of lymphatic development in the zebrafish. *Nat. Med.* 2006; 12: 711–716.
 17. D'Amico G., Jones D.T., Nye E., Sapienza K., Ramjuan A.R., Reynolds L.E. et al. Regulation of lymphatic-blood vessel separation by endothelial Rac1. *Development.* 2009; 136: 4043–4053.
 18. Francois M., Caprini A., Hosking B., Orsenigo F., Wilhelm D., Browne C., Paavonen K., Karnezis T., Shayan R., Downes M., et al. Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature.* 2008; 456: 643–647.
 19. Srinivasan R.S., Geng X., Yang Y., Wang Y., Mukatira S., Studer M., Porto M.P., Lagutin O., and Oliver G. The nuclear hormone receptor CoupTFII is required for the initiation and early maintenance of Prox1 expression in lymphatic endothelial cells. *Genes Dev.* 2010; 24: 696–707.
 20. Kazenwadel J., Betterman K.L., Chong C.E., Stokes P.H., Lee Y.K., Secker G.A., Agalarov Y., Demir C.S., Lawrence D.M., Sutton D.L. GATA2 is required for lymphatic vessel valve development and maintenance. *J. Clin. Invest.* 2015; 125: 2979–2994.
 21. Gauvrit, S, Villasenor, A, Strilic B., Kitchen P., Collins M.M., Marin-Juez R., Guenther S., Maischein H.M., Fukuda N., Canham M.A. et al. HHEX is a transcriptional regulator of the VEGFC/FLT4/PROX1 signaling axis during vascular development. *Nat. Commun.* 2018; 9: 2704.
 22. Wigle J.T., Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell.* 1999; 98: 769–778.
 23. François M., Harvey N.L., Hogan B.M. The transcriptional control of lymphatic vascular development. *Physiology [Bethesda].* 2011; 26: 146–155.
 24. Karkkainen M.J., Haiko P., Sainio K., Partanen J., Taipale J., Petrova T.V. et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat. Immunol.* 2004; 5: 74–80.
 25. Yuan L., Moyon D., Pardanaud L., Breant C., Karkkainen M.J., Alitalo K., Eichmann A. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development.* 2002; 129: 4797–4806.
 26. Planas-Paz L., Strilic B., Goedecke A., Breier G., Fassler, R., Lammer E. Mechanoinduction of lymph vessel expansion. *EMBO J.* 2012; 31: 788–804.
 27. Wirzenius M., Tammela T., Uutela M., He Y., Odorisio T., Zambruno G. et al. Distinct vascular endothelial growth factor signals for lymphatic vessel enlargement and sprouting. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 1431–1440.
 28. Wang Y., Nakayama M., Pitulescu M.E., Schmidt T.S., Bochenek M.L., Sakakibara A. et al. Ephrin-B2 controls VEGF-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature.* 2010; 465: 483–486.
 29. Normén C., Ivanov K.I., Cheng J., Zangger N., Delorenzi M., Jaquet M. et al. FOXC2 controls formation and maturation of lymphatic collecting vessels through cooperation with NFATc1. *J. Cell. Biol.* 2009; 185: 439–457.
 30. Muthuchamy M., Gashev A., Boswell N., Dawson N., Zawieja D. Molecular and functional analyses of the contractile apparatus in lymphatic muscle. *FASEB J.* 2003; 17: 920–922.
 31. Wang Y., Jin Y., Mae M.A., Zhang Y., Ortsater H., Betsholtz C., Makinen T., and Jakobsson L. Smooth muscle cell recruitment to lymphatic vessels requires PDGFB and impacts vessel size but not identity. *Development.* 2017; 144: 3590–3601.
 32. Bouvree K., Brunet I., Del Toro R., Gordon E., Prahst C., Cristofaro B., Mathivet T., Xu Y., Soueïd J., Fortuna V., et al. Semaphorin3A, Neuropilin-1, and PlexinA1 are required for lymphatic valve formation. *Circ. Res.* 2012; 111: 437–445.
 33. Dellinger M., Hunter R., Bernas M., Gale N., Yancopoulos G., Erickson R., Witte, M. Defective remodeling and maturation of the lymphatic vasculature in Angiopoietin-2 deficient mice. *Dev. Biol.* 2008; 319: 309–320.
 34. Betterman K.L., Sutton D.L., Secker G.A., Kazenwadel J., Oszmianna A., Lim L., Miura N., Sorokin L., Hogan B.M., Kahn M.L., et al. Atypical cadherin FAT4 orchestrates lymphatic endothelial cell polarity in response to flow. *J. Clin. Invest.* 2020; 130: 3315–3328.
 35. Bazigou E., Makinen T. Flow control in our vessels: vascular valves make sure there is no way back. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70: 1055–1066.
 36. Liu X., Gu X., Ma W., Oxendine M., Gil H.J., Davis G.E., Cleaver O., Oliver G. Rasip1 controls lymphatic vessel lumen maintenance by regulating endothelial cell junctions. *Development.* 2018; 145.
 37. Bazigou E., Xie S., Chen C., Weston A., Miura N., Sorokin L. et al. Integrin-alpha9 is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Dev. Cell.* 2009; 17: 175–186.
 38. Wirzenius M., Tammela T., Uutela M., He Y., Odorisio T., Zambruno G. et al. Distinct vascular endothelial growth factor signals for lymphatic vessel enlargement and sprouting. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 1431–1440.
 39. Oliver G., Kipnis J., Randolph G. J., Harvey N. L. The Lymphatic Vasculature in the 21st Century: Novel Functional Roles in Homeostasis and Disease. *Cell.* 2020; 182: 270–296.
 40. Butler M.G., Dagenais S.L., Rockson S.G., Glover T.W. A novel VEGFR3 mutation causes Milroy disease. *Am. J. Med. Genet. A.* 2007; 143A: 1212–1217.
 41. Francois M., Caprini A., Hosking B., Orsenigo F., Wilhelm D., Browne C., Paavonen K., Karnezis T., Shayan R., Downes M., et al. Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature.* 2008; 456: 643–647.
 42. Dagenais S.L., Hartsough R.L., Erickson R.P., Witte M.H., Butler M.G., Glover T.W. Foxc2 is expressed in developing lymphatic vessels and other tissues associated with lymphedema-distichiasis syndrome. *Gene Expr Patterns.* 2004; 4: 611–619.

43. Liu N. F., Yu Z. Y., Sun D., Lou Y. Rare Variants in LAMA5 Gene associated with FLT4 and FOXC2 Mutations in Primary Lymphedema May Contribute to Severity. *Lymphology*. 2016; 49: 192–204.
44. Hogan B.M., Bos F.L., Bussmann J., Witte M., Chi N.C., Duckers H.J., Schulte-Merker S. Ccbe1 is required for embryonic lymphangiogenesis and venous sprouting. *Nat. Genet.* 2009; 41: 396–398.
45. Ochiai M., Hikino S., Nakayama H., Ohga S., et al. Nonimmune hydrops fetalis due to generalized lymphatic dysplasia in an infant with Robertsonian trisomy 21. *Am J Perinatol* 2006; 23: 63–66.

REFERENCES

1. Kazakova T.E., Dimov I.D., Karelina N.R., Sesorova I.S., Kashin A.D., Mironov A.A. Ul'trastruktura enterocita kishechnoj vorsinki myshi v sostoyanii otnositel'nogo funktsional'nogo pokoya [Ultrastructure of mouse intestinal villus enterocyte in a state of relative functional rest]. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij*. 2018; 25(4): 46–50. (in Russian).
2. Karelina N.G. Morfogenez, mikroskopicheskaya anatomiya i ul'trastruktura vorsinok toshchej kishki [Morphogenesis, microscopic anatomy, and ultrastructure of jejunum villi] (eksperimental'no-morfologicheskoe issledovanie): avtoreferat dis. ... doktora medicinskih nauk. M.; 1993. (in Russian).
3. Karelina N.R., Dimov I.D., Pelih K.I., Beznusenko G.V., Sesorova I.S., Mironov A.A. Strukturno-funktsional'nye osnovy vsasyvaniya v kishechnoj vorsinke [Structural and functional basis of absorption in the intestinal villi]. *Russian Biomedical Research*. 2017; 2 (2): 34–43. (in Russian).
4. Karelina N.R., Sesorova I.S., Beznusenko G.V., SHishlo V.K., Sesorov V.V., Kazakova T.E., Mironov A.A. Ul'trastrukturnye osnovy processa obrazovaniya limfy [Ultrastructural basics of lymph formation]. *Morfologiya*. 2017; 151 (2): 7–19. (in Russian).
5. Mironov, A. A., Mironov V.A. Mikroangioarhitektonika (vnutrior-gannoe krovenosnoe ruslo) [Microangioarchitectonics (intraorgan bloodstream)]. Ivanovo; 1990. (in Russian).
6. Mironov, A.A., Komissarchik YA.YU., Mironov V.A. Metody elektronnoj mikroskopii v biologii i medicinie [Electron microscopy methods in biology and medicine]. Sankt-Peterburg: Nauka; 1994. (in Russian).
7. Sesorova I.S., Kazakova T.E., Dimov I.D., Mironov A.A. Transport lipidov cherez kompleks gol'dzhi v enterocite kishechnoj vorsinki [Lipid transport through the golgi complex in enterocyte of intestinal villi]. *Morfologiya*. 2019; 155 (2): 257. (in Russian).
8. Strukov D.V., Aleksandrovich Yu.S., Vasiliev A.G. [Actual problems of sepsis and septic shock]. *Pediatr*. 2014; 5(2): 81–87. (in Russian).
9. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova E.S., Korablev R.V., Pechatnikova V.A., Vasiliev A.G., Anisimov V.N. [R-388 Leukemia in CDF1 mice as a tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation test system]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny*. 2014; 158(10): 500–502. (in Russian).
10. Trashkov A.P., Vasiliev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolicheskaya terapiya mochekamennoy bolezni na razlichnykh modelyakh porazheniya pochek u kryis [Metabolic therapy of urolithiasis in various kidney affection models in rats]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015; 78 (3): 17–21. (in Russian).
11. Sabin F.R. On the origin of the lymphatic system from the veins and the development of the lymph hearts and thoracic duct in the pig. *Am. J. Anat.* 1902; 1: 367–389.
12. Stanczuk L., Martinez-Corral I., Ulvmar M.H., Zhang, Y., Laviña B., Fruttiger M., Adams R.H., Saur D., Betsholtz C., Ortega S. et al. cKit Lineage Hemogenic Endothelium-Derived Cells Contribute to Mesenteric Lymphatic Vessels. *Cell Rep*. 2015; 10: 1708–1721.
13. Pichol-Thievend C., Betterman K.L., Liu X., Ma W., Skoczylas R., Lesieur E., Bos F.L., Schulte D., Schulte-Merker S., Hogan B.M. et al. A blood capillary plexus-derived population of progenitor cells contributes to genesis of the dermal lymphatic vasculature during embryonic development. *Development*. 2018; 145.
14. Martinez-Corral I., Ulvmar M.H., Stanczuk L., Tatin F., Kizhatil K., John S.W., Alitalo K., Ortega S., Makinen T. Nonvenous origin of dermal lymphatic vasculature. *Circ. Res*. 2015; 116:1649–1654.
15. Lioux G., Liu X., Temino S., Oxendine M., Ayala E., Ortega S., Kelly R.G., Oliver G., Torres M. A Second Heart Field-Derived Vasculogenic Niche Contributes to Cardiac Lymphatics. *Cell*. 2020; 52: 350–363.
16. Yaniv K., Isogai S., Castranova D., Dye L., Hitomi J., Weinstein B.M. Live imaging of lymphatic development in the zebrafish. *Nat. Med*. 2006; 12: 711–716.
17. D'Amico G., Jones D.T., Nye E., Sapienza K., Ramjuan A.R., Reynolds L.E. et al. Regulation of lymphatic-blood vessel separation by endothelial Rac1. *Development*. 2009; 136: 4043–4053.
18. Francois M., Caprini A., Hosking B., Orsenigo F., Wilhelm D., Browne C., Paavonen K., Karnezis T., Shayan R., Downes M., et al. Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature*. 2008; 456: 643–647.
19. Srinivasan R.S., Geng X., Yang Y., Wang Y., Mukatira S., Studer M., Porto M.P., Lagutin O., and Oliver G. The nuclear hormone receptor CoupTFII is required for the initiation and early maintenance of Prox1 expression in lymphatic endothelial cells. *Genes Dev*. 2010; 24: 696–707.
20. Kazenwadel J., Betterman K.L., Chong C.E., Stokes P.H., Lee Y.K., Secker G.A., Agalarov Y., Demir C.S., Lawrence D.M., Sutton D.L. GATA2 is required for lymphatic vessel valve development and maintenance. *J. Clin. Invest*. 2015; 125: 2979–2994.
21. Gauvrit, S, Villasenor, A, Strlic B., Kitchen P., Collins M.M., Marin-Juez R., Guenther S., Maischein H.M., Fukuda N., Canham M.A. et al. HHEX is a transcriptional regulator of the VEGFC/FLT4/PROX1 signaling axis during vascular development. *Nat. Commun*. 2018; 9: 2704.
22. Wigle J.T., Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell*. 1999; 98: 769–778.
23. François M., Harvey N.L., Hogan B.M. The transcriptional control of lymphatic vascular development. *Physiology [Bethesda]*. 2011; 26: 146–155.
24. Karkkainen M.J., Haiko P., Sainio K., Partanen J., Taipale J., Petrova T.V. et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat. Immunol*. 2004; 5: 74–80.
25. Yuan L., Moyon D., Pardanaud L., Breant C., Karkkainen M.J., Alitalo K., Eichmann A. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development*. 2002; 129: 4797–4806.

26. Planas-Paz L., Strlic B., Goedecke A., Breier G., Fassler, R., Lammer E. Mechanoinduction of lymph vessel expansion. *EMBO J.* 2012; 31: 788–804.
27. Wirzenius M., Tammela T., Uutela M., He Y., Odorisio T., Zambruno G. et al. Distinct vascular endothelial growth factor signals for lymphatic vessel enlargement and sprouting. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 1431–1440.
28. Wang Y., Nakayama M., Pitulescu M.E., Schmidt T.S., Bochenek M.L., Sakakibara A. et al. Ephrin-B2 controls VEGF-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature.* 2010; 465: 483–486.
29. Norrmén C., Ivanov K.I., Cheng J., Zangger N., Delorenzi M., Jaquet M. et al. FOXC2 controls formation and maturation of lymphatic collecting vessels through cooperation with NFATc1. *J. Cell. Biol.* 2009; 185: 439–457.
30. Muthuchamy M., Gashev A., Boswell N., Dawson N., Zawieja D. Molecular and functional analyses of the contractile apparatus in lymphatic muscle. *FASEB J.* 2003; 17: 920–922.
31. Wang Y., Jin Y., Mae M.A., Zhang Y., Ortsater H., Betsholtz C., Makinen T., and Jakobsson L. Smooth muscle cell recruitment to lymphatic vessels requires PDGFB and impacts vessel size but not identity. *Development.* 2017; 144: 3590–3601.
32. Bouvree K., Brunet I., Del Toro R., Gordon E., Prahst C., Cristofaro B., Mathivet T., Xu Y., Soueïd J., Fortuna V., et al. Semaphorin3A, Neuropilin-1, and PlexinA1 are required for lymphatic valve formation. *Circ. Res.* 2012; 111: 437–445.
33. Dellinger M., Hunter R., Bernas M., Gale N., Yancopoulos G., Erickson R., Witte, M. Defective remodeling and maturation of the lymphatic vasculature in Angiopoietin-2 deficient mice. *Dev. Biol.* 2008; 319: 309–320.
34. Betterman K.L., Sutton D.L., Secker G.A., Kazenwadel J., Oszmianna A., Lim L., Miura N., Sorokin L., Hogan B.M., Kahn M.L., et al. Atypical cadherin FAT4 orchestrates lymphatic endothelial cell polarity in response to flow. *J. Clin. Invest.* 2020; 130: 3315–3328.
35. Bazigou E., Makinen T. Flow control in our vessels: vascular valves make sure there is no way back. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70: 1055–1066.
36. Liu X., Gu X., Ma W., Oxendine M., Gil H.J., Davis G.E., Cleaver O., Oliver G. Rasip1 controls lymphatic vessel lumen maintenance by regulating endothelial cell junctions. *Development.* 2018; 145.
37. Bazigou E., Xie S., Chen C., Weston A., Miura N., Sorokin L. et al. Integrin-alpha9 is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Dev. Cell.* 2009; 17: 175–186.
38. Wirzenius M., Tammela T., Uutela M., He Y., Odorisio T., Zambruno G. et al. Distinct vascular endothelial growth factor signals for lymphatic vessel enlargement and sprouting. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 1431–1440.
39. Oliver G., Kipnis J., Randolph G. J., Harvey N. L. The Lymphatic Vasculature in the 21st Century: Novel Functional Roles in Homeostasis and Disease. *Cell.* 2020; 182: 270–296.
40. Butler M.G., Dagenais S.L., Rockson S.G., Glover T.W. A novel VEGFR3 mutation causes Milroy disease. *Am. J. Med. Genet. A.* 2007; 143A: 1212–1217.
41. Francois M., Caprini A., Hosking B., Orsenigo F., Wilhelm D., Browne C., Paavonen K., Karnezis T., Shayan R., Downes M., et al. Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature.* 2008; 456: 643–647.
42. Dagenais S.L., Hartsough R.L., Erickson R.P., Witte M.H., Butler M.G., Glover T.W. Foxc2 is expressed in developing lymphatic vessels and other tissues associated with lymphedema-distichiasis syndrome. *Gene Expr Patterns.* 2004; 4: 611–619.
43. Liu N. F., Yu Z. Y., Sun D., Lou Y. Rare Variants in LAMA5 Gene associated with FLT4 and FOXC2 Mutations in Primary Lymphedema May Contribute to Severity. *Lymphology.* 2016; 49: 192–204.
44. Hogan B.M., Bos F.L., Bussmann J., Witte M., Chi N.C., Duckers H.J., Schulte-Merker S. Ccbe1 is required for embryonic lymphangiogenesis and venous sprouting. *Nat. Genet.* 2009; 41: 396–398.
45. Ochiai M., Hikino S., Nakayama H., Ohga S., et al. Nonimmune hydrops fetalis due to generalized lymphatic dysplasia in an infant with Robertsonian trisomy 21. *Am J Perinatol* 2006; 23: 63–66.

ПЕРИНЕОЛОГИЯ. АНАТОМИЯ ПРОМЕЖНОСТИ. МЫШЦЫ И ФАСЦИИ (ЛЕКЦИЯ)

©Наталья Рафаиловна Карелина, Тамара Ивановна Ким

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Контактная информация: Тамара Ивановна Ким — старший преподаватель кафедры анатомии человека. E-mail: kim.tamara.2017@yandex.ru

Резюме: Перинеология — это комплексная отрасль биомедицины, изучающая развитие, строение и функции промежности в норме и при различных патологических состояниях, врожденных и приобретенных. **Принимая во внимание** половые и конституциональные особенности промежности, частое нарушение анатомической и функциональной состоятельности промежности при заболеваниях тазового дна и органов малого таза, высокую хирургическую активность в данной области, мы сочли необходимым структурировать имеющиеся знания об анатомии промежности с позиции потребностей клиники. В настоящей лекции изложена анатомия анальной и мочеполовой областей промежности с учетом особенностей строения их мышечно-фасциальных структур и анатомо-функциональных связей с органами малого таза, подробно описано строение постанальной пластинки. Данные получены при анализе литературы и при целенаправленном препарировании трупного материала. В лекции подробно описаны индивидуальная анатомия мышц и фасций промежности. При описании анальной области большое внимание уделено мышце, поднимающей задний проход и наружному сфинктеру заднего прохода, которые являются основными функциональными единицами в замыкательной системе прямой кишки. Приоритетом в описании мочеполовой области стали половые особенности мышц. Фасции промежности изложены с учетом их происхождения, что является необходимым для формирования знаний о топографии промежности, клетчаточных и межфасциальных пространствах; особое внимание уделено анатомии фасции таза, как париетальной, так и висцеральной листков. В заключении дано целостное представление об анальной и мочеполовой областях промежности, с описанием их послойного строения. Уникальность материала заключается в том, что, наряду с новыми терминами, применяемыми для описания промежности как области тела человека, использованы и классические, устаревшие, но широко употребляемые в клинической литературе, с пояснением их замены.

Ключевые слова: промежность, мочеполовая область, анальная область, тазовое дно.

PERINEOLOGY. ANATOMY OF PERINEUM. MUSCLES AND FASCIAE (LECTURE)

© Natalia R. Karelina, Tamara I. Kim

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

Contact Information: Tamara Ivanovna Kim – Senior Lecturer, Department of Human Anatomy. E-mail: kim.tamara.2017@yandex.ru

Abstract: Perineology is a complex scientific branch studying the development, structure and functions of the perineum in normal and various pathological conditions, native and acquired. Considering the gender and constitutional features of the perineum, frequent anatomical and functional disorders of the perineum in pelvic floor and pelvic organs diseases, intensive surgical activity in this area, it was found to be significant to organize available perineum anatomy knowledge according to clinical requests. Present lecture deals with the anatomy of perineum anal and urogenital regions given the structure of their muscular-fascial structures and anatomical and functional connections with the pelvic organs, and describes the structure of the postanal plate in detail. Data have been obtained by literature review and specially dissected cadaverous material study. Detailed description of individual anatomy of the muscles and fasciae of the perineum is presented. In the part devoted to anal area particular attention is given to m. levator ani and sphincter ani externus, which are the main functional units in the rectal closing system. The priority in the description of the urogenital

region is given to the gender features of the muscles. Perineal fasciae are described considering their origin, which is necessary for the formation of knowledge about the topography of the perineum, fat-filled and interfascial spaces; particular attention is paid to the presentation of the pelvic fascia anatomy, both parietal and visceral layer. In conclusion, a holistic view of the anal and urogenital regions of the perineum is given, with their layered structure description. The novelty of the lecture is the usage of updated perineological terms along with traditional and outdated, though widely used in clinical literature; also the explanation of their replacement is given.

Key words: perineum, urogenital region, anal region, pelvic floor.

Ведущим направлением в изучении анатомии тела человека является клиническое направление, позволяющее получать фундаментальные знания, учитывая потребности практического здравоохранения и медицинской науки. Представления ученых (анатомов, проктологов, акушеров) о структурной организации, функциях и клинических аспектах промежности во многом неоднозначны [5, 9, 12, 20, 21, 29]. В большинстве книг и руководств по анатомии и хирургии описание промежности приводится с двух позиций: топографоанатомической (промежность в широком понимании) и акушерской (промежность в узком понимании).

Анатомически промежность, perineum, — это комплекс мягких тканей (кожа, мышцы, фасции), закрывающих выход из полости малого таза (apertura pelvis inferior).

В этом случае промежность ограничивают: впереди — нижняя точка симфиза и нижняя лобковая связка, с боков — нижние ветви лобковой кости, ветви седалищной кости, крестцово-бугорные связки, позади — верхушка копчика. Крайние боковые точки, соответствующие седалищным буграм, соединяет условная разграничительная линия — *linea bischiadica*. Эта линия (и у мужчин, и у женщин) подразделяет промежность на две области:

1. передняя область — мочеполовая, *regio urogenitalis*, (синонимы и устаревшие термины — мочеполовая диафрагма, мочеполовой треугольник);
2. задняя область — анальная, *regio analis*, (синонимы — тазовое дно, диафрагма таза) (рис. 1).

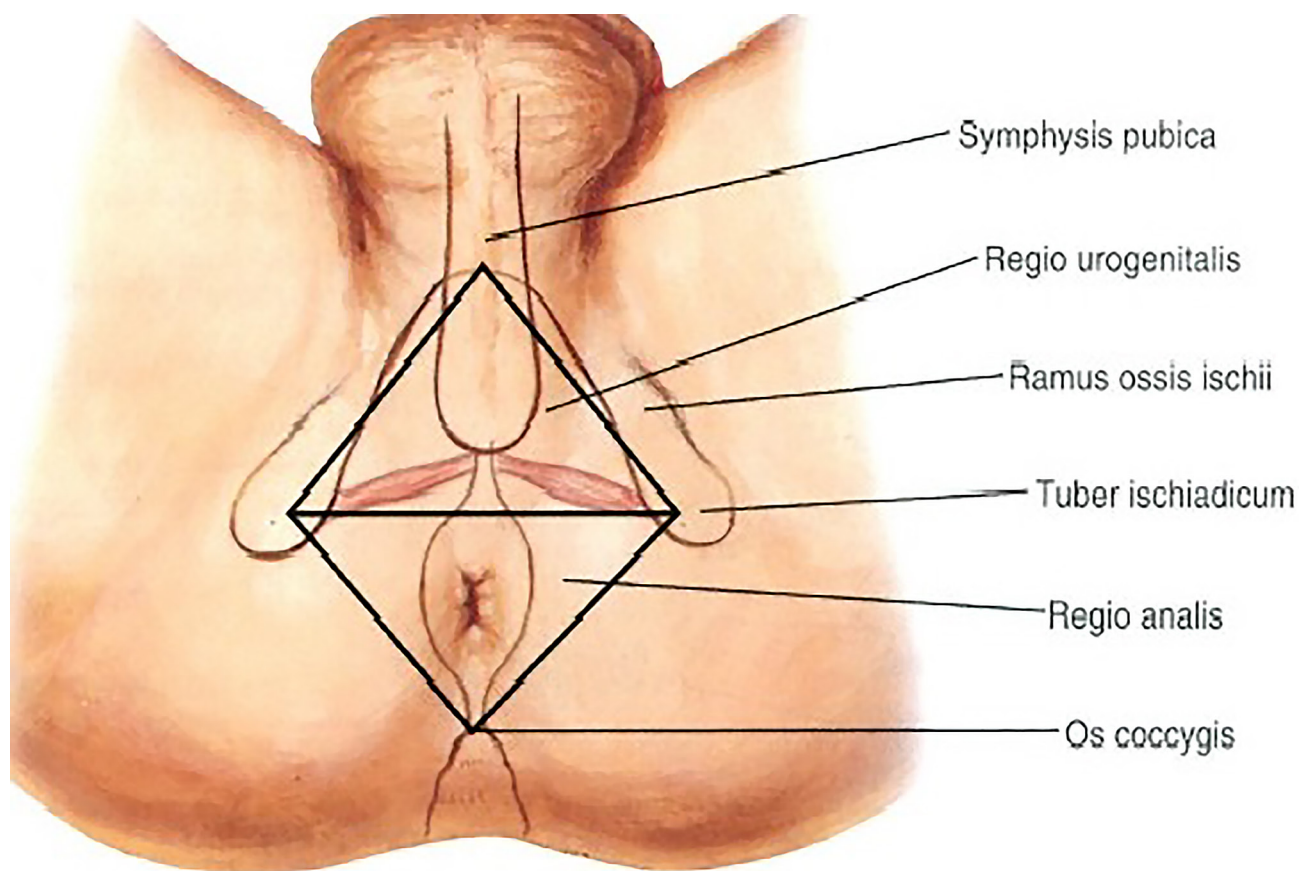


Рис. 1. Мужская промежность, области промежности: *regio urogenitalis*, *regio analis* и ограничивающие их анатомические образования (по [19])

В мочеполовой области у мужчин находится *radix penis*, у женщин — половая щель (*rima pudendi*), с открывающимися в ней наружным отверстием мочеиспускательного канала и отверстием влагалища. Эта область у женщин имеет большие размеры, особенно в ширину, что связано с особенностями строения женского таза. В анальной области у лиц обоего пола расположен заднепроходный канал, который заканчивается заднепроходным отверстием, (*anus*). В поверхностном слое промежности, то есть в коже — по средней линии имеется пигментированная полоска — шов промежности (*raphe perinei*), переходящий у мужчин в шов мошонки.

Используемый в клинике термин «промежность» подразумевает комплекс мягких тканей (кожа, мышцы, фасции), расположенный между *anus* и наружными половыми органами. У женщин он простирается до задней спайки больших половых губ, **у мужчин до мошонки**, что анатомически **соответствует сухожильному центру промежности** (*centrum perinei s. corpus perineale*). Слово «сухожильный» из современной терминологии исключено, так как центр промежности имеет волокнисто-мышечный, а не сухожильный характер строения [10]. И действительно, центр промежности является местом фиксации (прикрепления) многих мышц промежности: спереди — *m. bulbospongiosus*, по бокам — *m. transversus*

perinei superficialis, сзади — передние пучки *m. sphincter ani externus*.

Таким образом, часть промежности, соответствующая *centrum perinei*, в клинике называется акушерской промежностью и имеет значение в акушерской практике (разрывы промежности при родах) [14].

Соответственно делению промежности на анальную и мочеполовую области в ней выделяют два комплекса мышечно-фасциальных образований (рис. 2).

Не лишним будет отметить, что в клинической литературе (отечественной и зарубежной) очень часто, практически повсеместно, используется и термин — «Тазовое дно», хотя в последнем издании «*Terminologia Anatomica*» [33] термин «Тазовое дно» отсутствует.

В классическом учебнике В.Н. Тонкова по анатомии человека [28] под тазовым дном подразумевалась собственная или прямокишечная диафрагма таза (*diaphragma pelvis proprium s. rectale*), а дополняющая его спереди и снизу диафрагма называлась добавочной или мочеполовой (*diaphragma pelvis accessorium s. urogenitale*). В иностранной литературе (анатомической, хирургической) к тазовому дну относят парные мышцы, поднимающие, задний проход (*mm. levatores ani*), промежность в узком значении и постанальную пластину [7, 9].

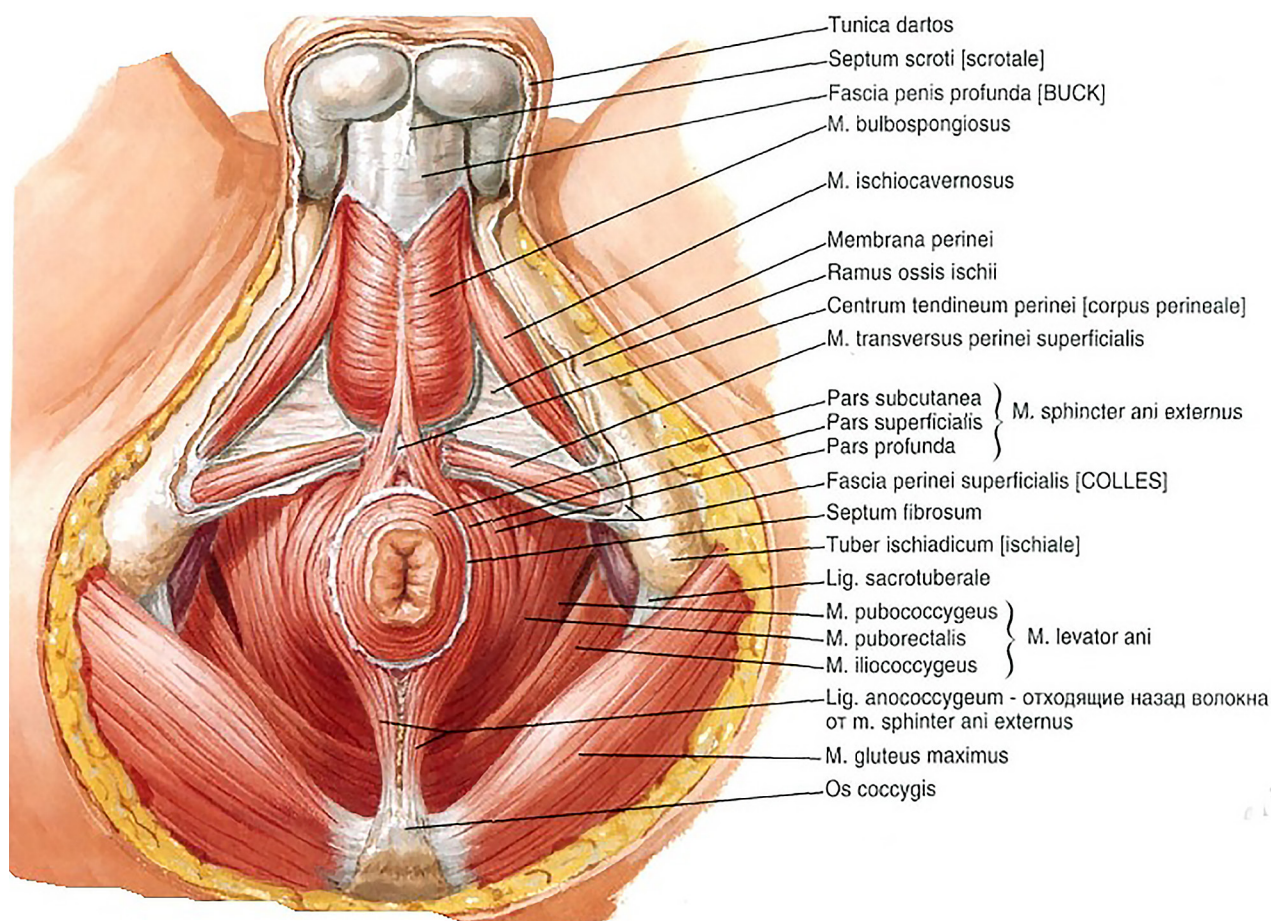


Рис. 2. Мужская промежность, вид снизу. Мышцы и фасции мочеполовой и анальной областей (по [19])

Примечание. В анальной области промежности по средней линии между заднепроходным каналом и хвостовой частью позвоночного столба расположена слоистая мышечно-связочная структура, называемая постанальной пластинкой. Анатомически в постанальной пластинке выделяют четыре слоя:

а) первый слой (самый поверхностный), образован волокнами лобково-прямокишечной мышцы, которые переплетаются с пучками глубокой части наружного сфинктера заднего прохода;

б) второй слой (расположен глубже), образован сухожилием подвздошно-копчиковой мышцы в виде заднепроходно-копчикового шва;

в) третий слой представлен пластинообразным сухожилием лобково-копчиковой мышцы, которое переплетается с передней крестцово-копчиковой связкой;

г) четвертый слой (наиболее глубокий), образован предкрестцовой фасцией (рис. 3) [6].

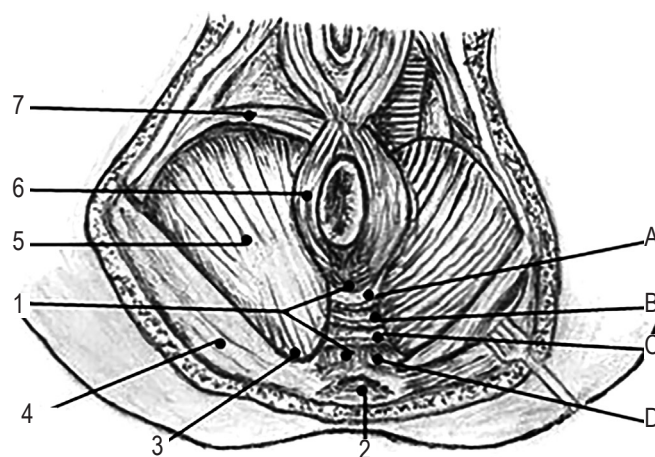


Рис. 3. Схематическое изображение анатомии постанальной пластинки (удалены кожа, подкожная клетчатка, фасции мышц промежности) (рис. автора) [6].

1 — постанальная пластинка и ее слои: А — предкрестцовая фасция, В — лобково-копчиковая мышца, С — подвздошно-копчиковая мышца, D — лобково-прямокишечная мышца; 2 — копчик; 3 — копчиковая мышца; 4 — большая ягодичная мышца; 5 — мышца, поднимающая задний проход; 6 — наружный сфинктер заднего прохода; 7 — поверхностная поперечная мышца промежности

I. REGIO ANALIS.

I. а) Мышцы анальной области.

В анальной области мышечную основу диафрагмы образуют два слоя мышц — глубокий слой (мышца, поднимающая задний проход и копчиковая мышца) и поверхностный слой (наружный сфинктер заднего прохода) (рис. 4).

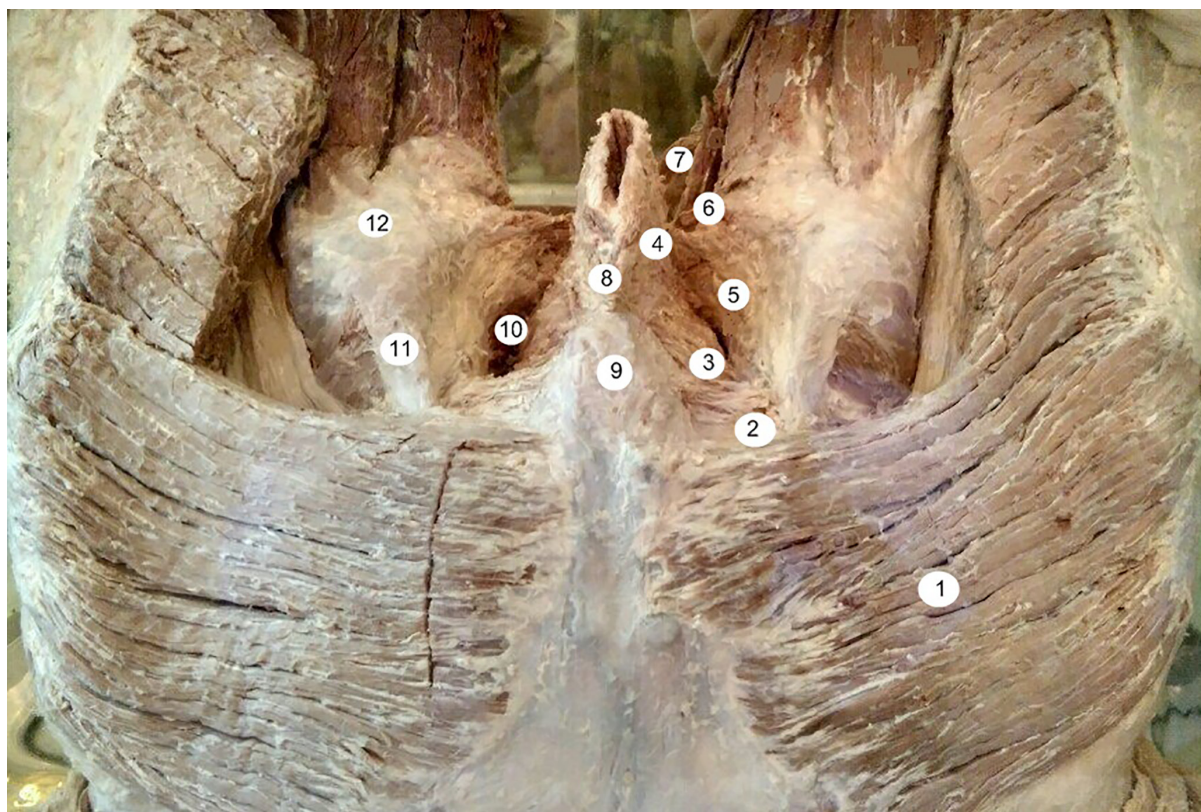
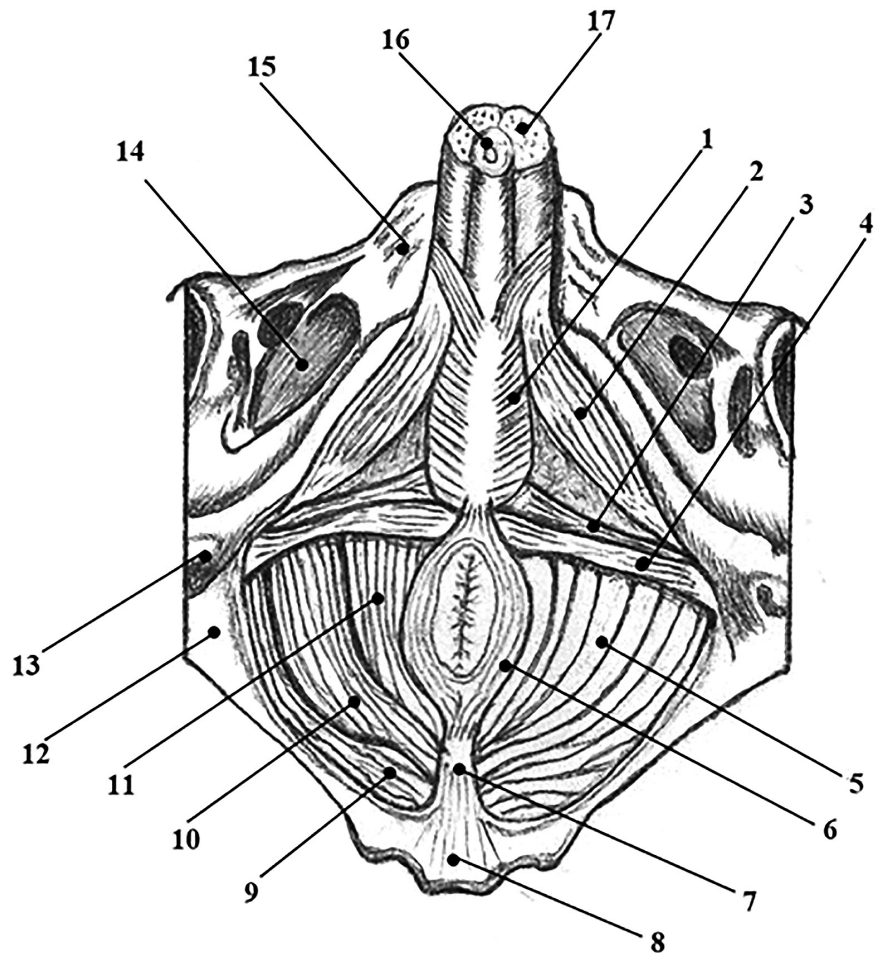


Рис. 4. Мышцы мужской промежности (натуральный препарат) (рис. автора) [6].

1 — m. gluteus maximus; 2 — m. coccygis; 3 — m. levator ani; 4 — m. sphincter ani externus; 5 — m. ischioavernosus; 6 — m. transversus perinei superficialis; 7 — m. bulbospongiosus; 8 — lamina anorectalis; 9 — os coccygis; 10 — fossa ischioanal; 11 — ligamentum sacrotuberale; 12 — tuber ischiadicum.

Рис. 5. Схематическое изображение мышц промежности мужчины (удалены кожа, подкожная клетчатка, фасции мышц промежности, яички и мошонка) (рис. автора) [6].

1 — *m. bulbospongiosus*; 2 — *m. ischiocavernosus*; 3 — *m. transversus perinei profundus*; 4 — *m. transversus perinei superficialis*; 5 — *m. levator ani*; 6 — *m. sphincter ani externus*; 7 — *lamina anorectalis*; 8 — *os coccygis* (проекция); 9 — *m. iliococcygeus*; 10 — *m. pubococcygeus*; 11 — *m. puborectalis*; 12 — *lig. sacrotuberale*; 13 — *tuber ischiadicum*; 14 — *foramen obturatorium*; 15 — *ramus superior ossis pubis*; 16 — *corpus spongiosum penis*; 17 — *corpus cavernosum penis*.



Наиболее важной с позиций как функций, так и клиники представляется мышца, поднимающая задний проход (*m. levator ani*).

В зависимости от мест начала отдельных порций *m. levator ani* в ней выделяют три части, которые, начавшись отдельно, переплетаются между собой в её диаметральном противоположном крае и соединяются с поперечно-полосатыми мышечными структурами заднепроходного канала, влагалища и мочеиспускательного канала. В направлении спереди назад в мышце, поднимающей задний проход выделяют лобково-копчиковую, лобково-прямокишечную и подвздошно-копчиковую мышцы (рис. 5, 6).

Лобково-копчиковая мышца (*m. pubococcygeus*) начинается от задней поверхности лобковых костей и передней части сухожильной дуги мышцы, поднимающей задний проход. Дуга представляет собой утолщение пристеночного листка тазовой фасции, покрывающей внутреннюю запирающую мышцу, и идет спереди назад от симфиза до седалищной ости. Основная часть волокон лобково-копчиковой мышцы прикрепляется позади прямой кишки к анально-копчиковой связке (*lig. апососсугеум*) и передней крестцово-копчиковой связке (*lig. sacrococcygeum anterius*). Медиальную часть лобково-копчиковой мышцы часто разделяют на более мелкие части, чтобы различать те волокна, которые сливаются с мышцами предстательной железы и простатической части

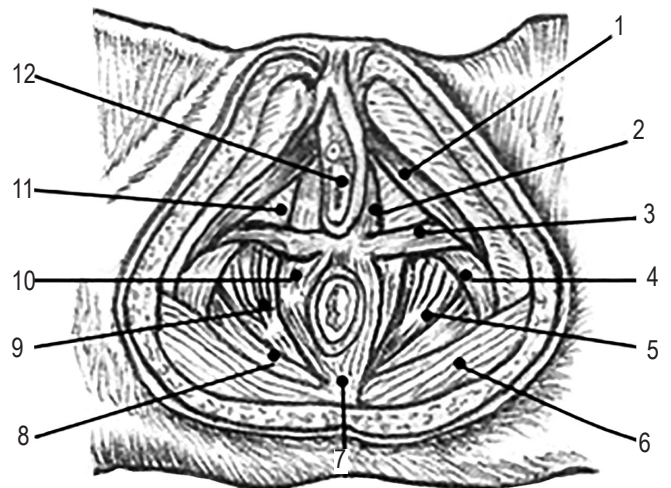


Рис. 6. Схематическое изображение мышц промежности женщины (удалены кожа, подкожная клетчатка, фасции мышц промежности) (рис. автора) [6].

1 — *m. ischiocavernosus*; 2 — *m. bulbospongiosus*; 3 — *m. transversus perinei superficialis*; 4 — *m. obturatorius internus*; 5 — *m. levator ani*; 6 — *m. gluteus maximus*; 7 — *lamina anorectalis*; 8 — *m. iliococcygeus*; 9 — *m. pubococcygeus*; 10 — *m. puborectalis*; 11 — *m. transversus perinei profundus*; 12 — *rima pudendi*

уретры у мужчин, а у женщин окружают часть мочеиспускательного канала выше *m. sphincter urethrae externus* и вплетаются в верхнебоковую часть стенки влагалища. Некоторые волокна лобково-копчиковой мышцы получили индивидуальные названия, такие как: а) лобково-простатическая мышца (*m. puboprostaticus s. levator prostatae*), б) лобково-уретральная мышца (*m. pubourethralis*), в) лобково-влагалищная мышца (*m. pubovaginalis*), г) лобково-промежностная мышца (*m. puboperinealis*). Часть волокон лобково-копчиковой мышцы, называемая *m. puboanalis*, вплетается в стенку заднепроходного канала медиально от лобково-прямокишечной мышцы, усиливая, таким образом, продольную гладкомышечную оболочку заднепроходного канала. Среди мышечных пучков, вплетающихся в стенку канала выделяют передний, боковой и задний пучки.

Передний пучок проходит по передней стенке прямой кишки и соединяется с глубокой частью наружного сфинктера заднего прохода в области анально-прямокишечного соединения (*junction anorectalis*).

Боковой пучок окружает стенку анального канала непосредственно над наружным сфинктером и соединяется с ним. Пучок проходит позади переднего пучка и делает петлю на уровне анально-прямокишечного соединения, выше и сзади лобково-прямокишечной мышцы, образуя пластинку мышцы, поднимающей задний проход. Волокна петли в большей или меньшей степени смешиваются или сливаются с наружным сфинктером заднего прохода.

Задний пучок состоит из мышечно-апоневротических пластинок, поэтому нарушение анатомической целостности или состоятельности этих образований, может стать предпосылкой или причиной опущения и выпадения тазовых органов.

Лобково-прямокишечная мышца (*m. puborectalis*) составляет среднюю часть мышцы, поднимающей задний проход. Некоторые авторы рассматривают эту мышцу как часть лобково-копчиковой мышцы. Несмотря на расхождение мнений анатомов и клиницистов относительно принадлежности этой мышцы, её анатомию, связи и функции все понимают и оценивают одинаково.

Лобково-прямокишечная мышца начинается от внутренней поверхности лобковых костей, залегая более поверхностно, чем лобково-копчиковая мышца, направляется назад и латерально к верхнему краю *m. sphincter ani externus*, соединяется с аналогичной мышцей другой стороны позади анально-прямокишечного изгиба (*flexura anorectalis s. perinealis*). Сзади от мышцы отходят: а) тонкая фасциальная полоска, которая участвует в образовании постанальной пластинки и б) фиброзно-мышечные волокна (как и от лобково-копчиковой мышцы) к предстательной железе, влагалищу и к глубокой части наружного сфинктера заднего прохода.

Лобково-прямокишечная мышца справедливо считается основной функциональной единицей, формирующей аноректальный угол и, таким образом, во многом ответственна за основные фазы дефекации [8, 15, 34]. Вследствие тесного переплетения с глубокой частью наружного сфинктера и продольной мускулатурой прямой кишки лобково-прямокишечная

мышца осуществляет фиксацию прямой кишки и заднепроходного канала.

Подвздошно-копчиковая мышца (*m. iliocostoccygeus*) начинается рядом с лобково-копчиковой мышцей от сухожильной дуги фасции таза, а также от седалищной ости. Пучки мышцы идут книзу, кзади и медиально и, перемежаясь с апоневротическими пластинками, прикрепляются к внутренней поверхности двух последних крестцовых позвонков, копчику и передней крестцово-копчиковой связке. У прямой кишки пучки этой мышцы переплетаются с пучками лобково-копчиковой мышцы и вместе образуют вокруг кишки петлеобразный охват. Сугубо индивидуальных функций мышца не имеет, она функционирует совместно с другими частями мышцы, поднимающей задний проход (*mm. pubocostoccygeus et puborectalis*), а также в комплексе с мышцами заднепроходной области (*mm. costoccygeus et sphincter ani externus*) (рис. 7).

Примечание. Сухожильная дуга фасции таза (прежнее название — *arcus tendineus m. levator ani*) представляет утолщение париетального листка фасции таза, покрывающего внутреннюю запирающую мышцу (*fascia obturatoria*) и идущего спереди назад от симфиза до *spina ischiadica*.

Оценивая в целом анатомо-функциональные особенности *m. levator ani* с позиций их клинической значимости следует обратить внимание на важную деталь строения этой мышцы: степень развития *m. levator ani* весьма варьирует. Иногда пучки ее очень хорошо выражены и смежные части заходят друг на друга; в других случаях она слабо развита и между пучками образуются щели, где фасции, покрывающие ту и другую поверхность мышцы (*fasciae superior et inferior diaphragmatic pelvis*) соединяются между собой. Это места потенциального образования промежностных грыж (*hernia perinealis*).

Вместе с мышцей, поднимающей задний проход, основу диафрагмы таза в анальной области составляет копчиковая мышца (*m. coccygeus*) (рис. 8).

Копчиковая мышца начинается от задней поверхности седалищной ости и, веерообразно расширяясь, идет к боковому краю 1–2 нижних крестцовых и 2–3 копчиковых позвонков. Мышца теснейшим образом связана с крестцово-остистой связкой (*lig. sacrospinale*), перемешиваясь с ее фиброзными пучками. У людей часто рудиментарна и представлена несколькими мышечными волокнами на поверхности крестцово-остистой связки. Некоторые авторы считают, что развитие копчиковой мышцы находится в обратной зависимости от развития этой связки [7, 22].

Наружный сфинктер заднего прохода (*m. sphincter ani externus*) анатомически относится к поверхностному слою мышц анальной области. Непарный, плоский, начинается от верхушки и боковых частей копчика, заднепроходно-копчиковой связки (*lig. apocostoccygeum*) и прилежащих участков кожи. Пучки сфинктера идут почти сагиттально, обходят справа и слева заднепроходной канал и соединяются впереди него. Они подкрепляются а) мышечными пучками продольного слоя мышечной оболочки прямой кишки, б) прямокишечно-копчиковой мышцей (*m. rectocostoccygeus*). Глубина охвата

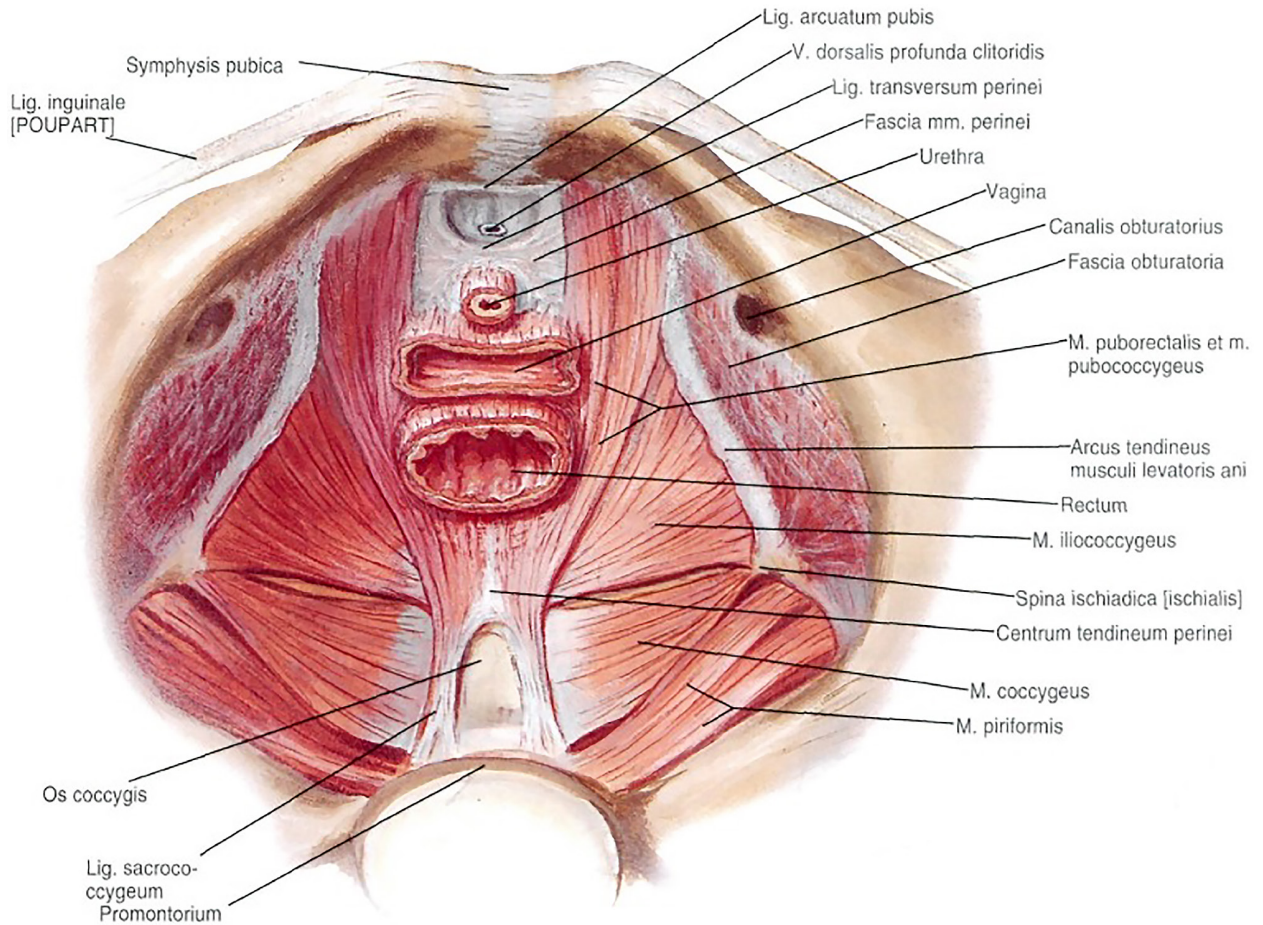


Рис. 7. Диафрагма таза, женская, вид сверху (по [19])

анального канала сфинктером составляет 3–5 см, толщина сфинктера около 8 мм.

В 1899 году Н.В. Нолл предложил разделять наружный сфинктер заднего прохода на три части: подкожную (*pars subcutanea*), поверхностную (*pars superficialis*) и глубокую (*pars profunda*) (рис. 9).

Подкожная часть расположена наиболее поверхностно, под кожей, спереди и сзади от апус пучки этой части мышцы перекрещиваются с пучками противоположной стороны; толщина 0,5–1,5 см, а высота 0,3–1,0 см в зависимости от пола, возраста и физического развития. Спереди волокна этой части начинаются от кожи и поверхностной фасции промежности, а сзади они переплетаются и покрывают сходящиеся ножки поверхностной части наружного сфинктера. У женщин эта часть сфинктера часто разрывается при родах и рассекается при эпизиотомии.

Поверхностная часть наружного сфинктера (самая большая, длинная и мощная, толщиной и высотой — 1,5 см) расположена выше и латеральнее подкожной части. Она начинается от *lig. apococcygeum*, в которую вплетаются левые и правые ее волокна, и проходит по бокам от заднепроходного канала. Также мышечные пучки поверхност-

ной части наружного сфинктера вплетаются в фасциальную пластинку, окружающую седалищные бугры и в этой области соединяются с поверхностными поперечными мышцами промежности (*m. transversus perinei superficialis*). У мужчин волокна поверхностной части переплетаются спереди в центре промежности, соединяясь с луковично-пещеристой мышцей (*m. bulbocavernosus*). У женщин они прикрепляются к центру промежности, разделяются и, проходя латерально, достигают нижних ветвей лобковых костей, где сливаются с волокнами мышцы, сжимающей влагалище (*m. constrictor cunni*). Половые отличия в анатомии передней части подкожной и поверхностной порций наружного сфинктера следует учитывать при оперативных вмешательствах в этой области [24].

Глубокая часть наружного сфинктера заднего прохода располагается более центрально приблизительно на 3–4 см выше уровня апус. Высота этой части около 2,5 см, ширина до 1,5 см. Сзади глубокая часть сфинктера фасциальной пластинкой соединена с копчиком и лобково-прямокишечной мышцей, причем соединение с мышцей выражено по всему верхнему краю глубокой порции, что имеет большое функциональное значение. Часть волокон глубокой части

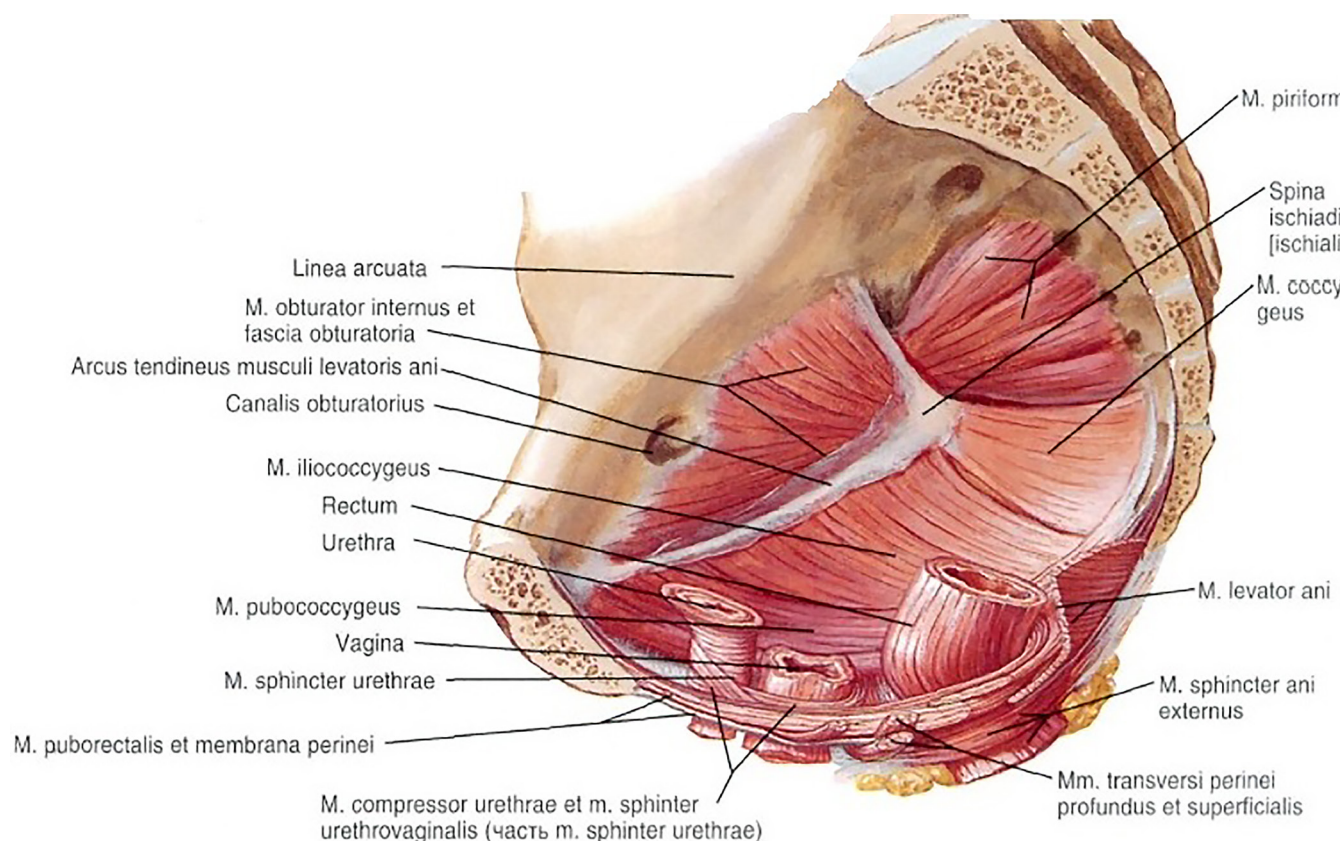


Рис. 8. Тазовое дно, вид с медиальной стороны (по [19])

наружного сфинктера сплетаются с поперечными мышцами промежности (поверхностной и глубокой) и посредством них фиксируются к седалищным костям. Наружный сфинктер заднего прохода чрезвычайно растяжим. Сокращение наружного сфинктера зависит от воли человека, но он работает и автоматически, в то время как *m. sphincter ani internus* действует только рефлекторно. Оба сфинктера обычно находятся в сокращенном состоянии, расслабляются при опорожнении прямой кишки от содержимого.

Заканчивая описание структурной организации мышц заднепроходной области, кратко изложим их функции:

а) фиксируют положение тазового дна, дают опору находящимся в полостях малого таза и живота внутренностями, что особенно важно для человека ввиду вертикального положения его тела, а также при повышении внутрибрюшного давления [11, 25];

б) глубокая часть наружного сфинктера и волокна лобково-прямокишечной мышцы тесно переплетаются и образуют наиболее мощную часть (главную часть!) запирающего аппарата — аноректальное мышечное кольцо [16, 17, 26, 27], которое является определяющим звеном прямокишечно-заднепроходного сфинктерного механизма;

г) у женщин от *m. levator ani* отходят фиброзно-мышечные волокна к влагалищу и поэтому при сокращении мышцы задняя стенка влагалища притягивается к передней и

вместе с *m. constrictor cunni* мышцы суживают вход во влагалище.

I. б). Фасции анальной области.

Снаружи мышцы покрыты кожей, имеющей клинически значимые особенности: она толстая, срастается со слизистой оболочкой заднепроходного канала и мышечными пучками наружного сфинктера заднего прохода, образуя здесь лучистые складки с большим количеством потовых и сальных желез. Гиподерма и поверхностная фасция данной области хорошо выражены. В них располагаются кожные ветви внутренней половой артерии, притоки одноименной вены, лимфатические сосуды, промежностные ветви полового и заднего кожного нерва бедра.

Поверхностная, выстилающая фасция промежности (*fascia perinea*, *fascia investiens perinei superficialis*), составляющая часть общей подкожной фасции тела, покрывает мышцы анальной области, мочеполовой области и далее продолжается в *tunica dartos* мошонки и поверхностную фасцию полового члена.

Собственная фасция промежности (*fascia propria peronei*), покрывающая мышцы анальной области снизу называется нижней фасцией диафрагмы таза — *fascia inferior diaphragmatis pelvis*. Данная фасция является продолжением собственной фасции ягодичной области, начинаясь от заднего края большой ягодичной мышцы, она выстилает

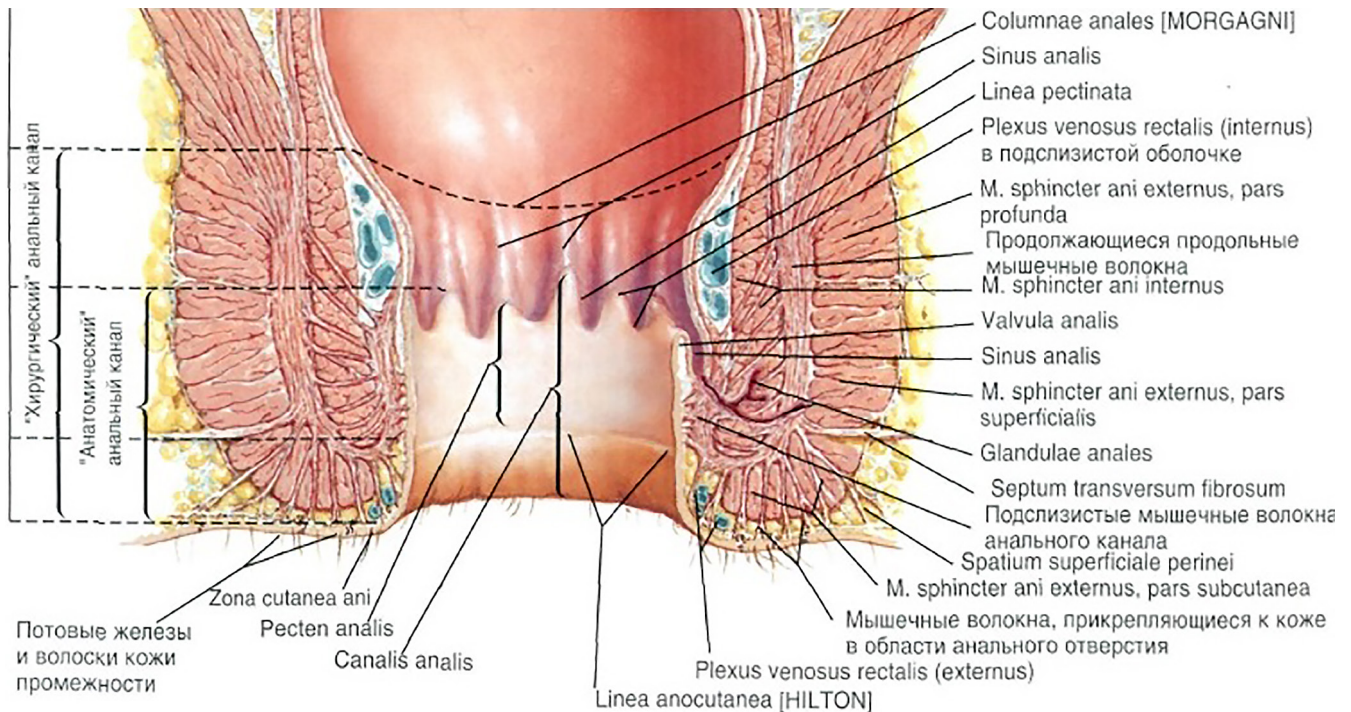


Рис. 9. Анальный канал, части наружного сфинктера заднего прохода, срез во фронтальной плоскости (по [19])

все стенки fossa ischioanalis, поднимается по *m. obturator internus*, достигает уровня соединения этой мышцы с *m. levator ani* и по нижней поверхности последнего (именно здесь она называется *fascia inferior diaphragmatis pelvis*) переходит на *m. sphincter ani externus*, а затем терется в клетчатку у заднего прохода. Кпереди она доходит до заднего края *m. transversus perinei superficialis* и продолжается в фасции, покрывающие и разделяющие уже мышцы мочеполовой области.

Сверху, мышцы глубокого слоя тазовой диафрагмы покрыты верхней фасцией диафрагмы таза (*fascia superior diaphragmatis pelvis*) (рис. 10).

Данная фасция представляет собой продолжение фасции, выстилающей внутреннюю поверхность брюшной стенки (*fascia endoabdominalis*), а именно той ее части, которая покрывает поперечную мышцу живота (*fascia transversalis*). Последняя спускается вниз, перекидывается через подвздошный гребень, с которым плотно фиксируется, а затем идет в большой таз, ложась на *m. iliacus*, *m. psoas major* и *m. psoas minor*. Здесь она получает название *fascia iliopsoas*. И на уровне пограничной линии *linea terminalis* непосредственно продолжается в тазовую фасцию (*fascia pelvis seu pelvica*). В тазовой фасции, кроме париетального листка (*fascia pelvis parietalis*), покрывающего все стенки малого таза и мышцы тазовой диафрагмы, выделяют висцеральный листок (*fascia pelvis visceralis*).

Париетальный листок тазовой фасции расщепляется на две пластинки: латеральную и медиальную. Латеральная пластинка (*fascia pelvis parietalis s. fascia endopelvina*)

продолжается по *m. obturator internus* (*fascia obturatoria*) дальше книзу, где мышца образует латеральную стенку седалищно-анальной ямки, fossa ischioanalis. Медиальная пластинка париетального листка тазовой фасции ложится на верхнюю поверхность *m. levator ani* и идет до уровня прикрепления мышцы (окончания мышцы). Она получила название — верхняя фасция диафрагмы таза (*fascia superior diaphragmatis pelvis*).

Висцеральный листок представляет собой ту часть тазовой фасции, которая с верхней поверхности *m. levator ani* (т. е. *fascia superior diaphragmatis pelvis*), переходит на органы таза (мочевой пузырь, прямую кишку предстательную железу, влагалище), формируя связки (*ligamenta*) и перегородки (*septa*): а) наиболее кпереди, между симфизом и нижней частью мочевого пузыря (у женщин) и между дном мочевого пузыря и простатой (у мужчин) парные *ligamenta pubovesicale et puboprostaticum laterale*; б) наиболее кзади, связку между прямой кишкой и крестцом — *lig. sacrorectale (seu lamina sacrorectale)*; в) у женщин имеются отростки фасции между мочевым пузырем и влагалищем, а также между влагалищем и прямой кишкой; г) проходя в промежутке между мочевым пузырем (с *prostate* и *vesiculae seminales*) спереди и прямой кишкой сзади, *lamina visceralis* у мужчин соединяется с такой же фасцией противоположной стороны, вследствие чего между этими органами формируется фронтально расположенная пластинка — прямокишечно-пузырная перегородка (*septum rectovesicale*); е) у женщин в промежутке между влагалищем и прямой кишкой *lamina visceralis fascia pelvis* формирует между этими органами фронтально расположен-

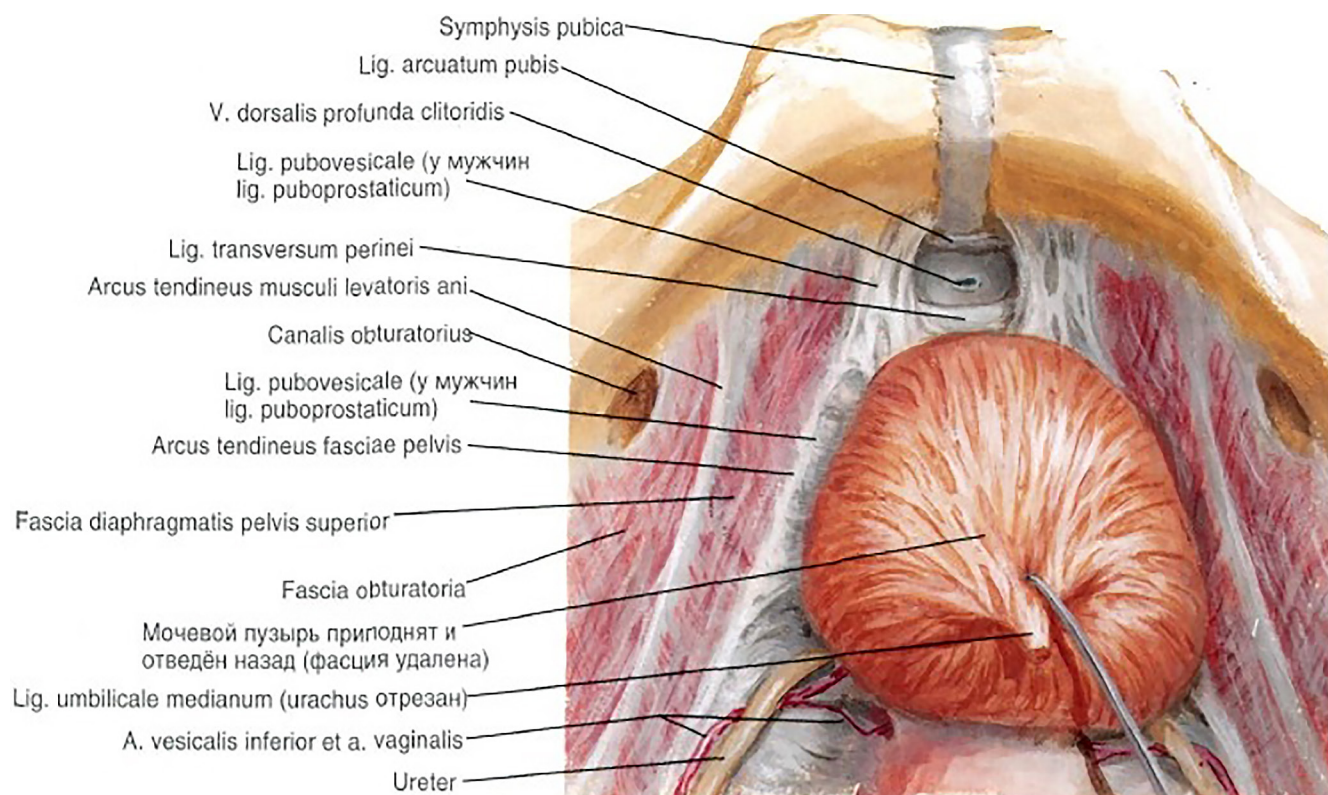


Рис. 10. Тазовая фасция, ее производные (по [19])

ную пластинку — прямокишечно-влагалищную перегородку (septum rectovaginale). Также висцеральная пластинка тазовой фасции подходит к боковым поверхностям органов малого таза и образует для них фасциальное влагалище или капсулу: для расширенной части прямой кишки — capsula ampulae recti (s. Amussati) и для предстательной железы — capsula pelvioprostatica (s. Retzii).

Данные производные висцерального листка тазовой фасции фиксируют подвижные органы малого таза и разделяют их между собой. В проктологии образования висцерального листка тазовой фасции (перегородки) используются как пластический материал при оперативном лечении свищей прямой кишки [3] и влагалища.

Таким образом, мышцы тазового дна (mm. levator ani, coccygeus et sphincter ani externus) заключены между двумя фасциями (fascia superior diaphragmatis pelvis et fascia inferior diaphragmatis pelvis) и вместе объединяются под термином диафрагма таза (diaphragma pelvis), которая определяет все функции анальной области.

II. REGIO UROGENITALIS.

II. а) Мышцы мочеполовой области.

В мочеполовой области мышцы расположены в два слоя. Мышцы поверхностного слоя (луковично-губчатая, седалищно-пещеристая и поверхностная поперечная мышца промежности) и мышцы глубокого слоя (глубокая поперечная мышца

промежности и наружный сфинктер мочеиспускательного канала) (рис. 11).

У женщин мышцы поверхностного слоя развиты значительно слабее, чем у мужчин. Так, поперечная поверхностная мышца промежности (m. transversus perinei superficialis) может отсутствовать на одной или на обеих сторонах. Расположена она у заднего края мочеполовой области, представляет собой тонкую мышечную полоску, идущую поперек промежности, в глубоком слое подкожной жировой клетчатки. Латеральными концами прикрепляется к ветви седалищной кости возле седалищного бугра, медиальный конец перекрещивается по срединной линии с одноименной мышцей противоположной стороны, частично вплетается в луковично-губчатую мышцу, частично в наружный сфинктер заднего прохода. Функции этой мышцы определяют как незначительные, но она участвует в укреплении мочеполовой области, а у мужчин в фиксации ножек полового члена.

Следующие мышцы поверхностного слоя имеют характерные половые различия, особенно луковично-губчатая мышца (m. bulbospongiosus). У мужчин две симметрично расположенные пластинки этой мышцы охватывают нижнюю и боковые поверхности луковицы полового члена до места соединения пещеристых тел. В зависимости от начала мышцы, в ней выделяют три слоя: поверхностный — от белочной оболочки bulbus penis; второй слой — от поверхностной фасции; третий слой, глубокий — от задней части луковицы полового члена. Впереди мышца заканчивается в фасции на тыле полового члена, сзади конвергирует с поверхностной поперечной мыш-

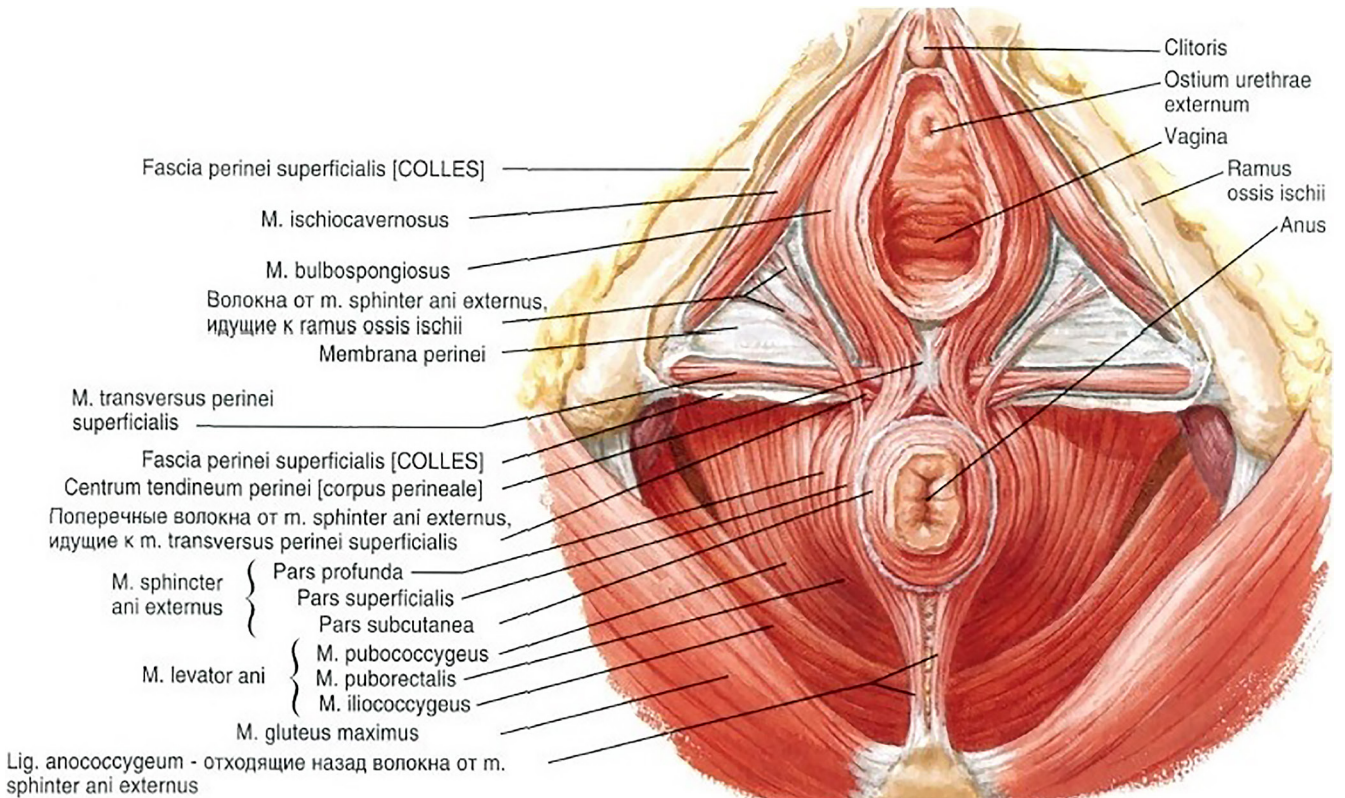


Рис. 11. Женская промежность, вид снизу. Мышцы и фасции мочеполовой и анальной областей (по [19])

цей промежности и передним краем наружного сфинктера заднего прохода.

При сокращении сдавливает луковицу, пещеристые тела, дорсальную вену полового члена, бульбоуретральные железы, участвуя тем самым в эрекции, а также способствует выбрасыванию спермы и мочи из мочеиспускательного канала. Установлено, что у мужчин, перенесших травму промежности и оперированных по поводу стриктуры уретры (на сегодняшний день, наиболее распространенными доступами к задней части уретры являются либо продольный разрез *m. bulbospongiosus*, либо ее поперечное рассечение у места прикрепления), как осложнение формируются эректильные нарушения, обусловленные снижением функции мышцы [1].

Луковично-губчатая мышца у женщин, образующая характерную «восьмерку», вследствие своего положения: окружает отверстие влагалища, соответственно суживает его при сокращении, эта функция обуславливает еще одно ее название — *m. constrictor cunni*, мышца, сжимающая вход во влагалище. Начинается она от центра промежности, некоторые волокна непосредственно от *m. sphincter ani externum*, обойдя отверстие влагалища с боков, направляется кпереди, где прикрепляется к белочной оболочке клитора. Часть глубоких пучков этой мышцы окружают наружное отверстие мочеиспускательного канала и называются уретровлагинальным сфинктером (*m. sphincter urethrovaginalis*). На своем пути луковично-губчатая мышца прилежит к железам преддверия и латеральной части луковицы преддв-

ерия, при сокращении сдавливает вены, отводящие кровь от *bulbus vestibule*, способствует их наполнению, сжимает *glandula vestibularis major*. *M. bulbospongiosus* часто подвергается разрывам и рассечениям в родах и трудно восстанавливается при ушиваниях. Наряду, с показателями толщины и высоты промежности, ширина мышечных пучков луковично-губчатой мышцы (в норме не менее 14 мм) является критерием состоятельности тазового дна у женщин [4, 13, 18]. Несостоятельность мышц тазового дна — актуальная проблема современной гинекологии, проявляется в виде снижения и ослабления тонуса мышечно-фасциальных структур, что приводит пролапсу тазовых органов [2], недержанию мочи и кала [23].

Третья мышца поверхностного слоя — это седалищно-пещеристая мышца (*m. ischiocavernosus*). Имеет вид длинной узкой мышечной полоски, парная. Начинается узким сухожилием от внутренней поверхности седалищного бугра, обходит ножку пещеристого тела полового члена (клитора) и на тыльной стороне теряется в его белочной оболочке. Иногда, достигнув тыльной поверхности *corpus cavernosum penis*, перекрещивается с одноименной мышцей противоположной стороны, образуя подобие петли. При сокращении способствует эрекции полового члена или клитора, сдавливая венозные сосуды, обуславливая застой крови в пещеристых телах.

К мышцам глубокого слоя мочеполовой области (рис. 12) относится наружный сфинктер мочеиспускательного канала (*m. sphincter urethrae externum*). Эта мышца занима-

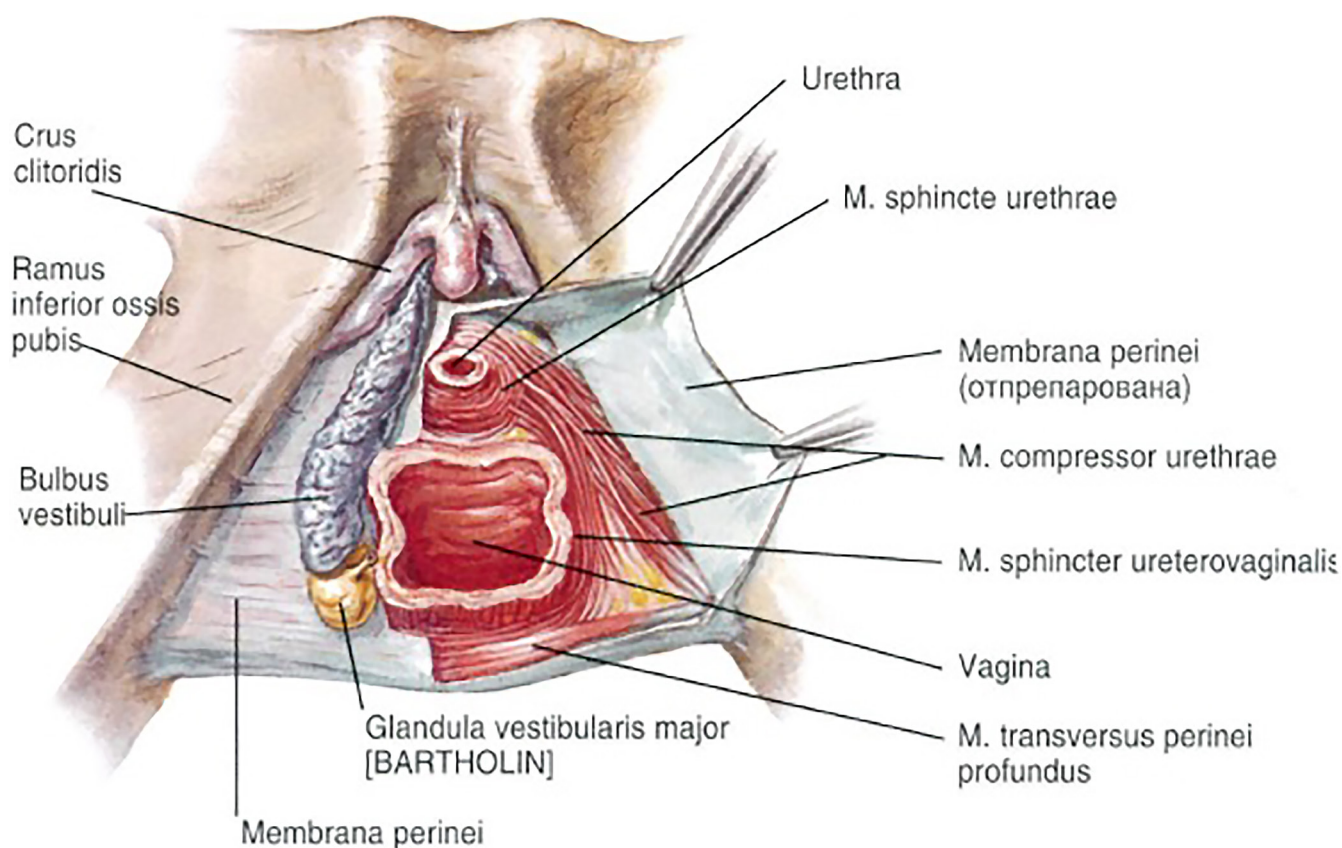


Рис. 12. Женская промежность. Мышцы мочеполовой области, глубокий слой (по [19])

ет пространство между нижними ветвями лобковых костей, прикрепляясь к ним своими периферическими пучками. Центральные же волокна, более глубокие, круговые окружают перепончатую (промежоточную) часть мочеиспускательного канала у мужчин, а у женщин — мочеиспускательный канал. Кроме того, у мужчин эта мышца соединяется с предстательной железой, а у женщин с влагалищем. Помимо поперечно-полосатых волокон в данной мышце в небольшом количестве присутствует и гладкая мускулатура. Главная функция мышцы сжимателя мочеиспускательного канала ясна из названия ее, *m. sphincter urethrae externum* — это произвольный сфинктер.

Кзади от описанной мышцы располагается глубокая поперечная мышца промежности (*m. transversus perinei profundus*), чтобы ее открыть, необходимо удалить *corpus spongiosum et bulbus penis*, *m. bulbospongiosus*. У женщин эта мышца представлена гладкой мышечной тканью. Мышца парная, узкая, небольшая начинается на седалищных буграх и направляется к срединной линии, где соединяется с одноименной мышцей противоположной стороны. *M. transversus perinei profundus* участвует в образовании центра промежности и укрепляет мочеполовую область.

II. б) Фасции мочеполовой области.

Поверхностная, фасция промежности (*fascia perinea, fascia investiens perinei superficialis*) покрывает снизу (снару-

жи) поверхностные мышцы мочеполовой области, в этой части тела человека выражена слабо.

Как было сказано выше, собственная фасция промежности (*fascia inferior diaphragmatis pelvis*), покрыв мышцы анальной области, у заднего края *m. transversus perinei superficialis* продолжается в фасции мочеполовой области — *membrana perinei et fascia diaphragmatis urogenitalis superior*. Обе они прикрепляются с каждой стороны к нижней ветви лобковой кости и ветви седалищной кости, а также срастаются со стенками мочеиспускательного канала, а у женщин и со стенкой влагалища. **Между этими фасциями образуется глубокое пространство промежности (*spatium perinei profundum*)**, в котором находятся мышцы глубокого слоя, а также бульбоуретральные (Куперовы) железы у мужчин и большие железы преддверия (Бартолиновы) у женщин. Американские ученые, изучающие промежность, указывают на то, что глубокий мешок (пространство) промежности (*spatium perinei profundum*), изолирован не полностью, будучи открытым сверху, простирается в таз, так что старые термины *diaphragma urogenitalis, fascia diaphragmatis urogenitalis inferior et fascia diaphragmatis urogenitalis superior* становятся бессмысленными (рис. 13) [30, 31, 32].

Промежностная мембрана (*membrana perinei*) ранее называлась «нижняя фасция мочеполовой диафрагмы», разделяя поверхностный и глубокий слои мышц, плотно сращена с пучками мышечных волокон глубокого слоя. Сзади

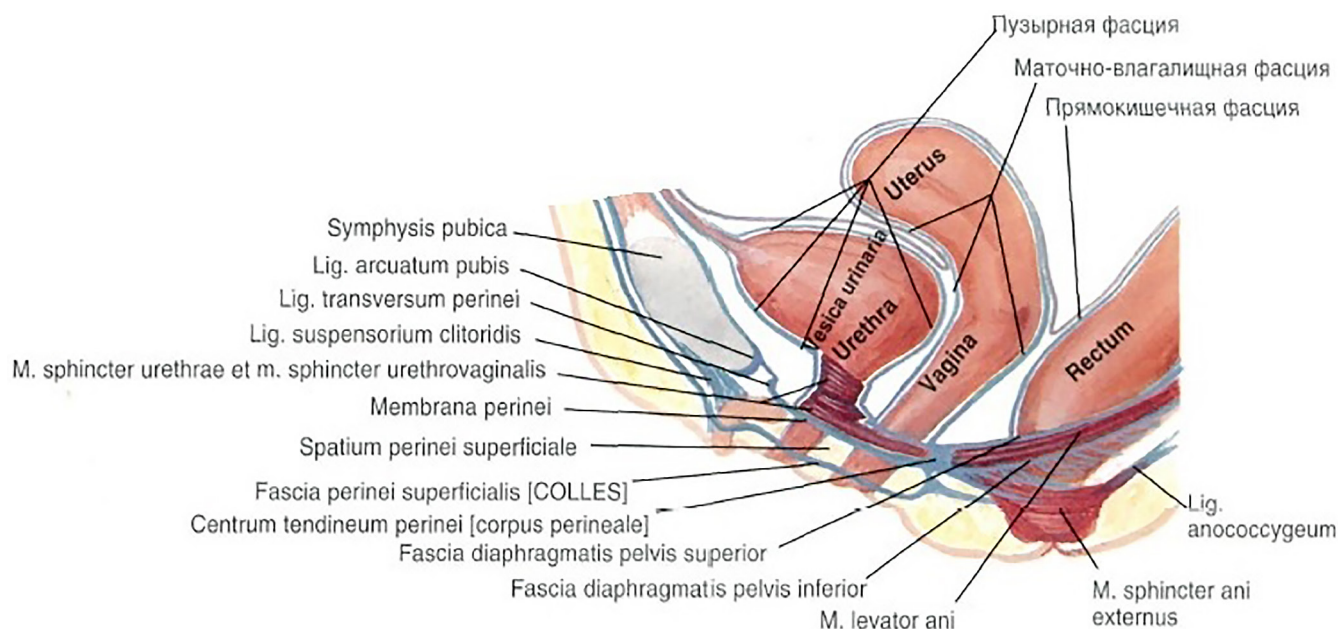


Рис. 13. Женская промежность, схематическое изображение (по [19])

она вплетается в наружный сфинктер прямой кишки. Сверху покрывает пещеристые и губчатые тела с *m. ishiocavernosus* et *m. bulbospongiosus*.

Со стороны полости малого таза глубокий слой мышц покрыт верхней фасцией мочеполовой диафрагмы (*fascia diaphragmatis urogenitalis superior*). Использование этого устаревшего термина продиктовано активным употреблением его в практической медицине, учебной литературе. Эта фасция у мужчин сращена с капсулой простаты.

Около переднего края *m. transversus perinei profundus* обе фасции мочеполовой области соединяются в поперечную связку (*lig. transversus pelvis*) (Carcassoni), которая идет сверху и спереди от мочеиспускательного канала (его промежуточной части у мужчин), и немного не доходит *lig. arcuatum pubis*. В небольшом щелевидном пространстве между этими связками проходят *a. et v. dorsalis penis* (*s. clitoridis*), нервы полового члена, клитора, влагалища и луковицы преддверия.

На заднем крае глубокой поперечной мышцы промежностная мембрана и верхняя фасции мочеполовой диафрагмы также смыкаются, образуя общую тонкую соединительнотканную пластинку, прикрытую *m. transversus perinei superficialis* и участвующую в образовании центра промежности. Необходимо отметить, что фасции мочеполовой области **более развиты у женщин**.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение мы можем обозначить:

1. Состав мышечно-фасциальной пластинки мочеполовой области: *Fascia perinei superficialis* — *mm. bulbospongiosus*, *ischiocavernosus*, *transversus perinei superficialis* — *membrana perinei* — *mm. transversus perinei profundus*,

sphincter urethrae externum — *fascia diaphragmatis urogenitalis superior*.

2. Мышечно-фасциальный состав анальной области: *Fascia perinei superficialis* — *fascia inferior diaphragmatis pelvis* — *m. sphincter ani externum* — *mm. levator ani*, *coccygeus* — *fascia superior diaphragmatis pelvis*.

А также кратко изложить основные положения изучаемой темы:

- а) мышцы тазовой и мочеполовой областей, покрывающие их фасции, образуют промежность, которая является основной опорой для органов брюшной полости и малого таза;
- б) фасции тазовой и мочеполовой областей, разделяя их мышцы, способствуют рациональному приложению и распределению силы мышечных волокон всех мышц промежности при выполнении ими сложных, физиологически важных, но сугубо индивидуальных функций;
- в) ограничивая клетчаточные пространства малого таза, фасции определяют локализацию воспалительных процессов и пути возможного распространения гноя в них.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдикасов М.А., Тургумбаева Г.К., Калымжанов С.К. К вопросу о лечении стриктур уретры. I конгресс урологов Казахстана: материалы. Алматы; 2005: 15–6.
2. Алиев Э.А., Ахмедова Э.В. Пропалс тазовых органов. Колопроктология. 2016; 56(2): 42–7.
3. Аминев А.М. Руководство по проктологии. В 4т. Куйбышев: Кн. изд-во; 1973.
4. Беляева Л.Е., Соболевская Ю.Г., Садовников В.И., Платонова Е.Н., Сандриков В.А., Царьков П.В. Трансперинеальное ультразвуковое

- исследование в оценке состояния тазового дна у женщин. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2013; 2: 70–7.
5. Большая медицинская энциклопедия. Изд. 3-е. М.: Советская энциклопедия. 1993; 21.
 6. Бурак Г.Г., Ким Т.И., Моргаева Ю.В. Перинеология: анатомо-функциональные и клинические аспекты. Часть 1. Анатомия и функции мышц анальной области. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2018; 17(5): 43–51.
 7. Вуд Б.А., Берлей Д.Е., Мелло А.Д., Генри М.М. ред., Свощ М. ред. Колопроктология и тазовое дно. Патология и лечение. Пер. с англ. М.: Медицина; 1988.
 8. Дульцев Ю.В., Саламов К.Н. Анальное недержание. М.: Медицина; 1993. 9. Клиффорд Р. Уиллис. Атлас тазовой хирургии. М.: Мед.лит.; 1999.
 10. Колесников Л.Л. Международная анатомическая терминология. М.: Медицина; 2003.
 11. Кочетков А.Г., Сорокин А.П., Стельникова И.Г. Общая анатомия опорных структур человеческого организма. Методическое пособие. Нижний Новгород: НГМИ; 1992.
 12. Краев А.В., Синельников Р.Д. ред. Анатомия человека. М.: Медицина. 1978; 1.
 13. Краснопольский В.И., Титченко Л.И., Чечнева М.А., Буянова С.Н. Возможности ультразвуковой визуализации анатомии и патологии тазового дна. Российский вестник акушера-гинеколога. 2009; 5: 64–8.
 14. Кулаков В.И., Бутова Е.А. Акушерский травматизм мягких родовых путей. М.: Медицинское информационное агентство; 2003.
 15. Куликовский В.Ф., Сторожилов Д.А. Патологическая физиология анального недержания: монография. Белгород: БелГУ; 2018.
 16. Куликовский В.Ф., Олейник Н.В., Сторожилов Д.А., Наумов А.В. Функциональные особенности запирающего аппарата прямой кишки и мышц тазового дна, связанные с возрастом в норме. Колопроктология. 2014; 49(3): 23–4.
 17. Ленюшкин А.И. Детская колопроктология: руководство для врачей. М.: Медицина; 1990.
 18. Мороз Н.В. УЗИ в оценке тазового дна. Вестник ВГМУ. 2015; 14(2): 31–7.
 19. Неттер Ф., Колесников Л.Л. ред. Атлас анатомии человека. Пер. с англ. 6-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
 20. Огнев Б.В., Фраучи В.Х. Топографическая и клиническая анатомия. М.: Медгиз; 1960.
 21. Радзинский В.Е. ред. Перинеология. кол. Монография. 2-е изд., испр. и доп. М.: РУДН; 2010.
 22. Ривкин В.Л., Файн С.Н., Бронштейн А.С., Ан В.К. Руководство по колопроктологии. М.: Медпрактика; 2004.
 23. Салов П.П. Тазовое дно и дисфункция тазовых органов. Новосибирск: Офсет; 1998.
 24. Султанова С.Г. Причины разрывов промежности и их лечение. Международный медицинский журнал. 2010; 1: 60–2.
 25. Струков Д.В., Александрович Ю.С., Васильев А.Г. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока. Педиатр. 2014; 5(2): 81–7.
 26. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С., Кораблев Р.В., Печатникова В.А., Васильев А.Г., Анисимов В.Н. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неоангиогенеза и гиперкоагуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 158(10): 500–2.
 27. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78(3): 17–21.
 28. Тонков В.Н. Учебник нормальной анатомии человека. 5-е изд., испр. и пер. СПб.: Медгиз. 1953; 1.
 29. Lawson I. O. N. Pelvic anatomy. I. Pelvic floor muscles. Annals of the Royal College of Surgeons. 1974; 54: 244–52.
 30. Oelrich T. M. The Striated Urogenital Sphincter in the Human Female. Anat. Rec. 1983; 205: 223–232.
 31. Oelrich T. M. The Urethral Sphincter in the Male. Amer. J. Anat. 1980; 158: 229–64.
 32. Roberts W. H., Habenicht J., Krishingner G. The Pelvic and Perineal Fasciae and their Neural and Vascular Relationships. Anat. Rec. 1954; 149: 707–20.
 33. Terminologia Anatomica. International Anatomical Terminology. Federatie Committee on Anatomical Terminology. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1998.
 34. Wilson P.M. Understanding the pelvic floor. South African Medical journal. 1973; (47): 1150–67.

REFERENCES

1. Abdikasov M.A., Turgumbaeva G.K., Kalymzhanov S.K. K voprosu o lechenii striktur uretry. [On the issue of the treatment of urethral strictures]. I kongress urologov Kazakhstana: materialy. Almaty; 2005: 15–6. (In Russian).
2. Aliev E.A., Akhmedova E.V. Prolaps tazovykh organov. [Pelvic organs prolapse]. Koloproktologiya. 2016; 56(2): 42–7. (In Russian).
3. Aminev A.M. Rukovodstvo po proktologii. [Guide to proctology]. V 4t. Kuybyshev: Kn. izd-vo Publ.; 1973. (In Russian).
4. Beljaeva L.E., Sobolevskaia Ju.G., Sadovnikov V.I., Platonova E.N., Sandrikov V.A., Car'kov P.V. Transperineal'noe ul'trazvukovoe issledovanie v otsenke sostoyaniya tazovogo dna u zhenshchin. [Transperineal ultrasound in pelvic floor assessment in women]. Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika. 2013; 2: 70–7. (In Russian).
5. Bol'shaya meditsinskaya entsiklopediya. [The great medical encyclopedia]. Izd. 3-е. Moscow: Sovetskaya entsiklopediya. 1993; 21. (In Russian).
6. Burak G.G., Kim T.I., Morgaeva Yu.V. Perineologiya: anatomofunktsional'nye i klinicheskie aspekty. [Perineology: anatomical, functional and clinical aspects]. Chast' 1. Anatomiya i funktsii myshits anal'noy oblasti. Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2018; 17(5): 43–51. (In Russian).
7. Vud B.A., Berley D.E., Mello A.D., Genri M.M. red., Svosh M. red. Koloproktologiya i tazovoe дно. [Coloproctology and pelvic floor]. Patofiziologiya i lechenie. Per. s. angl. Moscow: Meditsina Publ.; 1988. (In Russian).
8. Dul'tsev Yu. V., Salamov K.N. Anal'noe nederzhanie [Fecal incontinence]. Moscow: Meditsina Publ.; 1993. (In Russian).

9. Klifford R. Uiliss. Atlas tazovoy khirurgii. [Pelvic surgery atlas]. Moscow: Med.lit. Publ.; 1999. (In Russian).
10. Kolesnikov L.L. Mezhdunarodnaya anatomicheskaya terminologiya [International anatomical terminology]. Moscow: Meditsina Publ.; 2003. (In Russian).
11. Kochetkov A.G., Sorokin A.P., Stel'nikova I.G. Obshchaya anatomiya opornykh struktur chelovecheskogo organizma: metodicheskoe posobie. [General anatomy of the supporting structures of the human body: a methodological guide]. Nizhniy Novgorod: NGMI Publ.; 1992. (In Russian).
12. Kraev A.V., Sinel'nikov R.D. red. Anatomiya cheloveka. [Human anatomy]. Moscow: Meditsina Publ. 1978; 1. (In Russian).
13. Krasnopol'skiy V.I., Titchenko L.I., Chechneva M.A., Bujanova S.N. Vozmozhnosti ul'trazvukovoy vizualizatsii anatomii i patologii tazovogo dna. [Possibilities of ultrasound visualization of pelvic floor anatomy and pathology]. Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa. 2009; 5: 64–8. (In Russian).
14. Kulakov V.I., Butova E.A. Akusherskiy travmatizm myagkikh rodovykh putey. [Obstetric injuries of the birth canal tissue]. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo Publ.; 2003. (In Russian).
15. Kulikovskiy V.F., Storozhilov D.A. Patologicheskaya fiziologiya anal'nogo nederzhaniya. [Pathological physiology of fecal incontinence]. Monografiya. Belgorod: BelGU Publ.; 2018. (In Russian).
16. Kulikovskiy V.F., Oleynik N.V., Storozhilov D.A., Naumov A.V. Funktsional'nye osobennosti zapiratel'nogo apparata pryamoy kishki i myshts tazovogo dna, svyazannye s vozrastom v norme. [Functional features of the blocking apparatus of the rectum and pelvic floor muscles associated with age in the norm]. Koloproktologiya. 2014; 49(3): 23–4. (In Russian).
17. Lenyushkin A.I. Detskaya kolonoproktologiya: rukovodstvo dlya vrachey. [Children Coloproctology: the guide for physicians]. Moscow: Meditsina Publ.; 1990. (In Russian).
18. Moroz N.V. UZI v ocnke tazovogo dna [Ultrasound in the pelvic floor assessment]. Vestnik VGMU. 2015; 14(2): 31–7. (In Russian).
19. Netter F., Kolesnikov L.L. red. Atlas anatomii cheloveka. [Atlas of human anatomy]. Per. s angl. 6-e izd. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2015. (In Russian).
20. Ognev B.V., Frauchi V.Kh. Topograficheskaya i klinicheskaya anatomiya [Topographic and clinical anatomy]. Moscow: Medgiz Publ.; 1960. (In Russian).
21. Radzinskiy V. E., ed. Perioneologiya: uchebnoe posobie [Perineology tutorial]. Moscow: RUDN Publ.; 2010. (In Russian).
22. Rivkin V.L., Fajn S.N., Bronshtejn A.S., An V.K. Rukovodstvo po koloproktologii. [Guide to Coloproctology]. Moscow: Medpraktika Publ.; 2004. (In Russian).
23. Salov P.P. Tazovoe dno i disfunktsiya tazovykh organov. [Pelvic floor and pelvic organ dysfunction]. Novosibirsk: Ofset Publ.; 1998. (In Russian).
24. Sultanova S.G. Prichiny razryvov promezhnosti i ikh lechenie. [Causes of perineal tears and their treatment]. Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal. 2010; 1: 60–2. (In Russian).
25. Strukov D.V., Aleksandrovich Yu.S., Vasiliev A.G. Aktual'nyye problemy sepsisa i septicheskogo shoka. [Actual problems of sepsis and septic shock]. Pediatr. 2014; 5(2): 81–7. (In Russian).
26. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova E.S., Korablev R.V., Pechatnikova V.A., Vasiliev A.G., Anisimov V.N. Leykemiya R-388 u myshey linii CDF1 kak test-sistema opukhol'-assotsirovannogo neoangiogeneza i giperkoagulyatsii. [R-388 Leukemia in CDF1 mice as a tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation test system]. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny. 2014; 158(10): 500–2. (In Russian).
27. Trashkov A.P., Vasiliev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolicheskaya terapiya mochekamennoy bolezni na razlichnykh modelyakh porazheniya pochek u krys. [Metabolic therapy of urolithiasis in various kidney affection models in rats]. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2015; 78(3): 17–21. (In Russian).
28. Tonkov V. N. Uchebnik normal'noy anatomii cheloveka. [Textbook of normal human anatomy]. 5-e izd., ispr. i per. St.-Petersburg: Medgiz. 1953; 1. (In Russian).
29. Lawson I. O. N. Pelvic anatomy. I. Pelvic floor muscles. Annals of the Royal College of Surgeons. 1974; 54: 244–52.
30. Oelrich T. M. The Striated Urogenital Sphincter in the Human Female. Anat. Rec. 1983; 205: 223–232.
31. Oelrich T. M. The Urethral Sphincter in the Male. Amer. J. Anat. 1980; 158: 229–64.
32. Roberts W. H., Habenicht J., Krishinger G. The Pelvic and Perineal Fasciae and their Neural and Vascular Relationships. Anat. Rec. 1954; 149: 707–20.
33. Terminologia Anatomica. International Anatomical Terminology. Federatie Committee on Anatomical Terminology. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1998.
34. Wilson P.M. Understanding the pelvic floor. South African Medical journal. 1973; (47): 1150–67.

ПАТОГЕНЕЗ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (ЛЕКЦИЯ)

© Дмитрий Игоревич Василевский, Станислав Георгиевич Баландов, Кристина Александровна Анисимова, Марина Викторовна Завгородняя

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

Контактная информация: Дмитрий Игоревич Василевский — доцент, д.м.н. кафедры хирургии факультетской с курсом лапароскопической хирургии и сердечно-сосудистой хирургии с клиникой. E-mail: vasilevsky1969@gmail.com

Резюме: Поддержание артериального давления на необходимом уровне является адаптивным механизмом организма. В норме он регулируется в зависимости от состояния, в котором находится человек. В момент стрессовой ситуации или физического напряжения активизируется симпатическая нервная система. Повышение артериального давления при симпатической стимуляции является одним из проявлений гемодинамических изменений, направленных на централизацию кровообращения. При отсутствии опасности симпатические импульсы уравниваются влиянием парасимпатической системы, и давление удерживается на нормальном уровне. Нейрогуморальная система оказывает своё влияние на гемодинамику через регуляторные отделы центральной нервной системы, исполнительные периферические структуры и биологически активные вещества. Нервный импульс, распространяясь по симпатическим или парасимпатическим волокнам, стимулирует высвобождение биологически активных веществ для активации определенных рецепторов. Результатом воздействия на рецептор гладкомышечных клеток сосудов может стать повышение или снижение тонуса сосудов. Возбуждение рецепторов юкста-гломерулярного аппарата почки приводит к ферментативной активации ангиотензина II и прямому (вазоконстрикция, усиление сокращений миокарда, увеличение реабсорбции натрия и воды в почках) или опосредованному (синтез альдостерона и катехоламинов) увеличению артериального давления. Активация кининовых рецепторов оказывает гипотензивное действие через синтез кининов и выделение эндотелием сосудов вазодилатирующих факторов. Нарушение какого-либо звена регуляции артериального давления приводит к развитию артериальной гипертензии. Длительная артериальная гипертензия способствует ремоделированию сердечно-сосудистой системы с формированием стойкой патологии.

Ключевые слова: патогенез, артериальная гипертензия, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ремоделирование сердечно-сосудистой системы.

PATHOGENESIS OF ARTERIAL HYPERTENSION (LECTURE)

© Dmitry I. Vasilevsky, Stanislav G. Balandov, Kristina A. Anisimova, Marina V. Zavgorodnyaya

First Saint Petersburg State Medical University

197022, St. Petersburg, ul. Leo Tolstoy, d. 6–8

Contact Information: Dmitry I. Vasilevsky – Associate Professor, MD department of surgery faculty with a course of laparoscopic surgery and cardiovascular surgery with a clinic. E-mail: vasilevsky1969@gmail.com

Abstract: Maintaining blood pressure at the required level is an adaptive mechanism of the body. Normally it is regulated depending on the condition in which the person is. At the moment of a stressful situation or physical tension, the sympathetic nervous system is activated. Increased blood pressure during sympathetic stimulation — is one of the manifestations of hemodynamic changes aimed at centralizing circulation. In the absence of danger, sympathetic impulses are balanced by the influence of the parasympathetic system and blood pressure is maintained at a normal level. The neurohumoral system exerts its influence on hemodynamics through the regulatory departments of the central nervous system, executive peripheral structures and biologically active substances. Nerve impulse, spreading through sympathetic or parasympathetic fibers, stimulates the release of biologically active substances to activate certain receptors. The effect on the receptor of smooth muscle cells of vessels can be an increase or decrease in the tone of the vessels.

The arousal of receptors of the juxt-glomerular apparatus of the kidney leads to the enzymatic activation of angiotensin II and direct (vasoconstriction, amplification of myocardial contractions, increased reabsorption of sodium and water in the kidneys) or mediated (synthesis aldosterone and catecholamines) increase ad. The activation of kinin receptors has a hypotensive effect through the synthesis of kinins and the release of endothelium vessels vasodilating factors. Violation of any link in the regulation of blood pressure leads to the development of hypertension. Prolonged arterial hypertension contributes to the remodeling of the cardiovascular system with the formation of persistent pathology.

Key words: pathogenesis, arterial hypertension, renin-angiotensin-aldosteron system, cardiovascular system remodeling.

Артериальная гипертензия — синдром стойкого повышения артериального давления с многофакторными механизмами развития. По современным представлениям данное патологическое состояние рассматривается с позиций дезорганизации различных звеньев сложной системы, удерживающей артериальное давление на нормальном уровне [1, 2].

Основная роль в поддержании давления в артериях принадлежит симпато-адреналовой системе — условно выделенной структуре, которая включает определённые отделы головного мозга (гипоталамус, нейроретикулярную формуацию ствола), периферические симпатические ганглии, симпатические нервы и мозговое вещество надпочечников.

Повышение активности центральных отделов симпато-адреналовой системы приводит к генерированию импульсов, передающихся через симпатические нервы к тканям-мишеням. Более крупные нервы, подходящие к сосудам, разветвляются на тонкую сеть волокон, имеющих на конце расширения — адренергические синапсы (структуры передачи сигнала). Под влиянием нервных импульсов в синапсах происходит высвобождение медиатора (биологически активного вещества) — норадреналина, воздействующего на рецепторы гладкомышечных клеток сосудов [3].

Адренергические синапсы мышечных клеток артерий и артериол имеют в своей структуре α -адренорецепторы (α_1 и α_2) и β -адренорецепторы (β_1 и β_2). Активация α_1 -адренорецепторов приводит к вазоконстрикции (уменьшению просвета сосуда), β_2 -адренорецепторов — к вазодилатации (расширению просвета). Количество постсинаптических α_1 -адренорецепторов значительно преобладает над β -адренорецепторами, поэтому выброс из синапсов норадреналина в итоге вызывает сужение сосудов (вазоконстрикцию) [4].

Активность симпато-адреналовой системы регулируется центрами, расположенными в рострално-вентролатеральной области продолговатого мозга, и получающими информацию от барорецепторов (реагирующих на изменения давления) синкаротидной зоны (сегмента сонных артерий) и аорты [5].

Возбуждение α_2 -адрено- и I_1 -имидазолиновых рецепторов продолговатого мозга снижает активность симпатического и стимулирует деятельность парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (являющегося антагонистом симпатического). Перечисленные эффекты ведут к снижению тонуса артерий и артериол, и, следовательно, величины артериального давления. Стимуляция I_1 -рецепторов уменьшает реабсорбцию (обратного всасывания) натрия и воды в прок-

симальных канальцах почек, снижает высвобождение катехоламинов надпочечниками, вызывая снижение давления в сосудах [3, 6, 7].

Другим путем регуляции артериального давления является ренин-ангиотензиновая система — сложно организованная функциональная структура, включающая ряд взаимодействующих субстанций (ренин, ангиотензиноген, ангиотензин I, ангиотензин превращающий фермент, ангиотензин II и др.). Ренин-ангиотензиновая система подразделяется на циркулирующую (переносимые с кровью факторы) и локальную (присутствующие в миокарде, сосудах, почках и головном мозге компоненты) [8, 16].

Механизм действия ренин-ангиотензиновой системы активируется высвобождением ренина в результате стимуляции β_1 - и β_2 -адренорецепторов юкта-гломерулярного аппарата почек, падением давления в сосудах клубочков, снижением концентрации натрия, хлора и повышением уровня калия в плазме крови. Под действием ренина через ряд ферментативных реакций ангиотензиноген превращается в биологически активные вещества белковой природы — ангиотензин и ангиотензин-II (являющиеся по своему действию антагонистами). Описанные химические превращения происходят под действием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ, АПФ-2) [8, 10].

Ангиотензин-II является главным звеном ренин-ангиотензиновой системы, оказывающим влияние на многие органы и ткани через специфические рецепторы 1-го и 2-го типов (AT_1 - и AT_2). К непосредственным эффектам ангиотензина-II относятся усиление сокращений миокарда, вазоконстрикция артерий и артериол, усиление синтеза альдостерона и выброса катехоламинов (адреналина и норадреналина) надпочечниками, увеличение реабсорбции натрия и воды в почках, стимуляция выброса норадреналина симпатическими нервными окончаниями [4, 8, 9, 10, 17].

Результатом действия циркулирующей ренин-ангиотензиновой системы является быстрое, но кратковременное поддержание необходимого уровня артериального давления. Напротив, эффектом локальной (тканевой) системы данного каскада является поддержание необходимых параметров давления за счет долгосрочно действующих механизмов (утолщения стенок сосудов, гипертрофии миокарда, гипертрофии почечных клубочков, нефроангиосклероза и др.). Дезорганизация обеих составляющих (циркулирующей и тканевой) ренин-ангиотензиновой системы является важной причиной развития артериальной гипертензии [11, 12].

Ещё одним важным механизмом регуляции системного сосудистого давления (а также — водно-электролитного баланса) является калликреин-кининовая система, которая также подразделяется на циркулирующую (плазменную) и тканевую (локальную). Звеньями биохимического каскада являются прекалликреин, калликреины, кининогены, кинин-превращающий фермент, брадикинин (и другие кинины) [8].

Под действием специфических ферментов прекалликреин превращается в калликреин, стимулирующий трансформацию кининогенов в кинины (биологически активные вещества с широким спектром эффектов). Реализация действия данной группы медиаторов на ткани происходит через активацию кининовых рецепторов (B_1 - B_5) [8, 15].

Сосудорасширяющее и гипотензивное действие кининов происходит за счет непосредственного воздействия на стенку артерий и стимулирования выделения эндотелием вазодилатирующих факторов: оксида азота, простаглицлина, простагландина E_2 . Кинины увеличивают выделение натрия и воды почками, уменьшают секрецию адреналина надпочечниками и выделение норадреналина симпатической нервной системой [13, 14].

При артериальной гипертензии отмечается снижение синтеза калликреина и ускорение дезактивации кининов. Депрессия калликреин-кининовой системы способствует проявлению эффектов эндотелиальных сосудосуживающих факторов, ренин-ангиотезиновой и симпато-адреналовой систем, способствуя развитию артериальной гипертензии [2, 3, 8].

Важным механизмом регуляции тонуса сосудов и уровня артериального давления являются вырабатываемые эндотелием (внутренним слоем) сосудов вазоактивные биологически активные вещества [12, 13, 14].

Наиболее активным сосудорасширяющим фактором из данной группы медиаторов является оксид азота (NO). Образование NO в эндотелиоцитах происходит из L-аргинина под действием фермента NO-синтетазы. Ключевыми медиаторами синтеза оксида азота являются брадикинин и ацетилхолин. Синтезированные молекулы NO диффундируют через стенку сосуда в гладкомышечные клетки, где запускают цепь ферментативных превращений, приводящих в итоге к снижению концентрации ионизированного кальция. Результатом указанных химических реакций является расслабление миоцитов сосудов и вазодилатация [12, 14].

К другим биологически-активным веществам эндотелиального происхождения, обладающим сосудорасширяющим эффектом, относятся эндотелиальный вазодилатирующий гиперполяризирующий фактор, простаглицлин, аденомедулин, натрийуретические пептиды (A, B, C) [14].

Недостаточности продукции клетками эндотелия снижающих тонус сосудов медиаторов, в первую очередь — NO, в настоящее время отводится одна из ключевых ролей в развитии артериальной гипертензии.

Подводя итог обзору различных механизмов развития артериальной гипертензии, следует подчеркнуть этиологическую и патогенетическую многофакторность этого заболевания. Стой-

кое повышение артериального давления является следствием взаимодействия генетических особенностей индивидуума и факторов внешней среды, приводящее к запуску основных патогенетических механизмов развития заболевания: активации симпатоадреналовой и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем, снижения активности калликреин-кининовой системы и депрессорной функции почек, синтетической дисфункции эндотелия. Важнейшим звеном патогенеза артериальной гипертензии является истощение депрессорной системы организма (механизмов снижения артериального давления), стойкая вазоконстрикция и ремоделирование строения артерий (утолщение стенок и т.д.), приводящие к значительному росту периферического сосудистого сопротивления и стабилизации высокого артериального давления [1, 2, 3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Hypertens J. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. 2003; 21: 1011–53.
2. Шалыгин Л. Современные представления о механизмах регуляции артериального давления. Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2015; 2: 109–16.
3. Низамова Г., Хасанов Н., Хасанова Д. Особенности взаимоотношений сегментарных и супрасегментарных отделов вегетативной нервной системы у больных с вегетативными кризами и гипертонической болезнью. Практическая медицина. 2006; 16: 31–3.
4. Чазова И., Жернакова Ю. Клинические рекомендации. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Системные гипертензии. 2018; 15: 6–10.
5. Brody M. Central nervous system and mechanisms of hypertension. Clin. Physiol. Biochem. 1988; 6: 230–9.
6. Кузьменко Н., Плисс М., Рубанова Н. и др. Адренергические и имидазолиновые механизмы функционирования артериального барорецепторного рефлекса в краткосрочной и долговременной регуляции артериального давления. Артериальная гипертензия. 2015; 5: 522–8.
7. Баранова Е., Большакова О. Антигипертензивные препараты центрального действия. Современный взгляд. Артериальная гипертензия. 2006; 12: 125–30.
8. Толегенов А. Артериальная гипертензия. Вестник КазНМУ. 2013; 1: 161–4.
9. Laragh J. Laragh's lessons in pathophysiology and clinical pearls for treating hypertension. Am. J. Hypertens. 2001: 186–94.
10. Hussain M., Awan F. Hypertension regulating angiotensin peptides in the pathobiology of cardiovascular disease. Clin. Exp. Hypertens. 2018; 30: 344–52.
11. Боев С., Доценко Н., Шехунова И. и др. Роль вариабельности артериального давления при артериальной гипертензии в развитии когнитивных нарушений. Артериальная гипертензия. 2019; 2: 20–6.
12. Ching G., Beevers D. Hypertension. Postgraduate medical journal. 1991; 67: 230–46.

13. Сысоев К.А. Морфофункциональные изменения эндотелия в патогенезе гипертонической болезни. Артериальная гипертензия. 2017; 23: 447–56.
14. Попова А., Маянская С., Маянская Н. и др. Артериальная гипертония и дисфункция эндотелия. Часть I. Вестник современной клинической медицины. 2009; 2: 41–6.
15. Струков Д.В., Александрович Ю.С., Васильев А.Г. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока. Педиатр. 2014; 5(2): 81–7.
16. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С., Кораблев Р.В., Печатникова В.А., Васильев А.Г., Анисимов В.Н. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неопластического ангиогенеза и гиперкоагуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 158(10): 500–2.
17. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78(3): 17–21.
7. Baranova Ye., Bol'shakova O. Antigipertenzivnyye preparaty tsentral'nogo deystviya. [Antihypertensive drugs of central action]. Sovremennyy vzglyad. Arterial'naya gipertenziya. 2006; 12: 125–30. (In Russian).
8. Tolegenov A. Arterial'naya gipertenziya. [Arterial hypertension]. Vestnik KazNMU. 2013; 1: 161–4. (In Russian).
9. Laragh J. Laragh's lessons in pathophysiology and clinical pearls for treating hypertension. Am. J. Hypertens. 2001: 186–94.
10. Hussain M., Awan F. Hypertension regulating angiotensin peptides in the pathobiology of cardiovascular disease. Clin. Exp. Hypertens. 2018; 30: 344–52.
11. Boyev S., Dotsenko N., Shekhunova I. i dr. Rol' variabel'nosti arterial'nogo davleniya pri arterial'noy gipertenzii v razvitii kognitivnykh narusheniy. [The role of blood pressure variability in hypertension in the development of cognitive impairment]. Arterial'nyye gipertenziya. 2019; 2: 20–6. (In Russian).

REFERENCES

1. Hypertens J. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. 2003; 21: 1011–53.
2. Shalygin L. Sovremennyye predstavleniya o mekhanizmaxh regulyatsii arterial'nogo davleniya. [Modern concepts of the mechanisms of blood pressure regulation]. Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Tsentra im. N.I. Pirogova. 2015; 2: 109–16. (In Russian).
3. Nizamova G., Khasanov N., Khasanova D. Osobennosti vzaimootnosheniy segmentarnykh i suprasegmentarnykh otdelov vegetativnoy nervnoy sistemy u bol'nykh s vegetativnymi krizami i gipertonicheskoy boleznyu. [Features of the relationship between segmental and suprasegmental parts of the autonomic nervous system in patients with autonomic crises and hypertension]. Prakticheskaya meditsina. 2006; 16: 31–3. (In Russian).
4. Chazova I., Zhernakova Yu. Klinicheskiye rekomendatsii. Diagnostika i lecheniye arterial'noy gipertonii. [Diagnostics and treatment of arterial hypertension]. Sistemnyye gipertenzii. 2018; 15: 6–10. (In Russian).
5. Brody M. Central nervous system and mechanisms of hypertension. Clin. Physiol. Biochem. 1988; 6: 230–9.
6. Kuz'menko N., Pliss M., Rubanova N. i dr. Adrenergicheskiye i imidazolinovyye mekhanizmy funktsionirovaniya arterial'nogo baroretseptornogo refleksa v kratkosrochnoy i dolgovremennoy regulyatsii arterial'nogo davleniya. [Adrenergic and imidazoline mechanisms of functioning of the arterial baroreceptor reflex in short-term and long-term regulation of blood pressure]. Arterial'naya gipertenziya. 2015; 5: 522–8. (In Russian).
7. Baranova Ye., Bol'shakova O. Antigipertenzivnyye preparaty tsentral'nogo deystviya. [Antihypertensive drugs of central action]. Sovremennyy vzglyad. Arterial'naya gipertenziya. 2006; 12: 125–30. (In Russian).
8. Tolegenov A. Arterial'naya gipertenziya. [Arterial hypertension]. Vestnik KazNMU. 2013; 1: 161–4. (In Russian).
9. Laragh J. Laragh's lessons in pathophysiology and clinical pearls for treating hypertension. Am. J. Hypertens. 2001: 186–94.
10. Hussain M., Awan F. Hypertension regulating angiotensin peptides in the pathobiology of cardiovascular disease. Clin. Exp. Hypertens. 2018; 30: 344–52.
11. Boyev S., Dotsenko N., Shekhunova I. i dr. Rol' variabel'nosti arterial'nogo davleniya pri arterial'noy gipertenzii v razvitii kognitivnykh narusheniy. [The role of blood pressure variability in hypertension in the development of cognitive impairment]. Arterial'nyye gipertenziya. 2019; 2: 20–6. (In Russian).
12. Ching G., Beevers D. Hypertension. Postgraduate medical journal. 1991; 67: 230–46.
13. Sysoyev K.A. Morfofunktsional'nyye izmeneniya endoteliya v patogeneze gipertonicheskoy bolezni. [Morphofunctional changes in the endothelium in the pathogenesis of hypertension]. Arterial'nyye gipertenziya. 2017; 23: 447–56. (In Russian).
14. Popova A., Mayanskaya S., Mayanskaya N. i dr. Arterial'naya gipertoniya i disfunktsiya endoteliya. [Arterial hypertension and endothelial dysfunction]. Chast' I. Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny. 2009; 2: 41–6. (In Russian).
15. Strukov D.V., Aleksandrovich Yu.S., Vasil'yev A.G. Aktual'nyye problemy sepsisa i septicheskogo shoka. [Topical problems of sepsis and septic shock]. Peditr. 2014; 5(2): 81–7. (In Russian).
16. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova Ye.S., Korablev R.V., Pечатникова В.А., Васильев А.Г., Анисимов В.Н. Лейкемия R-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неопластического ангиогенеза и гиперкоагуляции. [P-388 leukemia in CDF1 mice as a test system for tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2014; 158(10): 500–2. (In Russian).
17. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolicheskaya terapiya mochekamennoy bolezni na razlichnykh modelyakh porazheniya pochk u krys. [Metabolic therapy of urolithiasis in various models of kidney damage in rats]. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2015; 78(3): 17–21. (In Russian).

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Утв. приказом и.о. ректора
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России от 23.06.16

**НАСТОЯЩИЕ ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ
ЯВЛЯЮТСЯ ИЗДАТЕЛЬСКИМ ДОГОВОРОМ**

Условия настоящего Договора (далее «Договор») являются публичной офертой в соответствии с п. 2 ст. 437 Гражданского кодекса Российской Федерации. Данный Договор определяет взаимоотношения между редакцией журнала «**Russian Biomedical Research**» (далее по тексту «Журнал»), зарегистрированного Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР), свидетельство: ПИ № ФС77–74228 от 02 ноября 2018 г. (ранее ПИ № ТУ78–01869 от 17 мая 2016 г.), именуемой в дальнейшем «Редакция» и являющейся структурным подразделением ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, и автором и/или авторским коллективом (или иным правообладателем), именуемым в дальнейшем «Автор», принявшим публичное предложение (оферту) о заключении Договора.

Автор передает Редакции для издания авторский оригинал или рукопись. Указанный авторский оригинал должен соответствовать требованиям, указанным в разделах «Представление рукописи в журнал», «Оформление рукописи». При рассмотрении полученных авторских материалов Журнал руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (Intern. committee of medical journal editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals // Ann. Intern. Med. 1997; 126: 36–47).

В Журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю Журнала.

Журнал не рассматривает работы, результаты которых по большей части уже были опубликованы или описаны в статьях, представленных или принятых для публикации в другие печатные или электронные средства массовой информации. Представляя статью, автор всегда должен ставить редакцию в известность обо всех направлениях этой статьи в печать и о предыдущих публикациях, которые могут рассматриваться как множественные или дублирующие публикации той же самой или очень близкой работы. Автор должен уведомить редакцию о том, содержит ли статья уже опубликованные материалы, и предоставить ссылки на предыдущую, чтобы дать редакции возможность принять решение, как поступить в данной ситуации. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением «Правил и норм гуманного обращения с биообъектами исследований».

Размещение публикаций возможно только после получения положительной рецензии.

Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.

Подача статей в журнал «Russian Biomedical Research» осуществляется только через он-лайн форму с сайта СПбГПМУ: <http://gpma.ru/science/pediatr/> с пометкой «для Russian Biomedical Research».

Требования к отправке статей

Перед заполнением анкеты авторам рекомендуется подготовить все необходимые для ввода данные, а также выбрать автора (в случае коллектива авторов статьи), ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПЕРЕПИСКУ. Для успешного заполнения анкеты необходимо иметь всю указанную информацию и на русском и на английском языках!!!

Все названия на английском языке, включая названия статьи, названия учреждений, их подразделений должны приводиться с заглавных букв (например: Sex Differences In Aging, Life Span And Spontaneous Tumorigenesis; Bulletin of Experimental Biology and Medicine; Saint Petersburg State Pediatric Medical University) и непременно в соответствии с официальными наименованиями без самодельности.

Анкетные данные всех авторов — ФИО (полностью), ученая степень, звание, должность, место работы (кафедра, отделение), название учреждения, адрес учреждения, E-mail, телефон, ФИО автора, ответственного за переписку, и т.д. — заполняются в соответствующих полях формы заявки.

Резюме, ключевые слова и название статьи — также заполняются он-лайн.

Статья предоставляется в электронной форме (файл MS Word версии не старше 2003, т.е. с расширением doc, заархивированный в формат .zip, .rar).

Файл статьи называется Фамилией первого автора, например, Иванов.doc или Petrov.doc

Статья должна соответствовать правилам оформления статей к публикации (см. ниже)

К каждой статье прилагается файл Экспертного Заключения (ЭЗ). Для авторов СПбГПМУ ЭЗ может только подписываться авторами статьи, печать необязательна. Для авторов других учреждений — ЭЗ оформляется обязательно полностью, с печатями (круглая печать учреждения) и подписями руководителей и комиссий данного учреждения. Заполненный, подписанный и «опечатанный» ЭЗ для отправки он-лайн предварительно сканируется или фотографируется. Образец ЭЗ можно запросить по адресу: srccenter@mail.ru

Отправленные анкетные данные авторов, статья, ЭЗ поступают на E-mail автору-отправителю (для подтверждения и проверки отправки) и на E-mail редакции scrcenter@mail.ru техническому редактору журнала «Russian Biomedical Research», с которым осуществляется вся дальнейшая работа по подготовке статьи в печать. Все вопросы по отправке статей можно адресовать на электронный адрес scrcenter@mail.ru техническому редактору журнала «Russian Biomedical Research» Марии Александровне Пахомовой.

Рукопись считается поступившей в Редакцию, если она представлена комплектно и оформлена в соответствии с описанными требованиями. Предварительное рассмотрение рукописи, не заказанной Редакцией, не является фактом заключения между сторонами издательского Договора.

При представлении рукописи в Журнал Авторы несут ответственность за раскрытие своих финансовых и других конфликтных интересов, способных оказать влияние на их работу. В рукописи должны быть упомянуты все лица и организации, оказавшие финансовую поддержку (в виде грантов, оборудования, лекарств или всего этого вместе), а также другое финансовое или личное участие.

Правила оформления статей к публикации

1. Статья предоставляется в электронной форме (файл MS Word версии не старше 2003, т.е. с расширением doc, заархивированный в формат .zip, .rar), шрифт — 14, интервал — полуторный.

Файл статьи называется по Фамилии первого автора, например, Иванов.doc или Petrov.doc. Никаких других слов в названии не должно быть!

Ориентировочны размер статьи, включая указатель литературы, таблицы и резюме, — 10–12 стр. текста через полтора интервала или 20–25 тысяч знаков с пробелами. Рекомендуемый размер обзора — 18–20 страниц «машинописного» текста или 35–40 тысяч знаков с пробелами. Примерное число литературных ссылок для экспериментальной статьи — 20, для обзоров и проблемных статей — 50.

Файл статьи должен содержать НА РУССКОМ И АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКАХ:

- Заглавие (Title) должно быть кратким (не более 120 знаков), точно отражающим содержание статьи.
- Сведения об авторах (публикуются). Для каждого автора указываются: фамилия, имя и отчество, место работы, почтовый адрес места работы, e-mail. Фамилии авторов рекомендуется транслитерировать так же, как в предыдущих публикациях, или по системе BGN (Board of Geographic Names), см. сайт <http://www.translit.ru>.
- Резюме (Summary) (1500–2000 знаков, или 200–250 слов) помещают перед текстом статьи. Резюме не требуется при публикации рецензий, отчетов о конференциях, информационным писем.

Авторское резюме к статье является основным источником информации в отечественных и зарубежных инфор-

мационных системах и базах данных, индексирующих журнал. Резюме доступно на сайте журнала «Russian Biomedical Research» и индексируется сетевыми поисковыми системами. Из аннотации должна быть понятна суть исследования, нужно ли обращаться к полному тексту статьи для получения более подробной, интересующей его информации. Резюме должно излагать только существенные факты работы.

Рекомендуемая структура как аннотации, так и самой статьи IMRAD (для оригинальных исследований структура обязательна): введение (Introduction), материалы и методы (Materials and methods), результаты (Results), обсуждение (Discussion), выводы (Conclusion). Предмет, тему, цель работы нужно указывать, если они не ясны из заглавия статьи; метод или методологию проведения работы целесообразно описывать, если они отличаются новизной или представляют интерес с точки зрения данной работы.

Объем текста авторского резюме определяется содержанием публикации (объемом сведений, их научной ценностью и/или практическим значением) и должен быть в пределах **200–250 слов (1500–2000 знаков)**.

- Ключевые слова (Key words) от 3 до 10 ключевых слов или словосочетаний, которые будут способствовать правильному перекрестному индексированию статьи, помещаются под резюме с подзаголовком «ключевые слова». Используйте термины из списка медицинских предметных заголовков (Medical Subject Headings), приведенного в Index Medicus (если в этом списке еще отсутствуют подходящие обозначения для недавно введенных терминов, подберите наиболее близкие из имеющихся). Ключевые слова разделяются точкой с запятой.
- Текст статьи может быть написан либо на русском, либо на английском языке, также возможно публикация статьи с полным переводом. На русском и английском языках необходимо представить все рисунки и таблицы (заголовки и все надписи должны иметь перевод).

Структура основного текста статьи: введение, изложение основного материала, заключение, литература. Для оригинальных исследований — введение, методика, результаты исследования, обсуждение результатов, литература (IMRAD). В разделе «методика» обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц — СИ. Фамилии иностранных авторов, цитируемые в тексте рукописи, приводятся в оригинальной транскрипции.

Таблицы и рисунки приводятся непосредственно в теле статьи, каждый из которых имеет номер и название с обязательными ссылками на них в тексте статьи — в контексте предложения (например: «...как показано на рисунке 1...») или в конце предложения в круглых скобках (например: «...выявлена положительная корреляционная связь умеренной степени ($r=0,41$) между уровнем ТТГ матери и новорожденного (рис. 2)»; просьба учитывать, что в

печатной версии журнала рисунки будут воспроизводиться в черно-белом варианте.

- список литературы обязательно в алфавитном порядке (сперва все отечественные потом иностранные авторы (см. пункт 5) с дополнительным транслитерированным списком (методика транслитерации описана подробно ниже).

Текст статьи должен быть подготовлен в строгом соответствии с настоящими правилами и тщательно выверен автором. В случае обнаружения значительного количества опечаток, небрежностей, пунктуационных и орфографических ошибок, нерасшифрованных сокращений, отсутствия основных компонентов и других технических дефектов оформления статей редакция возвращает статью автору для доработки. Небольшие погрешности редакция может исправить сама без согласования с автором. Кроме того, редакция оставляет за собой право осуществления литературного редактирования статей.

Сокращений, кроме общеупотребляемых, следует избегать. Сокращения в названии статьи, названиях таблиц и рисунков, в выводах недопустимы. Если аббревиатуры используются, то все они должны быть непременно расшифрованы полностью при первом их упоминании в тексте (например: «Наряду с данными о РОН (резидуально-органической недостаточности), обуславливающей развитие ГКС (гиперкинетического синдрома), расширен диапазон исследований по эндогенной природе данного синдрома».

Все цитирования производятся следующим образом:

ФИО автора, год издания и прочая информация не упоминаются в тексте. Вместо этого указывается ссылка на источник литературы в виде номера в квадратных скобках (пример: «Ряд исследователей отмечает различные нарушения речевых функций при эпилепсии в детском возрасте [17, 21, 22].»), который включен в расставленный в алфавитном порядке список источников в конце статьи.

Все ссылки должны иметь соответствующий источник в списке, а каждый источник в списке — ссылку в тексте.

В виде исключения в тексте могут приводиться ФИО конкретных авторов в формате И. О. Фамилия, год и даже название источника, но при этом все равно обязательна ссылка (в квадратных скобках в конце предложения) на источник, включенный в список литературы.

(Например: «В 1892 году великий Эраст Гамильтонский описал в своем бессмертном труде «Об открытии третьего уха у человека» третье (непарное) ухо [34].»)

Литература (References)

Учитывая требования международных систем цитирования, список литературы приводится не только в обычном виде, но также и дополнительно в транслитерированном (см. п. 5.9. Транслитерация).

В статье приводятся ссылки на все упоминаемые в тексте источники.

Фамилии и инициалы авторов в приставном списке приводятся в алфавитном порядке, сначала русского, затем латинского алфавита.

В описании указываются все авторы публикации.

Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках.

Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Список литературы комплектуется в следующем порядке:

Нормативные акты

Приказы, нормативные акты, методические письма и прочие законные акты, патенты, полезные модели не вносятся в список литературы, оформляются в виде сносок. Сноска — примечание, помещаемое внизу страницы (постраничная сноска). Знак сноски ставят цифрой после фрагмента основного текста, где есть упоминание об этих источниках. Рекомендуются сквозная нумерация сносок по тексту.

Интернет-ресурс

1. Интернет-ресурс, где есть название источника, автор — вносится в список литературы (в порядке алфавита) с указанием даты обращения (см. ниже пример оформления).

2. Если есть только ссылка на сайт — вносится в список литературы в конце, с указанием даты обращения.

Щеглов И. Насколько велика роль микрофлоры в биологии вида-хозяина? Живые системы: научный электронный журнал. Доступен по: http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat_id=396&d_no=3576 (дата обращения 02.07.2012).

Kealy M. A., Small R. E., Liamputtong P. Recovery after caesarean birth: a qualitative study of women's accounts in Victoria, Australia. BMC Pregnancy and Childbirth. 2010. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2393/10/47/> (Accessed 11.09.2013).

Книга:

Автор(ы) название книги (знак точка) место издания (двоеточие) название издательства (знак точка с запятой) год издания. Если в качестве автора книги выступает редактор, то после фамилии следует ред.

Айламазян Э. К., Новиков Б. Н., Зайнулина М., С., Палинка Г. К., Рябцева И. Т., Тарасова М. А. Акушерство: учебник. 6 изд. СПб.; 2007.

Преображенский Б. С., Темкин Я.С., Лихачев А.Г. Болезни уха, горла и носа. М.: Медицина; 1968.

Радзинский В. Е., ред. Перинеология: учебное пособие. М.: РУДН; 2008.

Brandenburg J.H., Ponti G.S., Worring A.F. eds. Vocal cord injection with autogenous fat. 3 rd ed. N Y: Mosby; 1998

Domeika M. Diagnosis of genital chlamydial infection in humans as well as in cattle. Uppsala; 1994.

Глава из книги:

Автор(ы) название главы (знак точка) В кн.: или In: далее описание книги [Автор(ы) название книги (знак точка) место издания (двоеточие) название издательства (знак точка с запятой) год издания] (двоеточие) стр. от и до.

Коробков Г.А. Темп речи. В кн.: Современные проблемы физиологии и патологии речи: сб. тр. Т. 23. М.; 1989: 107–11.

Статья из журнала:

Автор(ы) название статьи (знак точка) название журнала (знак точка) год издания (знак точка с запятой) том (если есть в круглых скобках номер журнала) затем знак (двоеточие) страницы от и до.

Кирющенко А.П., Совчи М.Г., Иванова П.С. Поликистозные яичники. Акушерство и гинекология. 1994; N 1: 11–4.

Brandenburg J.H., Ponti G.S., Worring A.F. Vocal cord injection with autogenous fat: a long-term magnetic resonance. Laryngoscope. 1996; 106(2,pt 1): 174–80.

Simpson J. et al. Association between adverse perinatal outcomes and serially obtained second and third trimester MS AFP measurements. Am. J. Obstet. Gynecol. 1995; 173: 1742.

Deb S., Campbell B. K., Pincott-Allen C. et al. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Müllerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. Ultrasound. Obstet. Gynecol. 2012; 39 (5): 574–80.

Тезисы докладов, материалы научных конференций

Бабий А.И., Левашов М.М. Новый алгоритм нахождения кульминации экспериментального нистагма (миниметрия). III съезд оториноларинг. Беларуси: тез. докл. Минск; 1992: 68–70.

Салов И.А., Маринушкин Д.Н. Акушерская тактика при внутриутробной гибели плода. В кн.: Материалы IV Российского форума «Мать и дитя». М.; 2000; ч. 1: 516–9.

Авторефераты:

Петров С.М. Время реакции и слуховая адаптация в норме и при периферических поражениях слуха. Автореф. дис... канд. мед. наук. СПб.; 1993.

Прочее

World Health Organization. Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections, 2005 global estimates. Geneva: World Health Organization; 2011.

Транслитерация

Список литературы подается в двух вариантах: первый на языке оригинала (русскоязычные источники кириллицей, англоязычные латиницей), второй — (References) в романском алфавите (для Scopus и других международных баз данных, повторяя в нем все источники литературы, независимо от того, имеются ли среди них иностранные. Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они полностью повторяются в списке, готовящемся в романском алфавите.

В романском алфавите для русскоязычных источников требуется следующая структура библиографической ссылки: автор(ы) (транслитерация), [перевод названия книги или статьи на английский язык], название источника (транслитерация), выходные данные в цифровом формате, указание на язык статьи в скобках (in Russian).

Пример:

Preobrazhenskiy B. S., Temkin Ya. S., Likhachev A. G. Bolezni ukha, gorla i nosa [Diseases of the ear, nose and throat]. M.: Meditsina; 1968. (in Russian).

Технология подготовки ссылок с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика:

На сайте <http://www.translit.ru> можно бесплатно воспользоваться программой транслитерации русского текста в латиницу. Программа очень простая.

Входим в программу Translit.ru. В окошке «варианты» выбираем систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставляем в специальное поле весь текст библиографии на русском языке и нажимаем кнопку «в транслит».

Копируем транслитерированный текст в готовящийся список References. Переводим на английский язык название книги, статьи, постановления и т.д., переносим его в готовящийся список. **Внимание!** Необходим авторский корректный перевод названия. Автоматический перевод, предполагающий возможное искажение сути названия статьи, недопустим.

Объединяем описания в соответствии с принятыми правилами и редактируем список. В конце ссылки в круглых скобках указывается (in Russian). Ссылка готова.

Примеры транслитерации русскоязычных источников литературы для англоязычного блока статьи.

Книга: Avtor (y) Nazvanie knigi (znak tochka) [The title of the book in english]. mesto izdaniya (dvoetochie) nazvanie izdatel'stva (znak tochka s zapyatoy) god izdaniya.

Preobrazhenskiy B. S., Temkin Ya. S., Likhachev A. G. Bolezni ukha, gorla i nosa [Diseases of the ear, nose and throat]. M.: Meditsina; 1968. (in Russian).

Radzinskiy V. E., ed. Perioneologiya: uchebnoe posobie [Perineology tutorial]. M.: RUDN; 2008. (in Russian).

Глава из книги: Avtor (y) nazvanie glavy (znak tochka) [The title of the article in english]. In: Avtor (y) nazvanie knigi (znak tochka) mesto izdaniya (dvoetochie) nazvanie izdatel'stva (znak tochka s zapyatoy) god izdaniya. (dvoetochie) str. ot i do.

Korobkov G. A. Temp rechi [Rate of speech]. V kn.: Sovremennye problemy fiziologii i patologii rechi: sb. tr. T. 23. M.; 1989:107–11. (in Russian).

Статья из журнала: Avtor (y) nazvanie stat'i [The title of the article in english] (znak tochka) nazvanie zhurnala (znak tochka) god izdaniya (znak tochka s zapyatoy) tom (esli est' v kruglykh skobkakh nomer zhurnala) zatem znak (dvoetochie) stranitsy ot i do.

Kiryushchenkov A. P., Sovchi M. G., Ivanova P. S. Polikistoznye yaichniki [Polycystic ovary]. Akusherstvo i ginekologiya. 1994; N 1: 11–4. (in Russian).

Тезисы докладов, материалы научных конференций

Babiy A. I., Levashov M. M. Novyy algoritm nakhozhdeniya kul'minatsii eksperimental'nogo nistagma (minimetriya) [New algorithm of finding of the culmination experimental nystagmus (minimetriya)]. III s'ezd otorinolaringologov Resp. Belarus': tez. dokl. Minsk; 1992: 68–70. (in Russian).

Salov I. A., Marinushkin D. N. Akusherskaya taktika pri vnutriutrobnoy gibeli ploda [Obstetric tactics in intrauterine fetal death]. V kn.: Materialy IV Rossiyskogo foruma «Mat' i ditya». M.; 2000; ch.1:516–9. (in Russian).

Авторефераты

Petrov S. M. Vremya reaktsii i slukhovaya adaptatsiya v norme i pri perifericheskikh porazheniyakh slukha [Time of reaction and



acoustical adaptation in norm and at peripheral defeats of hearing]. PhD thesis. SPb.; 1993. (in Russian).

Описание Интернет-ресурса

Shcheglov I. Naskol'ko velika rol' mikroflory v biologii vida-khozyaina? [How great is the microflora role in type-owner biology?]. Zhivye sistemy: nauchnyy elektronnyy zhurnal. Available at: http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat_id=396&d_no=3576 (accessed 02.07.2012). (in Russian).

6. Пример списка литературы, включающего транслитерированный вариант:

ЛИТЕРАТУРА

1. Кофиади И.А. Генетическая устойчивость к заражению ВИЧ и развитию СПИД в популяциях России и сопредельных государств. Автореф. дис... канд. биол. наук. М.; 2008. Доступен по: <http://www.dnatechnology.ru/files/images/d/0b136b567d25d4be1dfa26a8b39ec2b9.pdf> (дата обращения 18.09.2014).
2. Flynn E., Eyre S., Packham J. Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS), UKRAG Consortium, BSPAR Study Group, Barton A., Worthington J., Thomson W. Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun.* 2010; 11 (7): 584–89.

И т.д.

REFERENCES

1. Kofiadi I.A. Geneticheskaya stoychivost' k zarazheniyu VICH i razvitiyu SPID v populyatsiyakh Rossii i sopredel'nykh gosudarstv [Genetic resistance to HIV infection and development of AIDS in populations of Russia and neighboring countries]. PhD-thesis. M.; 2008. Available from: <http://www.dna-technology.ru/files/images/d/0b136b567d25d4be1dfa26a8b39ec2b9.pdf> (accessed 18.09.2014) (in Russian).
2. Flynn E., Eyre S., Packham J. Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS), UKRAG Consortium, BSPAR Study Group, Barton A., Worthington J., Thomson W. Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun.* 2010; 11 (7): 584–89.

Etc.

Для всех статей, имеющих DOI, индекс необходимо указывать в конце библиографического описания.

ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ПРАВИЛЬНОСТЬ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ НЕСЕТ АВТОР.

АВТОРСКОЕ ПРАВО

Редакция отбирает, готовит к публикации и публикует переданные Авторами материалы. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи. Авторский гонорар за публикации статей в Журнале не выплачивается. Автор передает, а Редакция принимает авторские материалы на следующих условиях:

- 1) Редакции передается право на оформление, издание, передачу Журнала с опубликованным материалом Автора для целей реферирования статей из него в Реферативном журнале ВИНТИ, РНИЦ и базах данных, распространение Журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет в целях доступа к публикации в интерактивном режиме

любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, а также на распространение Журнала с опубликованным материалом Автора по подписке;

- 2) территория, на которой разрешается использовать авторский материал, — Российская Федерация и сеть Интернет;
- 3) срок действия Договора — 5 лет. По истечении указанного срока Редакция оставляет за собой, а Автор подтверждает бессрочное право Редакции на продолжение размещения авторского материала в сети Интернет;
- 4) Редакция вправе по своему усмотрению без каких-либо согласований с Автором заключать договоры и соглашения с третьими лицами, направленные на дополнительные меры по защите авторских и издательских прав;
- 5) Автор гарантирует, что использование Редакцией предоставленного им по настоящему Договору авторского материала не нарушит прав третьих лиц;
- 6) Автор оставляет за собой право использовать предоставленный по настоящему Договору авторский материал самостоятельно, передавать права на него по договору третьим лицам, если это не противоречит настоящему Договору;
- 7) Редакция предоставляет Автору возможность безвозмездного получения справки с электронными адресами его официальной публикации в сети Интернет;
- 8) при перепечатке статьи или ее части ссылка на первую публикацию в Журнале обязательна.

ПОРЯДОК ЗАКЛЮЧЕНИЯ ДОГОВОРА

Заключением Договора со стороны Редакции является опубликование рукописи данного Автора в журнале «Russian Medical Visualization» и размещение его текста в сети Интернет. Заключением Договора со стороны Автора, т. е. полным и безоговорочным принятием Автором условий Договора, является передача Автором рукописи и экспертного заключения.

РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ

Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, то статья с комментариями рецензента возвращается Автору. Датой поступления статьи считается дата получения Редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи (литературная и технологическая правка).

АВТОРСКИЕ ЭКЗЕМПЛЯРЫ ЖУРНАЛА

Редакция обязуется выдать Автору 1 экземпляр Журнала с опубликованной рукописью. Авторы, проживающие в Санкт-Петербурге, получают авторский экземпляр Журнала непосредственно в Редакции. Иногородним Авторам авторский экземпляр Журнала высылается на адрес автора по запросу.

АДРЕС РЕДАКЦИИ

194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
e-mail: srccenter@mail.ru. Сайт журнала: http://www.gpmu.org/science/pediatrics-magazine/Russian_Biomedical_Research.





СЕРДЕЧНО-ЛЕГОЧНАЯ РЕАНИМАЦИЯ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ. БАЗОВЫЙ СИМУЛЯЦИОННЫЙ КУРС

ЗАНЯТИЯ ПО МЕРЕ КОМПЛЕКТОВАНИЯ ГРУПП

ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ ВЫ ОВЛАДЕЕТЕ СЛЕДУЮЩИМИ НАВЫКАМИ:

- выполнить современный международный протокол проведения сердечно-легочной реанимации у детей и взрослых;
- использовать автоматический наружный дефибриллятор (АНД) и современные средства, обеспечивающие безопасное проведение искусственного дыхания (лицевую маску);
- работать в команде при выполнении базового реанимационного комплекса.



Категория обучающихся:

Врачи всех специальностей, медицинские работники среднего звена.

Форма обучения: очная.

Трудоёмкость обучения: 18 академических часов.

Количество дней обучения: 3.

Количество человек в группе: 10.

Стоимость обучения: 10 000 рублей.

Место проведения:

Аккредитационно-симуляционный центр
Педиатрического университета,
Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2.

В результате успешного выполнения дополнительной профессиональной программы повышения квалификации выдаётся документ установленного образца – Удостоверение о повышении квалификации.

Телефон: +7 (812) 416-52-25

Электронная почта: grmafprk@mail.ru

Адрес: г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2,
Административный корпус, 3-й этаж, кабинет 303

WWW.GPMU.ORG

