

Заявление

о рассмотрении протокола клинической апробации

1	Наименование Федеральной медицинской организации, научной или образовательной организации, осуществляющей деятельность в сфере охраны здоровья, являющейся разработчиком протокола клинической апробации	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
2	Адрес места нахождения организации	117997 Москва, ул. Ак. Опарина, д.4.
3	Контактные телефоны и адреса электронной почты	+ 7-495-4384977, +7-495-4388507 va_klimov@oparina4.ru secretariat@oparina4.ru
4	Название предлагаемого для клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации	Протокол клинической апробации метода комбинированного малоинвазивного лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов у женщин с помощью фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащённой тромбоцитами
5	Число пациентов, необходимое для проведения клинической апробации	75

Приложение:

1. Протокол клинической апробации на 21 л.
2. Индивидуальная регистрационная карта наблюдения пациента в рамках клинической апробации на 7 л.
3. Согласие на опубликование протокола клинической апробации на официальном сайте Министерства в сети «Интернет» на 1 л.

Директор

« _____ » _____ 2019 г.
М.П.



Г.Т. Сухих

Протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации

Идентификационный номер № _____

Дата «__» _____ 2019 г.

I. Паспортная часть

1. Название предлагаемого к проведению клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (далее метод): Протокол клинической апробации метода комбинированного малоинвазивного лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов у женщин с помощью фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащённой тромбоцитами.

2. Наименование и адрес федеральной медицинской организации, разработавшей протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997 Москва, ул. Ак. Опарина, д.4.

3. Фамилия, имя, отчество и должность лиц, уполномоченных от имени разработчика подписывать протокол клинической апробации:

- Аполихина Инна Анатольевна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением Эстетической гинекологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России;

- Соколова Анастасия Владимировна - врач акушер-гинеколог отделения Эстетической гинекологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России;

- Чернуха Людмила Владимировна - врач дерматовенеролог, косметолог отделения Эстетической гинекологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

II. Обоснование клинической апробации метода

4. Аннотация метода.

Актуальными вопросами современной гинекологии, онкологии и дерматовенерологии продолжают оставаться диагностика и лечение дистрофических заболеваний наружных половых органов (ДЗ НПО) у женщин, которые включают склероатрофический лишай (СЛ) и гиперпластическую дистрофию (ГП) [1] (коды заболеваний в соответствии с МКБ 10: N90.4 — лейкоплакия вульвы; N90.5 — атрофия вульвы). ДЗ НПО – группа хронических рецидивирующих заболеваний, характеризующихся прогрессирующей очаговой атрофией кожи и слизистых наружных половых органов. Кроме того, ДЗ НПО значительно повышают риски развития не только рака вульвы, но и влагалища (преимущественно плоскоклеточного рака), особенно данная взаимосвязь прослеживается при ранней диагностики

заболевания и увеличивается с возрастом. Дистрофические заболевания развиваются последовательно, стадийно и характеризуются появлением зудящих белых пятен, во время расчесов которых происходит хроническая травматизация вульвы, сопровождающаяся ответной воспалительной реакцией и рубцеванием тканей. Клинически это проявляется сглаживанием половых губ, сращением их между собой, деградацией основного вещества дермы, сужением и заращением входа во влагалище. ДЗ резко снижают качество жизни женщины, приводят к истощению нервной системы и тяжёлым нервно-психическим расстройствам, вплоть до утраты трудоспособности [2,3].

Применяемые в настоящее время методы лечения многообразны (гормональные мази, физиотерапевтические методы, усиливающие микроциркуляцию и трофические процессы, в комплексной терапии с седативными, десенсибилизирующими и общеукрепляющими средствами), но не один из них не отличается высокой эффективностью, и носит лишь временный и посимптомный характер. Эффективным и перспективным методом оказания медицинской помощи женщинам с дистрофическими заболеваниями НПО может стать инновационное малоинвазивное лечение фракционным углекислотным (CO_2) лазером в сочетании с плазмой, обогащенной тромбоцитами [8]. Фототермическое воздействие фракционным углекислотным лазером на слизистые и кожу НПО приводит к активизации в фибробластах белка теплового шока 47, увеличению синтеза провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF- α тканевыми макрофагами, т.е. запускает реакции асептического воспаления, что вызывает индукцию транскрипционного фактора AP – 1 и приводит к повышению количества фрагментированного коллагена и деградирующих металлопротеиназ. В репаративной фазе происходит пролиферация фибробластов, увеличение количества трансформирующего фактора роста TGF – β , восстановление межклеточного матрикса, коллагена I и III типов [4]. Плазма, обогащённая тромбоцитами (PRP) - это препарат, получаемый из крови пациентки, содержащий аутологичную плазму с повышенной концентрацией тромбоцитов [5]. Механизм действия PRP заключается в способности тромбоцитов при разрушении высвобождать гранулы, содержащие многочисленные факторы роста (VEGF, EGF, PDGF, TGF- β , FGF и пр.), медиаторы воспаления (cito- и хемокины), которые способствуют пролиферации, дифференцировке и миграции клеток, ответственных за регенерацию тканей [6 - 9]. Особый интерес представляет защитная функция PRP, включающая сбалансированное сочетание провоспалительных и противовоспалительных факторов, которая реализуется путем усиления местного иммунитета через продукцию сигнальных белков (факторов роста, цитокинов), которые привлекают на себя макрофагов, стимулируя процессы асептического воспаления [10]. Плазма, обогащенная тромбоцитами, также обладает противомикробной активностью в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, в том числе пенициллинрезистентного, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* [3, 5]. Тип метода – комбинированное

консервативное лечение с использованием лазеротерапии и плазмы, обогащённой тромбоцитами. Метод сравнения – комплексное лечение дистрофических заболеваний наружных половых органов без применения лазеротерапии и плазмы, обогащенной тромбоцитами.

5. Актуальность метода для здравоохранения, включая организационные, клинические и экономические аспекты.

Повышение уровня и качества жизни населения является главной стратегической целью социально-ориентированного общества, каким и является Россия в соответствии со ст. 7 Конституции РФ [1].

Социальная сфера включает разнообразные стороны жизни человека, однако главными и наиболее важными остаются вопросы здоровья и медицинского обеспечения.

По данным ВОЗ с каждым годом возрастает частота распространенности дистрофических заболеваний вульвы и не имеет тенденции к снижению [1]. В России одним из самых распространенных неопухолевых заболеваний вульвы является склероатрофический лишай, распространенность его достигает 25% [2], что считается критическим уровнем. В последние годы наряду с ростом заболеваемости отмечается значительное «омоложение» заболеваний вульвы [8]. Они сопровождаются психоэмоциональными и физическими страданиями, приводят к возникновению депрессивных состояний, ограничивают способность участия в социальной, повседневной и производственной жизни, вплоть до инвалидизации пациенток.

В связи с вышесказанным, представляется актуальным, необходимым и перспективным изучение механизмов развития и поиск наиболее эффективных методов лечения ДЗ НПО у женщин.

6. Новизна метода и/или отличие его от известных аналогичных методов.

В настоящее время стандарта специализированной медицинской помощи для лечения женщин с ДЗ НПО не зарегистрировано. В большинстве случаев проводится симптоматическое лечение. До начала терапии, особенно на ранних стадиях, необходимо проводить тщательную диагностику дистрофических заболеваний НПО, золотым стандартом в которой является биопсия вульвы. Основой лечения пациенток с ДЗ НПО являются сверхсильные кортикостероиды [4]. Однако, известно, что длительное применение местных кортикостероидов приводит к истончению эпителия и даже может реактивировать латентную или субклиническую ВПЧ инфекцию [5].

Кроме того, кортикостероиды нельзя наносить на слизистые, которые наиболее часто претерпевают изменения по мере прогрессирования заболевания, и следует с осторожностью применять у лиц пожилого возраста [7], что снижает возможности терапии в основной возрастной группе женщин, имеющих ДЗ НПО – 45 – 55 лет.

Альтернативным методом лечения ДЗ НПО является

фотодинамическая терапия, которая основана на введении раствора - фотосенсибилизатора с последующим низкоэнергетическим световым воздействием на пораженную область. Недостатком данного метода является отсутствие стандартных клинических протоколов по проведению ФДТ, субъективный и неправильный расчёт световых параметров практическими врачами, применение завышенных доз фототоксичных сенсбилизаторов, приводящих к излишнему термическому воздействию и развитию ожогов влагалища, вульвы и промежности.

В ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России накоплен уникальный междисциплинарный опыт диагностики ДЗ НПО на ранних стадиях, путем проведения щадящей Dermo-Punch биопсии НПО (диаметр забираемой ткани – 3,5 мм) и лечения малоинвазивными, эффективными и доказательными методами, какими являются воздействие фракционным углекислотным лазером и введение плазмы, обогащенной тромбоцитами. У женщин, имеющих дистрофические заболевания НПО, наблюдается изменение метаболизма соединительнотканых структур из-за снижения выработки коллагена, повышенной активности эластазы, фрагментации и распада эластических волокон, что приводит к потере структуры вульвы и редукции её тканей. Преимуществами данной методики является повышение эффективности лечения женщин с ДЗ НПО за счет стимулирования процессов неокollaгенеза и улучшения реваскуляризации тканей наружных половых органов, что способствует увеличению продолжительности безрецидивного периода, улучшению анатомо-морфологических характеристик влагалища, вульвы и промежности, следовательно, повышению качества жизни женщин, имеющих ДЗ НПО.

7. Краткое описание и частота известных и потенциальных рисков применения метода для пациентов, если таковые имеются, и прогнозируемых осложнений.

Потенциальные риски:

- Кратковременное усиление зуда после процедуры лазерного воздействия (в течение 3 – 5 дней), что характерно для процессов регенерации и репаративной трансформации тканей, не требующее медикаментозной коррекции.
- Индивидуальная гиперчувствительность и развитие аллергической реакции на локальное аппликационное применение крема, содержащего лидокаин и прилокаин.

Осложнения:

- Индивидуальная реакция организма на проведение инъекций аутологичным препаратом плазмы крови: незначительный отек, слабая гиперемия (самопроизвольная регрессия в течение 1 – 2 дней);
- Осложнения, связанные с техникой введения: гематомы в месте инъекций;

• Осложнения, связанные с невыполнением рекомендаций врача и несоблюдением правил личной гигиены: инфицирование и воспаление области воздействия, спровоцированные посещением бани, сауны, бассейнов и проведением физиопроцедур или любых других манипуляций, сопровождающихся тепловым воздействием, сразу и в течение 7 дней после инъекций/лазерного воздействия.

Для исключения реализации рисков необходим тщательный отбор и обследование пациенток (см. пункт 17).

8. Ссылки на литературные источники публикаций результатов научных исследований метода или отдельных его составляющих (в том числе собственных публикаций) в рецензируемых научных журналах и изданиях, в том числе в зарубежных журналах (названия журналов/изданий, их импакт - фактор).

Список литературы:

1. Ашрафян Л.А., Харченко Н.В., Киселев В.И. и др. Рак вульвы: этиопатогенетическая концепция. М. 2006, книжное пособие.

2. Pia Halonen, Maija Jakobsson, Oskari Heikinheimo, Annika Riska, Mika Gissler, Eero Pukkala «Lichen sclerosus and risk of cancer» Int. J. Cancer: 140, 1998–2002 (2017). Импакт фактор – 6,513.

3. Гинекология: национальное руководство / под ред В.И.Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. 1088 с.

4. Jürgen Schaubert, Richard L. Gallo Antimicrobial peptides and the skin immune defense system J Allergy Clin Immunol. 2008 Aug; 122(2): 261–266. Импакт фактор – 6,966

5. Плотников В.А., Шамахов В.А. Стратегии территориального развития и качество жизни // Управленческое консультирование. – 2015. – № 7. – С. 57–64.

6. Шейка матки, влагалище и вульва. Физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция: руководство для практикующих врачей/Под ред. С.И. Роговской, Е.В. Липовой. М.: Издательство журнала StatusPraesens, 2014. 832с.

7. Симакова Е.Л., Сахаутдинова И.В., Муслимова С.Ю. Новые технологии с применением аллогенных биоматериалов в терапии склероатрофического лишая // Онкогинекология. 2016. № 2. С. 59–64

8. Аполихина И. А., Соколова А.В., Гумова З.Д «Склероатрофический лишай наружных половых органов – ведущие причины, клиника, диагностика и лечение» Медицинский оппонент №2, август 2018г, стр 77-82.

9. Von Krogh G, Dahlman-Ghozlan K, Syrjanen S. Potential of human papillomavirus reactivation following topical corticosteroid therapy of genital lichen sclerosus and erosive lichen planus. J Eur Acad Dermatol Venereol 2002; 16: 130–133. Импакт фактор – 3,528.

10. Дерматология экстравыпуск «Консенсус дерматологов стран СНГ по дерматитам и экземе», приложение к журналу CONSILUUM MEDICUM, 2014г. – с. 17.

9. Иные сведения, связанные с разработкой метода.

Медицинская помощь в рамках клинической апробации будет проводиться **в соответствии с протоколом клинической апробации**, GCP и нормативными требованиями, приказом Минздрава России от 01.04.2016 N 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики», приказом Минздрава России от 01.11.2012 № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и другими утвержденными нормативными актами.

Все женщины исследования будут в полной степени проинформированы о предстоящем лечении в тех терминах, которые они способны понять. До начала лечения пациентка должна подписать форму информированного согласия. Пациентка вправе отказаться от участия в данном методе клинической апробации на любом этапе его проведения.

III. Цели и задачи клинической апробации

10. Детальное описание целей и задач клинической апробации

Цели:

Практическое применение разработанного и ранее не применявшегося метода лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов у женщин, с помощью комбинированного малоинвазивного метода лечения фракционным углекислотным лазером и плазмой, обогащённой тромбоцитами для подтверждения доказательств его клинико – экономической эффективности и безопасности.

Задачи:

1. Сравнительная оценка клинической эффективности лечения с помощью комбинированного малоинвазивного метода с использованием фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащенной тромбоцитами, и стандартного метода лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов.
2. Сравнительная оценка безопасности лечения с помощью комбинированного малоинвазивного метода с использованием фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащенной тромбоцитами, и стандартного метода лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов.
3. Сравнительная оценка клинико - экономической обоснованности лечения с помощью комбинированного с использованием фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащенной тромбоцитами, и стандартного метода лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов.

IV. Дизайн клинической апробации

11. Научная обоснованность и достоверность полученных на стадии разработки метода данных, включая доказательства его безопасности.

Полученные данные могут быть классифицированы по уровню доказательности ЗВ (хорошо выполненные неэкспериментальные исследования: сравнительные, корреляционные или «случай-контроль», основанные на результатах клинических исследований хорошего дизайна, но без рандомизации).

Уже после первого сеанса лечения CO₂ лазером пациентки отмечают повышение увлажненности во влагалище, уменьшение симптомов зуда, жжения и сухости. После трех сеансов отмечается регрессия всех симптомов заболевания: сухости в 59,94%, зуда - 56,37%, болезненных ощущений в 73,15%. У всех женщин после лечения фракционным CO₂ лазером половые акты вновь становятся безболезненными и удовлетворительными, а лечебные эффекты сохраняются на протяжении 12 месяцев после последнего сеанса лазерного воздействия [21]. По сравнению с применением топической гормональной терапии, эффективность которой, по данным ряда авторов, достигает лишь 21-35%, после введения плазмы, обогащённой тромбоцитами, в 60,7% случаев наблюдается клиническое улучшение в виде уменьшения распространенности очагов СЛ вульвы, а в 28,6% полное их излечение [22].

Длительное применение глюкокортикостероидов способствует развитию осложнений, истончению эпидермиса кожи, реакции рикошета, образованию рубцов, рецидив грибковой инфекции, а также подавление функции надпочечников (как результат системной абсорбции).

12. Описание дизайна клинической апробации.

12.1. Указание основных и дополнительных исследуемых параметров, которые будут оцениваться в ходе клинической апробации:

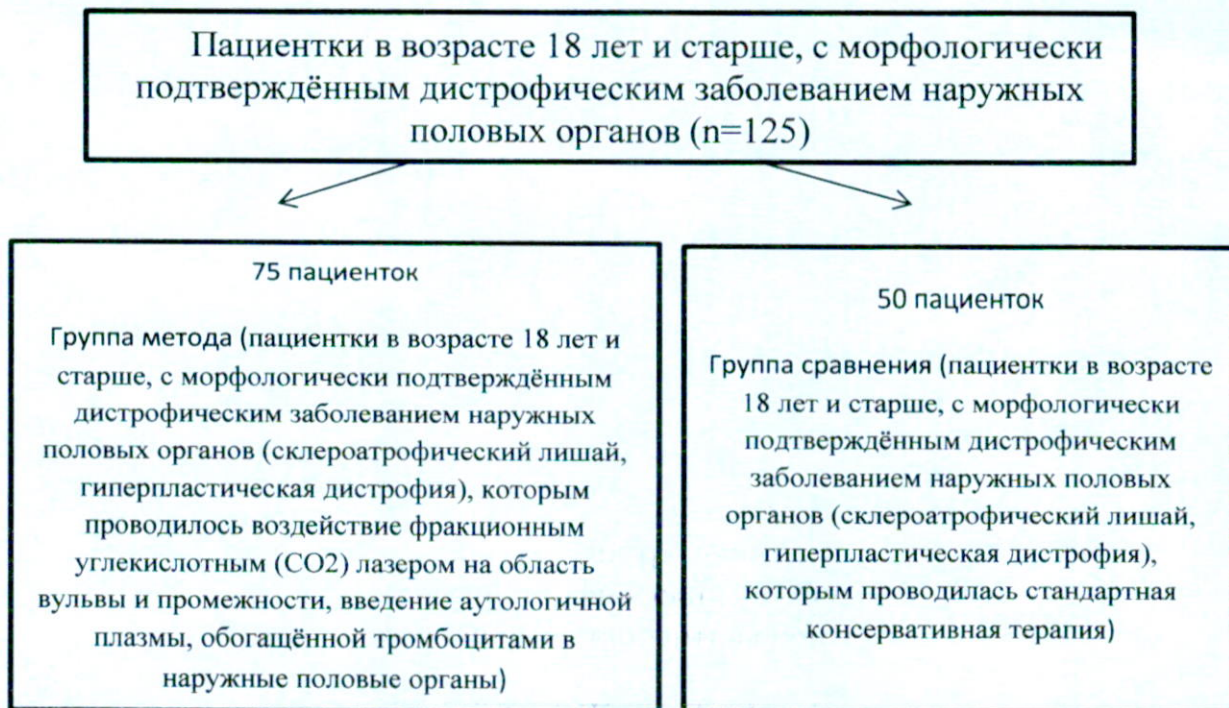
- расчет индекса вагинального здоровья (ИВЗ);
- морфологические изменения в биоптатах вульвы у женщин через 6 месяцев после последней лечебной манипуляции (при согласии женщины);
- фоторегистрация;
- субъективная оценка по 10 – бальной шкале (ВАШ - шкала);
- краткий опросник ВОЗ для оценки качества жизни (WHOQOL- BREF);
- опросники для оценки сексуальной дисфункции: ИЖСФ (Индекс женской сексуальной функции).

12.2. Описание дизайна клинической апробации с графической схемой (этапы и процедуры, а также сроки и условия их проведения, иное):

Дизайн клинической апробации.

Группа 1(группа метода) – пациентки в возрасте 18 лет и старше, с морфологически подтверждённым дистрофическим заболеванием наружных половых органов (склероатрофический лишай, гиперпластическая дистрофия), которым проводилось воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером на область вульвы и промежности, введение аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами в наружные половые органы.

Группа 2(группа сравнения) – пациентки в возрасте 18 лет и старше, с морфологически подтверждённым дистрофическим заболеванием наружных половых органов (склероатрофический лишай, гиперпластическая дистрофия), которым проводилась стандартная консервативная терапия.



Визит 1

Первичное обследование, физикальное обследование, отбор пациентов для включения в клиническую апробацию

Визит 2

Воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером на область вульвы и промежности

Визит 3

Введение 4-5 мл аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами (PRP) в НПО

Визит 4

Воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером на область вульвы и промежности

Визит 5

Введение 4-5 мл аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами (PRP) в НПО

Визит 6

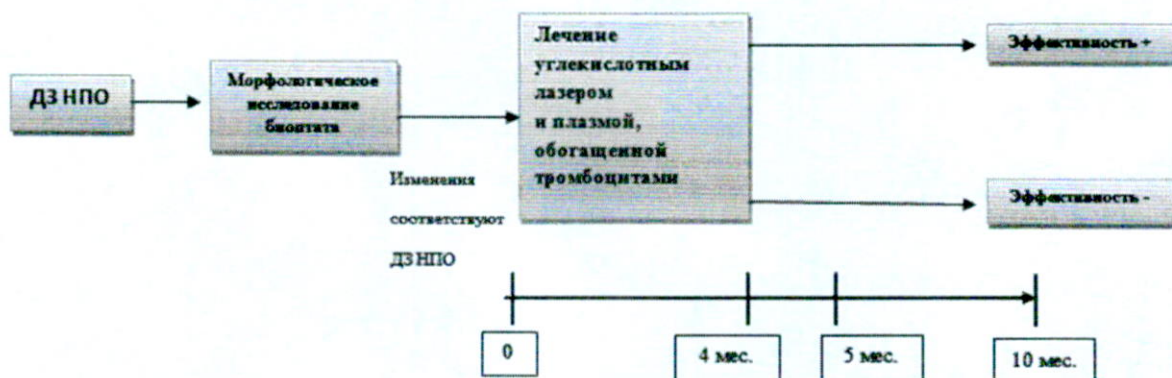
Осмотр врача акушера – гинеколога через 1 месяц

Визит 7

Осмотр врача акушера – гинеколога через 6 месяцев

**Завершение
исследования**

Анализ результатов



Клиническая апробация будет включать в себя 2 этапа:

I этап – отбор и лечение пациенток (4 месяца).

II этап – наблюдение и оценка эффективности лечения (6 месяцев)

Исследование будет проводиться согласно следующей схеме:

Визит 1: Отборочный этап, включение пациенток в исследование.

Для участия в клинической апробации каждая пациентка должна быть проинформирована о его характере, целях и возможных последствиях.

Пациентки, имеющие клинические признаки ДЗ НПО, подписавшие информированное согласие, заполнившие опросники будут оценены на соответствие критериям отбора для участия в клиническом протоколе. Они пройдут физикальное обследование, включая измерение показателей жизненно важных функций, гинекологический осмотр с биопсией вульвы, рН-метрию, оценку индекса вагинального здоровья.

Визит 2-5: Период лечения:

Пациенткам после морфологического подтверждения дистрофического заболевания НПО будет проведено малоинвазивное лечение углекислотным лазером и плазмой, обогащённой тромбоцитами, по следующей схеме:

Визит 2: (0 неделя) - воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером на область вульвы и промежности.

Визит 3: (3-5 неделя) - введение 4-5 мл аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами (PRP) в НПО.

Визит 4: (6-10 неделя) - воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером на область вульвы и промежности.

Визит 5: (9-15 неделя) - введение 4-5 мл аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами в НПО.

Визит 6: Период наблюдения – 1 месяц после последней лечебной манипуляции.

Визит 7: Период наблюдения – 6 месяцев после последней лечебной манипуляции.

Графики визитов:

ВИЗИТ	Визит 1 отборочный этап	Визит 2 0 неделя	Визит 3 3-5 неделя	Визит 4 6-10 неделя	Визит 5 9-15 неделя	Визит 6 наблюдение 1 месяц	Визит 7 наблюдение 6 месяцев
Оценка соответствия критериям включения	X						
Подписание информированного согласия на участие исследования	X						
Воздействие фракционным CO ₂ лазером		X		X			
Введение аутологичного препарата PRP			X		X		
Гинекологический осмотр, рН- метрия	X	X	X	X	X	X	X
Определение уровня рН влагалища	X	X	X	X	X	X	X
Определение индекса вагинального здоровья (ИВЗ)	X	X	X	X	X	X	X
Анализ крови на реакцию Вассермана, антитела (IgM, IgG) к HIV1, HCV, антигену HBsAg HBV	X						
Биохимический анализ крови	X						
Клинический анализ крови	X	X PRP		X PRP			
Коагулограмма	X	X PRP		X PRP			
Общий анализ мочи	X						
Микроскопическое исследование влагалищных мазков	X		X	X	X		X
Микробиологическое исследование отделяемого НПО	X						X
Цитологическое исследование соскоба с шейки матки	X						

Определение вируса папилломы человека (21 тип) методом ПЦР	X						
Расширенная вульвоскопия	X						
Ультразвуковое исследование НПО с доплерометрией	X						
Регистрация нежелательных явлений		X	X	X	X	X	X
Анкетирование: ВАШ-шкала	X					X	X
Анкетирование: Краткий опросник ВОЗ для оценки качества жизни (WHOQOL- BREF)	X					X	X
Анкетирование: опросники для оценки сексуальной дисфункции: ИЖСФ - Индекс женской сексуальной функции							X
Морфологическое исследование биоптата вульвы, определение ВПЧ.	X						X

12.3. Описание исследуемого метода, инструкции по его проведению.

1) Воздействие фракционным углекислотным (CO₂) лазером.

В асептических условиях в манипуляционном кабинете после предварительной аппликационной анестезии средством, содержащим 25 мг лидокаина и 25 мг прилокаина (нанесенный на пораженную кожу вульвы в объеме 5 г под окклюзионную пленку с экспозицией 40-60 минут и 10 минут на слизистых) провести лазерное воздействие на слизистую влагалища манипулой на 360°, затем обработку пораженных зон НПО с помощью кожной манипулы со стандартным прямым адаптером – один полный проход, при котором обработанные области не накладываются друг на друга.

Параметры воздействия:

Режимы на слизистую влагалища:

(Power\Dwell time [ms]\Spacing [mm]\Stak) :

30 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1 ___ DP;

Режимы на слизистую вульвы:

(Power\Dwell time [ms]\Spacing [mm]\Stak) :

30 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1 ___ DP, 2 stak – на область лихенификации;

Режимы на кожу вульвы:

(Power\Dwell time [ms]\Spacing [mm]\Stak):

30 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1 ___ SP, 2 stak – на область лихенификации;

Режимы на кожу промежности:

(Power\Dwell time [ms]\Spacing [mm]\Stak):

30 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1000 ___ \ ___ 1 ___ DP, 2 stak – на область лихенификации.

После манипуляции за пациенткой наблюдают в течение 15 минут, по истечению которых в удовлетворительном состоянии отпускают домой с рекомендациями: исключить мочеиспускание в течение 2 часов, не носить обтягивающее белье из синтетического материала, исключить половые контакты и тепловые процедуры в течение 7 дней после лазерного лечения. Следующий визит через 3-5 недель для введения плазмы, обогащенной тромбоцитами.

2) Применение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами.

После заполнения информированного согласия, в присутствии пациентки вскрывается стерильная пробирка для плазмотерапии, содержащая антикоагулянт. В асептических условиях выполняется забор крови пациентки из локтевой вены в объёме от 4 до 13,5 мл (в зависимости от модификации вакутейнера) в стерильную пробирку, затем проводится трехкратное покачивание пробирки поперек оси для смешивания крови и антиагреганта. Пробирка выравнивается по уровню с идентичной пробиркой-противовесом и помещается в центрифугу (параметры выставляются в зависимости от вида пробирки и центрифуги): для вакуумных пробирок, содержащих разделительный гель: количество оборотов 3100, время 5 минут, ускорение 1500G; для пробирок без разделительного геля: центрифуга с угловатым ротором количество оборотов - 3400-3600 об/мин., ротор-крестовина 3200 об/мин., время 4 минуты (возможно повторное центрифугирование в течение 2 минут до момента появления лейкотромбоцитарного слоя). После окончания центрифугирования проводится 10-кратная инверсия пробирки для гомогенизации тромбоцитов в объеме плазмы крови (только для пробирок, содержащих разделительный гель). Далее аутологичная плазма крови, обогащённая тромбоцитами, после предварительной обработки асептическим раствором и обезболивания (средством, содержащим 25 мг лидокаина и 25 мг прилокаина, в дозе 2 г. на 10 см² с экспозицией 60 минут на коже под окклюзионной повязкой) вводится в интрадермальные, подслизистые слои поражённой области наружных половых органов пациентки линейной и папульной техниками, в подслизистые слои влагиалища - линейной техникой.

После манипуляции за пациенткой наблюдают в течение 15 минут и отпускают домой с рекомендациями:

Не мочиться в течение 2 часов после введения PRP;

В течение 7 дней исключить тепловые воздействия (баня, сауна, хамам, бассейн, длительное пребывание под прямыми солнечными лучами)

Ограничить физическую активность и воздержаться от половых контактов – 5 дней

Воздержаться от приёма антикоагулянтов, антиагрегантов в течение 7 дней и НПВС в течение 3 дней после введения плазмы для исключения кровотечения. Следующий визит через 3-5 недель для воздействия фракционным СО₂-лазером.

12.4. Ожидаемая продолжительность участия пациенток в клинической апробации, описание последовательности и продолжительности всех периодов клинической апробации, включая период последующего наблюдения, если таковой предусмотрен.

Продолжительность участия пациенток в клинической апробации составит 11 месяцев: отборочный этап – 14 недель, лечебный этап – 4 месяца (~1 манипуляция в месяц), период динамического наблюдения – 6 месяцев после последней манипуляции. Срок набора пациентов составит 3 года.

12.5. Перечень данных, регистрируемых непосредственно в индивидуальной регистрационной карте клинической апробации метода (т.е. без записи в медицинской документации пациента) и рассматриваемых в качестве параметров, указанных в пункте 12.1 настоящего Протокола.

В индивидуальной регистрационной карте будут отражены:

- Соглашение и подпись информированного согласия, в котором указано исследование (дата включения);
- Дата вывода пациентки из протокола;
- ФИО, дата рождения, возраст пациентки;
- № амбулаторной карты;
- Медицинский анамнез, сопутствующие заболевания, данные, относящиеся к изучаемому заболеванию, описание предыдущих методов лечения;
- Жизненно важные показатели, рост, масса тела;
- Результат гистологического исследования биоптата вульвы;
- Дата и вид оказанной медицинской помощи (область воздействия, параметры лазерного воздействия, объем введённого аутологичного препарата);
- Характер динамического периода наблюдения, возможные нежелательные явления.

V. Отбор и исключение пациенток, участвующих в клинической апробации

13. Критерии включения пациенток в основную группу:

- возраст пациенток от 18 лет и старше;
- пациентки с морфологически подтверждённым дистрофическим заболеванием наружных половых органов (склероатрофический лишай, гиперпластическая дистрофия);
- способность следовать требованиям протокола;

- информированное согласие на участие в исследовании.

14. Критерии невключения пациентов:

- Категории граждан, которым запрещается участие в качестве пациентов в клинической апробации, указанные в Положении оказании медицинской помощи в рамках клинической апробации (приказ №433 н):
 - а) детей, женщин в период беременности, родов, женщин в период грудного вскармливания, за исключением случаев, если соответствующие методы предназначены для этих пациентов, при условии принятия всех необходимых мер по исключению риска причинения вреда женщине в период беременности, родов, женщине в период грудного вскармливания, плоду или ребенку;
 - б) военнослужащих, за исключением военнослужащих, проходящих военную службу по контракту, в случае, если соответствующие методы специально разработаны для применения в условиях военных действий, чрезвычайных ситуаций, профилактики и лечения заболеваний и поражений, полученных в результате воздействия неблагоприятных химических, биологических, радиационных факторов;
 - в) лиц, страдающих психическими расстройствами, за исключением случаев, если соответствующие методы предназначены для лечения психических заболеваний;
 - г) лиц задержанных, заключенных под стражу, отбывающих наказание в виде ограничения свободы, ареста, лишения свободы либо административного ареста.
- Уровень тромбоцитов $< 150 \cdot 10^9$ клеток/л;
- Уровень Hb < 90 г/л;
- Острые инфекционные заболевания мочевыводящих путей и обострения хронических;
- Вирусные и инфекционные заболевания: острые и хронические в стадии обострения;
- Онкологические заболевания в период лечения, в течение 12 месяцев после специализированного лечения и на любых сроках наблюдения при наличии прогрессирования;
- Декомпенсированные экстрагенитальные заболевания, в т.ч. аутоиммунные и системные в стадии обострения;
- Лихорадка неясного генеза;
- Системные заболевания крови и коагулопатии;
- Применение антикоагулянтов и антиагрегантов (в течение 7 дней до манипуляции)
- Острые нарушения мозгового кровообращения;
- Иммунодефицитные состояния (ВИЧ – инфицирование);

15. Критерии исключения:

- ургентная терапевтическая и/или хирургическая ситуация.

Пациентки могут исключаться из протокола клинической апробации на любом этапе его проведения. Пациентки исключаются в случае отсутствия возможности продолжить проведение всех мероприятий, запланированных в данном клиническом протоколе со стороны пациента; желания пациентки добровольно досрочно прекратить участие в лечении, а также нарушении пациенткой требований и рекомендаций, сформулированных в протоколе клинической апробации.

VI. Медицинская помощь в рамках клинической апробации

16. Вид, профиль и условия оказания медицинской помощи.

Вид медицинской помощи: медицинская помощь в рамках клинической апробации

Форма оказания медицинской помощи: плановая

Условие оказания: амбулаторно

17. Перечень медицинских услуг (вмешательств):

В рамках клинической апробации будут применены медицинские услуги в соответствии с Приказом Минздрава России от 13.10.2017 №804н «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг»:

№	Наименование медицинской услуги	Усредненный показатель кратности применения
1	Прием (осмотр, консультация) врача-акушера- гинеколога первичный	1
2	Прием (осмотр, консультация) врача-акушера- гинеколога повторный	4±1
3	Морфологическое исследование биоптата вульвы (до 3 см)	1±1
4	Коагулограмма (ориентировочное исследование системы гемостаза)	2±1
5	Общий (клинический) анализ крови развернутый	2±1
6	Анализ крови биохимический общетерапевтический	1
	Анализ мочи общий	1
7	Анализ крови на реакцию Вассермана, антитела (IgM, IgG) к Human immunodeficiency virus HIV 1, Hepatitis C virus, антигену HBsAg Hepatitis B virus	1
8	Расширенная вульвоскопия	1±1
9	Микробиологическое исследование отделяемого женских половых органов на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы	1±1
10	Микроскопическое исследование влагалищных мазков	2
11	Определение концентрации водородных ионов (pH) в цервикальной	6
12	Определение вируса папилломы человека (21 тип) методом ПЦР	1
13	Ультразвуковое исследование наружных половых органов с доплерометрией	1±1
14	Взятие крови из периферической вены для получения аутологичного препарата PRP	2
15	Воздействие фракционным углекислотным лазером	2

16	Введение аутологичного препарата PRP	2
17	Аппликационная местная анестезия	4

18. Лекарственные препараты для медицинского применения, дозировка, частота приема, способ введения, а также продолжительность приема, включая периоды последующего наблюдения:

Перечень используемых лекарственных препаратов для медицинского применения (наименования и кратность применения), зарегистрированных в Российской Федерации в установленном порядке:

Наименование лекарственного препарата	Способ применения	Время экспозиции	Продолжительность приема
Раствор лидокаин + прилокаин, крем, 5 г	Аппликационная анестезия под окклюзионной повязкой	60 минут на коже, 10 минут на слизистых	Однократно, до проведения лечебной процедуры
Раствор хлоргексидина 0,02%, 100 мл	Орошение (вагинальное, наружное)	Однократно	Однократно, до проведения лечебной процедуры

Наименования специализированных продуктов лечебного питания, частота приема, объем используемого продукта лечебного питания - не применимо.

Перечень используемых биологических материалов:

Наименование компонента крови	Единицы измерения	Среднее значение
Кровь из периферической вены данной пациентки	мл	4 – 15 мл (в зависимости от вида пробирки)

Наименования медицинских изделий, в том числе имплантируемых, в организм человека:

Наименование медицинского изделия	Единица измерения	Количество
Система (устройство) для забора венозной крови в замкнутой системе	шт	2
Набор биопсийный	шт	1±1
Гинекологический набор	шт	5
Пеленки одноразовые	шт	5
Маски одноразовые	шт	10
Тест полоски pH для определения кислотности влагалища	уп	1
Салфетка стерильная	шт	4
Перчатки стерильные одноразовые	шт	10
Перчатки смотровые	шт	4
Изделия медицинского назначения для получения обогащённой тромбоцитами плазмы	шт	2
Иглы, диаметром 30-33G	шт	10

Аппарат медицинский лазерный	шт	1
------------------------------	----	---

VIII. Оценка эффективности метода

19. Перечень показателей эффективности.

- Уменьшение/исчезновение зуда и увеличение продолжительности безрецидивного периода.
- Уменьшение очагов лихенификации.
- Отсутствие диспареунии и возвращение к сексуальной активности.

20. Перечень критериев дополнительной ценности.

- Нормализация влагалищной и вульварной микрофлоры по данным микроскопического, микробиологического исследований, смещение и поддержание кислотности среды влагалища согласно измерениям концентрации водородных ионов (рН = 4-4,5).
- Улучшение показателей эластичности и трофики тканей, изменение степени атрофии по данным индекса вагинального здоровья.
- Уменьшение воспалительной инфильтрации в дерме согласно данным гистологического исследования.
- Улучшение показателей данных валидизированных опросников: оценка сексуальной дисфункции (ИЖСФ – Индекс женской сексуальной функции), краткий опросник ВОЗ для оценки качества жизни (WHOQOL-BREF).

21. Методы и сроки оценки, регистрации, учета и анализа показателей эффективности.

Число случаев излеченности и увеличение безрецидивного периода: оценка наличия и степени выраженности симптомов заболевания, определение рН влагалища, индекса вагинального здоровья, вульвоскопия, фотодокументация на каждом этапе лечения.

Показатели эффективности	Методы оценки	Критерий эффективности	Сроки оценки
Частота возникновения вульвовагинита	Микроскопический мазок на флору (1-2 степень частоты влагалищного мазка)	Не более 5%	Визит 1 Визит 3 Визит 4 Визит 5 Визит 7
	Микробиологическое исследование (отсутствие возбудителей ИППП, обнаружение условно-патогенных микроорганизмов до 10^4 КОЭ)		Визит 1 Визит 7

Улучшение показателей гемодинамики по данным доплерометрии	Улучшение показателей васкуляризации наружных половых органов	Не менее 20%	Визит 1 Визит 7
------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------	--------------	--------------------

VII. Статистика

22. Описание статистических методов

База данных будет сделана в формате Excel и импортирована в статистическую программу для дальнейшей обработки данных. Стандартной сводной статистикой для количественных и порядковых переменных явится число наблюдений (n), среднее, стандартное отклонение (SD), медиана, минимум (min) и максимум (max) для пациенток с наличием данных. При анализе соответствия распределений количественных признаков нормальному закону будет применяться критерий Шапиро-Уилка. Описательная статистика качественных признаков будет представлена абсолютными и относительными частотами значений этих признаков. Для сравнения несвязанных выборок по количественным и порядковым признакам будет применяться тест Манна-Уитни или t-тест (в случае нормальных распределений в каждой из сравниваемых групп и с учетом равенства/неравенства дисперсий), при необходимости – непараметрический дисперсионный анализ по Краскел-Уоллису, для сравнения связанных групп - тест Вилкоксона и дисперсионный анализ по Фридмену. Сравнение групп по качественным признакам будет проводиться с использованием теста Хи-квадрат, точного критерия Фишера и критерия МакНемара. В случае необходимости будет проведен анализ в подгруппах, результаты которого могут свидетельствовать о различной величине эффекта от лечения в зависимости от различных независимых переменных. При достаточной частоте наблюдаемых исходов может быть проведен многомерный (логистический регрессионный) анализ влияния независимых признаков на возникновение первичных и вторичных исходов. Уровень значимости, применяемый при проверке статистических гипотез, устанавливается на уровне 0,05. В случае необходимости будет применяться поправка Бонферрони. Для основных результатов исследования будут рассчитаны показатели эффективности и безопасности и их 95% доверительные интервалы.

23. Планируемое количество пациенток, которым будет оказана медицинская помощь в рамках клинической апробации с целью доказательной эффективности апробируемого метода. Обоснование численности пациентов, включая расчеты для обоснования статистической мощности и клинической правомерности клинической апробации.

Для расчета размера выборки, необходимой и достаточной для выявления запланированного размера эффекта (частота достижения

клинического ответа 90% в группе вмешательства и 70% в группе сравнения), нами был использован онлайн калькулятор <https://www.sealedenvelope.com/>.

Для расчета необходимого размера выборки по исходу частота достижения клинического ответа использовались статистическая гипотеза превосходства для бинарных исходов. Размер необходимой выборки был вычислен с заданной статистической мощностью 90% и уровнем альфа-ошибки (ошибки первого рода) 5%.

Планируемое количество пациентов в клинической апробации 75, в 2019 году – 25 пациентов, в 2020 году – 25 пациентов, в 2021 году – 25 пациентов.

IX. Объем финансовых затрат

24. Описание применяемого метода расчета нормативов финансовых затрат.

Для определения норматива финансовых затрат произведена оценка стоимости оказания медицинских услуг, а также текущей стоимости медицинских изделий и лекарственных препаратов, применяемых при апробации. Расчет нормативов финансовых затрат на оказание одной услуги одному пациенту проводили в соответствии с приказом Минздрава России от 13.08.2015 №556 «Об утверждении Методических рекомендаций по расчету финансовых затрат на оказание медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации».

25. Предварительный расчет объема финансовых затрат на оказание медицинской помощи в рамках клинической апробации 1 пациенту, который включает:

Общая стоимость апробации метода в одном случае составляет 64,68 тыс. руб. Планируемое количество случаев апробации - 75. Общая стоимость апробации составит 4 851,00 тыс. руб.

В том числе, в 2019 году – 25 пациентов на сумму 1 617,00 тыс. руб., в 2020 году – 25 пациентов на сумму 1 617,00 тыс. руб., в 2021 году – 25 пациентов на сумму 1 617,00 тыс. руб.

№ п/п	Наименование расходов	Сумма (тыс. руб.)
1	Затраты на оплату труда с начислениями на выплаты по оплате труда работников, непосредственно связанных с оказанием медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации	15,36
2	Затраты на приобретение материальных запасов (лекарственных препаратов, медицинского инструментария, реактивов, химикатов, мягкого инвентаря, прочих расходных материалов, включая импланты, вживляемые в организм человека, других медицинских изделий) и особо ценного движимого имущества,	13,58

	потребляемых (используемых) в рамках оказания медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации	
3	Иные затраты, непосредственно связанные с реализацией протокола клинической апробации	0
4	Затраты на общехозяйственные нужды (коммунальные услуги, расходы на содержание имущества, связь, транспорт, оплата труда с начислениями на выплаты по оплате труда работников, которые не принимают непосредственного участия в реализации протокола клинической апробации)	3,40
4а	из них расходы на оплату труда с начислениями на выплаты по оплате труда работников, которые не принимают непосредственного участия в реализации протокола клинической апробации	1,07
Итого:		34,05

Директор

Дата _____



Г.Т. Сухих

Индивидуальная регистрационная карта пациента № _____

Ф.И.О. пациентки _____

Телефон _____

Амбулаторная карта/история болезни _____

Дата рождения _____

Возраст (полных лет) _____

Критерии включения:

1. Возраст пациенток свыше 21 года
2. Пациентки с морфологически подтвержденным диагнозом СЛ.
3. Способность следовать требованиям протокола.
4. Подписанное информированное согласие.

Критерии исключения:

1. Наличие противопоказаний для проведения лазерного воздействия (подгруппа А) и PRP – терапии (подгруппа Б);
2. Вирусные и инфекционные заболевания: острые и хронические в стадии обострения;
3. Экстрагенитальные заболевания в декомпенсированной стадии;
4. Иммунодефицитные состояния, включая ВИЧ – инфекцию;
5. Онкологические заболевания в настоящее время;
6. Психические нарушения;
7. Беременность, послеродовый период и лактация.

(Уважаемые женщины, нижеуказанные ответы: подчеркнуть или дописать)

Образование (высшее, среднее, начальное) область работы, профессия: _____

Профессиональные вредности (компьютер, выраженная физическая нагрузка, вредные вещества, стресс) свой вариант: _____

Курение (не курю, < ½ пачки/день, 1/2-1 пачку/день, >1 пачки/день)

Прием алкоголя (раз в неделю, раз в месяц, 2-3 раза в месяц, раз в 3 месяца, раз в 6 месяцев) _____

Диетические предпочтения 1 (вегетарианка, соблюдает какую-либо диету, ем все) _____

Диетические предпочтения 2 (колбасные изделия, чипсы, фастфуд, газированные напитки) _____

Физическая активность (занимаюсь/не занимаюсь спортом) _____

Семейное положение (замужем, совместное проживание с партнером, разведена, одинокая) _____

Условия проживания (хорошие, удовлетворительные, неудовлетворительные) _____

Продолжительность сна (в часах): _____ Желаемая продолжительность сна _____

Уровень воздействия стресса (от 0 до 5: где 0 – нет стресса, 5 – выраженный стресс) _____

Уровень стрессоустойчивости (от 0 до 5: где 0 – нет стресса, 5 – выраженный стресс) _____

Инвалидность (есть/нет, группа) _____

Рост (см) _____

Вес(кг) _____

ИМТ _____

Менструальная функция:

Начало первых менструаций (было лет) _____ установились сразу: _____

Регулярность цикла (да/нет) _____

Продолжительность цикла (дней) _____

Длительность менструального кровотечения (дней) _____

Характер менструаций (скудные, умеренные, обильные, болезненные, безболезненные)

Нарушения менструального цикла (нет, олигоменорея, полименорея, дисменорея, межменструальные кровянистые выделения, альгоменорея)

Половая функция:

Начало половой жизни (было лет) _____

Контрацепция в анамнезе (презервативы, прерванный половой акт, ВМС, КОК, гормональная – другие формы, посткоитальная)

Период контрацепции (годы) _____

Длительные перерывы в интимных контактах (да / нет) их длительность: _____

Репродуктивная функция:

Количество беременностей и их исходы _____

Количество абортв в анамнезе _____

Перенесенные гинекологические заболевания

Перенесенные оперативные вмешательства на половых органах (на шейке матки, на матке, на трубах, на яичниках, реконструктивные пластические операции):

Наличие ВПЧ – инфекции (есть(давность обнаружения) / нет / не обследовалась)

Данные исследуемого заболевания (склероатрофический лишай):

Первые клинические симптомы появились: после стресса/травмирования наружных половых органов / после окончания менструации/ после родов / свой вариант _____

Обнаружение у ближайших родственников склероатрофического лишая вульвы _____

Период от появления клинических симптомов, до обращения к врачу (менее 1 года, 1 – 3 года, 3-5 лет, 5-7 лет, 7-10 лет, более 10 лет) / свой вариант _____

Получаемое лечение до настоящего момента: последовательность, длительность терапии , лекарственные препараты, физиотерапевтическое лечение, свой вариант

Соматический анамнез:

Переливания крови в анамнезе (да/нет) _____

Легочные заболевания (да/нет) _____

Заболевания сердечно-сосудистой системы _____
(да/нет) _____

Заболевания ЖКТ (да/нет) _____

Заболевания мочевой системы (да/нет) _____

Эндокринные заболевания (да/нет) _____

Заболевания крови (да/нет) _____

Заболевания кожи (да/нет) _____

Заболевания нервной системы (да/нет) _____

Заболевания глаз (да/нет) _____

ЛОР заболевания (да/нет) _____

Психические заболевания _____

Аутоиммунные заболевания (да/нет) _____

Травмы в анамнезе (вид, год) _____

Пороки развития, стигмы (да/нет) _____

Общие оперативные вмешательства _____

Аллергические реакции _____

Семейный анамнез (отягощен, не отягощен) _____

Обследование пациентки:

Группа крови (O(I), A(II), B(III), AB(IV))

Резус-фактор (положит./отрицат.)

Гинекологическое исследование:

Осмотр наружных половых органов:

Оволосение по женскому / смешанному / мужскому типу.

Наружные половые органы развиты правильно.

Осмотр на зеркалах:

Влагалище рожавшей / нерожавшей женщины, слизистая не гиперемирована/ гиперемирована.

Шейка матки цилиндрической / конической / субконической формы; не эрозирована/ эрозирована.

Тело матки: - меньше нормы / нормальной величины/ увеличено соответственно _____ неделям беременности.

- отклонено кпереди / кзади
- подвижно / ограничено в подвижности влево, вправо
- болезненное / безболезненное
- консистенция: плотная / мягковатая / неравномерная
- особенности: _____

Придатки матки слева: не увеличены / пальпируется образование _____

безболезненные / болезненные.

Придатки матки справа: не увеличены / пальпируется образование _____

безболезненные / болезненные

Гистологическое заключение:

Через 3,6 месяцев после лечения

Гинекологическое исследование:

Осмотр наружных половых органов:

Оволосение по женскому / смешанному / мужскому типу.

Наружные половые органы развиты правильно.

Осмотр на зеркалах:

Влагалище рожавшей / нерожавшей женщины, слизистая не гиперемирована/ гиперемирована.

Шейка матки цилиндрической / конической / субконической формы; не эрозирована/ эрозирована.

Тело матки: - меньше нормы / нормальной величины/ увеличено соответственно _____ неделям беременности.

- отклонено кпереди / кзади
- подвижно / ограничено в подвижности влево, вправо
- болезненное / безболезненное
- консистенция: плотная / мягковатая / неравномерная
- особенности: _____

Придатки матки слева: не увеличены / пальпируется образование _____

безболезненные / болезненные.

Придатки матки справа: не увеличены / пальпируется образование _____

безболезненные / болезненные

Гистологическое заключение:

1. Системные аутоиммунные заболевания (СКВ, склеродермия, ревматоидный артрит, антифосфолипидный синдром, системные васкулиты).

отказ от консервативной терапии

**Согласие на опубликование протокола клинической апробации на
официальном сайте Министерства в сети «Интернет»**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации дает согласие на опубликование протокола клинической апробации: «Протокол клинической апробации метода комбинированного малоинвазивного лечения дистрофических заболеваний наружных половых органов у женщин с помощью фракционного углекислотного лазера и плазмы, обогащённой тромбоцитами» в сети «Интернет» на официальном сайте Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Директор
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»
Минздрава России



Г.Т. Сухих