

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 автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации |
| 2. | Адрес места нахождения организации | 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1. |
| 3. | Контактные телефоны и адреса электронной почты | Мурашкин Н.Н., д.м.н., профессор, зав. отд. дерматологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, тел.: +79184951122, e-mail: m_nn2001@mail.ru. |
| 4. | Название предлагаемого для клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации | «Метод верификации формы врожденного ихтиоза (Q80) у пациентов от 0 до 17 лет обоих полов с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета в сравнении с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса». |
| 5. | Число пациентов, необходимое для проведения клинической апробации | 25 |

Приложение:

1. Протокол клинической апробации на 30 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 ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»
Минздрава России, д.м.н., профессор



А.П. Фисенко

А.П. Фисенко 24 февраля 2022 г.

СОГЛАСИЕ
на опубликование протокола клинической апробации
на официальном сайте Министерства здравоохранения Российской
Федерации в сети «Интернет»

г. Москва

24» апреля 2022 г.

Федеральное государственное автономное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ "НМИЦ здоровья детей" Минздрава России) в лице директора, д.м.н., профессора А.П. Фисенко, действующего на основании Устава:

Дает свое согласие на опубликование протокола клинической апробации на официальном сайте Министерства здравоохранения Российской Федерации в сети «Интернет» под названием **«Метод верификации формы врожденного ихтиоза (Q80) у пациентов от 0 до 17 лет обоих полов с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета в сравнении с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса».**

1. Настоящее Соглашение распространяется на текст Протокола и сопроводительные документы, включая данное Соглашение.
2. Настоящее Соглашение вступает в силу с даты его подписания обеими Сторонами и действует до момента отзыва заинтересованными сторонами.

Директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»

Минздрава России, д.м.н., профессор



А.П. Фисенко А.П. Фисенко

**Протокол клинической апробации
метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации**

**«Метод верификации формы врожденного ихтиоза (Q80) у пациентов от 0 до 17 лет
обоих полов с применением массового параллельного секвенирования и определения
показателей клеточного иммунитета в сравнении с методом стандартной
дерматологической оценки кожного патологического процесса».**

Идентификационный № _____

Дата _____

I. Паспортная часть

1. Название предлагаемого к проведению клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (далее - метод).

Метод верификации формы врожденного ихтиоза у пациентов от 0 до 17 лет с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета.

2. Наименование и адрес федеральной медицинской организации, разработавшей протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (далее – Протокол КА).

ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, 119296, Россия, г.Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1.

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

Мурашкин Николай Николаевич, д.м.н., профессор, заведующий отделением дерматологии с группой лазерной хирургии ФГАУ “НМИЦ здоровья детей” Минздрава России, тел. +79184951122, e-mail: m_nn2001@mail.ru.

II. Обоснование клинической апробации метода

4. Аннотация метода.

Ихтиозы – группа наследственных заболеваний кожи, характеризующихся генерализованным нарушением кератинизации по типу гиперкератоза. Описаны мутации более 50 генов, ответственных за развитие как синдромальных, так и несиндромальных ихтиозов с дефектами образования белков кератиноцитов, метаболизма и транспорта липидов, а также сборки межклеточных контактов, нарушением процессов транскрипции и репарации ДНК. Врожденные ихтиозы обычно манифестируют с рождения или появляются в первые месяцы жизни. Все формы ихтиоза, так или иначе, связаны с белковыми и липидными аномалиями, а также дефектами корнеоцитов, которые приводят к нарушению эпидермального барьера, что функционально проявляется высоким уровнем трансэпидермальной потери воды, нарушением барьерной функции и изменением гомеостаза. Для больных с ихтиозом характерны осложнения со стороны органов зрения и слуха, кожный болевой синдром, зуд, кожные инфекции, аномалии волос и ногтей,

чрезмерная реакция на температурные колебания и воздействие факторов окружающей среды, физические ограничения, а также связанные с этим психологические страдания.

Современные исследования последних лет по изучению иммунного профиля некоторых форм ихтиоза демонстрируют повышенную активацию Т-клеток и подчеркивают важную роль в патогенезе взаимодействия провоспалительных путей IL-23/Th17 и IL-17/TNF. Так, при некоторых формах ихтиоза, обнаружено преимущественное преобладание Th2-иммунного ответа с увеличением продукции таких провоспалительных цитокинов, как TNF- α , IL-1 β , IL-2 и IL-18, сопровождающимся параллельно эпидермальной гиперплазией и аномалиями дифференцировки LOR, FLG и липидов кожи. Эти данные дают возможность расширить терапевтический арсенал для больных ихтиозом средствами биологической терапии, использующимися, в основном, у больных, страдающих псориазом. С современных позиций наиболее перспективным является изучение разных звеньев иммунной системы вовлеченных в данное заболевание. К ним относится определение количества основных и малых популяций лимфоцитов, а также оценка уровня транслокации NF- κ B в этих популяциях.

Эффективным методом системной терапии является назначение ароматических ретиноидов. У большинства пациентов с ламеллярными формами (мутации генов ABCA12, CYP4F22, TGM1) отмечается заметное улучшение или ремиссия заболевания при длительном приеме препарата. Однако этот метод не эффективен при ихтиозиформных эритродермиях (мутации генов, ALOX12R, ALOXE3) при которых показано внутривенное введение иммуноглобулина (например, синдром Нетертона, мутация гена SPINK5).

Проведение иммунофенотипирования и определение иммунологических нарушений Т-клеточного звена и выявление неконтролируемой пролиферации Т-хелперов отражает иммунодефицитное состояние у пациентов с некоторыми формами врожденного ихтиоза и обуславливает необходимость проведения терапии внутривенными иммуноглобулинами. Внутривенные иммуноглобулины также были зарегистрированы как безопасный и эффективный метод лечения пациентов, страдающих врожденным ихтиозом.

Данные виды терапии на основе верифицированного диагноза врожденного ихтиоза методом секвенирования нового поколения позволяют уменьшить выраженность эритродермии и шелушения кожи и тем самым улучшить качество жизни пациентов и предотвратить прогрессирование инвалидизации детей, страдающих данной патологией.

Характерный для многих генодерматозов дебют в раннем детстве, тяжёлое течение, полиорганные поражения, нередко приводящие к инвалидизации пациентов, сложность распознавания и дифференциальной диагностики, резистентность к терапии, связанной с отсутствием критериев дифференцированного подхода к диагностике, определяет необходимость в совершенствовании метода диагностического поиска и верификации формы заболевания с характерной для него особенностью иммунного статуса.

На сегодняшний день в соответствии с проектом клинических рекомендаций рекомендуется измерение роста и веса, индекса массы тела, оценка состояния волос и ногтей, лимфоузлов, выявление скелетных аномалий, деформаций ушных раковин, признаков инфицирования кожи, у новорожденных – контроль температуры, ежедневное взвешивание. В ходе стандартного дерматологического осмотра пациента отмечаются генерализованные сухость и шелушение кожи с формированием чешуек и участков утолщения у всей группы ихтиоза, но при этом различные формы имеют свои особенности, обусловленные типом наследования, клинической вариабельностью и ассоциацией с поражением других органов и систем.

| Параметр | Значение/описание |
|---|---|
| Цель внедрения метода. | Повышение эффективности оказания медицинской помощи пациентам детского возраста, страдающих врождённым ихтиозом. |
| Заболевание/состояние (в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10)) на профилактику/диагностику/лечение/реабилитацию которого направлен метод. | Врожденный ихтиоз (Q80): Q80.0 – Ихтиоз простой; Q80.1 – Ихтиоз, связанный с X-хромосомой (X-сцепленный ихтиоз); Q80.2 – Пластинчатый (ламеллярный) ихтиоз; Q80.3 – Врожденная буллезная ихтиозиформная эритродермия; Q80.4 – Ихтиоз плода (плод Арлекин); Q80.8 – Другой врожденный ихтиоз; Q80.9 – Врожденный ихтиоз неуточненный. |
| Половозрастная характеристика пациентов, которым будет оказана медицинская помощь с применением метода. | Дети мужского и женского пола в возрасте от 0 до 17 лет. |
| Краткое описание предлагаемого метода, преимущества и недостатки по сравнению с применяемыми сегодня методами, в том числе методом сравнения. | Методом массового параллельного секвенирования будут исследованы все известные к настоящему времени гены, мутации в которых описаны, как первопричины развития различных форм ихтиоза. Для этого будет применена панель, включающая таргетные области генов ABCA12, ABHD5, ALDH3A2, ALOX12B, ALOXE3, ANOS1, AP1B1, ARSE, BTK, CASP14, CERS3, CLDN1, CLDN10, CSTA, CTNNB1, CTSB, CYP4F22, DOLK, DSP, ELOVL4, FERMT1, FLG, GJB2, GJB6, GTF2H5, KDSR, KRT1, KRT10, KRT17, KRT2, KRT9, LAMB3, LIPN, LOR, MBTPS2, NIPAL4, NLGN4X, PIGL, PNPLA1, POMP, SDR9C7, SERPINB8, SLC27A4, SNAP29, SPINK5, SRD5A3, ST14, STS, SULT2B1, TGM1, UGCG, VPS33B. Определение показателей клеточного иммунитета методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител и анализ уровня транслокации NF-kB в популяциях лимфоцитов методом проточной |

| | |
|--|--|
| | <p>цитометрии с визуализацией. Анализ экспрессии генов интерлейкинов IL-17, IL-23, IL-13, IL-31, IL-5, хемокинов (CXCL10, CXCL9, CCL17), а также TNF-а и IFN-γ в коже пациентов при помощи метода ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией и иммуногистохимического исследования.</p> <p>Верификация формы ихтиоза указанными выше методиками, в отличие от применяемых сегодня методов клинической оценки кожного патологического процесса, позволит персонализировать терапевтическую тактику и значительно повысить эффективность медицинской помощи детям с тяжелым инвалидизирующим наследственным заболеванием.</p> |
| <p>Форма оказания медицинской помощи с применением метода.</p> | <p>Плановая.</p> |
| <p>Вид медицинской помощи, оказываемой с применением метода.</p> | <p>Специализированная.</p> |
| <p>Условия оказания медицинской помощи (например, амбулаторно, в дневном стационаре и т.п.) с применением метода.</p> | <p>Стационарная.</p> |
| <p>Название метода, предложенного для сравнительного анализа.</p> | <p>Метод стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса.</p> |
| <p>Половозрастная характеристика пациентов, которым будет оказана медицинская помощь с применением метода, предложенного для сравнительного анализа.</p> | <p>Дети мужского и женского пола в возрасте от 0 до 17 лет.</p> |
| <p>Краткое описание метода, предложенного для сравнительного анализа (фактические данные по частоте применения, вид, форма, условия оказания медицинской помощи, источники финансирования, ссылки на действительные клинические рекомендации, в которых рекомендуется метод сравнения, преимущества и недостатки по сравнению с методом КА).</p> | <p>На сегодняшний день верификация формы заболевания врожденного ихтиоза всегда основывается на данных субъективной оценки кожного патологического процесса врачом-дерматологом и не позволяет с достаточной точностью поставить верный диагноз. В соответствии с федеральными клиническими рекомендациями 2016 года (ID: KP202; URL:KP202) данные физикального осмотра пациента, которыми являются сухость и шелушение кожи с формированием чешуек и участков утолщения – это постоянные симптомы заболевания, но при этом различные формы</p> |

| | |
|--|--|
| | ихтиоза имеют свои особенности, обусловленные типом наследования, клинической вариабельностью и ассоциацией с поражением других органов и систем. Данный метод проводится за счет средств ОМС (st06.004, st06.006.). |
|--|--|

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

| Параметр | Значение/описание | Номер источника информации в списке литературы (при необходимости) |
|--|---|--|
| Распространенность в РФ заболевания (состояния) пациентов, медицинская помощь которым будет оказана в рамках клинической апробации, на 100 тыс. населения. | В РФ отсутствуют точные эпидемиологические данные о распространенности различных форм ихтиоза. Распространенность X-сцепленного ихтиоза в популяции составляет 1:2000–1:9500. Распространенность пластинчатого ихтиоза в популяции составляет 1:200 000–1:300 000. Распространенность врожденной буллезной ихтиозиформной эритродермии в популяции составляет 1:300 000. | 1 |
| Заболеваемость в РФ (по заболеванию(состоянию) пациентов, медицинская помощь которым будет оказана в рамках клинической апробации, на 100 тыс. населения. | Заболеваемость ихтиоза в популяции в зависимости от его формы варьирует от 1:250 при вульгарном ихтиозе до 1:100000 при аутосомно-рецессивном врожденном ихтиозе. | 1, 2 |
| Смертность в РФ от заболевания(состояния) пациентов, медицинская помощь которым будет оказана в рамках клинической апробации, на 100 тыс. населения. | Показатели смертности при различных формах ихтиоза разнятся. Так, у пациентов в состоянии коллодиевого плода процент смертности составляет 11 % в первую неделю жизни, а при ихтиозе Арлекина данный показатель превышает 50 %. | 3, 4 |
| Показатели первичной и общей инвалидности по заболеванию (состоянию), на 10 тыс. населения. | Информация первичной и общей инвалидности по заболеванию отсутствует. | |
| Иные социально-значимые сведения о данном | У пациентов с выраженными кожными изменениями имеются следующие нарушения категорий | |

| | | |
|---|---|---|
| заболевании/состоянии. | <p>жизнедеятельности: 1) снижение способности к самообслуживанию в связи с мучительным зудом, выраженными изменениями на коже, снижение способности соблюдать личную гигиену, нуждаемость в регуляции помощи других лиц для постоянного ухода за кожей: купания, обработки раневой поверхности, наложения наружных средств. 2) снижение способности к общению вследствие социальной дезадаптации из-за выраженных изменений кожного покрова и постоянного зуда, а также снижение способности к независимому существованию. 3) социальная дезадаптация из-за выраженного зуда, выраженных кожных высыпаний, а также из-за необходимости постоянного приёма препаратов специального назначения.</p> <p>У пациентов с врожденным ихтиозом отмечаются нарушения здоровья со стойким расстройством функций организма, приводящим к ограничению жизнедеятельности и необходимости в мерах социальной поддержки, включая реабилитацию.</p> | |
| Характеристика существующих методов (альтернативные предлагаемому) входящие в перечни ОМС, ВМП, в том числе, с обозначением метода, предлагаемого для сравнительного анализа (код, наименование, краткое описание). | Основным методом диагностики пациентов с врождённым ихтиозом в РФ в настоящее время является субъективная оценка кожного патологического процесса врачом-дерматологом. | 1 |
| Проблемы текущей практики оказания медицинской помощи пациентам, медицинская помощь которым будет оказана в рамках клинической апробации, подтверждающие необходимость проведения клинической апробации. | Отсутствие использования в рутинной практике генетического метода верификации формы ихтиоза и оценки клеточного иммунитета методом проточной цитофлуометрии с визуализацией, обуславливает отсутствие эффективной методики терапевтического воздействия при данном заболевании. | |
| Ожидаемые результаты внедрения, предлагаемого к проведению клинической | Внедрение новых диагностических технологий при обследовании детей с врождённым ихтиозом позволит внедрить персонализированную | |

| | | |
|--|---|--|
| апробации Метода. В том числе организационные, клинические, экономические аспекты. | патогенетическую помощь детям, что внесет значительный вклад в профилактику ранних осложнений, развитие тяжелых инвалидизирующих форм заболевания и активную социализацию пациентов. Данная методика также позволит определить особенности генетического полиморфизма врожденного ихтиоза у детей в российской популяции, что послужит основой для разработки таргетной помощи в РФ детям с данной орфанной патологией. | |
|--|---|--|

Список литературы:

1. Федеральные клинические рекомендации. Ихтиоз у детей. Союз педиатров России. 2016 год.
2. Pigg MH, Bygum A, et al. Spectrum of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis in Scandinavia: Clinical Characteristics and Novel and Recurrent Mutations in 132 Patients. *Acta Derm Venereol.* 2016 Nov 2;96(7):932-937. doi: 10.2340/00015555-2418.
3. Chung, Michael et al. "Expedient treatment of a collodion baby." *Case reports in dermatological medicine* vol. 2011 (2011): 803782. doi:10.1155/2011/803782.
4. Jian, W., Du, et al. (2018). Prenatal diagnose of a fetus with Harlequin ichthyosis in a Chinese family. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 57(3), 452–455. doi:10.1016/j.tjog.2018.04.023.
6. Новизна метода и (или) отличие его от известных аналогичных методов.

| Параметр | Значение/описание | Номер источника информации в списке литературы (при необходимости) |
|--|--|--|
| Название предлагаемого метода. | Метод верификации формы врожденного ихтиоза у пациентов от 0 до 17 лет с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета. | |
| Страна-разработчик метода. | США, Израиль, Россия. | |
| История создания метода (коротко), с указанием ссылок на научные публикации. | В 2016 году проведено первое исследование изучения этиологических факторов воспаления при врожденном ихтиозе и его корреляции с клиническими формами. Некоторые формы | 1, 2, 3 |

| | | |
|---|---|--|
| | <p>врождённого ихтиоза продемонстрировали усиление экспрессии клеток Th17, что коррелировало с тяжестью течения заболевания. После чего в 2018 и 2019 гг. были проведены исследования, направленные на изучение цитокинового профиля и клеточного иммунитета больных врожденным ихтиозом в совокупности с особенностями генетического полиморфизма и экспрессии генов. Полученные данные стали основой для обоснования новых патогенетических путей и усовершенствования терапии. В настоящее время ведется работа по расширению терапевтического арсенала для больных врожденным ихтиозом, основанная на точной верификации формы и комплексной оценке иммунного статуса пациента с целью назначения необходимой патогенетической терапии.</p> | |
| <p>Широта использования метода на сегодняшний день, включая использование в других странах (фактические данные по внедрению метода в клиническую практику).</p> | <p>На сегодняшний день экзомное секвенирование и иммунофенотипирование проводятся пациентам с врожденным ихтиозом на базе отделения дерматологии с группой лазерной хирургии ФГАУ НМИЦ ЗД с 2021 года за счет средств благотворительных фондов. Проточная цитометрия является рутинным методом в</p> | |

| | | |
|---|--|--|
| | <p>диагностических лабораториях. Проточные цитометры, зарегистрированные Росздравнадзором, в лабораторной диагностике активно используют для оценки иммунного статуса пациента для своевременной постановки диагноза.</p> | |
| <p>Основные преимущества метода КА по сравнению с текущей практикой в РФ.</p> | <p>Персонализированный подход к терапии на основе комплексных диагностических мероприятий в следствие точной верификации формы врожденного ихтиоза, что приведет к подбору эффективной патогенетической терапии.</p> | |
| <p>Возможные недостатки метода КА по сравнению с текущей практикой.</p> | <p>Дороговизна.</p> | |

Список литературы:

1. Paller AS. Profiling Immune Expression to Consider Repurposing Therapeutics for the Ichthyoses. *J Invest Dermatol.* 2019 Mar;139(3):535-540. doi:10.1016/j.jid.2018.08.027.
2. Czarnowicki, T., He, H., Leonard, et al. (2018). The Major Orphan Forms of Ichthyosis Are Characterized by Systemic T-Cell Activation and Th-17/Tc-17/Th-22/Tc-22 Polarization in Blood. *Journal of Investigative Dermatology.* doi:10.1016/j.jid.2018.03.1523.
3. Malik, Kunal et al. "Ichthyosis molecular fingerprinting shows profound TH17 skewing and a unique barrier genomic signature." *The Journal of allergy and clinical immunology* vol. 143,2 (2019): 604-618. doi:10.1016/j.jaci.2018.03.021.
4. Sitek JC, Kulseth MA, Rypdal KB, Skodje T, Sheng Y, Retterstøl L. Whole-exome sequencing for diagnosis of hereditary ichthyosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018 Jun;32(6):1022-1027. doi: 10.1111/jdv.14870.
5. Cheng R, Liang J, Li Y, Zhang J, Ni C, Yu H, Kong X, Li M, Yao Z. Next-generation sequencing through multi-gene panel testing for diagnosis of hereditary ichthyosis in Chinese. *Clin Genet.* 2020 May;97(5):770-778. doi: 10.1111/cge.13704.

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

| Наименование прогнозируемого осложнения | Возможная степень тяжести осложнения | Описание осложнения | Частота встречаемости осложнения | Сроки оценки осложнения | Метод контроля осложнения |
|---|--------------------------------------|--|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Вторичное инфицирование кожи в области забора биопсии | Лёгкая степень тяжести | Покраснение кожи с формированием гнойного экссудата | 1 % | Первые 2 суток | Визуальный осмотр |
| Кровотечение в области забора биопсии | Легкая степень тяжести | Незначительное кровоизлияние из раны насыщенно-красной крови | 1% | Первые сутки | Визуальный осмотр |

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).

1. Федеральные клинические рекомендации. Ихтиоз у детей. Союз педиатров России. 2016 год.
2. Paller AS. Profiling Immune Expression to Consider Repurposing Therapeutics for the Ichthyoses. *J Invest Dermatol.* 2019 Mar;139(3):535-540. doi:10.1016/j.jid.2018.08.027.
3. Paller, A. S., Renert-Yuval, Y., et al. (2017). An IL-17–dominant immune profile is shared across the major orphan forms of ichthyosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(1), 152–165. doi:10.1016/j.jaci.2016.07.019.
4. Czarnowicki, T., He, H., Leonard, et al. (2018). The Major Orphan Forms of Ichthyosis Are Characterized by Systemic T-Cell Activation and Th-17/Tc-17/Th-22/Tc-22 Polarization in Blood. *Journal of Investigative Dermatology.* doi:10.1016/j.jid.2018.03.1523.
5. Paller AS, Czarnowicki T, Renert-Yuval Y, et al. The spectrum of manifestations in desmoplakin gene (DSP) spectrin repeat 6 domain mutations: Immunophenotyping and response to ustekinumab. *J Am Acad Dermatol.* 2018 Mar;78(3):498-505.e2. doi: 10.1016/j.jaad.2017.10.026.
6. Malik, Kunal et al. “Ichthyosis molecular fingerprinting shows profound TH17 skewing and a unique barrier genomic signature.” *The Journal of allergy and clinical immunology* vol. 143,2 (2019): 604-618. doi:10.1016/j.jaci.2018.03.021.

7. Malik, K., He, H., Pavel, A., Wu, J. and Guttman-Yassky, E., 2020. RNAseq Profiling Highlights Immune and Barrier Differences among Ichthyoses. *Journal of Scientific Innovation in Medicine*, 3(3), p.11. DOI: 10.29024/jsim.65
8. Cheng R, Liang J, Li Y, Zhang J, Ni C, Yu H, Kong X, Li M, Yao Z. Next-generation sequencing through multi-gene panel testing for diagnosis of hereditary ichthyosis in Chinese. *Clin Genet*. 2020 May;97(5):770-778. doi: 10.1111/cge.13704.
9. Sitek JC, Kulseth MA, Rypdal KB, Skodje T, Sheng Y, Retterstøl L. Whole-exome sequencing for diagnosis of hereditary ichthyosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Jun;32(6):1022-1027. doi: 10.1111/jdv.14870.
10. Мурашкин Н.Н., Материкин А.И., Амбарчян Э.Т., Епишев Р.В., Опрятин Л.А., Иванов Р.А., Куколева Д.С., Купцова Д.Г., Пушкин А.А., Помазанова М.Ю., Козырь Я.В. Мультиморбидность в детской дерматологии: клинический пример. *Вопросы современной педиатрии*. 2020; 19 (6): 483–489. doi: 10.15690/vsp.v19i6.2155.

9. Иные сведения, связанные с разработкой метода. Отсутствуют.

III. Цели и задачи клинической апробации

10. Детальное описание целей и задач клинической апробации:

Цель: Практическое применение разработанного и ранее не применявшегося метода верификации формы врожденного ихтиоза у пациентов от 0 до 17 лет с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета для подтверждения доказательств его клинико-экономической эффективности.

Задачи:

1. Сравнить клиническую эффективность метода «верификация формы врожденного ихтиоза у пациентов от 0 до 17 лет применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета» с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса.
2. Сравнить безопасность метода «верификация формы врожденного ихтиоза в детском возрасте на основании массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета» с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса.
3. Сравнить клинико-экономическую эффективность метода «верификация формы врожденного ихтиоза в детском возрасте на основании массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета» с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса.

IV. Дизайн клинической апробации

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

В соответствии с научными данными последних лет, заболевания из группы врожденного ихтиоза имеют иммунологическую гетерогенность, обусловленную

специфическими мутациями генов, кодирующих структурно-функциональные компоненты эпидермального барьера. Так, выявлена избыточная активация ICOS (индуцируемый костимулятор Т-клеток, индуцируемый костимулятор), особенно при эпидермолитической форме ихтиоза. Обнаружен повышенный уровень Т-клеток, продуцирующих IL-17, IL-22, IL-23, характерные для синдрома Нетертона и врожденной ихтиозiformной эритродермии. Также было отмечено повышение уровней Th2-клеток, цитотоксических Т-клеток и Th9 – клеток, по сравнению со здоровыми лицами [1]. У пациентов с врожденным ихтиозом из-за мутаций в гене *DSP*, кодирующем десмоплакин, наблюдалось значительное снижение степени тяжести течения ихтиоза (уменьшение эритемы и выраженности шелушения) и трансэпидермальной потери воды при использовании генно-инженерного биологического препарата устекинумаба, который ингибирует IL-12/23, что дополнительно подчеркивает роль иммунного воспаления с вовлечением Т-клеток в коже, секретирующих провоспалительные цитокины IL-12 и IL-23 [2, 3].

В исследовании Д.С.Ситека и соавт. [4] в течение 3-х лет больным ихтиозом, последовательно госпитализированных в клинику университетской больницы, в качестве генетического исследования было предложено полноэкзомное секвенирование с последующим анализом генов, связанных с ихтиозом. Генетические варианты, вызывающие ихтиоз, выявлены у 27 из 34 обследованных больных (79,4%). Всего была обнаружена 31 причинная мутация в 13 генах, включая 12 новых вариантов. TGM1 был наиболее часто мутировавшим геном, на который приходилось 43,7% пациентов, страдающих аутосомно-рецессивным врожденным ихтиозом (ARCI). Таким образом, полноэкзомное секвенирование представляется эффективным инструментом для выявления молекулярной причины у пациентов с наследственным ихтиозом, наблюдаемым в клинической практике, и его следует рассматривать как генетический тест первого уровня у таких пациентов. В исследовании Ченга с соавт. [5] применение методов NGS успешно определило молекулярную причину 91% наследственных ихтиозов. Предвзятость первоначальной диагностики также продемонстрировала превосходство технологии NGS в диагностике раннего неразличимого наследственного ихтиоза.

Источники:

1. Czarnowicki, T., He, H., Leonard, et al. (2018). The Major Orphan Forms of Ichthyosis Are Characterized by Systemic T-Cell Activation and Th-17/Tc-17/Th-22/Tc-22 Polarization in Blood. *Journal of Investigative Dermatology*. doi:10.1016/j.jid.2018.03.1523.
2. Paller AS. Profiling Immune Expression to Consider Repurposing Therapeutics for the Ichthyoses. *J Invest Dermatol*. 2019 Mar;139(3):535-540. doi:10.1016/j.jid.2018.08.027.
3. Paller AS, Czarnowicki T, Renert-Yuval Y, et al. The spectrum of manifestations in desmoplakin gene (*DSP*) spectrin repeat 6 domain mutations: Immunophenotyping and response to ustekinumab. *J Am Acad Dermatol*. 2018 Mar;78(3):498-505.e2. doi: 10.1016/j.jaad.2017.10.026.
4. Sitek JC, Kulseth MA, Rypdal KB, Skodje T, Sheng Y, Retterstøl L. Whole-exome sequencing for diagnosis of hereditary ichthyosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Jun;32(6):1022-1027. doi: 10.1111/jdv.14870.

5. Cheng R, Liang J, Li Y, Zhang J, Ni C, Yu H, Kong X, Li M, Yao Z. Next-generation sequencing through multi-gene panel testing for diagnosis of hereditary ichthyosis in Chinese. Clin Genet. 2020 May;97(5):770-778. doi: 10.1111/cge.13704.

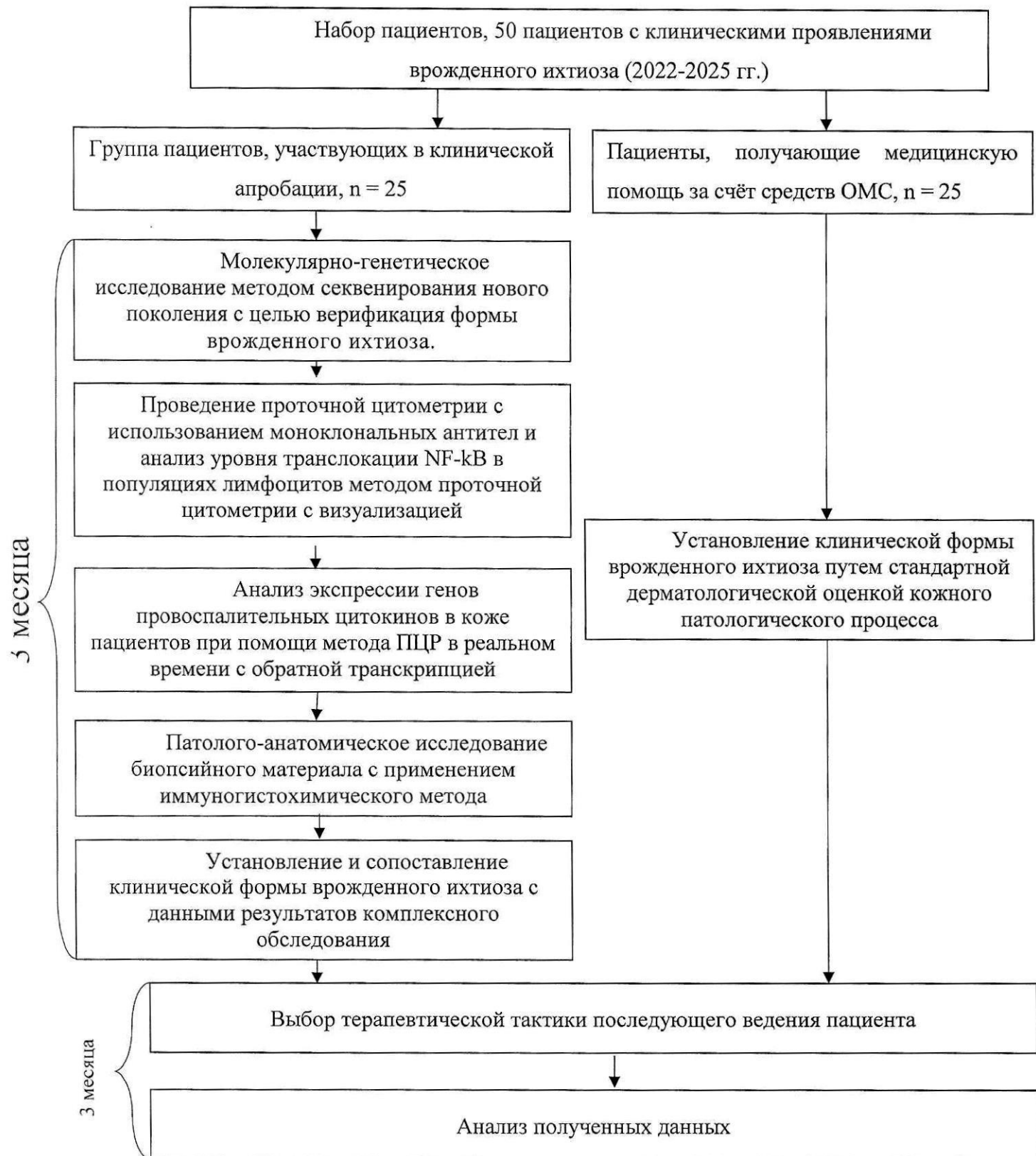
12. Описание дизайна клинической апробации, которое должно включать в себя:

12.1. Указание основных и дополнительных (при наличии) исследуемых параметров, которые будут оцениваться в ходе клинической апробации;

| № | Параметр |
|----|---|
| 1 | Анализ анамнеза заболевания. |
| 2 | Оценка критериев включения/исключения. |
| 3 | Физикальное обследование. |
| 4 | Оценка лабораторных исследований (биохимический анализ крови, клинический анализ крови, анализ мочи, кала). |
| 5 | Оценка тяжести ихтиоза с помощью индекса IASI. |
| 6 | Оценка наличия кератита и эктропиона. |
| 7 | Оценка результатов УЗИ органов брюшной полости, почек и мочевого пузыря, ЭХО-КГ. |
| 8 | Определение иммунологических нарушений Т-клеточного звена с помощью иммунофенотипирования периферической крови. |
| 9 | Анализ результатов молекулярно-генетического исследования методом секвенирования нового поколения. |
| 10 | Определение уровня экспрессии провоспалительных цитокинов и наличия иммунных клеток в коже с помощью патологоанатомического исследования биопсийного материала с применением иммуногистохимических методов. |
| 11 | Наличие осложнений основного заболевания. |
| 12 | Степень инвалидизации. |
| 13 | Уровень инвалидизации. |

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

Дизайн исследования:



12.3. Описание метода, инструкции по его проведению;

Методом массового параллельного секвенирования будут исследованы гены, мутации в которых описаны, как первопричины развития различных форм ихтиоза. Для этого будет

применена панель, включающая таргетные области генов ABCA12, ABHD5, ALDH3A2, ALOX12B, ALOXE3, ANOS1, AP1B1, ARSE, BTK, CASP14, CERS3, CLDN1, CLDN10, CSTA, CTNNA1, CTSB, CYP4F22, DOLK, DSP, ELOVL4, FERMT1, FLG, GJB2, GJB6, GTF2H5, KDSR, KRT1, KRT10, KRT17, KRT2, KRT9, LAMB3, LIPN, LOR, MBTPS2, NIPAL4, NLGN4X, PIGL, PNPLA1, POMP, SDR9C7, SERPINB8, SLC27A4, SNAP29, SPINK5, SRD5A3, ST14, STS, SULT2B1, TGM1, UGCG, VPS33B.

Показатели клеточного иммунитета будут изучены методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител. Анализ уровня транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов будет проведен методом проточной цитометрии с визуализацией. Показатели клеточного иммунитета и количество MDSCs будут определены с помощью проточного цитофлуориметра с использованием моноклональных антител (МКАТ). При исследовании иммунного статуса будет определено количество основных и малых популяций лимфоцитов в регионе CD45+: CD3+ (Т-лимфоциты), CD3+CD4+ (Т-хелперы), CD3+CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD3-CD19+ (В-лимфоциты), CD3-CD16+/CD56+ (NK-клетки), CD3+CD16+/CD56+ (ТНК-клетки), CD3+HLA-DR+ (активированные Т-лимфоциты), CD4+CD127^{low}CD25^{high} (Treg), CD4+CD25+CD127^{high} (активированные Т-хелперы-Tact) и CD3+CD4+CD161+ (Th17-лимфоциты). Для выделения клеточных популяций будут использоваться моноклональные антитела: CD19-PE, CD4-PE, CD8-PE, CD (16/56)-PE, CD127-PE, CD161-PE, CD3- ECD, CD4-PB, CD25 PE-Cy7. Для детекции NF-κB будет применяться Anti-Hu NF-κB (p50) Alexa Fluor 488, а для окраски ядра – флуоресцентный краситель 7-AAD.

Иммуногистохимическое исследование будет проведено с помощью иммуностейнера автоматического.

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

Период проведения клинической апробации от момента включения первого пациента до окончания наблюдения за последним включенным пациентом: 2022-2025 гг.

Продолжительность клинической апробации: 3,5 года.

Распределение пациентов по годам: 2022 г. – 5 пациентов, 2023 г. – 10 пациентов, 2024 г. – 10 пациентов.

Продолжительность наблюдения одного пациента: 6 месяцев и 5 дней.

1 Этап. Стационарное обследование пациентов в соответствии с методом клинической апробации.

2 Этап. Наблюдение пациента в амбулаторных условиях.

Первый амбулаторный прием через 3 месяца после госпитализации.

Второй амбулаторный прием через 6 месяцев после госпитализации.

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

| Регистрируемые данные | 1 этап | 2 этап (3 мес) | 3 этап (6 мес) |
|--|---------------|-----------------------|-----------------------|
| Анализ анамнеза заболевания. | X | | |
| Оценка критериев включения/исключения. | X | X | X |
| Физикальное обследование. | X | X | X |
| Лабораторные исследования (биохимический анализ крови, клинический анализ крови, анализ мочи, кала). | X | | |
| Индекс тяжести ихтиоза IASI. | X | X | X |
| Диагностика кератита и эктропиона. | X | | |
| УЗИ органов брюшной полости, почек и мочевого пузыря, ЭХО-КГ. | X | | |
| Анализ результатов молекулярно-генетического исследования методом секвенирования нового поколения. | | X | |
| Определение иммунологических нарушений Т-клеточного звена. | | X | |
| Определение уровня экспрессии провоспалительных цитокинов и наличия иммунных клеток в коже. | | X | |
| Наличие осложнений основного заболевания. | X | | X |
| Степень инвалидизации. | X | | X |
| Уровень инвалидизации. | X | | X |

13. Критерии включения пациентов.

| Параметр | Критерий включения пациентов |
|---|---|
| Наименование заболевания (состояния) пациента в соответствии с МКБ-10 | Врожденный ихтиоз (Q80). |
| Код заболевания (состояния) пациента в соответствии с МКБ-10 | Q80.0 – Ихтиоз простой; Q80.1 – Ихтиоз, связанный с X-хромосомой (X-сцепленный ихтиоз); Q80.2 – Пластинчатый (ламеллярный) ихтиоз; Q80.3 – Врожденная буллезная ихтиозиформная эритродермия; Q80.4 – Ихтиоз плода (плод Арлекин); Q80.8 – Другой врожденный ихтиоз; Q80.9 – Врожденный ихтиоз неуточненный. |
| Пол пациентов | Мужской, женский. |
| Возраст пациентов | от 0 до 17 лет. |
| Другие дополнительные сведения | Возможность выполнять все предусмотренные дизайном процедуры. |
| | Наличие подписанного информированного добровольного согласия на участие в КА. |

14. Критерии невключения пациентов.

| № | Критерий невключения пациентов |
|---|--|
| 1 | Любые сопутствующие заболевания или отличные от нормы лабораторные показатели, которые могут повлиять на участие пациента в клинической апробации согласно клинической оценке врача. |
| 2 | Женщины в период беременности, родов, в период грудного вскармливания. |
| 3 | Военнослужащие, за исключением военнослужащих, проходящих военную службу по контракту. |
| 4 | Лица, страдающие психическими расстройствами. |
| 5 | Лица, задержанные, заключенные под стражу, отбывающие наказание в виде ограничения свободы, ареста. |

15. Критерии исключения пациентов из клинической апробации (основания прекращения применения апробируемого метода).

| № | Критерий исключения пациентов | Периодичность оценки критерия |
|---|---|-------------------------------|
| 1 | Социальные или иные причины, которые могут препятствовать проведению регулярных медицинских обследований. | 1 раз в 3 месяца |
| 2 | Отзыв согласия на участие в КА. | 1 раз в 3 месяца |

VI. Медицинская помощь в рамках клинической апробации

16. Вид, форма и условия оказания медицинской помощи.

Вид медицинской помощи - специализированная медицинская помощь в рамках клинической апробации.

Форма оказания медицинской помощи - плановая медицинская помощь.

Условия оказания медицинской помощи – стационарно и амбулаторно.

17. Перечень медицинских услуг (медицинских вмешательств).

| № | Код МУ | Наименование медицинской услуги | Кратность | Цель назначения |
|----|-------------|---|-----------|--|
| 1. | В01.031.006 | Первичный осмотр в круглосуточном стационаре (осмотр в приемном отделении, сбор анамнеза, оформление истории болезни, составление плана первичных назначений) | 1 | Оценка состояния пациента и определение возможности госпитализации |
| 2. | В01.031.008 | Осмотр врачом-специалистом круглосуточного стационара в отделении (врачебный осмотр, составление плана обследования и лечения, оформление выписного эпикриза) | 1 | Установление клинического диагноза «врожденный ихтиоз», составление плана обследования и лечения, анализ полученных данных лабораторных и инструментальных методов обследования, наблюдение пациента в условиях стационара |
| 3. | В05.070.066 | Ведение пациента в круглосуточном стационаре, составление выписного эпикриза по результатам обследования | 1 | Проведение обследования, оформление медицинской документации |
| 4. | В01.008.002 | Прием (осмотр, консультация) врача-дерматовенеролога, повторный | 2 | Составление плана обследования и лечения, анализ полученных данных лабораторных и инструментальных методов обследования, ведение и наблюдение пациента в условиях стационара, коррекция лечения |
| 5. | В01.029.001 | Прием (осмотр, консультация) врача-офтальмолога, первичный | 1 | Исключение кератита, профилактика эктропиона |
| 6. | В01.006.001 | Прием (осмотр, консультация) | 1 | Анализ результатов |

| № | Код МУ | Наименование медицинской услуги | Кратность | Цель назначения |
|-----|-----------------|---|-----------|---|
| | | врача-генетика первичный | | секвенирования экзома |
| 7. | A04.16.001 | Ультразвуковое исследование органов брюшной полости (комплексное) | 1 | Исключение патологии органов брюшной полости |
| 8. | A04.12.001.009 | Ультразвуковое исследование почек и мочевого пузыря с дуплексным сканированием сосудов | 1 | Исключение патологии почек и мочевого пузыря |
| 9. | A04.10.002.006 | Эхокардиография с доплеровским исследованием | 1 | Исключение патологии сердца |
| 10. | B03.019.030.002 | Секвенирование клинического экзома с последующей валидацией выявленных генетических вариантов, являющихся наиболее вероятной причиной заболевания | 1 | Верификация формы заболевания |
| 11. | B03.016.006 | Общий клинический анализ мочи | 1 | Исключение инфекции мочевых путей |
| 12. | B03.016.002.001 | Общий (клинический) анализ крови с оценкой морфологии клеток крови врачом-цитологом | 1 | Исключение анемии и воспалительных изменений крови |
| 13. | A09.05.017 | Исследование уровня мочевины в крови | 1 | Оценка функции почек |
| 14. | A09.05.020 | Исследование уровня креатинина в крови | 1 | Оценка функции почек |
| 15. | A09.05.042 | Определение активности аланинаминотрансферазы в крови | 1 | Исключение патологии гепатобилиарной системы |
| 16. | A09.05.041 | Определение активности аспартатаминотрансферазы в крови | 1 | Исключение патологии гепатобилиарной системы |
| 17. | A09.05.021 | Исследование уровня общего билирубина в крови | 1 | Исключение патологии гепатобилиарной системы |
| 18. | A09.05.022.001 | Исследование уровня билирубина связанного (конъюгированного) в крови | 1 | Исключение патологии гепатобилиарной системы |
| 19. | A09.05.011 | Исследование уровня альбумина в крови | 1 | Оценка степени потери белка через кожный покров |
| 20. | A09.05.010 | Исследование уровня общего белка в крови | 1 | Оценка степени потери белка через кожный покров |
| 21. | A09.05.235 | Исследование уровня 25-ОН витамина Д в крови | 1 | Исключение дефицита в связи с наличие распространенного кожного |

| № | Код МУ | Наименование медицинской услуги | Кратность | Цель назначения |
|-----|--------------------|--|-----------|--|
| | | | | патологического процесса |
| 22. | A09.05.023 | Исследование уровня глюкозы в крови | 1 | Исключение нарушения толерантности к глюкозе |
| 23. | A09.05.009 | Исследование уровня С-реактивного белка в сыворотке крови | 1 | Исключение островоспалительных процессов |
| 24. | A11.12.009 | Взятие крови из периферической вены | 1 | Для проведения диагностических исследований |
| 25. | A08.30.013 | Патологоанатомическое исследование биопсийного (операционного) материала с применением иммуногистохимических методов (одна реакция 1-го тканевого фрагмента) | 1 | Для определения уровня экспрессии провоспалительных факторов в коже |
| 26. | A12.30.012.005.001 | Иммунофенотипирование периферической крови для выявления субпопуляционного состава лимфоцитов (основные и малые) | 1 | Выявление субпопуляционного состава лимфоцитов, оценка иммунного статуса |
| 27. | 17.003.55 | Исследование экспрессии РНК в кожном биоптате методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (1 анализ) | 1 | Для определения уровня экспрессии провоспалительных цитокинов и наличия иммунных клеток в коже |
| 28. | B05.070.037 | Наблюдение пациента в условиях общей палаты круглосуточного стационара (1 койко/место в сутки) | 5 | Динамическое наблюдение за пациентами в условиях стационара |
| 29. | B05.070.057 | Пребывание сопровождающего лица пациента (1 сутки) | 5 | На детей до 3 лет |
| 30. | B05.070.049 | Пребывание в палате IV категории (1 койко/место в сутки) | 5 | Динамическое наблюдение за пациентами в условиях стационара |
| 31. | A11.01.020 | Взятие биоптата | 1 | Для проведения диагностических исследований |

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

Не применимо

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

| № | Наименование в соответствии с Номенклатурной классификацией медицинских изделий по видам | Количество использованных медицинских изделий | Количество пациентов, получивших назначение |
|----|--|---|---|
| 1 | Бинт марлевый (1 шт) | 1 | 1 |
| 2 | Перчатки хирургические однократного применения (1 пара) | 11 | 1 |
| 3 | Инструмент для биопсии кожи – 4 мм (1 шт) | 1 | 1 |
| 4 | Вакуумные пробирки для получения образцов венозной крови (1 шт) | 4 | 1 |
| 5 | Вакуумные пробирки для сбора мочи (1 шт) | 1 | 1 |
| 6 | Контейнер для сбора мочи (1 шт) | 1 | 1 |
| 7 | Одноразовый держатель для пробирок для забора венозной крови (1 шт) | 4 | 1 |
| 8 | Двусторонняя игла для трехкомпонентной системы для забора венозной крови (1 шт) | 4 | 1 |
| 9 | Игла-бабочка (1 шт) | 4 | 1 |
| 10 | Салфетка спиртовая одноразовая для обработки кожи в месте забора венозной крови (1 шт) | 4 | 1 |

VII. Оценка эффективности метода

19. Перечень показателей эффективности.

| Наименование первичного критерия эффективности |
|--|
| Повышение точности верификации формы врожденного ихтиоза в среднем на 55% в сравнении со стандартной клинической оценкой кожного патологического процесса. |

20. Перечень критериев дополнительной ценности.

| № | Наименование вторичного критерия эффективности |
|----|--|
| 1. | Снижение частоты развития осложнений основного заболевания в течение 6 месяцев после первичной госпитализации. |
| 2. | Снижение степени инвалидизации в течение 6 месяцев после первичной госпитализации. |
| 3. | Снижение уровня инвалидизации в течение 6 месяцев после первичной госпитализации. |
| 4. | Снижение тяжести заболевания (показатель индекса IASI) в течение 6 месяцев после первичной госпитализации. |

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

Чтобы оценить тяжесть ихтиоза, мы отдельно анализируем характерные признаки ихтиоза, эритемы и шелушения как индивидуальные показатели тяжести, основанные на интенсивности. Как и в стандартизированных баллах для атопического дерматита и псориаза (индекс площади и тяжести экземы [EASI] и PASI, соответственно), эти баллы были присвоены на 4 участках: голова и шея; туловище, верхние и нижние конечности, причем каждому из этих участков был присвоен множитель, основанный на площади

поверхности тела как у подростков, так и у взрослых, равный 0,1, 0,2, 0,3 и 0,4 соответственно. Наконец, степень в пределах каждой области тела оценивалась как 0-6, и баллы умножались. Таким образом, результирующий общий показатель IASI может иметь максимум 48, а каждый отдельный подбалл для эритемы (IASI-E) и шелушения (IASI-S) может составлять максимум 24.

IASI (индекс площади и тяжести ихтиоза) является модификацией глобального индекса CISI, оценка которого происходит с помощью методов, используемых для оценки в EASI и PASI для экземы и псориаза, соответственно. IASI занимает всего несколько минут для оценки, и рассчитывается автоматически в электронных таблицах.

Шаги для IASI следующие:

а) Определите среднюю ИНТЕНСИВНОСТЬ эритемы или шелушения в области тела (A1 = голова и шея; A2 = верхние конечности; A3 = туловище; A4 = нижние конечности), либо путем выбора репрезентативной области ихтиоза, либо путем усреднения интенсивности в разных областях тела. Интенсивность покраснения/эритемы и шелушения при ихтиозе оценивается как отсутствие (0), легкая (1), умеренная (2), тяжелая (3) или очень тяжелая (4).

б) Определите, какой процент ПЛОЩАДИ поверхности тела поражен ихтиозом. Каждая область отражается как ноль (0), 1-9% (1), 13-29% (2), 30-49% (3), 50-69% (4), 70-89% (5) или 90-100% (6). Многие пациенты с ихтиозом имеют генерализованное поражение со 100% пораженной площадью (например, 6 баллов), но возможно, что некоторые области могут быть свободны от высыпаний (например, ладони или подошвы). Средняя оценка интенсивности (A1-A4 для каждого участка) умножается на число, соответствующее проценту в пределах очагов с ихтиозом (B1-4).

с) Определите ОБЩУЮ ПРОТЯЖЕННОСТЬ, используя множитель, учитывающий долю общей площади поверхности тела, представленную каждой областью тела (C1 = 0,1 для головы и шеи; C2 = 0,2 для верхних конечностей; C3 = 0,3 для туловища; C4 = 0,4 для нижних конечностей).

Таким образом, ОКОНЧАТЕЛЬНЫЙ БАЛЛ по каждому показателю интенсивности (IASI-E или IASI-S) представляет собой комбинацию $(A1 \times B1 \times C1) + (A2 \times B2 \times C2) + (A3 \times B3 \times C3) + (A4 \times B4 \times C4)$.

Составной балл IASI (максимальный потенциал 48) = IASI-E (максимальный потенциал = 24) + IASI-S (максимальный потенциал = 24).

| № | Показатель эффективности | Методы оценки | Сроки оценки |
|----|---|--|-------------------|
| 1. | Повышение точности верификации формы врожденного ихтиоза. | В сравнении со стандартными сроками верификации. | Через 3 месяца. |
| 2. | Снижение тяжести течения основного заболевания. | Индекс тяжести IASI. | 1 раз в 3 месяца. |
| 3. | Снижение частоты развития | Статистический анализ по | Через 6 месяцев. |

| | | | |
|----|---------------------------------|---|------------------|
| | осложнений заболевания. | основного данном регистрационных карт. | |
| 4. | Снижение степени инвалидизации. | Статистический анализ по данном регистрационных карт. | Через 6 месяцев. |
| 5. | Снижение уровня инвалидизации. | Статистический анализ по данном регистрационных карт. | Через 6 месяцев. |

VIII. Статистика

22. Описание статистических методов, которые предполагается использовать на промежуточных этапах анализа результатов клинической апробации и при ее окончании.
Уровень значимости применяемых статистических методов.

Все статистические тесты проведены в соответствии с типом планируемого клинического исследования с использованием калькулятора мощности для испытания на превосходство бинарных исходов [Sealed Envelope Ltd. 2012. Power calculator for binary outcome superiority trial. [Online] Available from: <https://www.sealedenvelope.com/power/binary-superiority/> [Accessed Tue Feb 16 2021].

23. Планируемое число пациентов, которым будет оказана медицинская помощь в рамках клинической апробации с целью доказательной эффективности апробируемого метода.

Обоснование числа пациентов, включая расчеты для обоснования.

Для расчёта использовалась формула:

$$n = f(\alpha/2, \beta) \times [p1 \times (100 - p1) + p2 \times (100 - p2)] / (p2 - p1)^2$$

Согласно данному методу статистики:

Уровень значимости (альфа) – 5%.

Мощность (1-бета) – 95 %.

Процент «успеха» в контрольной группе – 45 %.

Процент «успеха» в исследуемой группе – 90 %.

Размер выборки контрольной группы составляет не менее 22 человек.

Размер выборки исследуемой группы составляет не менее 22 человек.

Исходя из этого, в апробацию планируется набор 44 пациентов

На случай исключения пациентов из протокола коррекция 10%:

Размер выборки контрольной группы - 25 человек.

Размер выборки исследуемой группы - 25 человек.

Исходя из этого, в апробацию планируется набор 25 пациентов.

IX. Объем финансовых затрат

24. Описание применяемого метода расчета объема финансовых затрат на оказание медицинской помощи в рамках КА

Финансовые затраты на оказание медицинской помощи одному пациенту определялись по формуле: $M_{п} = M_{св} + M_{общ}$, где:

$M_{п}$ - финансовые затраты на оказание медицинской помощи одному пациенту по протоколу

$M_{св}$ - финансовые затраты, непосредственно связанные с оказанием медицинской помощи одному пациенту по протоколу КА

$M_{общ}$ - финансовые затраты на общехозяйственные нужды, непосредственно связанным с оказанием мед. помощи одному пациенту в рамках КА и затратам на содержание имущества.

Финансовые затраты, непосредственно связанные с оказанием медицинской помощи одному пациенту по протоколу КА ($M_{св}$) включают в себя:

- затраты на оплату труда и начисления на выплаты по оплате труда основного персонала, принимающего непосредственное участие в оказании медицинской помощи одному пациенту по протоколу КА;
- затраты на приобретение материальных запасов, потребляемых в процессе оказания медицинской помощи одному пациенту по протоколу КА;
- иные затраты, непосредственно связанные с оказанием медицинской помощи по протоколу КА одному пациенту.

Финансовые затраты на общехозяйственные нужды, непосредственно связанным с оказанием мед. помощи одному пациенту в рамках КА и затратам на содержание имущества ($M_{общ}$) включают в себя:

- затраты на коммунальные услуги;
- затраты на содержание объектов недвижимого имущества и затраты на содержание объектов особо ценного движимого имущества;
- затраты на приобретение услуг связи и транспортных услуг;
- затраты на оплату труда и начисления на выплаты по оплате труда работников учреждения, которые не принимают непосредственного участия в оказании медицинской помощи по протоколу;
- прочие затраты на общехозяйственные нужды.

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

перечень медицинских услуг (наименования и кратность применения);

| № | Наименование медицинской услуги (МУ) | Стоимость МУ | Кратность применения | Частота предоставления | Затраты на МУ, руб. | Источник сведений о стоимости |
|---|---|--------------|----------------------|------------------------|---------------------|---|
| 1 | Первичный осмотр в круглосуточном стационаре (осмотр в приемном отделении, сбор анамнеза, оформление истории болезни, составление плана первичных назначений) | 1500 | 1 | 1 | 1500 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 2 | Осмотр врачом-специалистом круглосуточного стационара в отделении (врачебный осмотр, составление плана обследования и лечения, оформление выписного эпикриза) | 2500 | 1 | 1 | 2500 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 3 | Ведение пациента в круглосуточном стационаре, составление выписного эпикриза по результатам обследования | 7500 | 1 | 1 | 7500 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 4 | Прием (осмотр, консультация) врача-дерматовенеролога, повторный | 2200 | 2 | 1 | 4400 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 5 | Прием (осмотр, консультация) врача-офтальмолога, первичный | 2900 | 1 | 1 | 2900 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 6 | Прием (осмотр, консультация) врача-генетика первичный | 2900 | 1 | 1 | 2900 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 7 | Ультразвуковое исследование органов брюшной полости (комплексное) | 2500 | 1 | 1 | 2500 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ |

| № | Наименование медицинской услуги (МУ) | Стоимость МУ | Кратность применения | Частота предоставления | Затраты на МУ, руб. | Источник сведений о стоимости |
|----|---|--------------|----------------------|------------------------|---------------------|---|
| | | | | | | НМИЦ ЗД |
| 8 | Ультразвуковое исследование почек и мочевого пузыря с дуплексным сканированием сосудов | 2000 | 1 | 1 | 2000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 9 | Эхокардиография с доплеровским исследованием | 3000 | 1 | 1 | 3000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 10 | Секвенирование клинического экзозема с последующей валидацией выявленных генетических вариантов, являющихся наиболее вероятной причиной заболевания | 50000 | 1 | 1 | 50000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 11 | Общий клинический анализ мочи | 850 | 1 | 1 | 850 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 12 | Общий (клинический) анализ крови с оценкой морфологии клеток крови врачом-цитологом | 950 | 1 | 1 | 950 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 13 | Исследование уровня мочевины в крови | 270 | 1 | 1 | 270 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 14 | Исследование уровня креатинина в крови | 270 | 1 | 1 | 270 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 15 | Определение активности аланинаминотрансферазы в крови | 260 | 1 | 1 | 260 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 16 | Определение активности | 260 | 1 | 1 | 260 | Прайс-лист |

| № | Наименование медицинской услуги (МУ) | Стоимость МУ | Кратность применения | Частота предоставления | Затраты на МУ, руб. | Источник сведений о стоимости |
|----|--|--------------|----------------------|------------------------|---------------------|---|
| | аспартатаминотрансферазы в крови | | | | | платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 17 | Исследование уровня общего билирубина в крови | 270 | 1 | 1 | 270 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 18 | Исследование уровня билирубина связанного (конъюгированного) в крови | 270 | 1 | 1 | 270 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 19 | Исследование уровня альбумина в крови | 260 | 1 | 1 | 260 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 20 | Исследование уровня общего белка в крови | 280 | 1 | 1 | 280 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 21 | Исследование уровня 25-ОН витамина Д в крови | 3000 | 1 | 1 | 3000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 22 | Исследование уровня глюкозы в крови | 250 | 1 | 1 | 250 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 23 | Исследование уровня С-реактивного белка в сыворотке крови | 600 | 1 | 1 | 600 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 24 | Взятие крови из периферической вены | 400 | 1 | 1 | 400 | Прайс-лист платных медицинских услуг |

| № | Наименование медицинской услуги (МУ) | Стоимость МУ | Кратность применения | Частота предоставления | Затраты на МУ, руб. | Источник сведений о стоимости |
|----|---|--------------|----------------------|------------------------|---------------------|---|
| | | | | | | ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 25 | Патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала с применением иммуногистохимических методов (одна реакция 1-го тканевого фрагмента) | 3000 | 1 | 1 | 3000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 26 | Иммунофенотипирование периферической крови для выявления субпопуляционного состава лимфоцитов (основные и малые) | 5400 | 1 | 1 | 5400 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 27 | Исследование экспрессии РНК в кожном биоптате методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (1 анализ) | 5000 | 1 | 1 | 5000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 28 | Наблюдение пациента в условиях общей палаты круглосуточного стационара (1 койко/место в сутки) | 1200 | 5 | 1 | 6000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 29 | Пребывание сопровождающего лица пациента (1 сутки) | 1200 | 5 | 0,7 | 6000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 30 | Пребывание в палате IV категории (1 койко/место в сутки) | 1400 | 5 | 1 | 7000 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |
| 31 | Взятие биоптата | 3500 | 1 | 1 | 3500 | Прайс-лист платных медицинских услуг ФГАУ НМИЦ ЗД |

Итого

123 290,00

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

Не применимо

перечень используемых медицинских изделий, в том числе имплантируемых в организм человека, зарегистрированных в Российской Федерации в установленном порядке;

Учтено в стоимости услуг.

Расчет финансовых затрат на оказание медицинской помощи по протоколу клинической апробации осуществляется в соответствии с Методическими рекомендациям по расчету финансовых затрат на оказание медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации, утвержденными приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 13 августа 2015 г. N 556, с учетом прогнозного уровня инфляции на 2023-2024 гг.

**Расчет финансовых затрат на оказание медицинской помощи
одному пациенту по протоколу клинической апробации**

«Метод верификации формы врожденного ихтиоза (Q80) у пациентов от 0 до 17 лет обоих полов с применением массового параллельного секвенирования и определения показателей клеточного иммунитета в сравнении с методом стандартной дерматологической оценки кожного патологического процесса».

| Наименование затрат | 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 | 66,9 |
| 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, потребляемых (используемых) в рамках оказания медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации | 33,0 |
| 3. Иные затраты, непосредственно связанные с реализацией протокола клинической апробации | 0,00 |
| 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) | 29,4 |
| 4.1. из них расходы на оплату труда с начислениями на выплаты по оплате труда работников, которые не принимают непосредственного участия в реализации протокола клинической апробации | 20,1 |
| Итого: | 129,3 |

| Год реализации Протокола КА | Количество пациентов | Сумма (руб.) |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|
| 2022 г. | 5 | 646 500,00 |
| 2023 г. | 10 | 1 293 000,00 |
| 2024 г. | 10 | 1 293 000,00 |
| Итого: | 25 | 3 232 500,00 |

Директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»

Минздрава России, д.м.н., профессор

 А.П. Фисенко

24 февраля 2022 г.



Индивидуальная Регистрационная Карта

**«Метод верификации формы врожденного ихтиоза (Q80) у пациентов от 0 до 17 лет
обоих полов с применением массового параллельного секвенирования и определения
показателей клеточного иммунитета в сравнении с методом стандартной
дерматологической оценки кожного патологического процесса».**

Номер пациента:

ФИО пациента: _____.

Дата рождения: ____-__-____.

Диагноз: _____.

| Регистрируемые данные | 1 этап | 2 этап (3 мес) | 3 этап (6 мес) |
|---|--------|----------------|----------------|
| Анализ анамнеза заболевания | X | | |
| Оценка критериев включения/исключения | X | X | X |
| Физикальное обследование | X | X | X |
| Лабораторные исследования (биохимический анализ крови, клинический анализ крови, анализ мочи, кала) | X | | |
| Индекс тяжести ихтиоза IASI | X | X | X |
| Диагностика кератита и эктропиона | X | | |
| УЗИ органов брюшной полости, почек и мочевого пузыря, ЭХО-КГ | X | | |
| Анализ результатов молекулярно-генетического исследования методом секвенирования нового поколения | | X | |
| Определение иммунологических нарушений Т-клеточного звена | | X | |
| Определение уровня экспрессии провоспалительных цитокинов и наличия иммунных клеток в коже | | X | |
| Наличие осложнений основного заболевания | X | | X |
| Степень инвалидизации | X | | X |
| Уровень инвалидизации | X | | X |

Общие сведения

| Параметры | |
|-----------|--|
| 1 | Общие сведения |
| | ФИО |
| | Дата рождения |
| | Пол |
| | Диагноз |
| | Информированное согласие: Подписано/не подписано |
| | Дата подписания ИС |

| | |
|----------|---|
| 2 | Диагноз и анамнез |
| | Клинический диагноз |
| | Основные клинические проявления болезни |
| | Дополнительная клиническая информация |
| | Сопутствующие заболевания и маркеры |
| | |
| | |
| | Предшествующая терапия |
| | |
| | |
| | Другие методы терапии |
| | |
| | |
| | |

1 ВИЗИТ

Критерии включения:

- | | | |
|--------------------------|--------------------------|--|
| Да | Нет | |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 1. Являются пациентами мужского или женского пола в возрасте от 0 до 17 лет |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 2. Клинически у пациента установлен диагноз врождённый ихтиоз |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 3. Законные представители пациента предоставили письменное информированное согласие на проведение апробируемого метода |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 4. Возможность выполнять все предусмотренные в протоколе клинической апробации процедуры |

Критерии невключения:

- | | | |
|--------------------------|--------------------------|--|
| Да | Нет | |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 1. Любые сопутствующие заболевания или отличные от нормы лабораторные показатели, которые могут повлиять на участие пациента в клинической апробации согласно клинической оценке врача |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 2. Женщины в период беременности, родов, в период грудного вскармливания |

3. Военнослужащие, за исключением военнослужащих, проходящих военную службу по контракту
4. Лица, страдающие психическими расстройствами
5. Лица, задержанные, заключенные под стражу, отбывающие наказание в виде ограничения свободы, ареста

Критерии исключения пациента из клинической апробации:

Да Нет

1. Социальные или иные причины, которые могут препятствовать проведению регулярных медицинских обследований
2. Отзыв согласия на участие в КА

| Наименование прогнозируемого осложнения | Возможная степень тяжести осложнения | Описание осложнения | Частота встречаемости осложнения | Сроки оценки осложнения | Метод контроля осложнения | Наличие осложнения |
|---|--------------------------------------|--|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------|
| Вторичное инфицирование кожи в области забора биопсии | Лёгкая степень тяжести | Покраснение кожи с формированием гнойного экссудата | 1 % | Первые 2 суток | Визуальный осмотр | |
| Кровотечение в области забора биопсии | Легкая степень тяжести | Незначительное кровоизлияние из раны насыщенно-красной крови | 1% | Первые сутки | Визуальный осмотр | |

| № | Наименование вторичного критерия эффективности | Оценка |
|----|--|--------|
| 1. | Наличие осложнений основного заболевания | |
| 2. | Степень инвалидизации | |
| 3. | Уровень инвалидизации | |

2 ВИЗИТ

Критерии исключения пациента из клинической апробации:

Да Нет

1. Социальные или иные причины, которые могут препятствовать проведению регулярных медицинских обследований
2. Отзыв согласия на участие в КА

| Наименование первичного критерия эффективности | Оценка |
|--|--------|
| | |

| | |
|---------------------------------------|--|
| Верификация формы врожденного ихтиоза | |
|---------------------------------------|--|

3 ВИЗИТ

Критерии исключения пациента из клинической апробации:

Да Нет

1. Социальные или иные причины, которые могут препятствовать проведению регулярных медицинских обследований
2. Отзыв согласия на участие в КА

| № | Наименование вторичного критерия эффективности | Оценка |
|----|--|--------|
| 1. | Наличие осложнений основного заболевания | |
| 2. | Степень инвалидизации | |
| 3. | Уровень инвалидизации | |

| Параметры | 1 визит | 2 визит | 3 визит |
|---|---------|---------|---------|
| <u>Антропометрические показатели</u> | | | |
| Вес, кг | | | |
| Рост, см | | | |
| АД ,мм.рт.ст. | | | |
| ЧСС /мин | | | |
| ЧДД уд./мин | | | |
| Температура, ° С | | | |
| <u>Общий анализ крови</u> | | | |
| НЬ, г/л | | | |
| Эритроциты, тыс. /л. | | | |
| Тромбоциты, тыс. /л. | | | |
| Лейкоциты, тыс. /л. | | | |
| Нейтрофилы, абс. | | | |
| Лимфоциты, абс. | | | |
| Моноциты, абс. | | | |
| Базофилы, абс. | | | |
| Эозинофилы, абс. | | | |

| | | | |
|--|--|--|--|
| СОЭ, мм/ч | | | |
| ЦП | | | |
| <u>Биохимический анализ крови</u> | | | |
| Общий белок, г/л | | | |
| Альбумин, г/л | | | |
| Глюкоза, ммоль/л | | | |
| Мочевина, ммоль/л | | | |
| Креатинин, мкмоль/л | | | |
| Билирубин общий, мкмоль/л | | | |
| Билирубин связанный, мкмоль/л | | | |
| Исследование уровня 25-ОН витамина Д в крови, нг/мл | | | |
| СРБ, г/л | | | |
| IgE, МЕ/мл | | | |
| АЛТ, Ед/л | | | |
| АСТ, Ед/л | | | |
| <u>ОАМ</u> | | | |
| РН | | | |
| Белок | | | |
| Эритроциты | | | |
| Лейкоциты | | | |
| Глюкоза | | | |
| <u>Другое</u> | | | |
| Ультразвуковое исследование органов брюшной полости (комплексное) | | | |
| Ультразвуковое исследование почек и мочевого пузыря с дуплексным сканированием сосудов | | | |
| Эхокардиография с доплеровским исследованием | | | |
| Патолого-анатомическое исследование биопсийного материала с применением | | | |

| | | | |
|---|--|--|--|
| иммуногистохимических методов (одна реакция 1-го тканевого фрагмента) | | | |
| Имунофенотипирование периферической крови | | | |
| Анализ РНК кожного биоптата методом ПФР с обратной транскрипцией | | | |
| Секвенирование клинического экзоза | | | |
| Индекс IASI (ichthyosis area severity index) | | | |