

Оптимизация предоперационной подготовки женщин с цервикальными неоплазиями высокой степени

В.Г. Волков¹, Т.В. Захарова²

¹ФГБОУ ВО ТулГУ, Тула, Россия

²ГУЗ «ГКБ № 2 г. Тулы им. Е.Г. Лазарева», Тула, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение: персистирующая инфекция онкогенными типами вируса папилломы человека является основной причиной рака шейки матки. Установлена корреляция между бактериальным вагинозом и персистенцией вируса в плоском эпителии шейки матки.

Цель исследования: изучение эффективности препарата Гайномакс в лечении бактериального вагиноза и/или в сочетании с генитальным кандидозом в период подготовки к хирургическому вмешательству у женщин с цервикальными неоплазиями высокой степени.

Материал и методы: проведено комплексное клинико-микробиологическое обследование и лечение 25 женщин в возрасте от 24 до 58 лет (средний возраст — 36,9±3,6 года). У всех выявлены цервикальные неоплазии высокой степени. Гайномакс назначали в период подготовки к хирургическому вмешательству (расширенной петлевой биопсии шейки матки) по 1 вагинальному суппозиторию 2 р./сут (утром и на ночь) в течение 3 дней.

Результаты исследования: при первичном обращении жалобы самостоятельно предъявляли 12 (48%) женщин, у 5 (20%) наличие жалоб удавалось выяснить только при активном опросе, 8 (32%) не испытывали дискомфорта со стороны урогенитального тракта. У всех пациенток при тестировании обнаруживался вирус папилломы человека высокого онкогенного риска (16, 18 и 33 типы) и бактериальный вагиноз, который у 9 ассоциировался с генитальным кандидозом. Применение Гайномакса привело к клинико-лабораторному улучшению у всех пациенток: устранению зуда, значительному уменьшению влагалищных выделений. Переносимость препарата у всех пациенток была определена как хорошая. После проведения расширенной петлевой биопсии шейки матки наблюдалась хорошая эпителизация раневой поверхности и отсутствие послеоперационных осложнений.

Заключение: лечение бактериального вагиноза препаратом Гайномакс в период подготовки к хирургическому вмешательству на шейке матки по поводу цервикальных неоплазий высокой степени дало выраженный клинический эффект, подтвержденный результатами микробиологических исследований.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки, биопсия шейки матки, вирус папилломы человека, бактериальный вагиноз, Гайномакс.

Для цитирования: Волков В.Г., Захарова Т.В. Оптимизация предоперационной подготовки женщин с цервикальными неоплазиями высокой степени. РМЖ. Мать и дитя. 2019;2(3):243–246.

Improving preoperative management of women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia

V.G. Volkov¹, T.V. Zakharova²

¹Tula State University, Tula, Russian Federation

²E.G. Lazarev Tula City Clinical Hospital No. 2, Tula, Russian Federation

ABSTRACT

Background: persistent infection with oncogenic subtypes of human papillomavirus is the major cause of cervical cancer. Correlation between bacterial vaginosis and virus persistence in squamous cervical epithelium was revealed.

Aim: to study the efficacy of preoperative Gaynomax for isolated bacterial vaginosis or in combination with genital candidiasis in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN).

Patients and Methods: complex clinical microbiological study and treatment were performed in 25 women aged 24–58 years (36.9±3.6 years). High-grade CIN was diagnosed in a total of 25 women. Gaynomax was prescribed preoperatively, i.e., before large loop excision biopsy (1 vaginal suppository twice a day for 3 days).

Results: at the first visit, 12 women (48%) have reported on the complaints, 5 women (20%) reported on the complaints after active questioning only, 8 women did not reported any urogenital complaints. High risk human papillomavirus (subtypes 16, 18, and 33) and bacterial vaginosis (associated with genital candidiasis in 9 women) were identified in a total of 25 women. Gaynomax resulted in clinical laboratory improvement (i.e., itching relief and significant decrease in vaginal discharge amount) in all women. Drug tolerability was good. Adequate wound healing and no postoperative complications were reported after large loop excision biopsy.

Conclusion: preoperative Gaynomax for bacterial vaginosis before cervical procedures for high-grade CIN provides great clinical effect confirmed by microbiological study results.

Keywords: cervical intraepithelial neoplasia, cervical biopsy, human papillomavirus, bacterial vaginosis, Gaynomax.

For citation: Volkov V.G., Zakharova T.V. Improving preoperative management of women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Russian Journal of Woman and Child Health. 2019;2(3):243–246.

АКТУАЛЬНОСТЬ

На сегодняшний день имеющиеся эпидемиологические данные позволяют утверждать, что дисплазия и рак шейки матки относятся к заболеваниям, обусловленным вирусной инфекцией. Главным звеном патогенеза считается инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ). ДНК ВПЧ высокой степени онкогенного риска (преимущественно 16 и 18 типов) обнаруживаются в 50–80% образцов умеренной и тяжелой дисплазии плоского эпителия шейки матки [1].

В настоящее время установлена корреляция между бактериальным вагинозом и персистенцией ВПЧ в цервикальном канале [2–4]. Многочисленными исследованиями доказано влияние повышения pH влагалища с возникновением бактериального вагиноза на увеличение риска развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии [5, 6].

Необходимым условием проведения оперативного вмешательства на половых органах является отсутствие воспалительного процесса. При большом арсенале предложенных в последние годы консервативных методов лечения добиться полной санации и быстрой эпителизации раневой поверхности удается не всегда. Широкий спектр бактерий, вирусов и грибов в микробиоценозе влагалища затрудняет поиск надежного средства, которое действовало бы на все возможные виды микроорганизмов [7, 8]. На отечественном рынке имеется весьма перспективный препарат **Гайномакс**, являющийся эффективным средством для лечения вагинального кандидоза, бактериального вагиноза и микст-инфекций. В составе комбинированного препарата Гайномакс содержатся тинидазол (150 мг) и тиоконазол (100 мг). Тинидазол является относительно новым производным нитроимидазола, с большей антимикробной активностью, чем метронидазол, активен в отношении трихомонадной и анаэробной инфекции. Более благоприятный фармакокинетический профиль и низкая частота побочных эффектов позволили использовать его как альтернативу метронидазолу для лечения бактериального вагиноза [9], особенно при рецидивирующих случаях заболевания [10].

Тиоконазол, являясь противомикотическим средством широкого спектра действия, активен также против *Trichomonas vaginalis*, некоторых анаэробов (бактероиды, коринебактерии), грамположительных бактерий (стафилококки, стрептококки) и *Gardnerella vaginalis*. Оба вещества обладают минимальной абсорбцией при влагалищном применении, не вызывая системных побочных эффектов, и назначаются курсами по 1 вагинальному суппозиторию в течение 7 дней или 2 р./сут в течение 3 дней. По данным открытого рандомизированного исследования, эффективность 3-дневной терапии Гайномаксом бактериального вагиноза с вагинальным кандидозом составляет 93% [11].

Целью исследования явилось изучение эффективности использования препарата Гайномакс в лечении бактериального вагиноза и/или в сочетании с генитальным кандидозом в период подготовки к хирургическому вмешательству (расширенной петлевой биопсии шейки матки) у женщин с цервикальными неоплазиями высокой степени (HSIL — High grade squamous intraepithelial lesion) в цервикальных мазках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено комплексное клиничко-микробиологическое обследование и лечение 25 женщин в возрасте от 24

до 58 лет (средний возраст — 36,9±3,6 года), обратившихся в кабинет патологии шейки матки женской консультации ГУЗ «ГКБ № 2 г. Тулы им. Е.Г. Лазарева» по направлению кабинета профилактики после прохождения диспансеризации и обнаружения в цитологических мазках HSIL: у 14 пациенток выявлена умеренная дисплазия плоского эпителия шейки матки, у 11 — тяжелая.

Комплексное обследование пациенток включало общеклинические методы, гинекологический осмотр, расширенную кольпоскопию, вульвоскопию, pH-метрию влагалищной среды, исследование микрофлоры влагалищного содержимого микроскопическим методом (окраска по Граму). Тестирование на ВПЧ высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типов) проводилось методом полимеразной цепной реакции с типоспецифическими праймерами.

Верификацию диагноза бактериального вагиноза проводили в соответствии с диагностическими критериями R. Amsel et al. (1984). Была использована оценка вагинального мазка, предложенная R.P. Nugent et al. (1991), в модификации А.С. Анкирской (2005) [12]. Диагноз кандидоза ставился на основании обнаружения элементов дрожжеподобных грибов при микроскопическом исследовании.

Препарат Гайномакс назначался интравагинально по 1 вагинальному суппозиторию 2 р./сут (утром и на ночь) в течение 3 дней.

Статистическая обработка данных проводилась методом вариативной статистики с использованием пакета прикладных компьютерных программ Statistica, версия 7.0 (StatSoft, Inc, США). По результатам обработки статистически значимыми принимались значения при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При первичном обращении разнообразные жалобы самостоятельно предъявляли 12 (48%) женщин, у 5 (20%) только при активном опросе удавалось выяснить наличие жалоб, 8 (32%) женщин не испытывали дискомфорта со стороны урогенитального тракта. Соответственно 13 (52%) пациенток не считали себя больными и расценивали свое состояние как вариант нормы. Данное наблюдение доказывает необходимость активного выяснения жалоб с целью повышения эффективности клинической диагностики бактериального вагиноза.

Среди обследованных 12 (48%) пациенток отмечали выделения из влагалища, из них 7 (28%) пациенток расценивали последние как вариант физиологической нормы. У 6 (24%) выделения отсутствовали; подавляющее большинство — 14 (56%) обращали внимание на неприятный запах выделений, появляющийся или усиливающийся во время менструации. Дискомфорт в области преддверия влагалища и во влагалище имел место у 8 (32%) обследованных, у 5 (20%) выявлены дизурические явления. Таким образом, в большинстве случаев женщин беспокоили выделения из влагалища с неприятным запахом, чувство дискомфорта в области преддверия влагалища и во влагалище.

У всех пациенток при тестировании обнаружился ВПЧ высокого канцерогенного риска: 16 тип имели 20 (80%) женщин, 33 тип — 3 (12%), у 2 (8%) была ассоциация 16 и 18 типов.

При анализе структуры микробиоценоза влагалища нормоценоз не был выявлен. У всех женщин определялось

повышение pH влагалищной среды свыше 4,5. Специфические серые кремообразные, прилипающие к стенкам влагалища выделения с неприятным запахом обнаружены у 19 (76%).

При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, «ключевые» клетки как патогномоничный признак бактериального вагиноза были выявлены у 23 (92%) пациенток. В случаях отсутствия «ключевых» клеток в мазках имели место характерные изменения качественного состава микрофлоры: отсутствие морфотипов лактобацилл, замена их на ассоциации *Gardnerella vaginalis* и строго анаэробных бактерий.

Обращает на себя внимание то, что у 9 пациенток (36%) бактериальный вагиноз протекал как смешанная инфекция и ассоциировался с генитальным кандидозом, что было установлено на основании клинико-лабораторных исследований. В подобных случаях, как известно, показано одновременное назначение антибактериальных и противогрибковых препаратов.

Таким образом, полимикробная структура возбудителей бактериального вагиноза, ассоциированного в ряде случаев не только с облигатно-анаэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами, но и с дрожжевыми грибами рода *Candida*, объясняет целесообразность его лечения комплексными препаратами местного действия, представителем которых является Гайномакс.

При лечении бактериального вагиноза препаратом Гайномакс (по 1 вагинальному суппозиторию 2 р./сут (утром и на ночь) в течение 3 дней) в период подготовки к хирургическому вмешательству (расширенной петлевой биопсии шейки матки) у женщин с HSIL в цервикальных мазках выявлен выраженный клинический эффект, подтвержденный результатами микробиологических исследований.

Результаты по окончании лечения данным препаратом на 7-е сут показали клинико-лабораторное улучшение у всех пациенток: стихание зуда, значительное уменьшение влагалищных выделений. Нормализовалась степень чистоты влагалищного содержимого. Количество лейкоцитов, обнаруживаемых в мазках, не превышало 10 в поле зрения. Лечение не повлияло на количество лактобактерий: оно оставалось сниженным у тех, у кого до лечения было низким, и не изменялось у тех, у кого ранее было в пределах нормальных значений. Общая обсемененность не превышала 10^5 КОЕ/мл. Кандидозная инфекция не определялась. У 2 (8%) пациенток через 7 дней после окончания лечения не наступило полной клинико-лабораторной излеченности, что потребовало дополнительного обследования. Нужно отметить, что эти две пациентки находились в климактерическом периоде и у них наблюдались атрофические изменения во влагалище, связанные со снижением уровня половых гормонов.

На основании анализа жалоб до и после лечения, отсутствия побочных реакций и осложнений переносимость препарата у всех пациенток была определена как хорошая.

У пациенток с предоперационной подготовкой препаратом Гайномакс после проведения расширенной петлевой биопсии шейки матки наблюдалась хорошая эпителизация раневой поверхности и отсутствие послеоперационных осложнений.

Одним из существенных достоинств препарата следует считать экспресс-лечение (курс лечения — 3 дня), что очень важно для сокращения сроков гистологической диагностики.

ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пациенток с умеренной и тяжелой дисплазией плоского эпителия шейки матки были выявлены ВПЧ высокого онкогенного риска и дисбиоз влагалища (бактериальный вагиноз и бактериальный вагиноз, ассоциированный с генитальным кандидозом), причем более чем у половины женщин заболевание протекало без симптомов, что отмечают и другие исследователи [13]. Это подтверждает точку зрения, что женщины с умеренной и тяжелой дисплазией плоского эпителия шейки матки имеют более разнообразную микробиоту, чем женщины без дисплазии [14, 15].

Комбинированный препарат, содержащий тинидазол и тиоконазол (Гайномакс), пополнил ряды топических препаратов с широким спектром действия: антибактериальным, антипротозойным, противогрибковым. Гайномакс показан для лечения вульвовагинального кандидоза, трихомонадного вульвовагинита, гарднереллезного вагинита, неспецифического вагинита и микст-инфекций. Оптимальное сочетание действующих веществ (тиоконазол 100 мг + тинидазол 150 мг) делает возможным излечение за 3 дня при двукратном применении.

Наши результаты клинико-лабораторных исследований позволяют сделать вывод о высокой клинической эффективности лечения Гайномаксом бактериального вагиноза и бактериального вагиноза в сочетании с генитальным кандидозом (92%) в период подготовки к хирургическому вмешательству (расширенной петлевой биопсии шейки матки) у женщин с HSIL в цервикальных мазках.

Короткий 3-дневный курс лечения вагинальными суппозиториями Гайномакс способствует повышению приверженности лечению пациенток и снижению риска развития антибиотикорезистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что лечение бактериального вагиноза препаратом Гайномакс в период подготовки к хирургическому вмешательству на шейке матки по поводу цервикальной неоплазии высокой степени в цитологических мазках дало выраженный клинический эффект, подтвержденный результатами микробиологических исследований. Санация влагалища необходима, поскольку снижает частоту осложнений воспалительного характера после деструкции.

Литература

1. Stumbar S.E., Stevens M., Feld Z. Cervical Cancer and Its Precursors: A Preventative Approach to Screening, Diagnosis, and Management. *Prim Care*. 2019;46(1):117–134. DOI: 10.1016/j.pop.2018.10.011.
2. Gillet E., Meys J.F., Verstraelen H. et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(10):e45201. DOI: 10.1371/journal.pone.0045201.
3. Brusselsaers N., Shrestha S., van de Wijgert J., Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2019;221(1):9–18.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.12.011.
4. Kyrgiou M., Mitra A., Moscicki A.B. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res*. 2017;179:168–182. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.07.004.
5. Zhang C., Liu Y., Gao W. et al. The direct and indirect association of cervical microbiota with the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer Med*. 2018;7(5):2172–2179. DOI: 10.1002/cam4.1471.
6. Берлев И.В., Бахидзе Е.В., Архангельская П.А. Значение оценки нарушений биоценоза влагалища в аспекте диагностики и лечения преинвазивных неоплазий шейки матки. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2015;64(5):16–21.
7. Ибрагимова Д.М., Доброхотова Ю.Э. Подходы к лечению бактериального вагиноза. *РМЖ. Мать и дитя*. 2018;1(2):174–177.
8. Захарова Т.В., Волков В.Г. Опыт лечения бактериального вагиноза, ассоциированного с кандидозным вульвовагинитом. *Акушерство и гинекология*. 2016;11:131–135.

9. Raja I.M., Basavareddy A., Mukherjee D., Meher B.R. Randomized, double-blind, comparative study of oral metronidazole and tinidazole in treatment of bacterial vaginosis. *Indian J Pharmacol.* 2016;48:654–658. DOI: 10.4103/0253-7613.194843.
10. Dickey L.J., Nailor M.D., Sobel J.D. Guidelines for the treatment of bacterial vaginosis: focus on tinidazole. *Ther Clin Risk Manag.* 2009;5(3):485–489. DOI: 10.2147/tcrm.s3777.
11. Cagayan S., Bravo S.L., Fallarme A. Randomized, single-blind, one-center trial comparing the efficacy, safety and acceptability of 3-day versus 7-day treatment of GYNOMAX® (150 mg tinidazole/100 mg tioconazole) vaginal ovules in vaginitis treatment. The 3rd Asia Pacific Congress on Controversies in Obstetrics Gynecology and Infertility. Beijing, China. November 12–15, 2009.
12. Кудрявцева Л.В., Гушин А.Е. Нормоценоз. Бактериальный вагиноз. Комплексная лабораторная диагностика бактериального вагиноза: современное состояние проблемы. *Лабораторная служба.* 2013;1:3–24.
13. Кононова И.Н., Обоскалова Т.А. Персонализированный подход к коррекции биоценоза влагалища. *Гинекология.* 2015;17(2):17–20.
14. Mitra A., MacIntyre D.A., Marchesi J.R. et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome.* 2016;4(1):58. DOI:10.1186/s40168-016-0203-0.
15. Wiik J., Sengpiel V., Kyrgiou M. et al. Cervical microbiota in women with cervical intra-epithelial neoplasia, prior to and after local excisional treatment, a Norwegian cohort study. *BMC Womens Health.* 2019;19(1):30. DOI:10.1186/s12905-019-0727-0.
4. Kyrgiou M., Mitra A., Moscicki A.B. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res.* 2017;179:168–182. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.07.004.
5. Zhang C., Liu Y., Gao W. et al. The direct and indirect association of cervical microbiota with the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer Med.* 2018;7(5):2172–2179. DOI: 10.1002/cam4.1471.
6. Berlev I.V., Bakhidze E.V., Arkhangel'skaya P.A. The value of assessing disorders of the vaginal biocenosis in the aspect of diagnosis and treatment of cervical pre-invasive neoplasia. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2015;64(5):16–21 (in Russ.).
7. Ibragimova D.M., Dobrokhotova Yu.E. Approaches to the treatment of bacterial vaginosis. *Russian Journal of Woman and Child Health.* 2018;1(2):174–177 (in Russ.).
8. Zakharova T.V., Volkov V.G. Experience in the treatment of bacterial vaginosis associated with vulvovaginal candidiasis. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2016;11:131–135 (in Russ.).
9. Raja I.M., Basavareddy A., Mukherjee D., Meher B.R. Randomized, double-blind, comparative study of oral metronidazole and tinidazole in treatment of bacterial vaginosis. *Indian J Pharmacol.* 2016;48:654–658. DOI: 10.4103/0253-7613.194843.
10. Dickey L.J., Nailor M.D., Sobel J.D. Guidelines for the treatment of bacterial vaginosis: focus on tinidazole. *Ther Clin Risk Manag.* 2009;5(3):485–489. DOI: 10.2147/tcrm.s3777.
11. Cagayan S., Bravo S.L., Fallarme A. Randomized, single-blind, one-center trial comparing the efficacy, safety and acceptability of 3-day versus 7-day treatment of GYNOMAX® (150 mg tinidazole/100 mg tioconazole) vaginal ovules in vaginitis treatment. The 3rd Asia Pacific Congress on Controversies in Obstetrics Gynecology and Infertility. Beijing, China. November 12–15, 2009.
12. Kudryavtseva L.V., Gushchin A.E. Normocenosis. Bacterial vaginosis. Comprehensive laboratory diagnostics of bacterial vaginosis: current state of the problem. *Laboratornaya sluzhba.* 2013;1:3–24 (in Russ.).
13. Kononova I.N., Oboskalova T.A. Personalized approach to the correction of the vaginal biocenosis. *Ginekologiya.* 2015;17(2):17–20 (in Russ.).
14. Mitra A., MacIntyre D.A., Marchesi J.R. et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome.* 2016;4(1):58. DOI: 10.1186/s40168-016-0203-0.
15. Wiik J., Sengpiel V., Kyrgiou M. et al. Cervical microbiota in women with cervical intra-epithelial neoplasia, prior to and after local excisional treatment, a Norwegian cohort study. *BMC Womens Health.* 2019;19(1):30. DOI: 10.1186/s12905-019-0727-0.

References

1. Stumbar S.E., Stevens M., Feld Z. Cervical Cancer and Its Precursors: A Preventative Approach to Screening, Diagnosis, and Management. *Prim Care.* 2019;46(1):117–134. DOI: 10.1016/j.pop.2018.10.011.
2. Gillet E., Meys J.F., Verstraelen H. et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(10):e45201. DOI: 10.1371/journal.pone.0045201.
3. Brusselaers N., Shrestha S., van de Wijgert J., Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(1):9–18.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.12.011.

Сведения об авторах:

¹Волков Валерий Георгиевич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, ORCID iD 0000-0002-7274-3837;

²Захарова Татьяна Васильевна — к.м.н., врач высшей категории, заместитель главного врача по акушерству и гинекологии, ORCID iD 0000-0001-7716-0983.

¹ФГБОУ ВО ТулГУ. 300012, Россия, г. Тула, пр-т Ленина, д. 92.

²ГУЗ «ГКБ № 2 г. Тулы им. Е.Г. Лазарева». 300002, Россия, г. Тула, ул. Комсомольская, д. 1.

Контактная информация: Волков Валерий Георгиевич, e-mail: valvol@yandex.ru.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 10.07.2019.

About the authors:

¹Valeriy G. Volkov — MD, PhD, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, ORCID ID 0000-0002-7274-3837;

²Tatyana V. Zakharova — MD, PhD, ORCID ID 0000-0001-7716-0983.

¹Tula State University. 92, Lenin Prospect, Tula, 300012, Russian Federation.

²E.G. Lazarev Tula City Clinical Hospital No. 2. 1, Komso-mol'skaya str., Tula, 300002, Russian Federation.

Contact information: Valeriy G. Volkov, e-mail: valvol@yandex.ru.

Financial Disclosure: no authors has a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests. Received 10.07.2019.