

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Быкова Анатолия Сергеевича на диссертационную работу Шевцова Вячеслава Вячеславовича «Состояние микробиоты дыхательных путей и кишечника у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, и методы ее коррекции», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы. Рак лёгкого самое частое онкологическое заболевание в мире, являющееся одной из основных причин смерти больных с онкологической патологией. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения России, ведущее место занимают опухоли трахеи и легкого. Среди больных преобладает доля пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ). Одним из наиболее грозных и частых осложнений, приводящих к смерти больных, оперированных по поводу рака легких, является нозокомиальная пневмония. Основными патогенами инфекционных лёгочных осложнений у больных хирургического профиля являются грамотрицательные условно-патогенные бактерии, подавляющее большинство из которых имеет «первичное или вторичное» гастроэнтерогенное происхождение (кишечная микробиота). Длительное и частое бесконтрольное применение антибиотиков при лечении обострения ХОБЛ приводит к развитию дисбиоза. Некоторые авторы считают транслокацию микробиоты фактором патогенеза развития нозокомиальной пневмонии. Кроме дисбиотических изменений кишечной микробиоты, у больных имеются выраженные нарушения клеточного и гуморального звеньев иммунитета. При раке легкого, ассоциированного с ХОБЛ, чрезвычайно важно знать состояние микрофлоры дыхательной системы и кишечника. Такие пациенты нуждаются в специальной сопроводительной терапии для профилактики и лечения нозокомиальной пневмонии и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

В связи с вышеизложенным цель диссертационной работы Шевцова В.В. (оценка состояния микробиоты нижних дыхательных путей и кишечника методом микробиологического и газо-жидкостного хроматографического анализа для проведения ее коррекции у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, с целью профилактики развития нозокомиальной пневмонии) является актуальной и обоснованной.

Степень новизны, обоснованности, достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Поставленные автором цель и задачи исследования, а также полученные результаты позволили ему сформулировать положения и выводы, характеризующиеся высокой степенью научной новизны.

Исследование Шевцовым В.В. состояния микробиоты нижних дыхательных путей и кишечника у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с ХОБЛ методом микробиологического и газо-жидкостного хроматографического анализа показало, что у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, возрастал удельный вес грамтрицательной микрофлоры в нижних дыхательных путях. Основными патогенами при этом были *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *E. coli.*, *Acinetobacter spp.*, *C. freundii*. У 100% таких больных, имелся дисбиоз кишечника разной степени тяжести. Молекулярными маркёрами риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у них, являлось повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте и их снижение в кале; повышение пропионовой и масляной кислот и снижение уксусной кислоты, смещение анаэробного индекса в область отрицательных значений, увеличение показателя отношения изокилот к кислотам с неразветвлённой цепью, повышение суммарного показателя изокилот. Показано, что определение короткоцепочечных жирных кислот методом газо-жидкостного хроматографического анализа (ГЖХ-анализа) в различных биологических субстратах может быть использовано в обследовании больных раком легкого с диагностической целью, для оценки прогноза течения рака легкого на фоне ХОБЛ, а также для оценки эффективности проводимой терапии. На основании полученных данных автор скорректировал протокол сопроводительной терапии для больных данной категории, который снизил в два раза количество нозокомиальных пневмоний в раннем послеоперационном периоде у таких больных.

Теоретическая и практическая значимость работы. Автором расширены представления о патогенетической значимости изменений микробиоценоза дыхательных путей и кишечника в развитии воспалительных осложнений в бронхолегочной системе. Доказана целесообразность исследования метаболитов микробиоты у больных со злокачественными новообразованиями респираторного тракта, как нижних дыхательных путей, так и кишечника в связи с ее отягощающим влиянием на течение основного заболевания.

Практическая значимость работы заключается в том, что скорректирована схема сопроводительной противомикробной и иммунобиологической терапии ("МИБ-терапии") для больных со злокачественными новообразованиями бронхов и лёгких с сопутствующей ХОБЛ в пред- и раннем послеоперационном периоде для профилактики и лечения нозокомиальной пневмонии и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Она позволила эффективно снизить количество нозокомиальных пневмоний и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в предоперационном и раннем послеоперационном периоде у данных больных. Результаты исследования внедрены в лечебную работу «Московской городской онкологической больницы № 62 и «Городской клинической больницы № 51 Департамента Здравоохранения г. Москвы (акты внедрения от 10.02.2017 г. и 17.04.2017 г.).

Материалы диссертации используются в учебных программах на кафедре гастроэнтерологии ФГБУ ДПО «Центральной государственной медицинской академии» Управления делами Президента РФ (акт внедрения 03.02.2017.).

Достоверность и апробация результатов исследования. Исследование, выполненное Шевцовым В.В., носит фундаментально-прикладной характер. Автор использовал адекватные поставленным задачам традиционные микробиологические методы исследования. Достоверность результатов очевидна, поскольку основана на достаточном объеме материала и современных методах сбора и обработки информации. Сформулированные в диссертации положения и выводы логически вытекают из результатов проведенного комплексного исследования микробиоты нижних отделов дыхательных путей и кишечника больных злокачественными опухолями лёгких с помощью микробиологического анализа и ГЖХ-анализа отделяемой мокроты и фекалий. Полученные материалы обработаны методами описательной статистики, корреляционного анализа, частотного анализа.

Основные положения и выводы диссертации отражены в 12 печатных работах, в том числе 6 в рецензируемых журналах; 6 – в материалах и сборниках конференций. Результаты исследований были представлены и обсуждены на IX и X Научно-практических конференциях «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений» (Москва, 2011г., 2012г.); на VIII съезде онкологов и радиологов стран Союза Независимых Государств и Евразии (Казань, 2014г.).

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации. Диссертационная работа соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 (изложена на 172 страницах печатного текста, содержит 33 таблицы и 14 рисунков). Она состоит из: введения, обзора литературы, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка данных литературы (94 отечественных и 114 зарубежных публикаций) и приложений. Введение построено по стандартному плану. Автор излагает методы собственных исследований, основные положения, выносимые на защиту. Материалы и широкий диапазон использованных методов свидетельствует о высоком методическом уровне работы. Автор отобрал 158 пациентов, находящихся в Московской городской онкологической больнице № 62. В работе применялся комплекс клинических, бактериологических, биохимических, статистических методов исследования. Проведено исследование короткоцепочечных жирных кислот в фекалиях и мокроте пациентов методом ГЖХ-анализа.

В обзоре данных литературы проанализирована информация о микробном пейзаже нижних дыхательных путей у больных раком лёгкого, в том числе ассоциированного с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ). Проведен критический анализ роли микробной колонизации нижних дыхательных путей в развитии нозокомиальной пневмонии у

больных. Дана оценка роли транслокации бактерий из ЖКТ в патогенезе нозокомиальной пневмонии, приведены данные о связи нарушений микробиоценоза кишечника с развитием нозокомиальной пневмонии у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ.

Результаты собственных исследований подробно представлены в трех главах. Диссертантом проведена комплексная оценка состояния микробиоты нижних дыхательных путей и кишечника у больных раком легкого на фоне ХОБЛ, основанная на результатах микробиологического исследования и ГЖХ-анализа метаболитов микрофлоры.

В первой главе собственных исследований проанализированы данные о микробиоте (164 штамма) нижних дыхательных путей у трёх групп больных: *основная группа* - 60 чел. с раком лёгких, ассоциированным с ХОБЛ; *группа сравнения I* - 30 чел. с раком лёгких без ХОБЛ; *группа сравнения III* – 30 чел. без злокачественных новообразований лёгких и ХОБЛ.

У больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, удельный вес грамотрицательных бактерий и грибов был значительно выше, чем в группах сравнения I и III. Отмечалось появление в микробном пейзаже *Enterobacter aerogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter spp*, *Moraxella catarrhalis*, *P. aeruginosa*. Пул грибов рода *Candida* в основной группе был выше, чем в группах сравнения (в III и I группе). Присоединение к основному заболеванию (рак лёгкого) ХОБЛ приводило к тому, что различия в микробном пейзаже нижних дыхательных путей у больных с центральным и периферическим раком лёгкого нивелировались. У этих пациентов наблюдалось значительное увеличение в микробном пейзаже нижних дыхательных путей удельного веса грамотрицательных бактерий и грибов рода *Candida*. Наличие ХОБЛ у больных раком лёгкого (независимо от его формы) являлось фактором риска развития инфекционно-воспалительного процесса в нижних дыхательных путях.

В микрофлоре нижних дыхательных путей у пациентов еще до развития пневмонии, исходно, имелось увеличение количества грамотрицательной (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp*. и *C. freundii*) и грамположительной микрофлоры (за счет *S. aureus*), а также грибов рода *Candida*. Автор показал, что наиболее патогенной микрофлорой для развития пневмонии является грамотрицательная микрофлора (главным образом *P. aeruginosa*), *S. pyogenes* и грибы. Выявленные изменения микрофлоры нижних дыхательных путей у онкологических пациентов с нозокомиальной пневмонией до и после проведения антибактериальной терапии подчеркивают роль микрофлоры в развитии инфекционно-воспалительного процесса в лёгких.

В следующей главе собственных исследований представлены данные ГЖХ-анализа метаболитов микрофлоры нижних дыхательных путей и кишечника у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, и у больных ХОБЛ без рака легкого. Исследования проводились у 60 больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, 38 больных ХОБЛ и у 30 человек без рака легкого и ХОБЛ.

У больных раком лёгких, ассоциированным с ХОБЛ, были более выраженные изменения микробиоты дыхательной системы и кишечника, чем при ХОБЛ. У больных ХОБЛ и основной группы (рак легкого + ХОБЛ) отмечалось повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте по сравнению с нормой и с группой ХОБЛ. Происходило достоверное повышение относительного содержания пропионовой и масляной кислот при снижении содержания уксусной кислоты.

Автором было отмечено достоверное повышение суммарного относительного содержания изокилот (ΣiC_n) и отношения содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте (iC_5/C_5) в группе рак легкого+ХОБЛ. Повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте у данных больных свидетельствуют об увеличении численности и активности микроорганизмов в трахеобронхиальном дереве. Повышение пропионовой и масляной кислот, указывает на активизацию их продуцентов - анаэробных бактерий (*Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp.* и др.).

Шевцов В.В. провел анализ значений анаэробного индекса, свидетельствующего о смещении окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды в область резко отрицательных значений, при котором жизнедеятельность облигатных анаэробов угнетается, и происходит активизация факультативных анаэробов. Причем более значительные изменения отмечаются при раке легкого в сочетании с ХОБЛ. У данных пациентов автор констатировал повышение активности не только факультативной и облигатной анаэробной микрофлоры, но и активизацию аэробных условно-патогенных микроорганизмов.

Автор заключает, что у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, отмечалось повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте и снижение в кале. Выявленные изменения профиля короткоцепочечных жирных кислот, повышение пропионовой и масляной кислот, при снижении содержания уксусной кислоты, смещение анаэробного индекса в сторону более отрицательных значений, вместе с увеличением показателя отношения изокилот к кислотам с неразветвлённой цепью (ZiC_n/C_n , iC_5/C_5) и повышение суммарного показателя изокилот (ZiC_n) могут служить маркёрами риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде. Шевцов В.В. предполагает, что выявленные изменения профиля короткоцепочечных жирных кислот могут быть обусловлены транслокацией условно-патогенных микроорганизмов из биотопа кишечника через слизистую оболочку и через кровоток в бронхолёгочную систему.

В последней главе Шевцовым В.В. представлены результаты по применению скорректированного протокола сопроводительной терапии больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, для снижения частоты развития нозокомиальной пневмонии в

послеоперационном периоде. Автором была использована схема сопроводительной терапии (МИБ-терапии) для онкологических больных, ассоциированных с ХОБЛ.

Пациенты основной группы были рандомизированы на две равные по количеству (30 чел.) подгруппы. В подгруппе I больные получали курс МИБ-терапии (в соответствии с предлагаемым протоколом), подгруппа II являлась контролем. Автор отмечает достоверное снижение суммарного относительного содержания изокислот в группе больных, получившей МИБ-терапию, и его повышение в группе контроля, что, по его мнению, говорит о снижении активности микрофлоры в группе больных после МИБ-терапии. Данные, полученные при исследовании мокроты методом ГЖХ-анализа, коррелировали с данными культурального исследования мокроты.

ГЖХ-анализ метаболитов микрофлоры в различных биологических субстратах больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, позволил автору выявить выраженные изменения в микробиоте бронхолёгочной системы и кишечного биотопа. У данных больных имелись более выраженные изменения микробиоты дыхательной системы и кишечника, чем при ХОБЛ: была повышена активность не только факультативной и облигатной анаэробной микрофлоры, но и аэробов. При центральном раке лёгких отмечалась более выраженная активность аэробов, а при периферическом раке имеется более выраженная активизация анаэробной микрофлоры.

По данным автора в нижних дыхательных путях пациентов после оперативного лечения рака лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, четко снижалось количество грамотрицательных бактерий. В кале пациентов получавших курс МИБ-терапии после оперативного вмешательства отмечалось достоверное снижение выраженности дисбиоза толстой кишки, а в контрольной группе - его нарастание за счёт снижения количества лактобактерий и увеличения количества гемолитических и лактозонегативных *E. coli* и других условно-патогенных микроорганизмов.

Автор показал, что скорректированная схема сопроводительной МИБ-терапии для больных со злокачественными новообразованиями бронхов и лёгких с сопутствующей ХОБЛ позволила в два раза снизить количество нозокомиальных пневмоний в предоперационном и раннем послеоперационном периоде.

В заключении автором обобщены и анализируются результаты, полученные в работе. Из замечаний следует отметить, что при анализе полученных данных может быть автору следовало бы более подробно проанализировать значение короткоцепочечных жирных кислот при изученной патологии. Автореферат, публикации и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют содержанию и основным результатам диссертационной работы. Работа представляет собой целостное законченное научное исследование и соответствует специальности 03.02.03 - микробиология.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Шевцова Вячеслава Вячеславовича является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Митрохина Сергея Дмитриевича, в которой автором обоснованы положения, представляющие собой решение актуальной научной задачи – оценки состояния микробиоты нижних дыхательных путей и кишечника методом микробиологического и газо-жидкостного хроматографического анализа для проведения ее коррекции у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, с целью профилактики развития нозокомиальной пневмонии, что имеет существенное значение для микробиологии и онкологии.

Диссертационная работа Шевцова Вячеслава Вячеславовича «Состояние микробиоты дыхательных путей и кишечника у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, и методы ее коррекции», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Шевцов Вячеслав Вячеславович заслуживает присуждение ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии
Федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации (ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Сеченовский Университет) (119991, Москва,
ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел. +7 (495) 629-75-79, bykov@imail.ru)

доктор медицинских наук, профессор

21.09.2017г.

Подпись Быкова Анатолия Сергеевича

Быков Анатолий Сергеевич

Заверяю

