

## ОТЗЫВ

официального оппонента, профессора кафедры госпитальной хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора Игоря Николаевича Климовича на диссертационную работу Мусагалиева Артура Абдулхаировича на тему: «Значение белков острой фазы для дифференциальной диагностики микробной контаминации брюшной полости при перитоните», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.9 - хирургия.

### *Актуальность темы диссертационной работы*

За последние десятилетия многие исследователи отмечают рост острых воспалительных заболеваний органов брюшной полости и частоты гнойно-воспалительных осложнений. Это вызывает большую тревогу и делает проблему лечения хирургической инфекции особенно актуальной, несмотря на несомненные успехи клинической медицины, вооруженной новыми перспективными технологиями. Анализ структуры летальности у больных с абдоминальной хирургической патологией за последние 30 лет показал, что основной причиной смерти у этих больных был и остается перитонит – как одна из форм абдоминального сепсиса.

Общая летальность при перитоните колеблется в пределах 18-20%, а при распространенной форме она повышается до 30-60%. Основными причинами летальности являются некупированный эндотоксикоз, абдоминальный сепсис и обусловленные ими последствия: острая печеночно-почечная и сердечно-сосудистая и легочная недостаточность, метаболические нарушения.

И хотя результаты успешного лечения разлитого гнойного перитонита в основном связаны с адекватной хирургической тактикой и полноценной санацией брюшной полости, 15-20% успеха лечения определяет правильность и эффективности антибактериальной терапии

У пациентов оперированных по поводу перитонита, еще до получения результатов бактериологического исследования перитонеального экссудата из брюшной полости, назначается стартовая эмпирическая антибактериальная терапия, которая после получения данных из бактериологической лаборатории может корректироваться, в соответствии с данными о чувствительности к антибиотикам, высеянных от данного пациента, штаммов бактерий. Однако, несмотря на появление новых поколений цефалоспоринов, карбапенемов и фторхинолонов, нерациональная стартовая антибактериальная терапия приводит к снижению чувствительности бактерий абдоминальной инфекции к используемым антибактериальным препаратам и возникает необходимость замены антибиотика на другой, обладающий более выраженным бактерицидным воздействием на данный штамм возбудителя.

В этой ситуации для более раннего определения типа возбудителя перитонита, до получения результатов бактериологического посева, определенную

ценность представляют биохимические индикаторы, например, белки острой фазы (БОФ), отражающие разные стороны патологического процесса.

Еще одной причиной выбора данной темы исследования автора послужили литературные данные, свидетельствующие о существовании взаимосвязи между некоторыми штаммами бактерий и определенными белками, например, показана связь лизоцима с грамотрицательной инфекцией, а иммуноглобулинов IgG со стафилококковой инфекцией. Однако широко и подробно вопрос о связи возбудителя абдоминальной хирургической инфекции с уровнями БОФ в сыворотке крови и перитонеальном экссудате не изучался.

Представленное для оппонирования диссертационное исследование Мусагалиева Артура Абдулхаировича посвящено изучению в эксперименте и клинике способа ранней добактериологической экспресс-диагностики возбудителя хирургической инфекции по уровню специфических БОФ в сыворотке крови и перитонеальном экссудате. Таким образом, актуальность темы кандидатской диссертации и ее практическое значение не вызывают сомнений.

### ***Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации***

Все основные положения диссертации, сделанные выводы и рекомендации полностью вытекают из результатов проведенных исследований. Диссертация выполнена на большом экспериментальном и клиническом материале, который охватывает эксперименты по моделированию монобактериального перитонита на 90 крысах линии Вистар и клиническую часть, выполненную на образцов сыворотки крови и перитонеальной жидкости 230 больных с деструктивными формами аппендицита, холецистита и панкреатита, осложненных перитонитом больных, контролем служили и сыворотки крови 39 доноров. Такой объем достаточен для получения научно обоснованных и достоверных выводов. Дизайн исследования соответствует поставленной цели и задачам. Проведение исследования одобрено этическим комитетом.

Обоснованность результатов, полученных в диссертации, обеспечена адекватностью использованных методов, поставленным задачам, достаточным объемом и репрезентативностью анализируемых показателей, их корректной статистической обработкой. На основании анализа фактического материала автором сделаны обоснованные заключение и выводы.

Выводы полностью соответствуют поставленным задачам и отражают суть законченной диссертации.

### ***Научная новизна исследования и достоверность полученных результатов***

Научная новизна исследования Мусагалиева А.А. не вызывает сомнения. В экспериментальной части исследования им на модели гнойного перитонита, вызванного монокультурой патогенных бактерий изучены уровни С-реактивного белка, ферритин, лактоферрина, альфа2-макроглобулин, продуктов деградации фибриногена, лизоцима и IgG одновременно в сыворотках крови и в перитонеальных экссудатах у крыс, от начала эксперимента и до их эвтаназии на 1, 2 и 3

третьи сутки исследования. В клинической части исследования эти же показатели изучены одновременно в сыворотках крови и в перитонеальных экссудатах у пациентов с перитонитом на фоне деструктивного аппендицита, холецистита и панкреатита.

Автором диссертации впервые обнаружены белковые маркеры, ассоциированные с определенным типом возбудителя абдоминальной инфекции, позволяющие на начальных стадиях перитонита устанавливать штамм микроорганизма, вызвавший перитонит.

На основе изучения взаимосвязей между уровнями лактоферрина, лизоцима, продуктов деградации фибриногена и иммуноглобулина G в крови и перитонеальных экссудатах автору с высокой степенью вероятности удалось предсказать развитие стрептококковой, стафилококковой или грамотрицательной абдоминальной хирургической инфекции.

На разработанные три способа дифференциальной диагностики, позволяющие своевременно выявлять у пациентов с перитонитом стафилококковую, стрептококковую или грамотрицательную абдоминальную инфекцию. А.А. Мусагалиевым получены 3 патента РФ на изобретение № 2705384, №2705385, № 2705415.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения и подтверждается методически грамотной организацией исследования и современным подходом к проведению статистической обработки материала.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.9 – хирургия в области исследований: п. 2. «Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний».

### ***Научно-практическая значимость результатов диссертационного исследования***

Впервые разработана модель гнойного перитонита на крысах, путем их инфицирования пятью штаммами патогенными бактериями, наиболее значимыми для абдоминальной хирургии, на которые комплексно в сыворотка крови и перитонеальной жидкости, исследованы уровни БОФ, иммуноглобулина G и лизоцима, и установлены особенности изменения концентрации некоторых белков острой фазы у экспериментальных животных в условиях асептического или монобактериального перитонита.

Для более точного и надежного добактериологического прогноза возбудителя абдоминальной инфекции у пациентов с перитонитом рекомендуется исследовать взаимосвязь повышенных уровней семи сывороточных белков в сыворотке крови и перитонеальном экссудате у больных с перитонитом в зависимости от типа возбудителя бактериальной абдоминальной инфекции. Выявлено, что обнаружение в перитонеальном экссудате у пациентов с перитонитом определенного сочетания четырех, диагностически значимых белков: лактоферрина, лизоцима, продуктов деградации фибриногена и иммуноглобулина G, позволяет своевременно до результатов бактериологического исследования определить у них стафилококковую, стрептококковую или грамотрицательную абдоминальную инфекцию.

Разработанные Мусагалиевым А.А. методы ранней оценки характера бактериальной обсемененности перитонеального экссудата по уровню четырех БОФ имеют практическое значение для более точного и надежного добактериологического прогноза возбудителя абдоминальной инфекции у пациентов с перитонитом.

При обследовании и лечении пациентов, включенных в исследование автором использованы современные методы. Для оценки эффективности разработанных тестов, определения их чувствительности и специфичности автором применялись непараметрические статистические методы. Работа достаточно иллюстрирована таблицами, рисунками и клиническими примерами.

Результаты исследования внедрены в клиническую практику хирургических отделений трех лечебных учреждений г. Астрахани, а также используются в учебном процессе при проведении практических занятий и чтении лекций на хирургических кафедрах ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России.

### ***Связь работы с планом НИР по хирургии***

Диссертационная работа Мусагалиева Артура Абдулхаировича выполнена в рамках комплексных тем НИР «Система диагностики, прогнозирование и лечение осложнений при острой хирургической патологии органов брюшной полости», номер государственной регистрации 114070770020 и «Белки-маркеры в диагностике и прогнозировании неотложной хирургической и акушерской патологии», номер государственной регистрации АААА-А16-116071210049-4 в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО Астраханского ГМУ Минздрава России.

### ***Оценка структуры и содержания работы***

Диссертационная работа изложена в традиционном стиле и состоит из введения, 4 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 273 источников, из которых 221 работа – отечественных и 52 – иностранных авторов. Иллюстрации представлены 19 таблицами и 10 рисунками, содержит 5 клинических примеров.

Во введении автором обоснована актуальность научного исследования, сформулированы цель и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту, а также практическая значимость диссертационного исследования.

Цель исследования сформулирована четко, поставленные задачи отвечают актуальности проблемы и полностью соответствует цели исследования.

В литературном обзоре автор, уделяя внимание анализу как отечественных, так и зарубежных публикаций, преимущественно последних лет, подробно освещает современное состояние проблемы начиная от оценки перитонита и риска возникновения абдоминальной инфекции, до современных возможностей биохимических маркеров для эффективной терапии перитонита и роли БОФ для раннего анализа микробного спектра.

В главе «Материал и методы исследования» дана общая клиническая характеристика 230 обследованных больных с перитонитом, разделенных на три группы с деструктивным аппендицитом, деструктивным холециститом и дест-

руктивным панкреатитом и контрольную группу 39 доноров. Имеются критерии включения и исключения в исследование. В экспериментальной части работа подробно описаны методы моделирования асептического и бактериального перитонита на крысах. Далее в главе материалы и методы приводятся использованные биохимические, иммунохимические и микробиологические методы исследования. Весь материал от животных (сыворотки крови, перитонеальный экссудат) был протестирован на общую концентрацию белка, активность лизоцима (ЛЗЦ), уровни острофазовых белков лактоферрин (ЛФ), альфа<sub>2</sub>-макроглобулин (МГ), С-реактивный белок (СРБ), ферритин (Фр), продукты деградации фибриногена (ПДФ) и уровни иммуноглобулина G (IgG) с использованием коммерческих антисывороток к соответствующим белкам человека.

Материал для исследования достаточен, методики исследования современны, проведена статистическая обработка материала с использованием общепринятых критериев и сомнений не вызывает.

«Результаты собственных исследований» представлены в 3 и 4 главах диссертации.

В главе 3 автор подробно останавливается на изменениях уровнях семи специфических биомаркеров в сыворотках крови и перитонеальном экссудате оперированных крыс на протяжении трех дней течения перитонита. Для заражения животных использовали суточные агаровые культуры аэробных грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (серовар А) и аэробных грамотрицательных бактерий: *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*. Выбор этих 5 штаммов бактерий объясняется наиболее частым обнаружением их в перитонеальном экссудате при разлитом гнойном перитоните.

Выбор дозы каждой бактериальной культуры обеспечивал 0,5 LD<sub>50</sub> и обеспечивал выживание всех лабораторных животных более 3-х суток. Через 24, 48 и 72 часа после внутрибрюшинных инъекций осуществляли эвтаназию 4 животных каждой экспериментальной группы и 7 животных группы сравнения с последующим забором материала. В качестве контроля использовали 10 образцов сывороток крови крыс, взятых за неделю до начала эксперимента.

Результаты определения уровней исследуемых белков в сыворотках крови и в перитонеальном экссудате крыс в различные сроки после внутрибрюшинной инъекции каррагинана, стрептококка, стафилококка, протей, псевдомонасы и клебсиеллы в диссертации и автореферате представлены в различных таблицах.

Отдельно представлены в данной главе результаты вычисления корреляционных отношений между содержанием белков в крови и перитонеальном экссудате крыс в различные сроки после внутрибрюшинной инъекции каррагинана и бактерий.

По результатам представленных в данной главе диссертации результатов, можно предположить, что определение в крови крыс некоторых белков в двух биологических жидкостях и расчет коэффициента отношений уровней каждого из 7 белков в крови и перитонеальной жидкости, можно с определенной степенью вероятности с первых дней предположить характер бактериальной обсеменности брюшной полости.

В главе 4 автор сначала описывает особенности уровней СРБ, Фр, ЛФ, α2-МГ, ПДФ, ЛЗЦ и IgG в сыворотках крови у больных с деструктивным аппендицитом, деструктивным холециститом и деструктивным панкреатитом, осложненным перитонитом и 39 здоровых людей (доноров) контрольных группы.

По результатам проведенного исследования разработаны способы ранней добактериологической диагностики стафилококковой, стрептококковой и грамотрицательной абдоминальной хирургической инфекции и своевременного начала этиотропной антибиотикотерапии.

В заключении 4 главы автор приводит 5 клинических примеров использования разработанных способов диагностики стафилококковой, стрептококковой или грамотрицательной абдоминальной инфекции.

В обсуждении представлено краткое содержание работы, оно полностью отражает основные положения и взгляды автора.

Содержание диссертации, как и автореферата, полностью соответствует ее названию, цели и задачам исследования и соответствует паспорту специальности - 3.1.9 – хирургия.

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, 4 из которых в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации, в которых полностью отражены все основные положения и выводы, изложенные в диссертации. Получено три патента РФ на изобретения № 2705384, №2705385, № 2705415. Результаты диссертационного исследования доложены на научных форумах различного уровня.

#### **Замечания**

Автору не удалось избежать в работе некоторых повторений, мелких стилистических ошибок, тем не менее, сделанные в целом замечания не являются принципиальными и не затрагивают существа диссертационной работы.

При анализе диссертации возникли вопросы:

1. Чем объясняется выбор пяти культур бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* для моделирования монобактериального перитонита на крысах?

2. Чем вы мотивировали выбор именно этих трех вариантов перитонита на фоне деструктивного аппендицита, деструктивного холецистита и деструктивного панкреатита?

#### **Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»**

Диссертационная работа Мусагалиева Артура Абдулхаировича «Значение белков острой фазы для дифференциальной диагностики микробной контаминации брюшной полости при перитоните», выполненная под руководством доктора мед. наук, профессора Э.А. Кчибекова и научного консультанта доктора мед. наук А.В. Коханова представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой решена актуальная задача хирургии по улучшению результатов лечения больных с перитонитом путем раннего добак-

териологического прогноза возбудителя абдоминальной хирургической инфекции по уровню специфических БОФ в сыворотке крови и перитонеальном экссудате больного перитонитом.

По актуальности решенной задачи, объему исследуемого материала, методическому уровню, научной и практической значимости данная диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства РФ от 11.09.2021 г. № 1539), а ее автор – Мусагалиев Артур Абдулхаирович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.9. - «Хирургия».

### Официальный оппонент

Профессор кафедры госпитальной хирургии  
Федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования «Волгоградский государственный  
медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.  
e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru) / Телефон: +7(8442)38-50-05, факс (8442) 55-17-70.  
доктор медицинских наук, профессор  
3.1.9 - Хирургия

Климович Игорь Николаевич

*29 октября 2021 г.*

Подпись доктора медицинских наук, профессора кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России И.Н. Климовича заверяю:



*Игорь Николаевич*