

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный
медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Левченко Анна Игоревна

**ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА
КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С
ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ И
ЭКЗОКРИННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

3.1.18. Внутренние болезни (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научный руководитель: академик РАН,
д.м.н., профессор
Маев Игорь Вениаминович**

Москва, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Исторические аспекты и терминология хронического панкреатита	11
1.2 Клиническое значение экзокринной недостаточности поджелудочной железы	20
1.3 Тактика ведения и лечения пациентов с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы	23
1.4 Трудности оценки контроля эффективности лечения экзокринной недостаточности поджелудочной железы	27
1.5 Клиническое значение синдрома избыточного бактериального роста	28
1.6 Общее представление о кишечной микробиоте	33
1.7 Секвенирование бактериального гена <i>16S рPHK</i>	38
1.8 Состояние кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	47
2.1 Дизайн исследования и первичный отбор пациентов	47
2.2 Основные этапы исследования	50
2.3 Методы исследования	52
2.4 Тактика оценки эффективности заместительной ферментной терапии	58
2.5 Этическая экспертиза	58
2.6 Методы статистической обработки данных	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	61

3.1 Этап I. Визит первый. Первичное обследование пациентов	61
3.2 Клиническая характеристика обследованных пациентов	62
3.3 Оценка эффективности заместительной ферментной терапии	72
3.4 Определение таксономических особенностей кишечной микробиоты пациентов после первичного обследования	73
3.5 Этап II. Визит второй. Повторное обследование пациентов после назначения или коррекции ранее назначенной заместительной ферментной терапии	82
3.6 Определение таксономических особенностей кишечной микробиоты пациентов после назначения или коррекции заместительной ферментной терапии	85
3.7 Клинические примеры	91
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
ВЫВОДЫ	127
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	129
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	132

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В структуре заболеваемости органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) на долю хронического панкреатита (ХП) в развитых странах приходится до 8–10 случаев на 100 тысяч населения. Заболеваемость в Европейских странах колеблется от 5 до 10 на 100 000 человек, при средней продолжительности жизни 20 лет после постановки диагноза [72]. В России отмечены более высокие цифры заболевания до 27,4–50 случаев на 100 тыс. взрослого населения [4].

ХП, характеризующийся непрерывным и прогрессирующим воспалением, неизбежно приводит к формированию эндокринной, экзокринной панкреатической недостаточности, синдрома недостаточности питания (мальнутриции), трофологической недостаточности, панкреатогенного сахарного диабета, повышению риска развития рака поджелудочной железы (ПЖ) [4, 75].

Основное лечение экзокринной недостаточности поджелудочной железы (ЭНПЖ) - заместительная ферментная терапия (ЗФТ). В случае неадекватного ответа на ЗФТ дозу ферментных препаратов корректируют и/или дополнительно назначаются препараты для подавления желудочной секреции – ингибиторы протонной помпы (ИПП), исключается синдром избыточного бактериального роста (СИБР) [1, 7]. При воспалении ПЖ развивается вторичный воспалительный каскад в кишечнике с усилением проницаемости кишечной стенки и транслокацией микроорганизмов в систему портального кровообращения [7, 38, 121].

Верификацию СИБР при ХП проводят методом водородного дыхательного теста с лактулозой или глюкозой, дающих лишь ориентировочное представление о степени выраженности бактериального обсеменения. Для деконтаминации условно-патогенной микрофлоры в составе комплексной терапии традиционно рекомендуется применение кишечных антисептиков, пре- и пробиотических препаратов. Эффективность ответа на терапию чаще оценивается на субъективных

данных больного: уменьшение количества актов дефекации, увеличение плотности каловых масс, регресс метеоризма и флатуленции [1, 3].

За последнее десятилетие подход к изучению кишечной микробиоты (КМ) существенно изменился, что связано с развитием высокопроизводительных молекулярно-генетических методов анализа микробных сообществ, в частности метагеномного ДНК секвенирования последовательностей генов 16 субъединицы рибосомальной РНК (16S рРНК), позволяющее охарактеризовать количественные и качественные изменения КМ, а следовательно и оценить ее функциональный потенциал [57].

Несмотря на высокую информативность данного метода исследования, количество работ, в которых изучали особенности изменения КМ при хроническом панкреатите, невелико. Проведены сравнительные исследования КМ у больных с алкогольным и аутоиммунным ХП [38, 57], а также исследования на мышинных моделях [58, 110], демонстрирующие отличия фенотипического профиля КМ и значительное уменьшение бактериального разнообразия у больных с ХП. Активно изучаются взаимосвязи состава и функционального потенциала КМ при ХП различной этиологии, в том числе, и при наличии внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы. Подавляющее большинство исследований представлены зарубежными авторами, в которых наблюдаются некоторые ограничения, что обусловлено минимальными требованиями к критериям включения/исключения, отсутствием комплексного анализа данных пациентов с ХП и ЭНПЖ: физикального, клинического, лабораторного и инструментального. Нет данных об эффективности проводимой заместительной ферментной терапии у исследуемых групп пациентов.

Необходимость углубленного изучения особенностей состава кишечной микробиоты очевидна. Зная особенности состояния КМ лиц здоровой популяции, позволит определить целевые показатели состава КМ у пациентов с ХП. Оценивая и ориентируясь в процессе лечения не только на регресс клинической симптоматики, которая часто приобретает стертый характер, не отражая наличие полной компенсации недостаточности экзогенных ферментов, но и на знании особенностей состава КМ при ХП с ЭНПЖ. Титрование дозы ферментной заместительной терапии

до нормализации и стабильности количественного и качественного состава КМ позволит заключить о полном компенсаторном состоянии данного пациента. Персонализированный подход в выборе режима заместительной терапии экзогенными ферментами к каждому пациенту с ХП и ЭНПЖ приоритетная задача клинициста. Оценка состояния КМ в динамике лечения, как биомаркёра отражающего эффективность ЗФТ позволит достичь полной компенсации ЭНПЖ путем титрования доз экзогенных ферментов и коррекцией диеты, избегая нерационального назначения дополнительной (вспомогательной) терапии, в частности антибиотикотерапии.

Цель исследования

Оптимизировать тактику ведения и улучшить результаты заместительной ферментной терапии у пациентов с хроническим панкреатитом и различной степенью экзокринной недостаточности поджелудочной железы за счет определения таксономического состава кишечной микробиоты и её изменений в динамике.

Задачи исследования

1. Оценить эффективность проводимой заместительной ферментной терапии у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы на основании данных анамнеза (прогрессирующая потеря массы тела, боль и/или абдоминальный дискомфорт, диарея, стеаторея, флатуленция) и физикального обследования (индекс массы тела, окружность мышц плеча) и клинико-лабораторных данных;
2. Провести сравнительный анализ таксономического состава кишечной микробиоты в образцах кала, на основе ДНК-секвенирования бактериального гена *16S rPHK*, пациентов с хроническим панкреатитом без и с наличием экзокринной недостаточности различной степени тяжести, а также с группой контроля;
3. Провести сравнительный анализ таксономического состава кишечной микробиоты пациентов с хроническим панкреатитом без и с наличием экзокринной недостаточности поджелудочной железы различной степени тяжести, а также с

группой контроля через 6 (± 1) месяцев после назначения или коррекции ранее назначенной заместительной ферментной терапии;

4. Определить ряд таксонов кишечной микробиоты, как биомаркёров, отражающих неблагоприятное течение патологического процесса, прямо влияющего на качественный состав кишечной микробиоты, а также отражающих эффективность заместительной ферментной терапии у пациентов с хроническим панкреатитом с различной степенью экзокринной недостаточности поджелудочной железы;

5. Разработать алгоритм подхода к диагностике эффективности заместительной ферментной терапией при хроническом панкреатите с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы на основании таксономического состава кишечной микробиоты.

Новизна исследования

Впервые проведено генетическое исследование образцов кала на основании секвенирования бактериального гена *16S rPHK* у пациентов с хроническим панкреатитом, в частности с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы различной степени тяжести и обнаружено снижение таксономического состава и разнообразия кишечной микробиоты в сравнении со здоровым контролем.

Впервые у этой категории пациентов выделены бактериальные рода условно-патогенных таксонов кишечной микробиоты, отражающих неблагоприятное течение хронического панкреатита независимо от наличия и степени тяжести экзокринной недостаточности поджелудочной железы, а также бактериальные рода, отражающие эффективность заместительной ферментной терапии.

Практическая значимость

В комплексном обследовании пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы различной степени тяжести целесообразно проводить исследование таксономического состава кишечной микробиоты, согласно разработанному алгоритму, для оценки течения патологического процесса, верификации эффективности заместительной ферментной терапии и оценки прогноза заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Генетическое исследование образцов кала, с целью определения таксономического состава кишечной микробиоты, у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы различной степени тяжести выявило увеличение роста условно-патогенных родов бактерий, снижение продуцентов короткоцепочечных жирных кислот и бактерий с потенциально пробиотическими свойствами.

2. Повторное генетическое исследование через 6 (± 1) месяцев после назначения или эскалации доз панкреатических ферментов пациентам с хроническим панкреатитом независимо от наличия и степени тяжести экзокринной недостаточности поджелудочной железы показало увеличение доли продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, уменьшение условно-патогенных таксонов, увеличение родов бактерий с потенциально пробиотическими функциями, что отражает эффективность подобранного режима терапии и улучшает прогноз заболевания.

Апробация материалов диссертации

Апробация диссертации проведена на совместном заседании кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии и кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета НОИ «Высшей школы клинической медицины им. Н.А. Семашко» ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А. И. Евдокимова» Минздрава России 28 июня 2023 г. (протокол № 14).

Материалы работы доложены на научно-практических конференциях:

1. «Современные достижения в фармакотерапии заболеваний желудочно-кишечного тракта». Москва, 27.10.2021 г.
2. «Междисциплинарные проблемы гастроэнтерологии». Москва, 25.11.2022 г.

Реализация результатов работы

Полученные результаты исследования внедрены в клиническую работу отделения гастроэнтерологии КМЦ НОИ «Высшей школы клинической медицины им. Н.А. Семашко» и в учебный процесс на кафедре пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии НОИ «ВШ клинической медицины им. Н.А. Семашко» ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А. И. Евдокимова» Минздрава России.

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 144 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов собственного исследования и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографии. Список литературы включает 132 источника, из которых 25 отечественных и 107 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 13 таблицами и 37 рисунками.

Личный вклад автора

Автором составлен план и дизайн исследования, проведен аналитический обзор источников литературы, сформулированы цель и задачи исследования, выполнен отбор и обследование всех включенных в исследование пациентов.

Соискателем выполнено соблюдение правил транспортировки и хранения биологических образцов до этапа секвенирования. Диссертантом проведена систематизация полученных данных и их последующая статистическая обработка. Выполнен анализ и интерпретация результатов, сформулированы выводы и практические рекомендации, а также разработан алгоритм диагностики эффективности проводимой заместительной ферментной терапии у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы на основании динамической оценки таксономических особенностей кишечной микробиоты.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, все в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Исторические аспекты и терминология хронического панкреатита

Хронический панкреатит (ХП) – заболевание, характеризующееся хроническим, прогрессирующим воспалением поджелудочной железы (ПЖ), необратимым повреждением поджелудочной железы и с течением времени приводящим к потере экзокринной и эндокринной функции [4, 7, 40].

Впервые ХП был описан в медицинской литературе в 1788 году сэром Cawley Т., который сообщил о молодом человеке 34 лет, умершем от истощения и диабета, посмертное исследование ПЖ, которого выявило наличие множественных конкрементов в органе. Термин «хронический рецидивирующий панкреатит» введен в 1946 г. Mandred W. Comfort. В 1984 ХП определен как заболевание, характеризующееся необратимыми гистологическими изменениями, которые могут быть прогрессирующими и привести к потере экзокринных и эндокринных функций, часто связанные с болью в животе. На протяжении всей истории были описаны различные типы ХП, представляя уникальные характеристики, позволяющие проводить различие между хроническим алкогольным панкреатитом (ХАП), наследственным панкреатитом, тропическим панкреатитом, обструктивным панкреатитом, идиопатическим панкреатитом и аутоиммунным панкреатитом (АИП) [86].

К настоящему времени достигнуты значительные успехи в понимании патогенеза и патофизиологии ХП, включая фиброз поджелудочной железы, этиологические факторы риска, а также связанные с ними генетические и иммунные изменения [82, 120].

До 2016 года ХП определялся с использованием традиционного клинико-патологического подхода с типичными признаками и симптомами, связанными с определенной патологией, т. е. хроническим воспалением и необратимым фиброзом без инфекции. Новые технологии и открытия за 35 лет (с 1984 по 2019 год) доказали, что новые данные не могут быть использованы в старой клинико-патологической парадигме. Например, ранний ХП не может быть диагностирован с

использованием клинико-патологического определения ХП, так как требует наличия необратимых морфологических изменений [123].

В 2016 году опубликовано новое механистическое определение ХП, принятое в качестве предпочтительного определения во всем мире, которое подтверждает характеристики конечной стадии заболевания, такие как атрофия поджелудочной железы, фиброз, болевой синдром, аберрации и стриктуру протоков, кальцификации, дисплазии, экзокринную и эндокринную дисфункции ПЖ [122].

В качестве наиболее важных факторов риска развития ХП являются злоупотребление алкоголем, курение сигарет и некоторые генетические факторы, из которых потребление алкоголя выступает на первое место [59]. Злоупотребление алкоголем повышает риск прогрессирования от острого панкреатита до ХП, почти у половины пациентов с алкогольной зависимостью развивается ХП. Цифры растут до 80% после рецидивирующего панкреатита. Сообщается о положительной связи курения сигарет с развитием панкреатита, независимо от приема алкоголя [128]. Кроме того, ожирение также рассматривается в контексте факторов риска развития ХП [25]. Частота прогрессирования от острого панкреатита до ХП была зарегистрирована у 10% пациентов с первым эпизодом острого панкреатита, а у 36% пациентов с рецидивирующим острым панкреатитом развился ХП [104]. Решающую роль в развитии ХП отводят генетическим и экологическим факторам [59].

Эпидемиология хронического панкреатита

Заболеваемость панкреатитом является одной из основных проблем общественного здравоохранения во всем мире. В 2017 г. во всем мире было зарегистрировано около 6,12 млн. случаев ХП (в 1990 году этот показатель был равен 3,04 млн. случаев) и 1,64 млн новых случаев ХП [89]. В Японии распространенность ХП составляет около 50 на 100 тыс. населения [61]. В США приблизительные оценки распространенности ХП составляют 40–50 на 100 тыс. населения [77]. Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХП распространенность ХП в России составляет 27,4–50 случаев на 100 тыс. населения [4].

Классификация хронического панкреатита

Своевременная оценка наличия факторов риска, возможностей к их изменению и понимание основных звеньев патогенеза является ключевым положением для пациентов с клинической симптоматикой ХП, позволяя определить стратегию лечения и потенциально остановить прогрессирование заболевания [52].

В настоящее время не создана общепринятая и оптимальная классификация ХП. Наиболее известные в международной литературе следующие: Манчестерская классификация; классификации ABC, M-ANNHEIM, TIGAR-O, Rosemont [2].

Манчестерская классификация хронического панкреатита, построена на клинических признаках и методах визуализации, представляет собой трехступенчатую систему, включающую легкую, умеренную и конечную стадии, каждая из которых имеет основные критерии [27]. С ней схожа классификация по системе ABC, также состоящая из трех ступеней, где диагностическими требованиями выступают наличие одного или более из клинических признаков в сочетании с критериями визуализации. Учитываются клинические критерии: абдоминальная боль, повторяющиеся обострения ХП, стеаторея, панкреатогенный сахарный диабет (СД), наличие внепанкреатических осложнений. Интерпретация диагноза ХП основывается на определении стадии (А, В, С), этиологии ХП, наличием осложнений и потенциальной потерей экзо-/эндокринной функции [31].

Широко применяемыми в мировой практике являются классификации M-ANNHEIM и TIGAR-O, в которых принимается во внимание фактор этиологии ХП [2]. M-ANNHEIM позволяет дифференцировать пациентов на категории в зависимости от этиологического фактора (рисунок 1), стадии клинических проявлений (таблица 1), диагностических критериев определения вероятности диагноза и балльной оценки степени тяжести ХП, где сумма баллов является индикатором тяжести [105].

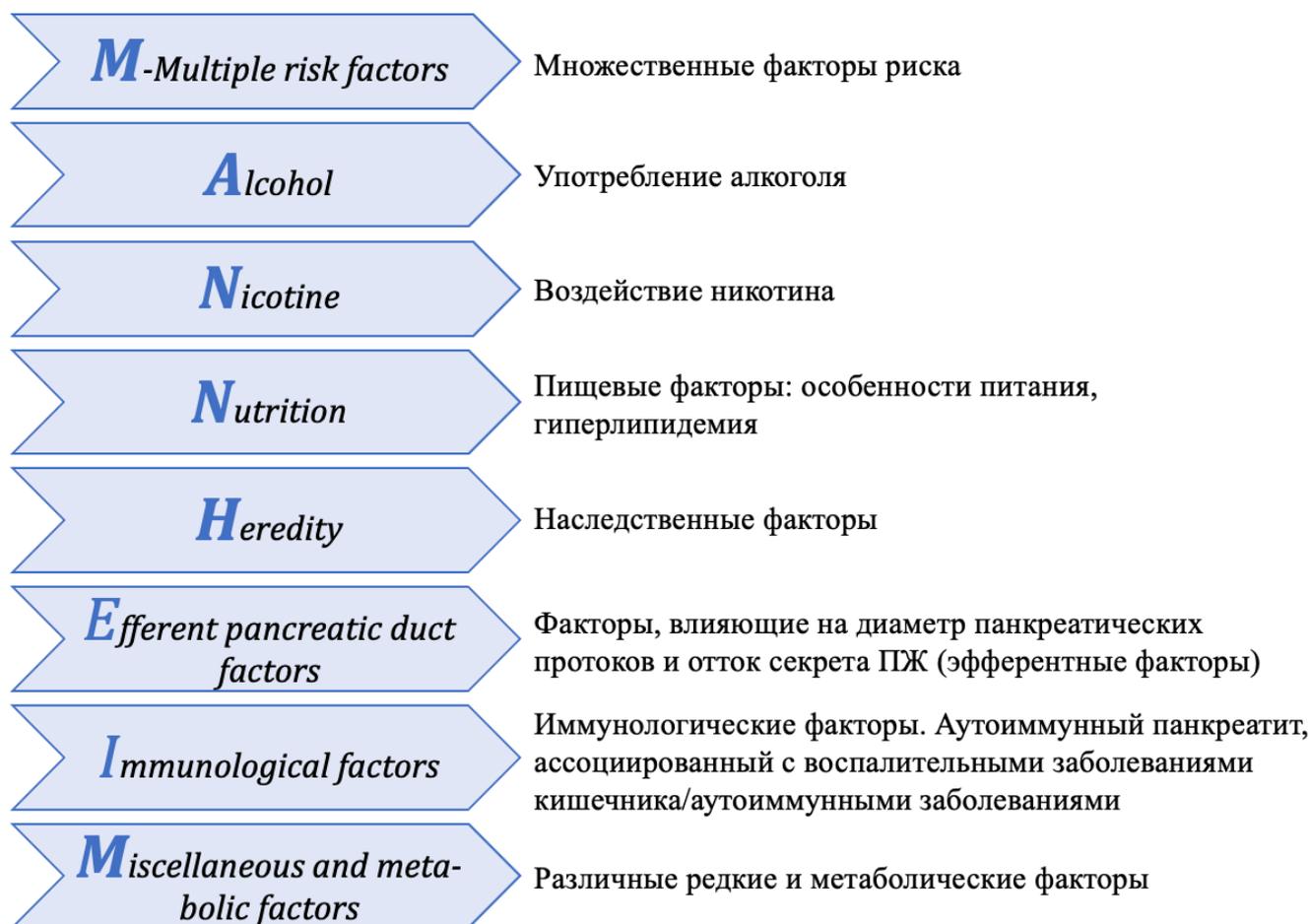


Рисунок 1. Международная классификация хронического панкреатита (2007) M-ANNHEIM

Таблица 1. Клинические стадии ХП по классификации M-ANNHEIM

КЛИНИЧЕСКИЕ СТАДИИ ХП ПО КЛАССИФИКАЦИИ M-ANNHEIM	
Бессимптомная фаза ХП:	
0 — субклинический ХП:	а) период без симптомов (определяется случайно, например при аутопсии); б) ОП — первый эпизод (возможно, является началом ХП)*; в) ОП с тяжелыми осложнениями**.
ХП с клинической манифестацией:	
I стадия — без недостаточности ПЖ:	а) рецидив ОП (между эпизодами ОП боль отсутствует); б) рецидивирующая или постоянная абдоминальная боль (в том числе боль между эпизодами ОП); в) I a/b с тяжелыми осложнениями**.

II стадия — экзо- или эндокринная недостаточность ПЖ:	а) изолированная экзокринная (или эндокринная) недостаточность (без боли); б) изолированная экзокринная (или эндокринная) недостаточность (с болью); в) II а/б с тяжелыми осложнениями**.
III стадия — экзо- и эндокринная недостаточность ПЖ в сочетании с болью:	а) экзокринная и эндокринная недостаточность ПЖ (с болью, в том числе требующей лечения анальгетиками); б) III а с тяжелыми осложнениями**.
IV стадия — уменьшение интенсивности боли (стадия «перегорания» ПЖ):	а) экзокринная и эндокринная недостаточность ПЖ при отсутствии боли, без тяжелых осложнений**; б) экзокринная и эндокринная недостаточность ПЖ при отсутствии боли, с тяжелыми осложнениями**.
<p>* Пациентов с первым эпизодом ОП (острый панкреатит) (при отсутствии симптомов ХП), но с факторами риска развития ХП (например, с алкогольным анамнезом) следует отнести к стадии 0 в при отсутствии морфологических и функциональных изменений со стороны ПЖ. Если же имеют место проявления ХП (например, кальцификация ПЖ), то таких пациентов относят к стадии I а;</p> <p>** Тяжелые осложнения делят на обратимые и необратимые (см. выше).</p>	

Классификация TIGAR-O включает шесть категорий этиологии и факторов риска панкреатита (рисунок 2), цитируется более чем в 1250 публикациях, широко применяется в международных исследованиях и клинических рекомендациях, в частности Американского колледжа гастроэнтерологов и Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению ХП [4, 52, 122].



Рисунок 2. Классификация TIGAR-O

В соответствии с рекомендациями Российской гастроэнтерологической ассоциации (РГА) ХП классифицируется по этиологии, клиническим проявлениям, морфологическим признакам, характеру клинического течения и наличию осложнений (рисунок 3) [4].



Рисунок 3. Классификация ХП в соответствии с рекомендациями РГА по диагностике и лечению ХП

Согласно рекомендациям ведущих ассоциаций гастроэнтерологов методами выбора диагностики являются компьютерная томография (КТ) или магнитно-резонансная томография (МРТ) и/или эндоскопическая ультрасонография (ЭУС), для которых определены соответствующие классификации ХП. Методом первой линии определена КТ/МРТ. ЭУС вошла в клиническую практику в 1980 г., улучшив диагностику ХП и рака ПЖ, однако до настоящего времени уступает методам КТ/МРТ ввиду низкой воспроизводимости, инвазивности, часто труднодоступности и др. (рисунок 4) [4, 22, 52, 75].

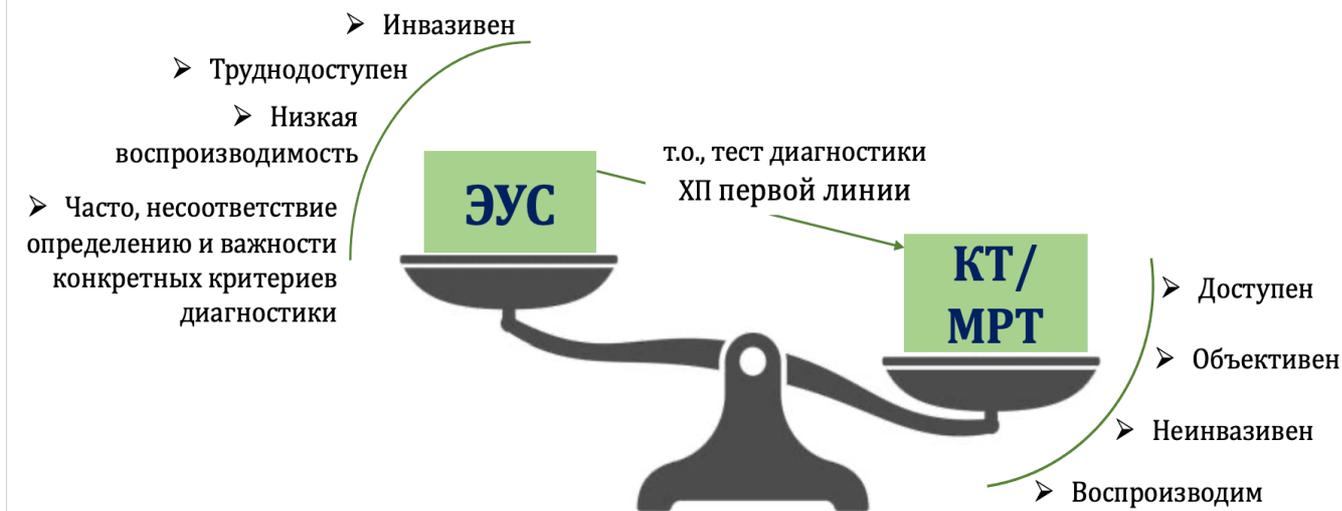


Рисунок 4. Сравнительная характеристика ведущих методов визуализации для диагностики ХП

Классификация Rosemont разработана для диагностики ХП с использованием ЭУС, как метода визуализации, предлагая основные и второстепенные критерии для установления диагноза для верификации диагноза с указанием их специфической достоверности [33]. На основании этого же метода характерные для ХП изменения ПЖ описаны в классификации по Schneider A., 2007 (рисунок 5) [105].



Рисунок 5. Эндосонографические критерии ХП по Schneider A., 2007

Критерии визуализации Кембриджской классификации ХП выделяют четыре степени тяжести ХП, которые учитывают результаты эндоскопической ретроградной холангио-панкреатографии (ЭРХПГ), УЗИ и КТ [4].

Данными КТ-исследования, верифицирующие наличие ХП, согласно рекомендациям РГА, являются атрофия железы, наличие конкрементов в протоках, дилатация главного панкреатического протока (ГПП), интра-/перипанкреатические кисты, утолщение перипанкреатической фасции и тромбоз селезёночной вены [4, 22].

Несмотря на немалое количество классификаций, верификация ХП остается трудновыполнимой задачей, ввиду отсутствия общепринятого «золотого стандарта» постановки диагноза. Зачастую диагноз подтверждается лишь на поздней стадии длительно существующего наличия повреждений паренхимы и протоков ПЖ, приводящих к необратимым морфологическим трансформациям, потенцируя развитие различной клинической симптоматики.

Основные клинические признаки хронического панкреатита

Базисными клиническими проявлениями на разных стадиях ХП являются абдоминальная боль, симптомы мальдигестии (тошнота, метеоризм, диарея) и мальабсорбции (стеаторея, потеря массы тела, признаки поливитаминной недостаточности), проявления панкреатогенного СД и остеопороза, с повышенным риском переломов [4, 52]. Вследствие абдоминальной боли и симптомов мальабсорбции, вызванных в первую очередь снижением выработки панкреатических ферментов (ПФ), пациенты зачастую сокращают, как объем потребляемой пищи, так и потребление жиров, тем самым потенцируя дефицит жирорастворимых витаминов. Длительное течение ХП приводит к развитию ЭНПЖ, одному из основных осложнений ХП, распространенность которого варьирует по разным данным от 40% до 75%, а также повышает риски развития аденокарциномы [52, 124].

1.2 Клиническое значение экзокринной недостаточности поджелудочной железы

Экзокринная недостаточность поджелудочной железы (ЭНПЖ) определяется, как снижение активности ферментов ПЖ в просвете кишечника ниже порогового уровня, необходимого для поддержания адекватного пищеварения [4]. Эта концепция имеет решающее значение в понимании для диагностики и лечения ЭНПЖ. Необходимо также учитывать, что экзокринная секреция ПЖ может быть значительно снижена и в отсутствие ЭНПЖ, а её присутствие может объясняться наличием внепанкреатических состояний, прерывающих цепь событий, необходимых для нормального переваривания [74]. В связи с чем целесообразно различать первичную и вторичную ЭНПЖ (рисунки 6 и 7) [10].



Рисунок 6. Характеристика первичной ЭНПЖ

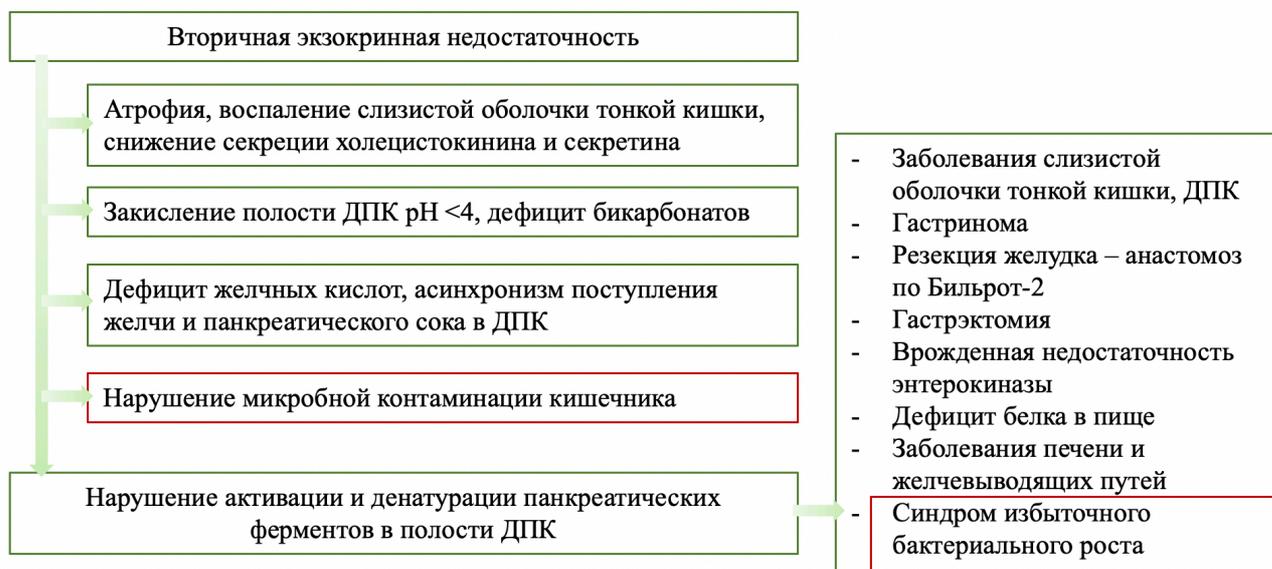


Рисунок 7. Характеристика вторичной ЭНПЖ

ХП является наиболее частой причиной развития ЭНПЖ, наряду с муковисцидозом и состоянием после некротизирующего панкреатита; также может быть вызвана обструкцией системы протоков поджелудочной железы из-за опухоли или стриктуры, снижением стимулирующей способности кишечника при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), повышенной внутрипросветной инактивацией

ферментов поджелудочной железы при синдроме Золлингера-Эллисона и др., что нельзя исключить из круга дифференциального диагноза [14].

Панкреатический секрет играет ключевую роль в переваривании и всасывании питательных веществ, обладая специфической способностью переваривать белки, углеводы и жиры. Секреция панкреатических ферментов в определенной степени стимулируется во время цефалической и желудочной фаз, но наиболее важная стимуляция происходит во время кишечной фазы, когда химус попадает в двенадцатиперстную кишку (ДПК). Присутствие жирных кислот, аминокислот и желудочного сока в ДПК является наиболее мощным стимулятором экзокринной секреции ПЖ. Во время кишечной фазы клетки слизистой оболочки ДПК высвобождают холецистокинин, стимулирующий секрецию ферментов ПЖ из ацинарных клеток, и секретин, индуцирующий выделение воды и бикарбонатов из клеток протоков [24].

ЭНПЖ является одним из основных осложнений ХП и должна рассматриваться у всех пациентов с ХП. Распространенность ЭНПЖ при ХП прогрессирует с увеличением продолжительности заболевания, и примерно у половины пациентов, через 10–12 лет после начала заболевания, развивается ЭНПЖ. Пациенты с нелеченной ЭНПЖ или неэффективной ЗФТ на фоне редукции пищеварительных ферментов, которая запускает развитие синдромов мальдигестии и мальабсорбции нутриентов, не только страдают от ухудшения качества жизни из-за стеатореи, потери веса, дискомфорта в животе, вызванного метеоризмом и флатуленцией, и других симптомов, но также имеют высокий риск развития дефицита микронутриентов и жирорастворимых витаминов (витамины А, D, Е и К), что в свою очередь приводит к риску развития осложнений, остеопороза и саркопении [14, 42, 52]. ЭНПЖ при раке ПЖ обусловлено различными механизмами, включая обтурацию главного панкреатического протока (ГПП) и деструкцию экзокринной части ПЖ, а также опосредованно вследствие оперативного вмешательства (ОВ), после которого частота ЭНПЖ возрастает до 70–100% вне зависимости от объема [14]. Кроме этого, нарушение продукции антибактериальных пептидов, бикарбонатов и пищеварительных ферментов ПЖ у пациентов с ХП на фоне ЭНПЖ может приводить к отрицательному воздействию на таксономический состав кишечной микробиоты

(КМ) и её метаболического потенциала, детерминируя развитие синдрома избыточного бактериального роста (СИБР). Следовательно, ранняя и точная диагностика ЭНПЖ для своевременного начала заместительной терапии имеет большое клиническое значение [53].

1.3 Тактика ведения и лечения пациентов с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы

Диагностика ЭНПЖ в настоящее время основана на комплексе симптомов мальнутриции и мальабсорбции, на показателях трофологической недостаточности и результатах неинвазивных тестов на поджелудочной железе [7, 43]. Сочетание двух из этих критериев следует считать достаточным для диагностики и начала лечения ЭНПЖ. Если диагноз ЭНПЖ кажется маловероятным, рекомендуется, чтобы положительный косвенный тест функции поджелудочной железы был одним из применяемых диагностических критериев (рисунок 8) [42].

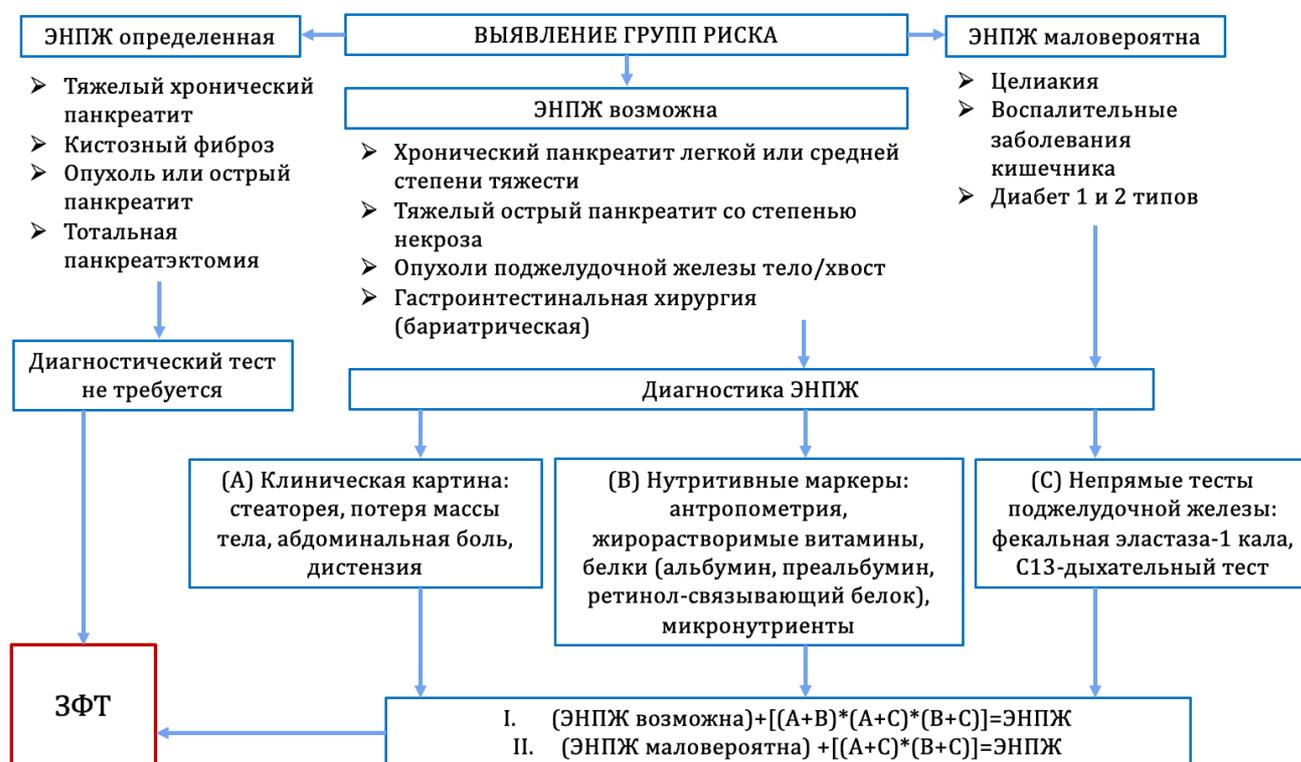


Рисунок 8. Сводный алгоритм диагностики ЭНПЖ (адаптирован из Dominguez-Muñoz и Австралийского клуба поджелудочной железы [43])

Тест на фекальную эластазу-1 является наиболее широко применяемым неинвазивным подходом к диагностике ЭНПЖ в рутинной клинической практике. Преимуществами теста являются: отсутствие необходимости в сборе фекалий, предстоловой диете; высокая чувствительность для поздних стадий ЭНПЖ (эластаза-1 кала < 100 мкг/г фекалии = тяжелая ЭНПЖ). Уровень активности эластазы в кале менее 200 мкг/г свидетельствует о наличии легкой степени ЭНПЖ, менее 100 мкг/г — тяжелой степени [7]. Однако метод имеет ограничения, которые должны учитываться при постановке диагноза:

- Нет консенсуса относительно предельной точки для диагноза ЭНПЖ, который, как правило, произвольно рассматривается как <200 мкг/г. Тем не менее, чем меньше концентрация, тем больше вероятность наличия ЭНПЖ. Высокие значения чувствительности и специфичности сообщаются при концентрации <15 мкг/г. ЭНПЖ исключается при очень высоких значениях эластазы-1 (>500 мкг/г);

- Интерпретация значений пограничной эластазы-1 (100 – 200 мкг/г) должна основываться на корреляциях с симптомами и показателями нутритивного статуса;

- Образцы с жидкой консистенцией (консистенция кала 5 – 7 по Бристольской шкале) следует исключить;

- Исключение потенциальных причин ложных результатов, в первую очередь СИБР [23, 42, 118].

Целью заместительной терапии экзогенными ферментами поджелудочной железы является не только облегчение симптомов, связанных с нарушением пищеварения, но и достижение нормального нутритивного статуса. Терапия ЭНПЖ основана на пероральном введении экзогенных ферментов поджелудочной железы [42]. Несмотря на очевидные преимущества раннего начала лечения, диагностические тесты проводятся в очень небольшом проценте случаев, и многие пациенты лечатся, часто с недостаточными дозами [49, 112]. Дозировка заместительной ферментной терапии (ЗФТ) должна быть подобрана индивидуально в соответствии с тяжестью ХП [14, 43]. Согласно клиническим рекомендациям Российской

гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению ЭНПЖ, европейским и американским гайдлайнам ЗФТ панкреатическими ферментами является базисным компонентом лечения ЭНПЖ, минимально рекомендованные дозы, которого представлены на рисунке 9 [7, 52, 75].

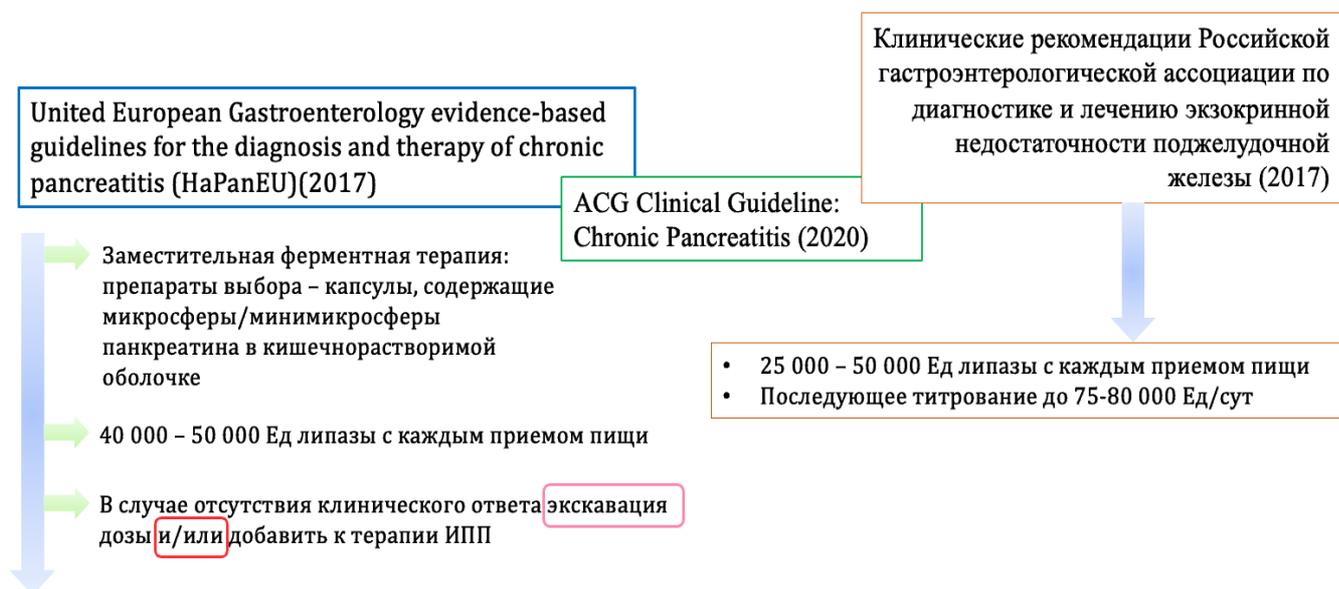


Рисунок 9. Медикаментозное лечение пациентов с ЭНПЖ (адаптировано на основании российских, европейских, американских национальных рекомендаций)

Согласно недавнему метаанализу, минимальная доза, рекомендуемая для лечения ЭНПЖ, составляет 50 000 ЕД липазы на основной прием пищи и 25 000 Ед липазы на перекусы. Более высокие дозы рекомендовано назначать пациентам с раком поджелудочной железы или после операции на поджелудочной железе/желудочно-кишечном тракте. Половина дозы принимается в начале каждого приема пищи (после нескольких глотков пищи), а остальное - в конце [62]. Эффективность ЗФТ зависит от нескольких факторов: содержания ферментов, размеров частиц препарата, способности энтеросолюбильной оболочки растворяться при достижении нейтральных значений pH и других факторов [14]. О положительном ответе на терапию ЗФП свидетельствует нормализация симптомов мальабсорбции и

восстановление состояния питания в соответствии с антропометрическими и биохимическими параметрами [75, 102], за которыми следует следить не реже одного раза в год. Контроль симптомов улучшает качество жизни пациентов, а нивелирование трофологической недостаточности снижает риск инвалидизации и смертности [54]. Корректировка дозы и схемы должна учитывать плохую терапевтическую приверженность к лечению, а также инактивацию экзогенных ферментов желчными кислотами, улучшая реакцию путем связывания ингибиторов протонной помпы (ИПП). Если ответ на терапию отрицательный, следует рассматривать другие диагнозы, такие как синдром избыточного бактериального роста (СИБР), целиакию или новообразования (рисунок 10) [7, 32, 43].



Рисунок 10. Алгоритм оценки эффективности ответа на лечение ЗФТ

1.4 Трудности оценки контроля эффективности лечения экзокринной недостаточности поджелудочной железы

Однозначных критериев эффективности ЗФТ у пациентов с ЭНПЖ нет, что утяжеляет процесс подбора адекватного режима ЗФТ, соответствующего тяжести заболевания. Классически для оценки положительного ответа на ЗФТ необходимо проверить нормализацию параметров нутритивного статуса (как антропометрических, так и биохимических), концепция которого активно поддерживается, как оптимальный способ контроля эффективности; регресс клинической симптоматики (стеаторея, метеоризм, потеря массы тела) и улучшение качества жизни [14, 75]. Отсутствие симптомов не исключает остаточную ЭНПЖ, поэтому важно регулярно оценивать дефицит жирорастворимых витаминов, цинка и магния [52], учитывая высокий риск развития у пациентов с ХП и ЭНПЖ осложнений, связанных с низкими значениями витаминов D, A, E и саркопении [14]. Рекомендовано осуществлять регулярное наблюдение с оценкой клинической симптоматики, основных показателей нутритивного статуса, при необходимости оценка активности фекальной эластазы-1 кала. Не реже одного раза в 6 месяцев оценка рутинных лабораторных показателей трофологического статуса (общий белок, альбумин, холестерин сыворотки, абсолютное количество лимфоцитов, гемоглобин) и коррекция дозы ПФ; не реже одного раза в год проведение денситометрии костей [7].

В клинической практике зачастую необходимые требования не выполняются, что напрямую сказывается на эффективности ЗФТ. Тестирование на остеопороз и дефицит жирорастворимых витаминов часто не проводится, к тому же нет рандомизированных клинических исследований (РКИ) для предоставления доказательств к использованию их в рутинной практике [14]. Важно, что успех ЗФТ не может быть оценен путем измерения фекальной концентрации эластазы-1 кала, т.к. измеряется только натуральный фермент, а оценка экскреции фекального химотрипсина не представляет информации о влиянии ферментной терапии на абсорбцию и дефицит питательных веществ [75].

1.5 Клиническое значение синдрома избыточного бактериального роста

ХП связан с недостаточной абсорбцией d-ксилозы, глюкозы, фолиевой кислоты, и нейтральных аминокислот, в частности на фоне ЭНПЖ [46]. У пациентов с ХП и сопутствующим СИБР развивается мальнутриция на фоне снижения потребления углеводов, белков и витаминов, а также мальабсорбция микроэлементов, что приводит к длительной нутритивной недостаточности [56]. Ní Chonchubhair Н.М. и соавт. (2017 г.) сообщили, что пациенты с СИБР и ХП имеют более низкую массу тела, чем пациенты с ХП, но отсутствием СИБР [37]. Lee А.А. и др. (2019 г.) обнаружили, что пациенты с СИБР и ХП имеют значительно более низкий уровень альбумина в сыворотке крови и дефицит цинка [70]. Frost F. и др. (2020 г.) обнаружили, что ХП с/без ЭНПЖ изменяют состав бактерий кишечника, изменяя баланс между видами, отдавая предпочтение одним перед другими [51]. СИБР играет значительную роль у пациентов с ХП и мальнутрицией [46], но несмотря на адекватные дозы ЗФТ, 43% пациентов остаются симптоматическими [43].

СИБР было признано медицинским феноменом на протяжении многих десятилетий. Хотя его определение обсуждается в медицинском сообществе и до настоящего времени, принципиальная концепция заключается в том, что нормальный тонкий кишечник имеет более низкие уровни микробной колонизации по сравнению с толстым кишечником, и этот нормальный баланс значительно меняется при СИБР. Согласно последним американским клиническим рекомендациям СИБР определяется как наличие чрезмерного количества бактерий в тонком кишечнике, вызывающих гастроинтестинальные (ГИ) симптомы [92]. Часто СИБР проявляется в основном у лиц с предрасполагающими состояниями, такими как гипотонус подвижности желудочно-кишечного тракта и/или увеличение времени транзита химуса в желудочно-кишечном тракте [100].

Хотя СИБР не заболевание, оно может привести к ГИ симптомам, вызванными скоплением микробных газов в кишечнике, таким как вздутие и метеоризм и более тяжелым проявлениям: воспалению кишечника, мальабсорбции и витаминному дисбалансу [32, 41]. СИБР может быть нивелирован одним или несколькими

курсами антибиотиков, но появляется снова, если предрасполагающее состояние сохраняется [41].

У пациентов с ХП ряд факторов, таких как мальабсорбция жира, диабетическая невропатия (в случае сопутствующего панкреатогенного СД), использование лекарственных препаратов, влияющих на тонус интестинальной мускулатуры или использование ИПП, потребление алкоголя и хирургические процедуры, могут способствовать возникновению СИБР [100].

О распространенности СИБР при ХП свидетельствуют многочисленные исследования и метаанализы [37, 46, 51, 70, 116]. Chonchubhair H.N. (2017 г.) сообщает о распространенности СИБР у пациентов с ХП и ЭНПЖ (определяемой по активности фекальной эластазы-1 < 200 мкг/г) по сравнению с соответствующими здоровыми субъектами в качестве группы контроля. Распространенность СИБР составила 15% и не была связана с полом, возрастом или ИПП, но была положительно связана с использованием ЗФТ и сопутствующим сахарным диабетом [37].

В недавнем систематическом обзоре и метаанализе El Kurdi B. (2019) 13-ти исследований, включающих 518 пациентов с ХП, распространенность СИБР составила 38,6% (95% доверительный интервал [ДИ] 25,5-53,5). Отношение шансов (ОШ) для СИБР при ХП против контроля составил 5,58 (95% ДИ 2,26-13,75). СД и ЭНПЖ были связаны с увеличением СИБР и ХП (ОШ 2,1, 95% ДИ 1,2-3,5 (для СД) и ОШ 2,5, 95% ДИ 1,3-4,8 (для ЭНПЖ)). Симптоматическое улучшение было зарегистрировано у 76% пациентов после лечения СИБР [46].

Frost F. (2020) в качестве диагностики СИБР использовали метод секвенирования генов бактериальной рибосомной РНК 16S для определения состава микробиоты кишечника. Пациенты с ХП показали значительное снижение микробного разнообразия с повышенным обилием факультативных патогенных организмов ($P < 0,001$), таких как *Enterococcus* ($q < 0.001$), *Streptococcus* ($q < 0.001$) и *Escherichia.Shigella* ($q = 0.002$). Изменения, связанные с ХП, не зависели от ЭНПЖ. Короткоцепочечные производители жирных кислот, считающиеся защитными для эпителия, таких как *Faecalibacterium* ($q < 0,001$), были снижены у пациентов с ХП. Дополнительно обследованы 4 пациента с ХП, ранее получавших антибиотики

(цефтриаксон и метронидазол), из которых в образцах троих обнаружено значительное увеличение *Enterococcus*, что говорит о наличии факторов, способствующих увеличению вероятности развития СИБР [51].

В клинической практике водородный дыхательный тест (ВДТ) с использованием в качестве субстратов глюкозу, лактулозу или фруктозу является наиболее часто используемым для диагностики СИБР, и зарекомендовал себя как полезный, недорогой, простой и безопасный метод [92, 111]. Дыхательный тест основан на изменении газов, образуемых в кишечнике (в основном водорода (H_2), углекислого газа (CO_2) и метана (CH_4), с меньшим количеством кислорода (O_2), азота (N_2), сероводорода (H_2S) и др.), диффундирующих в системный кровоток и экспирирующихся через легкие. Известны четыре основных источника кишечных газов: глотательный воздух; воздух, смешанный с пищей; химические реакции в кишечнике; диффузия газов из кровотока и микробный обмен веществ. Известно, что H_2 и CH_4 производятся исключительно путем микробной ферментации в кишечнике [71], что является ключевым моментом в дыхательном тестировании. Микробы кишечника легко переваривают углеводы, что приводит к выработке этих газов, которые затем диффундируют в брюшное венозное кровообращение и транспортируются в легкие, где обнаруживаются при выдыхании [131].

Глюкоза (моносахарид) поглощается в проксимальном отделе тонкого кишечника, в то время как лактулоза (неперевариваемый дисахарид) достигает толстой кишки и является предпочтительным для использования в качестве углеводного субстрата при проведении ВДТ [92]. El Kurdi B. (2019) оценивающий общую распространенность СИБР при ХП, 13, включенных в метаанализ исследований, разбиты на подгруппы в зависимости от используемого углеводного субстрата для ВДТ. При использовании глюкозы объединенная распространенность в 8-ми исследованиях составила 26,7% (95% ДИ 18,0–37,7%) по сравнению с 65,3% (95% ДИ 38,1–85,1%) в 4-х исследованиях с использованием лактулозы [46].

Определение точных тестовых характеристик тестирования глюкозы и лактулозы в диагностике СИБР трудно достичь из-за разницы между исследованиями, интерпретацией бактериальной концентрации тонкого кишечника в качестве теста

золотого стандарта и отсутствия единообразия при определении положительного дыхательного теста, что является основным мотивом для формирования консенсусных документов [92].

Объективное измерение бактерий в тонком кишечнике может быть достигнуто путем количественной оценки культуры аспиратов, полученных из проксимального отдела тонкого кишечника, что является золотым стандартом диагностики СИБР. При том стандартизированные методы асептического сбора образцов аспирата тонкого кишечника отсутствуют, так как методы различаются в отношении размещения устройства для аспирации образцов и количества собранной жидкости, а также обработки образцов и последующей культуры [47]. Пороговое значение для определения наличия СИБР остается спорным среди экспертов. Последний североамериканский консенсус показал, что литература более точно указывает на количество бактериальных колоний $\geq 10^3$ колониобразующих единиц (КОЕ) на мл аспирата ДПК. Следует отметить, что количественная оценка бактерий при СИБР основана на росте культивируемых бактерий, когда большая часть некультивируемых остается неопределенной [100].

Согласно последним клиническим рекомендациям американского общества гастроэнтерологов в качестве лечения СИБР и устранения гастроинтестинальных симптомов предлагается использовать антибиотики. Необходимо отметить, что это рекомендация носит условные рекомендации и низкий уровень доказательств [92].

Доказательства эффективности использования антибиотиков при СИБР ограничены, вследствие имеющихся небольших количеств клинических исследований низкого качества. Антибиотики, оцененные в этих клинических испытаниях, включали амоксициллин-клавулановую кислоту, хлортетрациклин, ципрофлоксацин, доксициклин, метронидазол, неомицин, норфлоксацин, рифаксимин, тетрациклин (таблица 2) [92].

Таблица 2. Рекомендуемые антибиотики для лечения СИБР (по Pimentel M., et al. ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth)

Антибиотик	Рекомендованная доза	Эффективность
<i>Неабсорбируемый антибиотик</i>		
Рифаксимин	550 мг 3 р/д	61%-78%
<i>Системный антибиотик</i>		
Амоксициллин-клавулановая кислота	875 мг 2 р/д	50%
Ципрофлоксацин	500 мг 2 р/д	43%-100%
Доксициклин	100 мг 1 р/д	*
Метронидазол	250 мг 3 р/д	43%-87%
Неомицин	500 мг 2 р/д	*
Норфлоксацин	400 мг 1 р/д	30%-100%
Тетрациклин	250 мг 4 р/д	87,5%
*В исследовании не проводились тесты для переоценки СИБР, хотя другие объективные показатели были улучшены.		

Таким образом, в соответствии с действующими диагностическими рекомендациями СИБР усложняет 38,6% (95% CI 25,5%–53,5%) случаев ХП с отношением шансов (ОШ) 5,58 (95% ДИ 2,26%-13,75), что указывает на предрасположенность пациентов с ХП к СИБР. Этиология СИБР при ХП остается неизвестной, представляя лишь гипотетические высказывания. Постоянно обновляющиеся данные свидетельствуют о роли экзокринной дисфункции ПЖ и панкреатогенном СД (ключевой момент: эндокринная дисфункция). Расхождения между методами диагностики и подходам к лечению СИБР очевидны и создают диагностическую и терапевтическую дилеммы [46].

1.6 Общее представление о кишечной микробиоте

Желудочно-кишечный тракт человека - один из крупнейших взаимодействий между хозяином, факторами окружающей среды и антигенами в организме человека. Совокупность микроорганизмов: бактерий, архей и эукариот, колонизирующих желудочно-кишечный тракт, называется кишечной микробиотой [87]. Количество микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт превышает 10^{14} , что включает в ~10 раз больше бактериальных клеток, чем количество клеток человека, и более чем в 100 раз больше геномного содержания (микробиома), чем у генома человека [55]. Наряду с этим Sender R., (2016) в своем исследовании, целью которого был критический пересмотр прежней оценки количества клеток человека и бактерий в организме человека, предполагает, что соотношение клеток человека к бактериальным ближе к 1:1 [108]. Микробиота обеспечивает трофику кишечного эпителия, барьерную функцию по защите кишечника от колонизации оппортунистическими и патогенными микроорганизмами; обмен веществ, синтез витаминов, метаболизм пищевых компонентов, холестерина, желчных кислот, регулирует моторику кишечника и поддерживает иммунный гомеостаз (рисунок 11) [6, 17, 35].

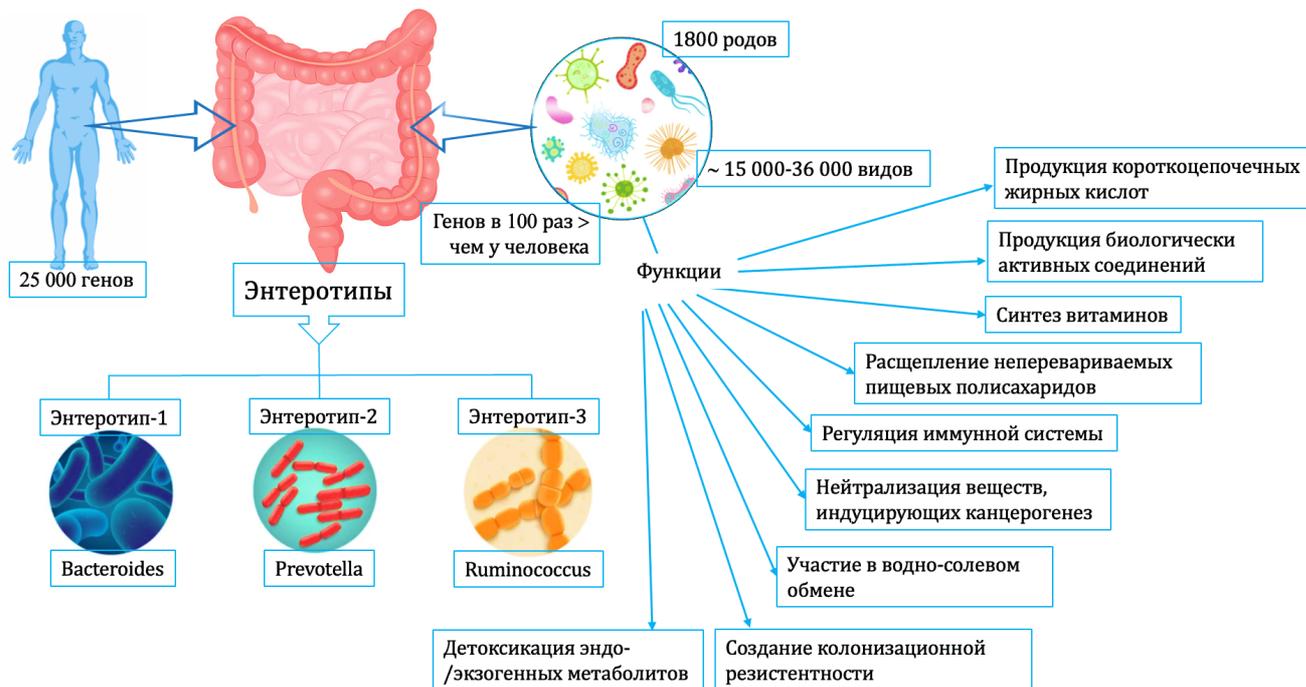


Рисунок 11. Энтеротипы и защитные функции микробиоты

В 2011 г. Arumugam M. выдвинута концепция энтеротипов на основе анализа 33 квалифицированных выборок из разных популяций. Обнаружено, что эти выборки можно разделить на три отчетливых надежных кластера, управляемых дискриминационными родами. К ним относятся *Bacteroides* - энтеротип 1 [97], *Prevotella* - энтеротип 2 [115] и *Ruminococcus* - энтеротип 3 [69].

Суть энтеротипирования состоит в том, чтобы стратифицировать микробиом кишечника человека, выступая в качестве процесса уменьшения размерности, чтобы разбить глобальные вариации микробиома на несколько категорий. Эти категории, названные «энтеротипами», первоначально были описаны как «густонаселенные районы в многомерном пространстве состава сообщества», что означает, что они не имеют четкого разграничения как группы крови человека [35].

Поскольку энтеротипы определяются на основе состава КМ, которая быстро меняется в ответ на вмешательства (например, прием пищи, применение антибиотиков) [45, 98], предполагается, что они не являются постоянными для отдельных людей, а также динамически зависят от различных факторов. Однако изменение

состава микробиоты за короткое время может быть недостаточно для переключения энтеротипа из-за обратимости и относительной стабильности кишечной микробиоты [125]. Кроме того, такие факторы, такие как диета, образ жизни и экологический стресс, различаются на разных возрастных этапах, что делает возраст комбинацией этих факторов, которая в значительной степени влияет как на характер энтеротипа, так и на его идентификацию [39, 90].

Согласно крупнейшим исследовательским группам по изучению микробиома человека, американской Human Microbiome Project (HMP) и европейской Metagenomics of human intestinal tract (MetaHIT), у взрослых кишечная микрофлора представлена двумя преобладающими типами бактерий: *Bacteroidetes* и *Firmicutes* [8]. Недавнее исследование Российских учёных, проанализировавших весь геном микробиомов кишечника 96 субъектов, представляющих здоровое населения сельской и городской местностей России, продемонстрировало, сходство с данными западноевропейских стран. Помимо этого, обнаружены новые структуры сообщества (рисунок 12), в которых преобладают *Firmicutes* и *Actinobacteria*, в здоровых образцах кишечника.

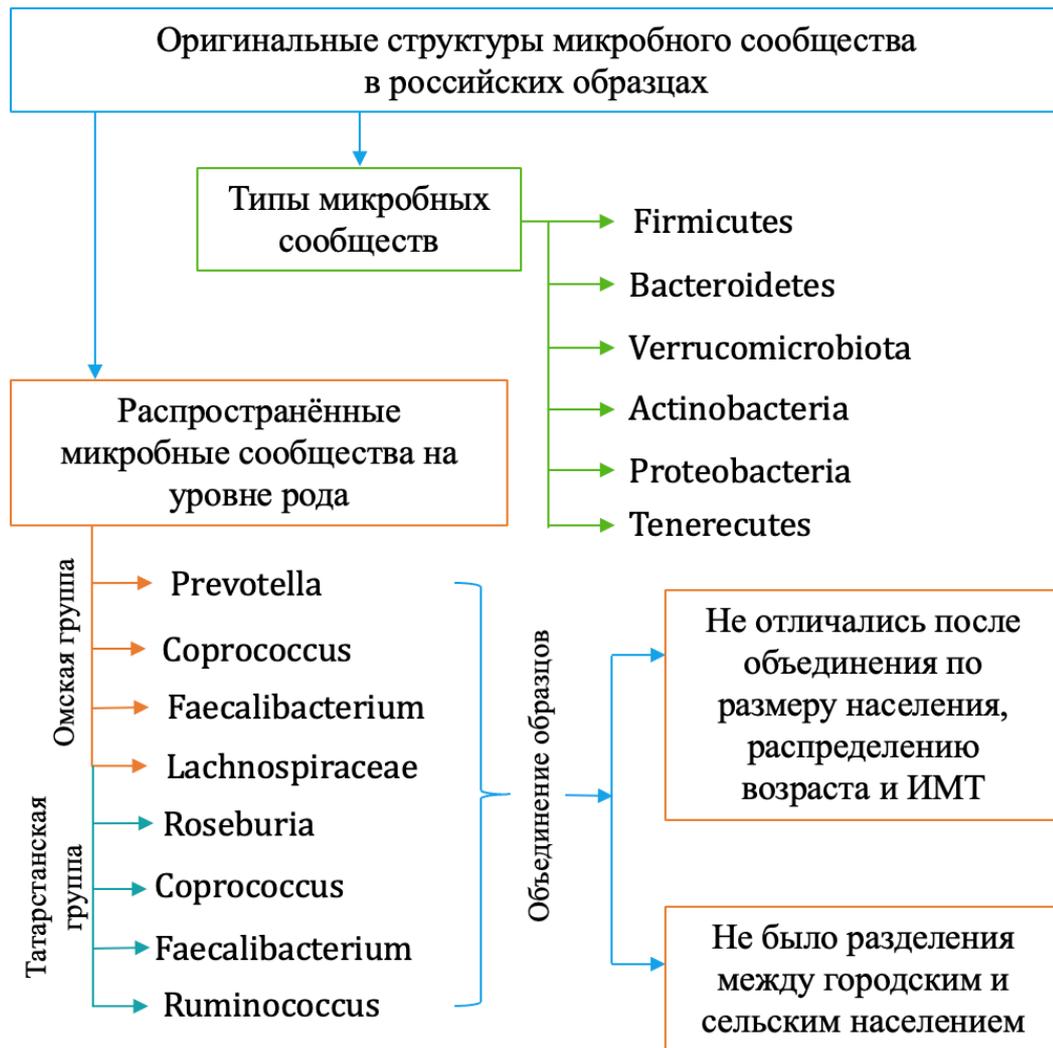


Рисунок 12. Особенности состава кишечной микробиоты здоровых субъектов РФ городской и сельской местностей (адаптировано из [117])

Новые структуры отчётливо обогащены функциональными путями, связанными с *Firmicutes*. Почти в двух третях исследуемых образцов не было обнаружено доминирования *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Большинство из трёх, наиболее распространённых родов, принадлежали *Firmicutes*, за которыми следовали *Bacteroides*, *Verrucomicrobiota*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Tenerecutes*. Обнаружены наиболее распространённые рода: *Bifidobacterium*, *Megamonas*, *Phascolarctobacterium*, *Lactobacillus* или *Akkermansia*. Также в числе находок ряд образцов содержал высокую долю *Esherichia coli*. Наибольший интерес представлял при исследовании

микробиоты различных географических мест. Основные рода Омской подгруппы сельской местности были представлены *Prevotella*, *Lachnospiraceae*, *Coprococcus* и *Faecalibacterium*. В Татарстанской подгруппе, также образцы здорового населения сельской местности, выделены рода *Roseburia*, *Coprococcus*, *Faecalibacterium* и *Ruminococcus*. На основе метаанализа, обнаруженные сообщества в подгруппе не имели никакого сходства с нерусскими образцами. В совокупности набор доминирующих кишечных бактерий был схож на уровне популяции в целом, наряду с чем определены и уникальные структуры, что углубило понимание здоровой экологии микробиома человека и служит ориентиром для дальнейших эпидемиологических исследований [117].

В конце XX века изменились не только методы, но и концептуальные подходы, с помощью которых изучаются природное разнообразие бактерий и их распределение по нишам. Классическая стратегия изучения биоразнообразия – «охота за микробами», выращивание культур [84] и комплексный фенотипический анализ накопленного материала постепенно отходят на задний план. В качестве альтернативы используется полиморфизм определенных участков, прежде всего генов рРНК [19].

За последнее десятилетие способность исследовать широту КМ значительно улучшилась благодаря появлению независимых от культуры подходов, таких как высокопроизводительные и недорогие методы секвенирования, направленные на ген бактериальной *16S рРНК*), так как этот ген присутствует во всех бактериях и содержит девять гипервариабельных областей (V1–V9), что позволяет легко различать виды. В настоящее время фокус секвенирования *16S рРНК* направлен на анализ коротких субрегионов гена в большей глубине [83].

Более надежные оценки состава и разнообразия микробиот могут быть предоставлены метагеномикой дробовика всего генома благодаря более высокому разрешению и чувствительности метода. Объединенные данные MetaHit (METAgonomics of the Human Intestinal Tract) и проекта HMP (Human microbiome project) предоставили наиболее полное представление о микробном репертуаре, связанном с человеком на сегодняшний день [26]. Совокупные данные этих исследований выявили 2172 вида, выделенных от человека, классифицированных на 12

различных типов, из которых 93,5% принадлежат к *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*. Три из 12 идентифицированных типов содержали только один вид, изолированный от человека, включая кишечный вид *Akkermansia muciniphila*, единственного известного представителя типа *Verrucomicrobia*. У человека 386 идентифицированных видов являются строго анаэробными и, следовательно, обычно встречаются в слизистых областях, таких как ротовая полость и желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [63]. В 2014 г. получен обширный каталог функциональной способности микробиома кишечника человека, в котором было идентифицировано 9 879 896 генов с помощью комбинации 249 новых секвенированных и 1018 опубликованных образцов. Исследование выявило наличие микробных сигнатур для конкретной страны, предполагая, что состав микробиоты кишечника формируется факторами окружающей среды, диетой и, возможно, генетикой хозяина [73].

КМ сильно различается у разных людей во времени и пространстве, что считается препятствием для медицинских приложений на основе кишечного микробиома [128].

1.7 Секвенирование бактериального гена *16S рРНК*

Секвенирование ДНК используется с 1970-х годов, ранее оно было слишком дорогим и трудоемким для применения в высокопроизводительных исследованиях. С развитием технологий секвенирования следующего поколения (NGS, Next Generation Sequencing) в 2004 году секвенирование ДНК стало экономически доступным для большинства ученых и позволило секвенировать образцы ДНК окружающей среды, и с тех пор метагеномные исследования постепенно становятся более распространенными [85].

Для достижения целей (рисунок 13) метагеномных исследований кишечника используются стратегии метатаксономики и метагеномики.



Рисунок 13. Основные цели метагеномных исследований кишечника

Метатаксономика заключается в целевом секвенировании гипервариабельных областей гена *16S рРНК* и представляет репрезентативную бактериальную таксономическую оценку [36, 106]. Основные этапы секвенирования представлены на рисунке 14.

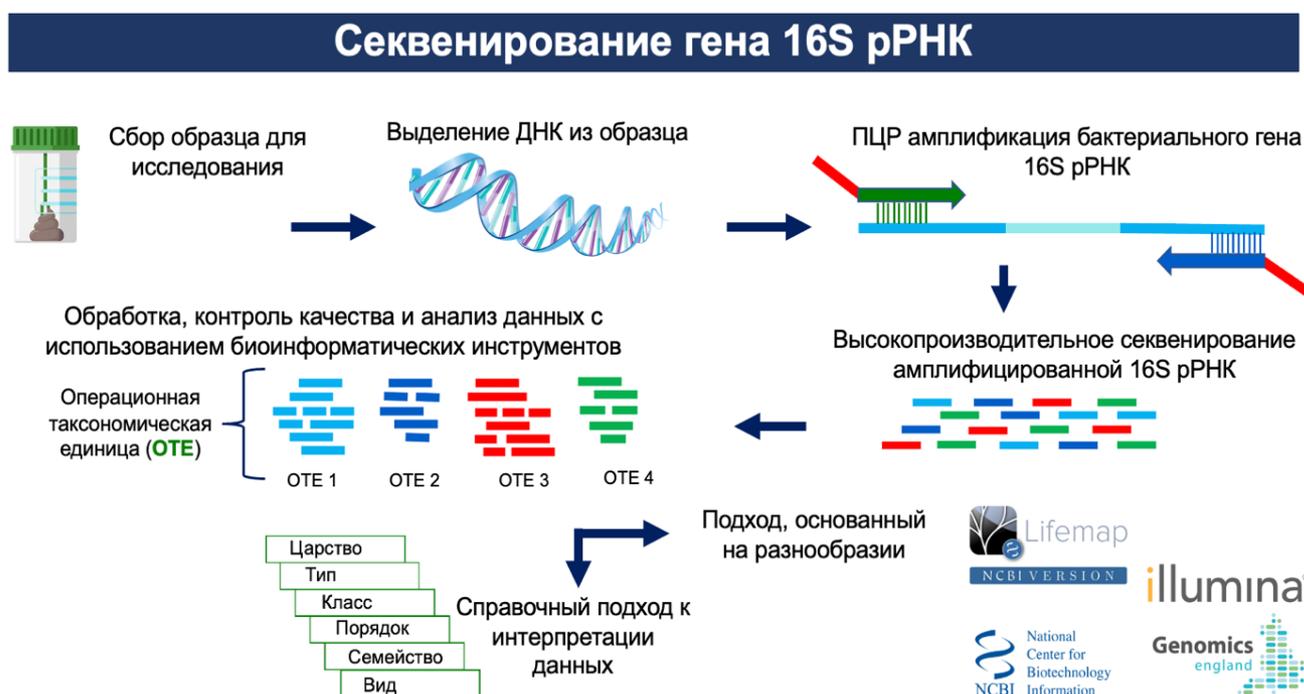


Рисунок 14. Основные этапы секвенирования

Бактериальный ген *16S rRNA* содержит девять переменных областей (от V1 до V9), которые разделены высококонсервативными последовательностями в разных таксонах. Для идентификации бактерий ген *16S rRNA* усиливается полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с праймерами, которые распознают высококонсервативные области гена и секвенируют. Данные секвенирования подвергаются биоинформатическому анализу, в котором переменные регионы используются для дискриминации между бактериальными таксонами. Основные этапы секвенирования отражены на рисунке 14 [65, 66].

Ампликонный анализ гена *16S rRNA* в настоящее время является наиболее распространенным подходом к секвенированию для анализа микробиома, в частности, использованный для анализа большей базы данных, собранных Проектом микробиома человека (HMP). Существующие ограничения этого метода заключаются в том, что аннотация основана на предполагаемой ассоциации гена *16S rRNA* с таксонами, определяемыми как операционная таксономическая единица (ОТЕ, от англ. OTU-operation taxonomic unit). В целом, ОТЕ анализируются на уровне типов или родов и являются менее точными на уровне видов. Кроме того, конкретные гены не секвенируются напрямую, а скорее «предсказываются». Горизонтальный перенос генов и существование многочисленных бактериальных штаммов определяет отсутствие прямой идентификации генов, что потенциально ограничивает понимание микробиома [93]. Общий выход последовательности метатаксономики представляет собой набор кластеров почти идентичных последовательностей - ОТЕ, на базе которых строятся таблицы с дальнейшей биоинформатической обработкой и анализом состава и разнообразия микробных сообществ с дальнейшей клинической интерпретацией биологических явлений [66].

Данные последнего десятилетия, полученные при исследовании КМ, путем секвенирования бактериальных генов *16S rRNA*, как среди здоровой популяции, так и среди лиц с различными патологиями ЖКТ, в частности у пациентов с ХП различной этиологии в том числе с/без ЭНПЖ, предоставляют убедительные данные о масштабном различии профилей кишечной микробиоты, ее участии в патогенезе

различных заболеваний, их осложнений и обострений, а также резистентности к терапевтическим мероприятиям [38, 51, 57, 64, 132].

1.8 Состояние кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы

Исследований в медицинской литературе таксономического состава КМ у пациентов с ХП, в частности с сопутствующей ЭНПЖ, в особенности у пациентов с тяжелой ЭНПЖ, перенесших специфическое вмешательство на ПЖ представлены в единичных работах. Тем не менее, в опубликованных исследованиях достоверно обнаружены различные особенности на разных уровнях иерархической лестницы бактерий (таблица 3) [38, 51, 57, 64, 132].

Таблица 3. Обзор исследований по изучению кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом.

Автор, год	Тип исследования	Исследуемая группа, n	Группа контроля, n	Основной результат, на уровне типов	Основной результат, на уровне родов
Jandhyala S.M., 2017	Обсервационное	n=14, ХП + панкреатогенный СД; n=16, ХП без сопутствующего панкреатогенного СД	n=10, здоровые контроли (члены семьи пациентов)	Увеличены <i>Firmicutes</i> и <i>Actinobacteria</i> ; снижены <i>Bacteroides</i> и <i>Fecalibacterium</i>	Снижение численности <i>Ruminococcus bromii</i> , <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Ciocan D., 2018	Обсервационное	n=24, хронический алкогольный панкреатит (ХАП); n=13, алкогольный гепатит (АГ)	n=45, алкоголь-зависимые контроли (АК), неотягощенные алкогольным гепатитом	В группе ХАП многочисленны <i>Proteobacteria</i> , снижены <i>Bacteroidetes</i> и <i>Fusobacteria</i>	В группе АК наиболее представлены <i>Klebsiella</i> , <i>Enterococcus</i> и <i>Sphingomonas</i> ; в группе АГ наиболее многочисленны <i>Haemophilus</i> , <i>Sutterella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> ,

					<i>Faecalibacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Paraprevotella</i> и <i>Fusobacterium</i> ; в группе ХАП наиболее пред- ставлены <i>Serratia</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> и <i>Enterococcus</i>
Hamada S.,2018	Обсерва- ционное	(n=8), хронический панкреатит (ХП)	(n=12) аутоиммунный панкреатит (АИП)	Различий между группами нет; типы не указаны	В группе ХР наиболее пред- ставлены <i>Bac- teroides ovatus</i> , <i>Streptococcus aus- tralis</i> , <i>Streptococ- cus gordonii</i> , <i>Clos- tridium lavalense</i> , <i>Clostridium lac- tatifermentans</i>
Zhou С.-Н., 2019	Обсерва- ционное	n=71, хрониче- ский панкреа- тит (ХП); до- полнительно группа ХП раз- делена на под- группы: 1) ХП и наличие внешнесекре- торной недо- статочности (ВНПЖ) (n=42); 2) ХП без ВНПЖ (n=28)	n=69, группа здоровых кон- тролей (ЗК)	В группе ХП сни- жены <i>Firmicutes</i> и <i>Actinobacteria</i> , наиболее пред- ставлены <i>Proteobacteria</i>	В группе ХП уве- личены <i>Escherichia- Shigella</i> , <i>Dialister</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Prevotella_7</i> ; зна- чительно снижены <i>Faecalibacterium</i> , <i>Subdoligranulu</i> , <i>Prevotella_9</i> , <i>Megamonas</i> , <i>unclassified_f_Lach- nospiraceae</i> , <i>unclassified_f_Pept- ostreptococcaceae</i> , <i>Collinsella</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> <i>_UCG-003</i> , <i>Butyricicoccus</i> , и <i>Dorea</i>

Frost F., 2020	Обсервационное	n=51, хронический панкреатит (ХП)	n=102, непанкреатогенные заболевания	В группе ХП и группе контроля наиболее представлен род <i>Bacteroides</i> , с превалированием в группе ХП; <i>значительно снижены в группе ХП Faecalibacterium</i> и <i>Prevotella</i>	В группе ХП увеличены <i>Escherichia</i> (значительно), <i>Streptococcus</i> , <i>Esherichia</i> , <i>Shigella</i>
----------------	----------------	-----------------------------------	--------------------------------------	--	--

По данным анализа изменений КМ, полученных методом секвенирования гена *16S rPHK*, 40 пациентов, разделенных на группы: пациенты с ХП, отягощенным панкреатогенным СД, пациенты с ХП без диабета, обнаружено статистически значимое снижение численности *Faecalibacterium prausnitzii* в группе пациентов без диабета в сравнении с группой здоровых, и её значительное снижение в группе ХП с диабетом. Данному виду бактерий присущи свойства с цитопротективным действием, являясь производителем бутирата обеспечивает клетки толстого кишечника питательными веществами, стимулируя синтез муцина повышает его барьерную функцию, и др. Другой находкой было снижение численности *Ruminococcus bromii* в обеих группах с ХП по сравнению со здоровыми. Особенностью вида является способность к расщеплению ферментов и крахмала, крайне устойчивого к перевариванию. Снижение уровня таких бактерий потенцирует истощение барьерной функции слизистой толстой кишки и изменениям в гомеостазе эпителиально-бактериологических связей [64].

При сравнении КМ пациентов с хроническим алкогольным панкреатитом (ХАП), пациентов с алкогольной зависимостью с/без гепатита алкогольной этиологии выявлены принципиально другие изменения. На фоне общего снижения разнообразия и количественного бактериального состава, на уровне типов у пациентов с ХАП в сравнении с алкогольными контролями (АК) наиболее многочисленным был тип *Proteobacteria*, а *Bacteroidetes* и *Fusobacteria* снижены. Обнаружены изменения на уровне рода с наибольшей представленностью *Klebsiella*, *Enterococcus* и

Sphingomonas, особенно в группе АК. У пациентов с ХАП среди 17, статистически значимых родов, наибольшую распространенность имели бактерии *Serratia*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и *Enterococcus* [50].

В исследовании Ciocan D., и соавт. (2018 г.) численность потенциальных патогенных родов была увеличена в группе пациентов с ХП, таких как *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, ассоциирующиеся с системными воспалениями и инфекциями [38].

У пациентов с аутоиммунным панкреатитом (АИП) в сравнении с ХП другой этиологии различий на уровне типа не обнаружено. На видовом уровне некоторые представители КМ были более представлены в группе ХП неаутоиммунного генеза: *Bacteroides ovatus*, *Streptococcus australis*, *Streptococcus gordonii*, *Clostridium lavalense*, *Clostridium lactatifermentans*. Допускается, что наиболее вероятные причины увеличения процента этих видов могут быть: снижение ПФ и мальабсорбция. Хотя исследование проведено на небольшой выборке пациентов (n=12), авторы утверждают, что понимание степени реорганизация КМ при ХП может быть полезно для дифференциальной диагностики ХП [57].

Недавнее исследование, на сравнительно большой выборке, состава КМ у пациентов с ХП (n=68) в сравнении с группой здоровых контролей (ЗК), продемонстрировало снижение численности *Firmicutes* и *Actinobacteria*, с увеличением количества *Proteobacteria* на уровне типов, и преобладание *Escherichia-Shigella*, *Dialister*, *Parabacteroides*, *Prevotella_7* на уровне типов, наряду со снижением *Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, *Prevotella_9*, и др. на уровне рода. Деление на подгруппы в соответствии с наличием/отсутствием ЭНПЖ не показало статистически значимой разницы в а-разнообразии, с противоположным результатом в б-разнообразии. Как превалирующие роды идентифицированы *Eubacterium_rectale_group*, *Coprococcus*, *Sutterella*, и *Eubacterium_ruminantium_group*. Доминирующими родами, с заметным снижением доли «полезных» бактерий, в группе ХП без ЭНПЖ были *Pseudomonas*, *Fusobacterium*, и *Ruminococcus_gnavus_group*, а *Lachnoclostridium* и *Bifidobacterium* положительно коррелировали с группой ХП и наличием ЭНПЖ [131]. Снижение уровня фекальной эластазы-1 кала

ассоциировано с вариабельностью состава и структуры КМ, а состояние клеток ПЖ при ХП является наиболее значимым фактором, связанным с гомеостазом КМ [50].

В метаанализе Frost F., и соавт. (2020 г.) доказали, что кишечная микробиота у пациентов с ХП характеризуется значительным преобладанием оппортунистических бактерий и явлениями дисбиоза, объявив новые положения: ХП связан с высоким риском развития микробного дисбиоза кишечника, степень которого не зависит от ЭНПЖ; при ХП бактерии продуценты короткоцепочечных жирных кислот снижены; оппортунистические патогены, ранее выявленные у пациентов с панкреонекрозом, в частности род *Enterococcus* значительно увеличены [51].

Таким образом на фоне общего снижения таксономического разнообразия накладывается значительная неоднородность результатов не только на уровне типовой представленности, но и на уровне родов и видов. Каждое из исследований имеет ряд недостатков и неточностей, хотя и доказывает, что у пациентов с ХП, в особенности с сопутствующей ЭНПЖ, КМ имеет другой состав, численность и представленность по сравнению с контрольными группами (например, здоровыми контролями, пациентами имеющие другую патологию или не имеющие панкреатогенных заболеваний). Наиболее популярной гипотезой причины изменения качественного и количественного состава КМ (снижения разнообразия, активации условно-патогенных бактерий и роста оппортунистических патогенов) у пациентов с ХП различной этиологии, осложненной ЭНПЖ, является снижение уровня антимикробных пептидов. Обнаруженные изменения в кишечной микробиоте у пациентов с ХП вносят вклад в прогрессирование ХП, способствуя развитию осложнений и затрудняя терапевтические мероприятия [15].

Несмотря на находки остаются недостаточно изученными ряд вопросов: является ли дисбиоз КМ причиной или следствием ХП; как меняется качественный и количественный состав КМ у пациентов с ХП и ЭНПЖ от её отсутствия до развития тяжёлой степени; как влияет эффективность ЗФТ на структуру и состав КМ; возможна ли нормализация состава и структуры КМ при ЭНПЖ различной степени персонализированным подбором режима ЗФТ?

Изменения в составе кишечной микробиоты связаны с ХП, но имеющиеся данные до сих пор не дают возможности использовать их в качестве диагностического и прогностического маркера ХП в том числе отражающего тяжесть заболевания. Дальнейшие изучения кишечного микробиома при ХП, в частности с ЭНПЖ необходимы, т.к. позволят изменить представление о патогенезе и подходах в терапии, представляя возможность избежать не только гипердиагностики, но и улучшить прогноз у таких пациентов, используя не полипрагмазию, а проводя персонализированный подбор эффективной дозы ферментной терапии, диетических рекомендаций, избегая неправомерного назначения дополнительной (вспомогательной) терапии, в том числе антибиотикотерапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования и первичный отбор пациентов

На клинической базах кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ: Частного учреждения здравоохранения (ЧУЗ) «ЦКБ «РЖД-Медицина» и ГБУЗ Московского Клинического Научного Центра (МКНЦ) им. А.С. Логинова департамента здравоохранения Москвы (ДЗМ) проведено двухэтапное, сравнительное, проспективное исследование с ретроспективным анализом, в рамках которого произведен сбор образцов кала для исследования таксономического состава кишечной микробиоты. Анализ образцов биологического материала (образцы кала), секвенирование, а также статистическая обработка полученных результатов проводились на базе ФГБУ "Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины ФМБА".

Всего в исследование было включено 132 пациента мужчины и женщины от 30 до 70 лет с верифицированными хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы различной степени тяжести прошедших лечение на базах ЦКБ No2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД» и ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ в период с 2019 по 2021 годы.

Группы пациентов

Для реализации, поставленных задач исследования было выделено 3 группы пациентов с верифицированным хроническим панкреатитом с/без сопутствующей экзокринной недостаточности поджелудочной железы, рандомизированные по степени тяжести последней; в качестве контрольной группы, проанализированные ранее метагеномы здоровых субъектов Российской Федерации:

1) Группа I – пациенты с верифицированным хроническим панкреатитом без экзокринной недостаточности поджелудочной железы, n=48;

2) Группа II – пациенты с верифицированным хроническим панкреатитом и сопутствующей экзокринной недостаточностью поджелудочной железы лёгкой степени тяжести, n=33;

3) Группа III – пациенты с верифицированным хроническим панкреатитом и сопутствующей экзокринной недостаточностью поджелудочной железы тяжёлой степени, n=51;

4) Контрольная группа - набор, проанализированных ранее метагеномов от здорового населения Российской Федерации, n=96 (Набор из проанализированных ранее метагеномов от здорового населения Российской Федерации [117]).

Критерии включения, невключения и исключения

I. Критерии включения:

1. Пациенты мужского или женского пола от 30 до 70 лет
2. Анамнестические критерии ХП: регулярное употребление алкоголя (более 100 г/сут) и/или табакокурение в течение нескольких лет и/или доказанная патология билиарного тракта, документированный острый панкреатит в анамнезе;
3. Клинические проявления ХП и ЭНПЖ*: стеаторея, диарея, метеоризм, флатуленция, абдоминальная боль и/или дискомфорт, симптомы диспепсии, потеря массы тела при адекватном калораже рациона в отсутствие других объективных причин похудения;
4. Признаки ХП по данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) органов брюшной полости: изменение размеров ПЖ, дилатация главного панкреатического протока (ГПП) более 2 мм и/или повышение эхогенности стенок, неровность контуров и неоднородность паренхимы ПЖ, наличие конкрементов или кальцификации паренхимы ПЖ;
5. Значения панкреатической эластазы-1 кала:
 - a) 100 – 200 мкг/кг для пациентов группы II (лёгкая степень ЭНПЖ);
 - b) <100 мкг/кг для пациентов группы III (тяжёлая степень ЭНПЖ).
6. Подписанное информированное согласие пациента на участие в исследовании

* В исследование включались пациенты, имеющие все 5 критериев (Группы II и III).

** В исследование, для первого этапа, включались пациенты, соответствующие всем критериям, кроме пункта 5, у которых уровень панкреатической эластазы-1 кала >200 мкг/г.

II. Критерии невключения

1. Клинико-инструментальные и лабораторные признаки острого панкреатита;
2. Наличие гепатита, цирроза печени любой этиологии;
3. Кислотозависимые заболевания, требующие безотлагательной или долгосрочной терапии ингибиторами протонной помпы (ИПП) (гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, обострение язвенной болезни желудка и/или ДПК; острые эрозии гастродуоденальной зоны любой этиологии; синдром Золлингера-Эллисона и др.);
4. Стеноз выходного отдела желудка или ДПК;
5. Состояние после резекции желудка или гастрэктомии;
6. Обструктивный и аутоиммунный ХП;
7. Любые другие причины хронической диареи (синдром раздраженного кишечника с преобладанием диареи, глютеновая энтеропатия, лактазная недостаточность, воспалительные заболевания кишечника и др.);
8. Сопутствующий прием препаратов, прямо влияющих на экзокринную панкреатическую секрецию (октреотид);
9. Любые сопутствующие заболевания в стадии декомпенсации (сердечно-сосудистая, почечная недостаточность, сахарный диабет и др.);
10. Любые опухолевые (злокачественные) заболевания органов пищеварения и других локализаций, химиотерапия и лучевая терапия в анамнезе;
11. Хронические инфекционные заболевания, требующие постоянной (длительной) поддерживающей терапии, включая ВИЧ-инфекцию и др.;
12. Гиперчувствительность к панкреатину;

13. Применение про-/пре-/синбиотиков, ИПП, менее чем за 2 недели и антибиотиков менее чем за месяц до исследования;

14. Беременность и лактация;

15. Одновременное участие в других клинических исследованиях.

* В исследовании не включались пациенты, имеющие любой из вышеприведенных критериев.

** Запрещенная сопутствующая терапия: про-/пре-/синбиотики, включая препараты пищевых волокон и лактулозу, антибиотики и кишечные антисептики, лоперамид, энтеросорбенты.

III. Критерии исключения

Использование запрещенной сопутствующей терапии в процессе исследования

2.2 Основные этапы исследования

В соответствии с дизайном исследования отобрано 132 пациента с ХП, из которых 84 пациента имели сопутствующую ЭНПЖ, вошедшие в группы II и III, и 48 пациентов не имеющих ЭНПЖ, представляющие группу сравнения (Группа I).

Диагноз ХП и ЭНПЖ были установлены на основании методов визуализации для первого, и анализа фекальной эластазы-1 кала для определения степени ЭНПЖ. На основании жалоб пациента на абдоминальные боли и/или дискомфорт в верхнем квадранте живота, проявлений синдрома диспепсии, наличия диареи, стеатореи, метеоризма, а также на основании объективного осмотра и ознакомлением с медицинской документацией (при наличии) установлен предварительный диагноз. ХП был верифицирован на основании данных метода визуализации МСКТ. Степень тяжести ЭНПЖ определялась на основании показателей фекальной эластазы-1, в соответствии с дизайном исследования. Основные этапы клинического исследования изложены на рисунке 15.

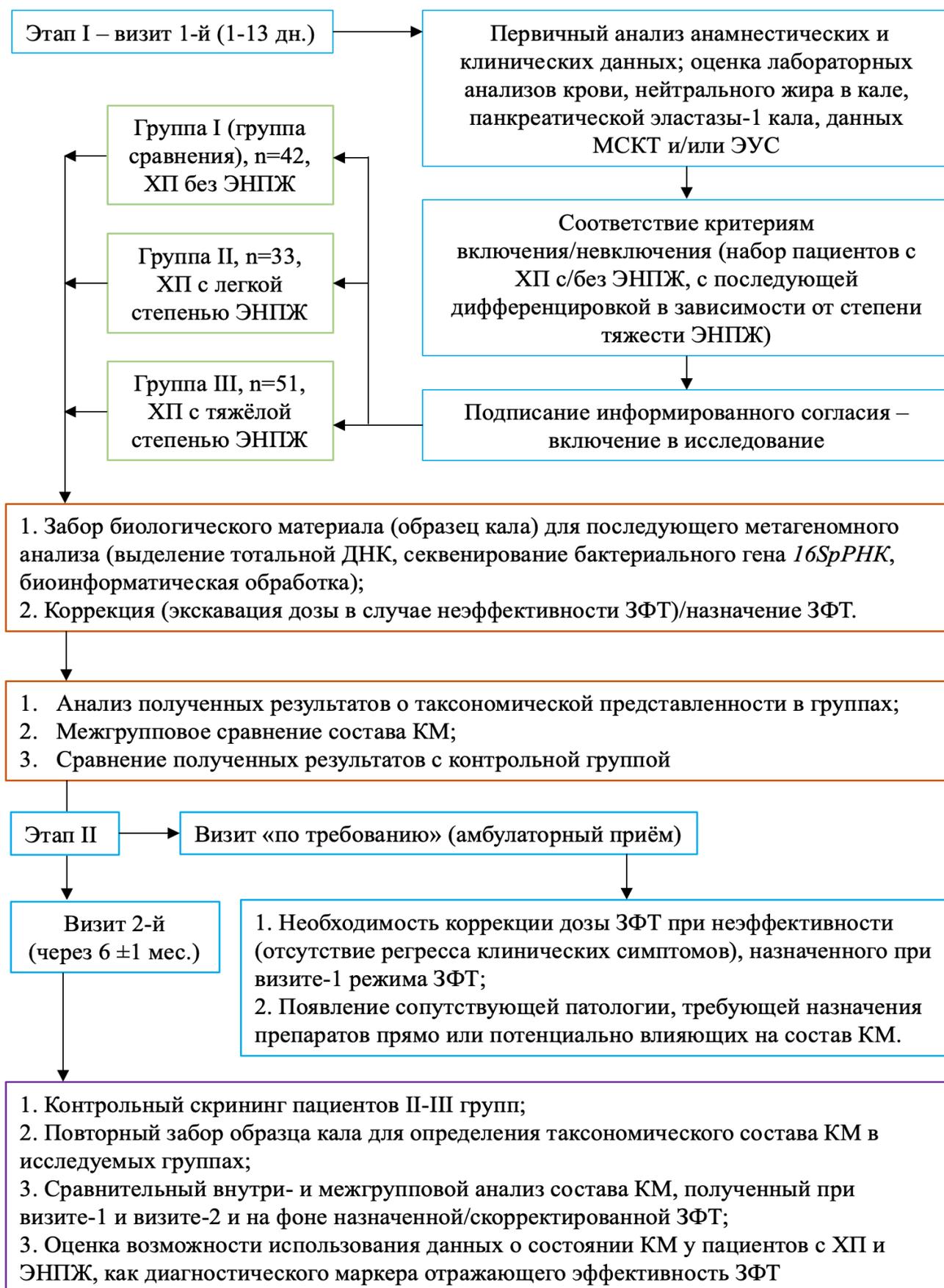


Рисунок 15. Дизайн и основные этапы исследования

2.3 Методы исследования

Клинические методы обследования участников исследования

1) Опрос с выявлением жалоб

Основные жалобы, предъявляемые пациентами:

- боль/чувство давления/тяжести в эпигастральной области, часто с иррадиацией в спину и усилением после приема пищи, купирующаяся/с меньшей интенсивностью при наклоне тела вперед в положении сидя; рецидивирующая (приступы боли как непродолжительные до 10 дней, так и длительные/постоянные 1-2 мес.);
- диарея (дефекация ≥ 3 раз в сутки);
- консистенция кала типов 6, 7 по Bristol scale (таблица);
- стеаторея;
- потеря массы тела, без самостоятельной редукции диеты, на фоне сохраненного аппетита;
- метеоризм, флатуленция, субъективное чувство урчания, ощутимой перистальтики.

Таблица 4. Бристольская шкала консистенции кала

Тип 1	Отдельные твёрдые комки, как орехи, трудно продвигаются
Тип 2	В форме колбаски, но комковатый
Тип 3	В форме колбаски, но с ребристой поверхностью
Тип 4	В форме колбаски или змеи, гладкий и мягкий
Тип 5	Мягкие маленькие шарики с ровными краями
Тип 6	Рыхлые частицы с неровными краями, кашицеобразный стул
Тип 7	Водянистый, без твёрдых частиц

2) Сбор анамнеза настоящего заболевания и анамнеза жизни

Подробно и в хронологической последовательности осуществлён сбор информации об анамнезе настоящего заболевания: возникновение, течение и развитие от первых проявлений (факторы способствующие развитию, длительность, динамика, первое обращение к врачу, и др.) до момента обследования, на момент которого особое внимание уделялось уточнению частоты обострений и длительности ремиссий, применявшимся диагностическим мероприятиям и их результатам (данных лабораторных анализов и методов визуализации (КТ), а также схемам лечения (уточнялись все принимаемые медикаментозные препараты и их дозировка) с ретроспективной оценкой эффективности.

При сборе анамнеза жизни уточнялось наличие вредных привычек, в частности злоупотребление алкоголем (частота приема и крепость спиртосодержащих напитков) и табакокурение (продолжительность, количество выкуриваемых сигарет в сутки) с расчетом индекса курения (ИК) по формуле: $ИК = \text{стаж курения (количество лет)} \times \text{количество выкуриваемых сигарет за сутки} / 20$ (единица измерения – количество пачек/лет). Изучался наследственный анамнез относительно рака поджелудочной железы, случаев острого и/или хронического панкреатита у родственников не менее третьего ранга. Уточнялось наличие сопутствующей патологии, данные о сроках проведенных курсов антибактериальной терапии (дозировки, длительность приёма) или ингибиторами протонной помпы (ИПП), данные о применении другой лекарственной терапии ранее или на момент опроса. Если у пациентов были выявлены патологические состояния или другие явления, соответствующие критериям невключения, они были исключены из исследования.

3) Настоящее состояние исследуемых пациентов

При физикальном осмотре измерялись антропометрические данные (рост, вес) с последующим вычислением индекса массы тела (ИМТ; индекс Кетле - показатель отношения веса к росту), производимого по формуле:

$$\text{ИМТ} = \frac{m}{h^2}$$

где m — масса тела в килограммах, h — рост в метрах, и измеряется в $\text{кг}/\text{м}^2$.

Таблица 5. Показатели ИМТ и степеней ожирения

Соответствие между массой человека и его ростом	Индекс массы тела, $\text{кг}/\text{м}^2$
Выраженный дефицит массы тела	≤ 16
Недостаточная (дефицит) масса тела	16-18,5
Нормальная масса тела	18,5-25
Избыточная масса тела	25-30
Ожирение I степени	30-35
Ожирение II степени	35-40
Ожирение III степени (морбидное)	≥ 40

Также оценивались состояние кожных покровов, придатков кожи; степень развития подкожной жировой клетчатки; исследование мышечной системы посредством измерения окружности мышц на уровне середины плеча (ОМПС); исследование костно-суставной системы. Вычисления ОМПС производили по формуле:

$$\text{ОМП} = \text{ОП} - \pi \times \text{КЖСТ}$$

где ОМП (см) – окружность мышц плеча; $\pi=3,14$; КЖСТ (см) – кожно-жировая складка над трицепсом; ОП (см) - окружность плеча. Показатели ОМП считаются ниже нормы и свидетельствуют о белково-энергетической недостаточности, если ниже 21 см у женщин и ниже 23 см у мужчин. При осмотре живота определяли симметричность, форму и окружность. Определяли характер перкуторного звука и

отсутствие свободной или осумкованной жидкости. При пальпации живота определяли наличие, точную локализацию боли, её характер, иррадиацию; исключалось напряжение мышц брюшной стенки. В заключении аускультативная картина выслушиваемой перистальтики.

4) Лабораторная оценка нутритивного статуса на основании биохимических и общеклинических показателей

Всем пациентам выполнялся клинический анализ крови в стандартном объеме, в частности определялось содержание гемоглобина и уровень абсолютного количества лимфоцитов. Биохимический анализ крови включал определение уровней глюкозы, амилазы, холестерина, уровней цитолитических и холестатических ферментов печени, а также общего белка и альбумина. Определение последних двух, а также уровней гемоглобина и абсолютного количества лимфоцитов считается общедоступной и показательной лабораторной оценкой нутритивного статуса, а их своевременная коррекция существенно улучшает прогноз течения заболевания [4].

5) Копрологическое исследование

Всем пациентам выполнялось копрологическое исследование с микроскопией капелек нейтрального жира. В соответствии с протоколом пациенты должны были соблюдать диету в течение 5 дней с высоким содержанием жира и отменой заместительной ферментной терапии (ЗФТ). У ряда пациентов отмена ЗФТ не представлялась возможной и/или имела субъективную непереносимость жирной пищи. В связи с чем результат нельзя считать достаточно чувствительным [4].

6) Определение активности фекальной эластазы-1

Наличие или отсутствие, а также степень ЭНПЖ определялось активностью панкреатической эластазы-1 в кале. Сущность данного теста состоит в определении концентрации фекальной панкреатической эластазы-1 иммуноферментным методом с дополнительным определением массы сухого вещества кала. Концентрацию фекальной панкреатической эластазы-1 в 1 грамме сухого вещества кала рассчитывают по формуле:

$$Cd = \frac{(Ca \cdot M1)}{Md1}$$

где Cd - концентрация эластазы-1 в 1 г сухого вещества кала; Ca - концентрация эластазы-1 в 1 г кала, полученная с помощью иммуноферментного анализа; $M1$ - любая масса кала, используемая для определения сухого вещества кала; $Md1$ - масса сухого вещества кала, содержащаяся в $M1$. При этом нормальными значениями концентрации фекальной эластазы-1 считают от 1000 до 2500 мкг на 1 г сухого вещества кала. Использование способа позволяет определять содержание фекальной панкреатической эластазы-1 (ПЭ-1) при любой консистенции кала, что дает возможность контролировать содержание фекальной панкреатической эластазы-1 в динамике вне зависимости от изменения консистенции кала у пациентов [5, 68].

Определение ПЭ-1 является простым для косвенной и неинвазивной оценки секреторной функции ПЖ. Тест является широкодоступным в рутинной практике, а от пациента требуется лишь небольшой образец кала для анализа. Тем не менее существуют ограничения метода, которые необходимо учитывать. Общепринято, что чем ниже концентрация ПЭ-1, тем выше вероятность ЭНПЖ. Вместе с тем тест не способен исключить легкую степень ЭНПЖ, а высокие значения не всегда свидетельствуют об отсутствии ЭНПЖ. Также следует учитывать вероятность ложноположительных результатов из-за разбавления кала у пациентов с диареей. Не достигнут и общемировой консенсус относительно цифр, которые бы однозначно дали ответ о степени тяжести секреторной недостаточности.

Согласно рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации (РГА) по диагностике и лечению ХП снижение содержания эластазы в кале от 0–100 мкг/г соответствует тяжелой степени экзокринной недостаточности; 101–200 мкг/г средней или легкой степени. Определять уровень эластазы в динамике не имеет смысла, т.к. количество оставшихся ацинарных клеток, функционально готовых к секреции, увеличиться не может [4, 75].

7) Компьютерная томография органов брюшной полости

В соответствии с дизайном исследования всем пациентам проводились: УЗИ органов брюшной полости (как метод первичного скрининга по поводу необъяснимой абдоминальной боли), компьютерная томография и/или (по показаниям) эндоскопическая ультрасонография. Допускалась интерпретация КТ-исследования, данные которого имелись при поступлении. В качестве данных, подтверждающий наличие ХП, в соответствии с РГА по диагностике и лечению ХП, были приняты:

- Атрофия железы;
- Наличие конкрементов в протоках;
- Дилатация главного панкреатического протока (ГПП);
- Интра- или перипанкреатические кисты;
- Утолщение перипанкреатической фасции;
- Тромбоз селезеночной вены;
- Неоднородность структуры железы;
- Нечеткость контуров и увеличение размеров ПЖ [4].

Метагеномное секвенирование

Выделение тотальной ДНК проводили с помощью набора MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit (Roche, США) и автоматической выделительной станции KingFisher Flex (Thermo Scientific, США). Подготовка библиотек и их секвенирование осуществляли в соответствии с протоколом 16S Metagenomic Sequencing Library preparation для MiSeq, Illumina.

Для амплификации использовали переменный регион V3-V4 гена *16s рPHK*. Приготовление библиотек 16S проводили набором Tersus PCR kit (Evrogen, Россия), использовались праймеры 341F и 801R для амплификации региона V3-V4 гена *16S рPHK*, для баркодирования образцов использовались уникальные комбинации индексирующих праймеров, являющихся аналогами праймеров из набора Nextera XT Index Kit v2 (Illumina, США).

Процедуру секвенирования осуществляли с помощью инструмента MiSeq с использованием набора реагентов для секвенирования MiSeq Reagent Kit v2 (500cycle) (Illumina, США) согласно рекомендациям производителя.

2.4 Тактика оценки эффективности заместительной ферментной терапии

На основании жалоб, анамнеза, данных физикального осмотра, лабораторных показателей и методов визуализации верифицированы: диагноз хронического панкреатита, отсутствие/ наличие и степень тяжести экзокринной недостаточности поджелудочной железы; проведены корреляции между эффективностью проводимой заместительной терапии с таксономическим составом кишечной микробиоты, а также проанализирована изменчивость кишечной микробиоты от случаев с отсутствием экзокринной недостаточности к тяжёлой степени ЭНПЖ.

2.5 Этическая экспертиза

Согласно решению Межвузовского Комитета по этике ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России от 28.01.2021г., выписка из протокола № 01–21, работа соответствует требованиям этической экспертизы. Каждому пациенту была предоставлена полная информация об исследовании и получено добровольное подписанное согласие на участие в исследовании.

2.6 Методы статистической обработки данных

Данные анамнеза, клинических, лабораторных и инструментальных исследований пациентов были сгруппированы и внесены в таблицу электронной базы данных Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, США). Дальнейшая статистическая обработка данных проведена при помощи специального программного обеспечения AnalystSoft Inc. (Калифорния) в среде macOS (statistical analysis program for macOS®. Version v8. See <https://www.analystsoft.com/en/>).

Перед каждым сравнением групп данные проходили проверку на нормальность распределения. Для определения сопоставимости пациентов, исследуемых групп, в отношении демографических показателей, ИМТ, клинических проявлений

проводились вычисления среднего значения и его стандартного отклонения (СО) в случаях с нормальным распределением или медианы и интерквартильного интервала при (в случае наличия критически больших или малых показателей) при ненормальном распределении. В случае сравнения групп по количественному признаку с ненормальным распределением использовали критерии Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова (для сравнения двух групп) и критерии Краскела-Уоллиса (при сравнении трёх групп) [21]. Для статистического анализа качественных признаков при сравнении двух групп использовали критерий χ^2 и точный критерий Фишера. Взаимосвязь качественных признаков оценивали при помощи коэффициента корреляции Вилкоксона. Качественные данные представлены в виде относительных и абсолютных величин. Во всех случаях полученные результаты были достоверными при $p < 0,05$ [18, 20].

Биоинформатическая обработка данных секвенирования

При помощи метода `filterAndTrim` из пакета `DADA2` проводили фильтрацию низкокачественных последовательностей. Также пакет `DADA2` использовали для получения вариантов последовательностей ампликонов (аналог ОТЕ-операционная таксономическая единица).

Полученные последовательности ампликонов таксономически аннотировали методом `idTaxa` из пакета `DECIPHER` (версия 11.7) с использованием базы последовательностей рРНК `Silva` (версия 138.1, nr99).

Статистический анализ представленности последовательностей ампликонов выполняли на языке программирования `R` (версия 4.0.2).

Для расчета индекса β -разнообразия значения представленности вариантов последовательностей ампликонов (`ASV`, `Amplicon Sequence Variant`) нормализовали при помощи функции `transform` пакета `microbiome` (версия 1.10.0). Матрица попарных расстояний рассчитывалась по метрике Брея-Кертиса с помощью функции `dist` пакета `phyloseq` (версия 1.32.0).

Значения меры α -разнообразия рассчитывали, как индекс Шеннона при помощи функции `plot_richness` пакета `phyloseq` (версия 1.32.0).

Анализ дифференциальной представленности для групп сравнения был выполнен с использованием инструмента Deseq 2 (версия 1.28.1). Учитывая факт, что между исследуемыми группами пациентов были различия в наборе метаданных, анализ дифференциальной представленности проводили с учетом влияния данных факторов на состав микробиоты в качестве ковариат.

При проверке статистических гипотез минимальный уровень α составил 0,05 (по методу Бенджамини-Хохберга), а размер эффекта $\log_2\text{foldchange}$ -1.5.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Этап I. Визит первый. Первичное обследование пациентов

В исследование включено 132 пациента 63 мужчины (47,7%) и 69 (52,3%) женщин, средний возраст которых составил $52 \pm 11,0$ лет. Гендерный состав, в том числе средний возраст мужчин и женщин по группам представлены в таблице. Распределение по полу и возрасту в исследуемых группах представлено в таблице 6.

Таблица 6. Соотношение пациентов в исследуемых группах по полу и возрасту

№ группы	Число пациентов в группе	Мужчины n (%)	Средний возраст	Женщины n (%)	Средний возраст
I	48	21 (43,7%)	$55,1 \pm 11,3$	27 (56,3%)	$54,8 \pm 12,2$
II	33	21 (63,6%)	$50,8 \pm 10,0$	12 (36,4%)	$52,2 \pm 10,4$
III	51	24 (47,1%)	$49 \pm 11,1$	27 (52,9%)	$54 \pm 12,7$

3.2 Клиническая характеристика обследованных пациентов

В ходе сбора анамнеза было выявлено 56 (42%) пациентов (процентное соотношение представлено на рисунке 16) являющихся активными курильщиками со средним стажем курения $21,7 \pm 8,02$. Не обнаружено статистически значимых различий ($p > 0,05$), как в соотношении по количеству курящих, так и относительно стажа курения. Процентное соотношение курящих и некурящих пациентов в каждой группе представлено на рисунке.

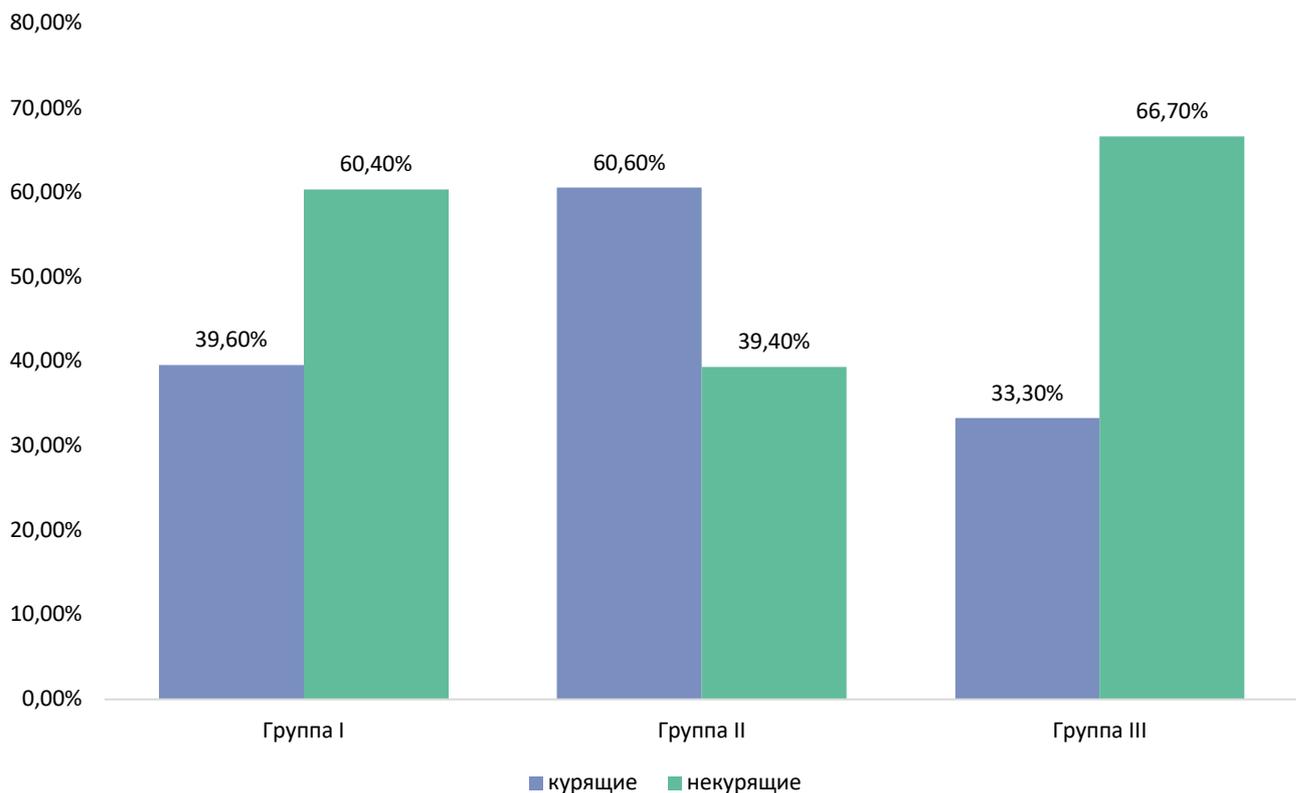


Рисунок 16. Соотношение курящих и некурящих в группах

Из числа сопутствующих заболеваний чаще наблюдались патологии сердечно-сосудистой системы в 45% случаев и органов дыхания в 23% случаев от генеральной совокупности исследуемых групп.

Средняя продолжительность заболевания ХП в группе с ХП без экзокринной недостаточности составила $2,5 \pm 1,84$ лет, у большей части пациентов диагностирована впервые. Средняя продолжительность ХП в группе с лёгкой степенью экзокринной недостаточности составила $4,4 \pm 2,52$ (интерквартильный размах (ИКР) 2; 6) года, а в группе с тяжёлой $7,3 \pm 5,12$ (ИКР 4; 10). Информация о структуре ХП у обследованных пациентов представлена на рисунке 17.

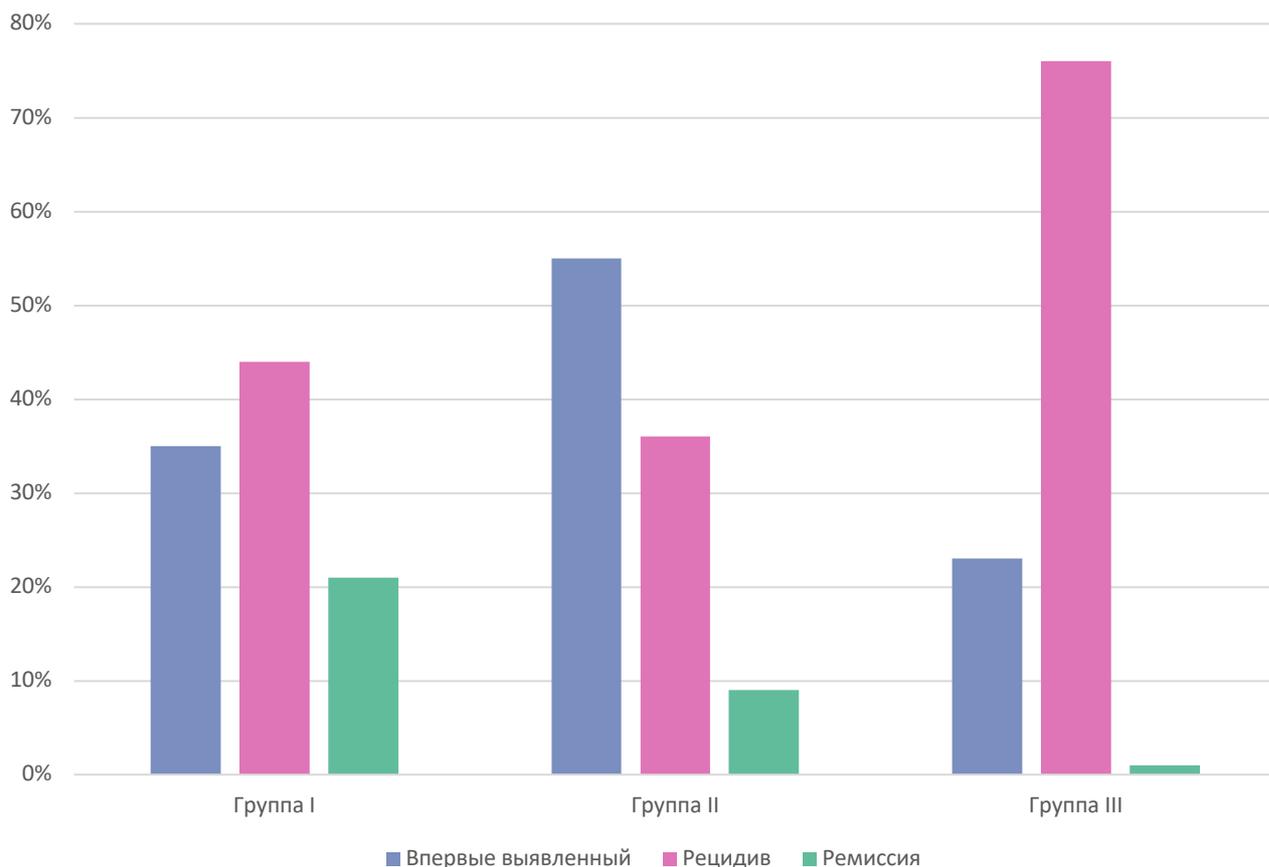


Рисунок 17. Структура заболеваемости ХП в группах

Среди выявленных жалоб (рисунок 19), предъявляемых пациентами, наиболее частой была абдоминальная боль/ чувство давления/тяжести в эпигастральной области с явным преобладанием в группе ХП с тяжёлой степенью ЭНПЖ у 39 (76,4%) от общего количества пациентов в группе. Констатация наличия диареи выявлялось посредством суммирования показателей консистенции кала, определяемой в баллах по Бристольской шкале (Bristol scale), и количества актов дефекации в сутки, где количество ≥ 3 р/сут. считалось положительным [13].

Следующей по частоте жалобой были симптомы диспепсии, которые были разнородны у каждого пациента. Положительным синдром диспепсии был при условии выполнения не менее двух симптомов (метеоризм, флатуленция, субъективное чувство урчания, ощутимой перистальтики). Синдром был выявлен во всех трёх группах с наименьшим показателем в группе без ЭНПЖ (18,7%), средним в группе с лёгкой недостаточностью (36,3%) и высоким в группе ХП и тяжёлой ЭНПЖ (52,9%).

Отдельное внимание следует уделить наличию стеатореи (кал имеет маслянистый, жирный блеск, плохо смывается водой обильный), которая является условно специфичным симптомом наличия ЭНПЖ, была выявлена у минимального количества обследуемых среди всех групп. Дополнительно основные жалобы пациентов с ХП представлены на рисунке 18.

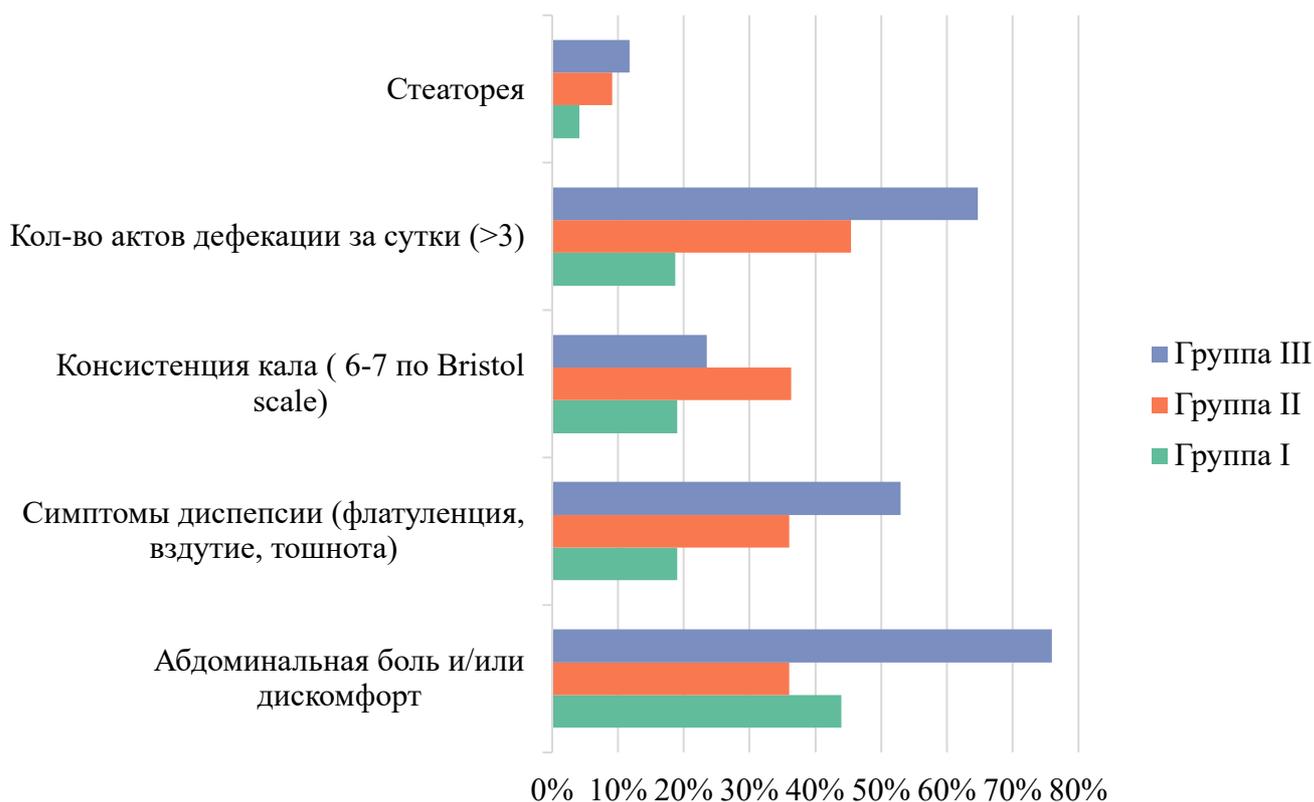


Рисунок 18. Основные жалобы, предъявляемые пациентами

У каждого пациента измерены антропометрические показатели (рост, вес), рассчитан ИМТ. Интерпретация показателей пациентов-участников исследования проводилась в соответствии с табличными критериями, указанными в ГЛАВЕ II. Анализ расчетов продемонстрировал отсутствие значимой разницы в соотношении средних показателей (таблица 7).

Таблица 7. Средние значения показателей ИМТ пациентов

Группа	ИМТ, среднее \pm СО
I	24,5 \pm 3,88 (кг/м ²)
II	23,9 \pm 5,2 (кг/м ²)
III	22,4 \pm 4,1 (кг/м ²)

Дальнейшая статистическая обработка показала что распределение по ИМТ (рисунок 19) в трёх группах не соответствовало закону нормального распределения в связи с чем был применён критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal-Wallis H – test), являющийся непараметрическим аналогом однофакторного дисперсионного анализа сравнения трёх и более независимых групп и позволяет проверить нулевую гипотезу о том, что медианные значения признака в популяциях, из которых были извлечены исследуемые выборки, не различаются.

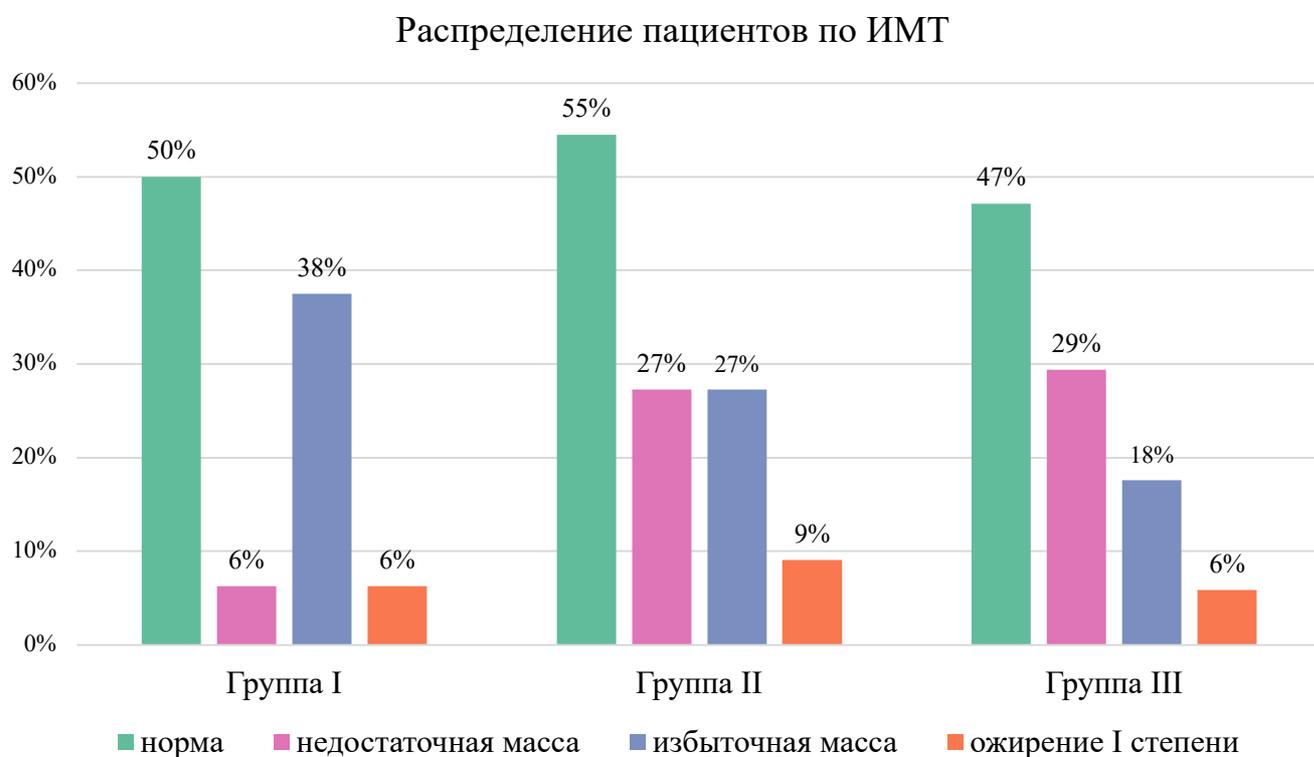


Рисунок 19. Распределение пациентов по ИМТ

По результатам применённого теста значение $H=9,057$ (p -value $0,01$), где H – тестовая статистика критерия Краскела-Уоллиса, которое сравнили с табличным значением критерия χ^2 [21]. Статистически значимых отличий ($p > 0,05$) в ИМТ между группами не обнаружено (рисунок 20).

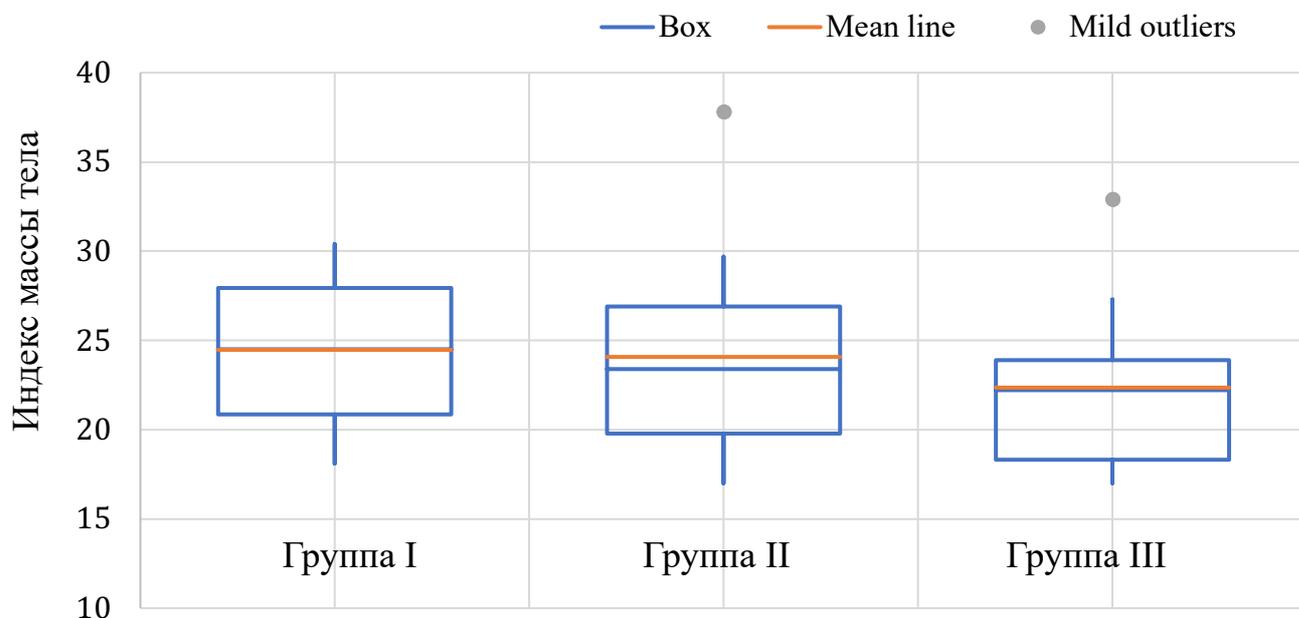


Рисунок 20. Соотношение пациентов по ИМТ

Также для оценки трофологического статуса всем пациентам измеряли окружность мышц на уровне середины плеча (таблица 8). В группе I показатели ОМП были в пределах нормы у всех пациентов, статистически значимое достоверное снижение показателя продемонстрировали только пациенты II и III групп с дефицитом массы тела. Статистически значимых различий в показателях среднего значения ОМП между группами II и III не было ($p > 0,05$).

Таблица 8. Средние показатели окружности мышц на уровне середины плеча

Пациенты		Число пациен- тов, имевших ОМП в преде- лах нормы, n (%)	Число пациен- тов, имевших ОМП, ниже нормы, n (%)	ОМП, Среднее \pm СО
Группа II	Мужчины	18 (54,5%)	3 (9,1%)	23,14 \pm 2,1
	Женщины	12 (36,4%)	0	23,5 \pm 2,1
Группа III	Мужчины	19 (37,3%)	5 (9,8%)	23,3 \pm 3,07
	Женщины	25 (49%)	3 (5,9%)	23,1 \pm 3,4

В ходе объективного осмотра выявлено, что общее состояние всех пациентов было удовлетворительным, а сознание ясным. Положение пациентов в 22 случаях (17%) было вынужденным (сидя с наклоном туловища вперед, лежа с приведенными к животу ногами). При осмотре кожных покровов цвет и влажность в большинстве случаев соответствовали норме. Обращал внимание сниженный тургор кожи, выявленный в 12 (9%) случаях у пациентов групп II и III с жалобой на потерю веса за непродолжительное время, без редукации диеты и дефицитом массы тела. По данным осмотра у всех пациентов живот симметричен, без видимой перистальтики желудка и кишечника; средние показатели окружности живота не отличались между группами, данные представлены в таблице 9. По данным перкуссии ни у одного пациента не выявлено наличие свободной или осумкованной жидкости в брюшной полости; над всей поверхностью живота выслушивался тимпанический перкуторный звук.

Пальпаторно напряжение мышц брюшной стенки, поверхностных образований, расхождения прямых мышц не выявлено. Данные о болезненности передней брюшной стенки при поверхностной ориентировочной пальпации, а также данные методической глубокой пальпации представлены в таблице 9.

Аускультативно в подавляющем большинстве выявлена активная перистальтика. Основные данные объективного осмотра живота представлены в таблице 9.

Таблица 9. Основные данные физикального исследования живота

Характеристика		Число пациентов с наличием признака и значение показателя в группах		
		I	II	III
Осмотр	Окружность на уровне пупка, среднее \pm СО	83,1 \pm 4,9	82,5 \pm 6,7	82,2 \pm 7,6
	Вздутие живота, n (%)	9 (19%)	12 (36%)	27 (53%)
Поверхностная ориентировочная пальпация	Передняя брюшная стенка болезненна в верхнем квадранте, n (%)	21 (43,7%)	12 (36,3%)	39 (76,4%)
	Передняя брюшная стенка болезненна в других квадрантах, n (%)	12 (25%)	10 (30%)	22 (43%)
Методическая глубокая пальпация (проекция болевых ощущений)	Сигмовидная кишка, n (%)	12 (25%)	10 (30%)	22 (43%)
	Нисходящая ободочная, n (%)	12 (25%)	10 (30%)	22 (43%)
	Поперечно-ободочная, n (%)	1 (2%)	2 (6%)	3 (6%)
	Пилорический отдел желудка, n (%)	20 (42%)	10 (30%)	36 (71%)

При анализе лабораторных показателей, также оценивающих трофологический статус пациентов, значимых отклонений от референсных значений внутри каждой группы и при межгрупповом сравнении не было обнаружено ($p > 0,05$) (таблица 10). Обращает на себя внимание незначительное количество выявленных случаев обнаружения нейтрального жира в кале (таблица 10).

Таблица 10. Показатели некоторых лабораторных исследований

Показатель	Значение показателей в группах		
	I	II	III
Гемоглобин (г/л) ср. ± СО	129,18 ± 14,87	135,36 ± 18,12	134,47 ± 13,59
Абсолютное число лимфоцитов (× 10 ⁹ /л) ср. ± СО	1,58 ± 0,47	1,97 ± 0,66	1,89 ± 0,63
Общий белок (г/л) ср. ± СО	76,46 ± 6,74	73,38 ± 6,16	69,75 ± 5,49
Альбумин (г/л) ср. ± СО	43,91 ± 4,92	43,6 ± 3,51	42,92 ± 2,94
Нейтральный жир в кале, обнаружено (%*)	0	9,09%	5,88%
ср. ± СО – среднее ± стандартное отклонение г/л – грамм/литр *% - от общего количества исследуемых в группе			

Наличие или отсутствие, а также степень ЭНПЖ определялись активностью панкреатической эластазы-1 в кале. Между тремя группами наблюдались статистически достоверные различия ($p < 0,05$). Средние значения в изучаемых группах представлены в таблице 11.

Таблица 11. Средние значения панкреатической эластазы-1

Показатель	Значение показателя в группах		
	I	II	III
Панкреатическая эластаза-1 кала, среднее (мкг/г) ± СО	427,4 ± 72,2	144,4 ± 14,5	40,4 ± 27,9

На основании данных МСКТ-исследований, в соответствии с критериями визуализации РГА по диагностике ХП, у всех пациентов трёх групп был верифицирован ХП. Наиболее частыми находками, более 50% во всех группах наблюдения, были неоднородность структуры и нечёткость контуров ПЖ с увеличением размеров. Самым редким из критериев было выявление тромбоза селезёночной вены, в 3-х случаях в группе ХП с тяжёлой степенью экзокринной недостаточности. Количество случаев каждого из критериев представлено в таблице 12.

Таблица 12. Соотношение критериев визуализации по данным МСКТ

Критерий визуализации	Число пациентов с наличием признака в группах		
	I	II	III
Наличие конкрементов в протоках, n (%)	15 (31%)	9 (27%)	18 (35%)
Кальциноз паренхимы ПЖ, n (%)	15 (31%)	18 (55%)	30 (59%)
Дилатация главного панкреатического протока, n (%)	15 (31%)	3 (9%)	12 (24%)
Интра-/ перипанкреатические кисты, n (%)	15 (31%)	3 (9%)	15 (29%)
Неоднородность структуры железы, n (%)	40 (83%)	20 (61%)	51 (100%)
Нечеткость контуров и увеличение размеров ПЖ, n (%)	48 (100%)	30 (91%)	51 (100%)
Состояние после перенесённого панкреонекроза, n (%)	12 (25%)	12 (36%)	21 (41%)
Тромбоз селезёночной вены, n (%)	0	0	3 (6%)

В связи с наличием объективных данных МСКТ органов брюшной полости в пользу наличия у всех пациентов ХП отсутствовали показания для проведения эндоскопического УЗИ.

3.3 Оценка эффективности заместительной ферментной терапии

На основании жалоб, анамнеза, данных физикального осмотра, лабораторных показателей, проведена оценка эффективности проводимой заместительной терапии (рисунок 21), где в качестве критериев включения было наличие: абдоминальной боли, симптомов диспепсии, диареи (количество актов дефекации в сутки ≥ 3), консистенции кала типов 6-7 по Бристольской шкале.

При анализе заметно увеличение процента случаев с не назначенной терапией, что особенно ярко выражено в группе пациентов с лёгкой степенью экзокринной недостаточности (83% от случаев с неэффективной ЗФТ). В этой же группе наблюдалось, что доза полиферментных препаратов не превышала 100 тыс. Ед/сут. Также был разброс и в случаях с тяжёлой ЭНПЖ. Обращает особенное внимание, что у 15 пациентов с ярко выраженными клиническими признаками трофологической недостаточности и уровнем панкреатической эластазы-1 кала, демонстрирующие минимальные показатели, ЗФТ была не назначена вовсе. Также среди пациентов данной группы лишь 21% из числа с неэффективной терапией получали высокие дозы панкреатических ферментов, а 7% от 100 до 150 тыс. Ед/сут.

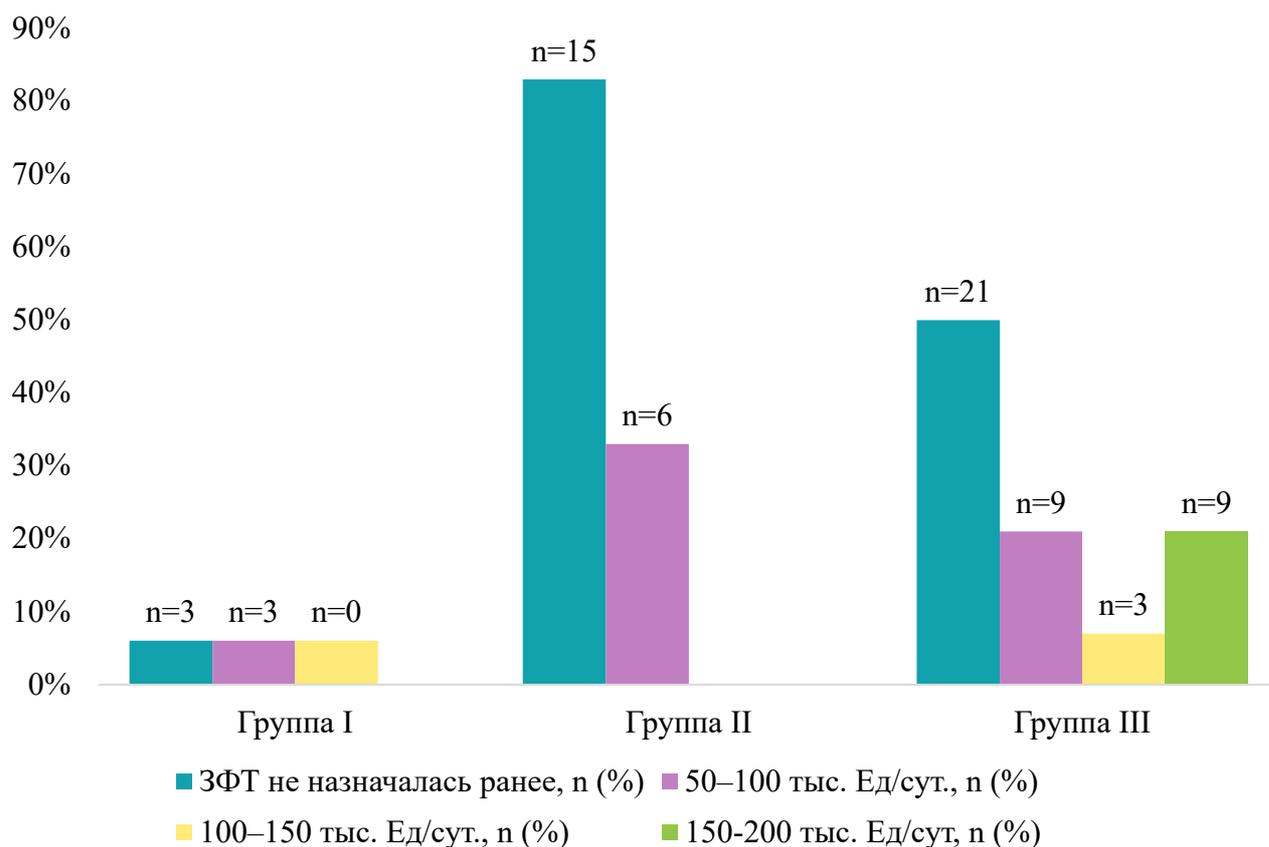


Рисунок 21. Соотношение эффективности проводимой заместительной терапии панкреатическими ферментами (n (%)- от общего числа в группе с неэффективной терапией)

3.4 Определение таксономических особенностей кишечной микробиоты пациентов после первичного обследования

На уровне типов (рисунок 22) доминирующими во всех группах был филум *Firmicutes*, с тенденцией к снижению представленности в случаях с ХП и тяжёлой экзокринной недостаточностью. У пациентов с лёгкой степенью ЭНПЖ на долю *Firmicutes* приходилось 82,7%, у пациентов с тяжёлой степенью показатель снизился до 78,47% за счет увеличения доли других типов.

Бактерии типа *Bacteroidetes* были выше в группе пациентов с ХП и тяжёлой ЭНПЖ в сравнении с группой ХП без ЭНПЖ (6,34% против 4,32% соответственно). Тип *Actinobacteria* был больше представлен в группах I и II (9,19% и 6,11% соответственно).

Среди всех представленных типов *Verrucomicrobiota* продемонстрировал тенденцию к росту с наименьшей представленностью в группе ХП без ЭНПЖ (3,24%) к группе с тяжелой степенью ЭНПЖ (7,19%).

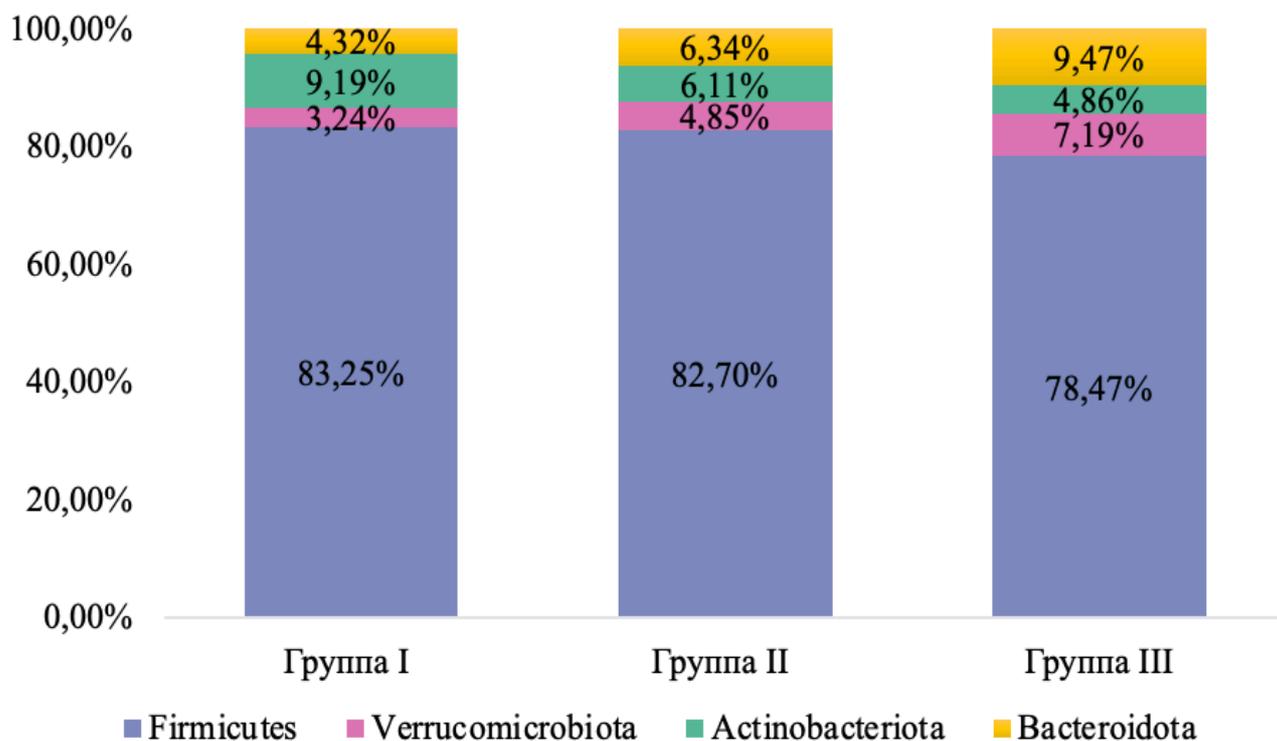


Рисунок 22. График относительной представленности четырех наиболее распространенных типов микроорганизмов в образцах кала всех случаев с ХП и различной степенью ЭНПЖ (данные результаты опубликованы в журнале «Терапевтический архив» [16])

Таксономические особенности на уровне семейств в исследуемых группах, определенная с помощью CoDa-дендрограммы

Для анализа выбраны топ-10 распространенных семейств (рисунок 23). Два доминирующих семейства были определены для группы с ХП и тяжелой ЭНПЖ – *Oscillospiraceae*, *Bacteroidaceae*. Для групп пациентов с ХП без экзокринной недостаточности и с легкой степенью ЭНПЖ определена схожесть таксонов на уровне семейств и большее разнообразие, с превалированием в группе с легкой

недостаточностью, где помимо выделенных семейств для пациентов группы I, обнаружены семейства *Peptostreptococcaceae* и *Oscillospiraceae* (рисунок 24). Семейства *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Erysipelatoclostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae* коррелировали с пациентами группы ХП без ЭНПЖ.

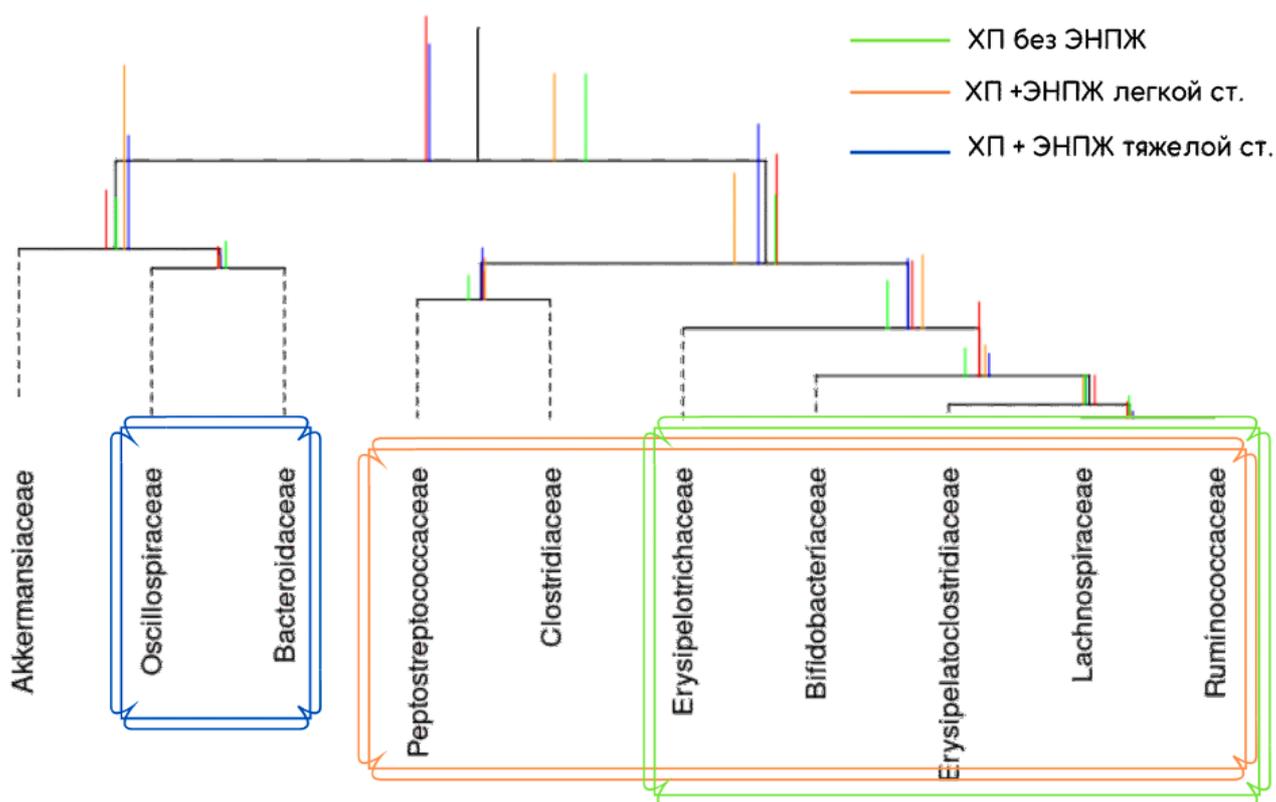


Рисунок 23. Визуализация балансов кишечной микробиоты пациентов с различной степенью ЭНПЖ с помощью CoDa-дендрограммы (для анализа выбраны топ 10 распространенных семейств)

Между исследуемыми группами не было значимой разницы в альфа-разнообразии (рисунок 24), а внутри сообществ обнаружено общее снижение бактериального разнообразия ($p < 0,05$).

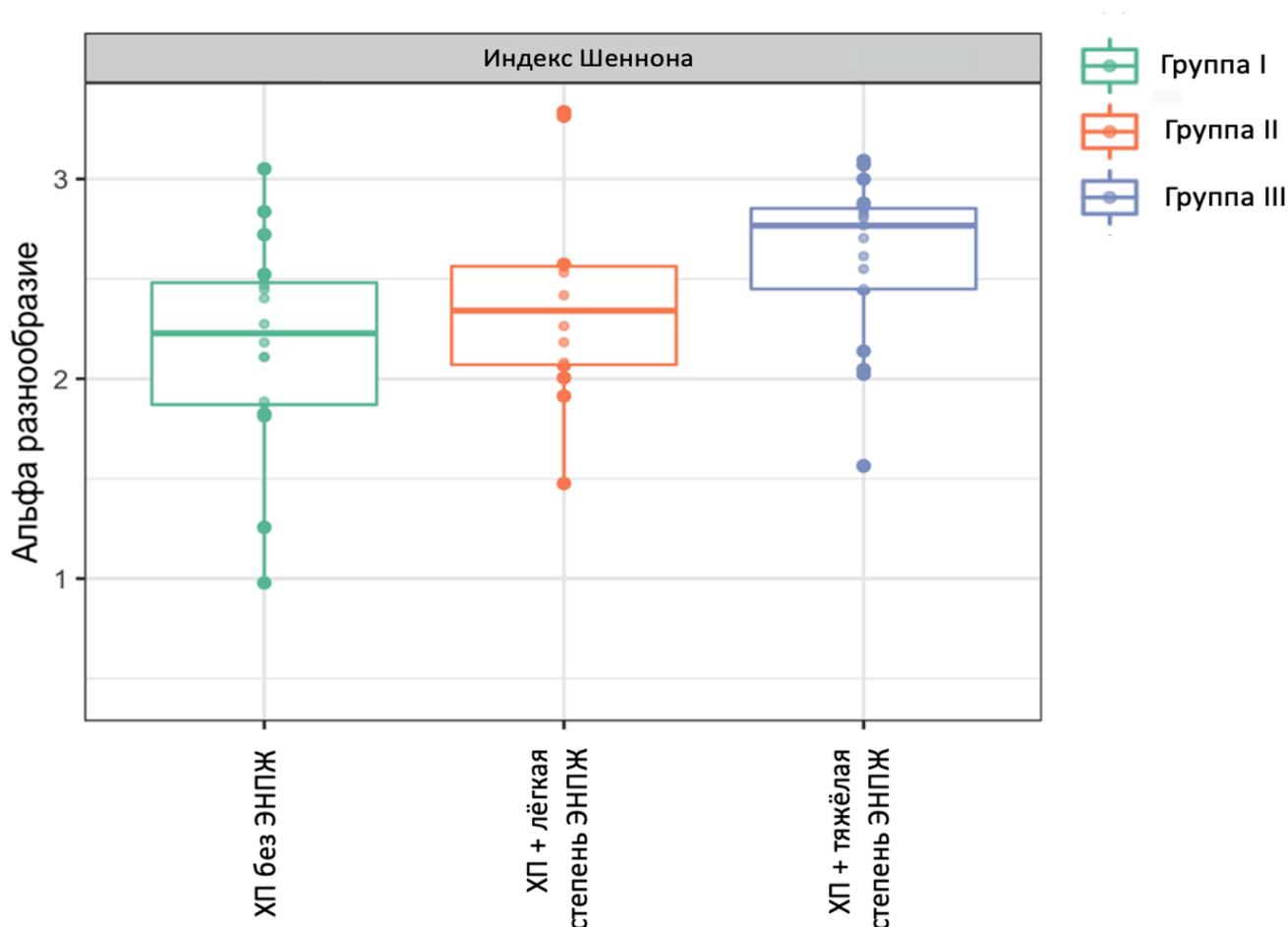


Рисунок 24. Таксономическое разнообразие (α -разнообразии) микробиоты кала пациентов с ХП и различной степенью ЭНПЖ

Дифференциальная представленность бактериального состава на уровне рода в исследуемых группах

Проведен анализ дифференциальной представленности бактериального состава в группах, с использованием метода DeSeq2, на уровне рода, с включением пола, batch effect («пакетный» эффект, представляющий собой систематические технические различия при обработке образцов в разных партиях, которые не связаны с какими-либо биологическими вариациями, зарегистрированными во время эксперимента), возраста, ИМТ, количества актов дефекации, консистенции стула по Bristol scale, синдрома диспепсии, дозы панкреатических ферментов, как ковариат для исключения возможного их вклада в заключительные данные по выявлению бактерий в группах пациентов.

При сравнении группы пациентов с ХП без ЭНПЖ с группой пациентов ХП и лёгкой степенью ЭНПЖ (рисунок 25; справа и слева от столбцов отображен уровень статистической значимости (a), рассчитанный в результате анализа для каждого дифференциально представленного рода: * - $a < 0.5$; ** - $a < 0.01$; *** - $a < 0.001$) выделены наиболее статистически значимые рода в типе *Firmicutes*: *Holdemanella*, *Erysipelotrichaceae_UGG-003*, *Erysipelatoclostridium*; *in* Actinobacteria представлен родом *Enterorhabdus*. В группе с легкой степенью ЭНПЖ *Firmicutes* представлен родами *Lachnospiraceae_ND 2004 group*, *Faecalitalea*, *Fusobacterium*, *Catenibacterium*, *Roseburia*; тип *Actinobacteria* - *Atopobium*; тип *Synergistota* - *Cloacibacillus*.

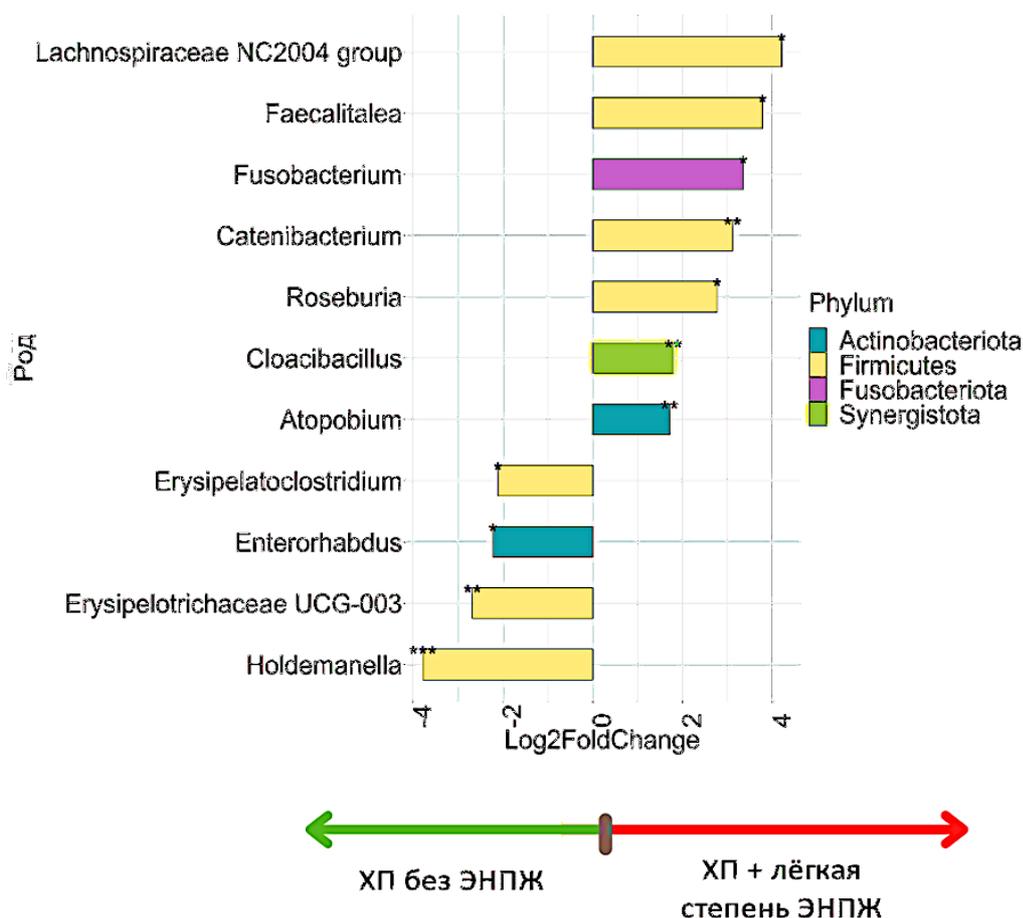


Рисунок 25. Анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода и ассоциированных с группами I и II (данные результаты опубликованы в журнале «Терапевтический архив» [16])

Существенные различия в дифференциальной представленности были выявлены при сравнении группы ХП без ЭНПЖ с группой пациентов с ХП и тяжелой ЭНПЖ (рисунок 26; справа и слева от столбцов отображен уровень статистической значимости (a), рассчитанный в результате анализа для каждого дифференциально представленного рода: * - $a < 0.5$; ** - $a < 0.01$; *** - $a < 0.001$). Заметно снижение бактериального разнообразия в обеих группах. Группу без ЭНПЖ представляет только тип *Firmicutes* со статистически значимыми родами *Erysipelatoclostridium* и *Merdibacter*. В группе с тяжелой ЭНПЖ филум *Firmicutes* представлен родами *Ruminococcus gauvreauii group*, *Peptostreptococcus* и *Blautia*; тип *Bacteroides* – родом *Prevotella*.

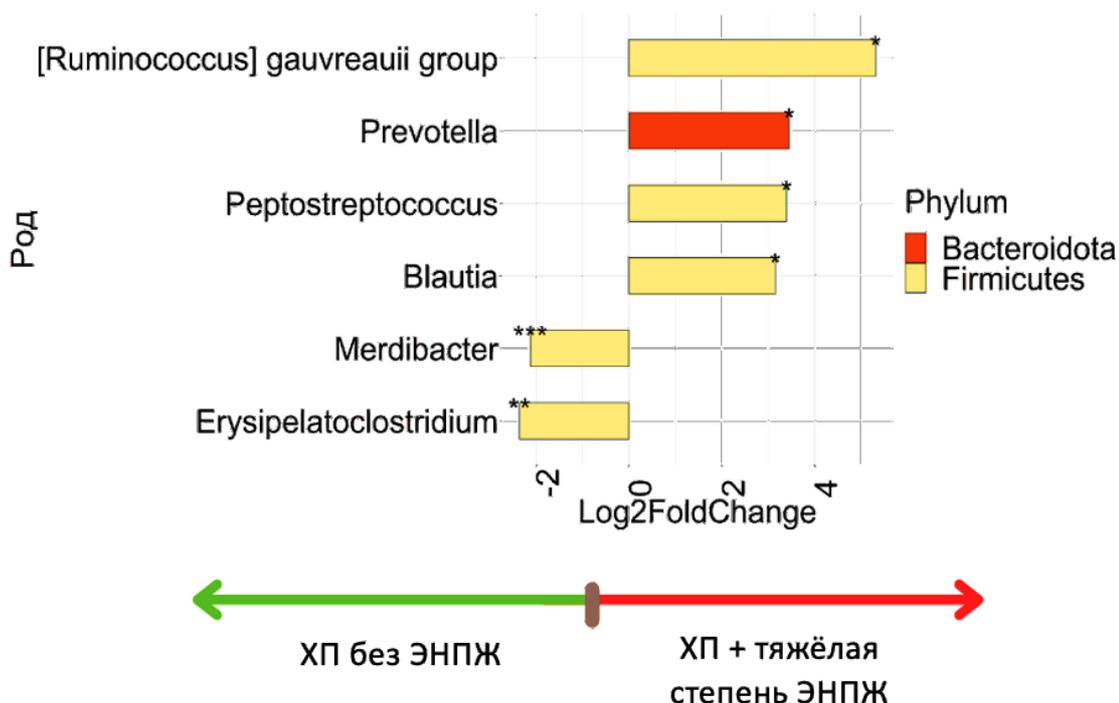


Рисунок 26. Анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода, ассоциированных с группами I и III (данные результаты опубликованы в журнале «Терапевтический архив» [16])

При сравнительном анализе дифференциальной представленности групп пациентов с ХП и легкой ЭНПЖ, и группы пациентов с ХП и тяжелой ЭНПЖ (рисунок 27; справа и слева от столбцов отображен уровень статистической значимости

(а), рассчитанный в результате анализа для каждого дифференциально представленного рода: * - $\alpha < 0.5$; ** - $\alpha < 0.01$; *** - $\alpha < 0.001$) выявлено, что у пациентов с легкой недостаточностью высокодифференцированы: *Faecalitalea*, *Clostridium innocuum* group, *Lachnospiraceae_ND 2004* group, в меньшей степени *Ruminococcus torques* group, *Atopobium*, *Cloacibacillus*. В группе с тяжелой степенью ЭНПЖ наиболее значимыми в типе *Firmicutes* были род *Ruminococcus gauvreauii* group и *Holdemanella*; тип *Verrucomicrobiota* представлен родом *Akkermansia*.

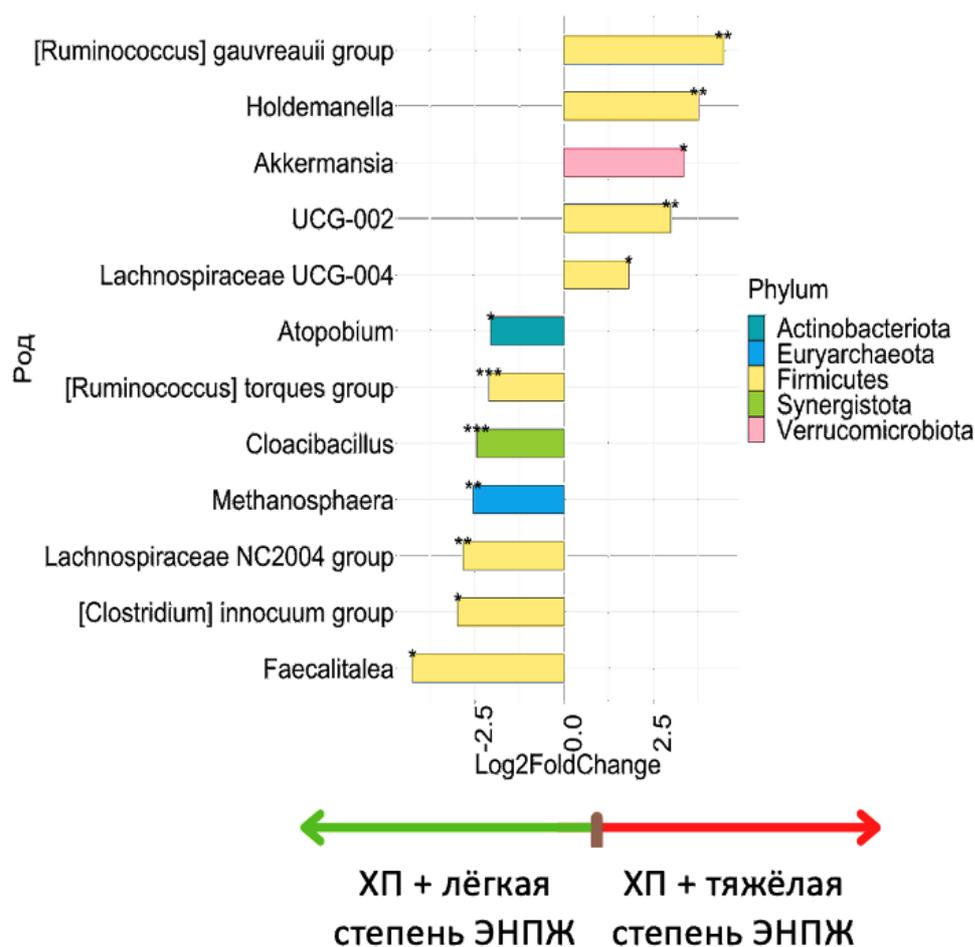


Рисунок 27. Анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода, ассоциированных с группами II и III (данные результаты опубликованы в журнале «Терапевтический архив» [16])

Всем пациентам с ХП, независимо от степени тяжести ЭНПЖ, нами было рекомендовано отказаться от курения и воздержаться от употребления алкоголя. Вследствие высокого риска развития нутритивной недостаточности к каждому

пациенту был осуществлен максимально возможный индивидуальный подход с подбором рациона питания в соответствии с его индексом массы тела, клинической картиной течения заболевания, со стремлением к диете, которая не отличалась бы по составу и количеству от рациона здорового человека. Всем пациентам был рекомендован дробный прием пищи с равномерным распределением жира во всех порциях, учитывая факт, что ферментные препараты должны приниматься лишь в присутствии жиров.

При наличии интенсивных болей назначены периодический или курсовой приём ненаркотических анальгетиков, например парацетамола 1000 мг 3 раза в день, продолжительностью не более 3 месяцев. В индивидуальных случаях были назначены ИПП, в подавляющем большинстве пациентам с тяжёлой экзокринной недостаточностью. Всем пациентам с ХП был назначен курсовой или длительный приём ЗФТ, в соответствии с клиническими показаниями: верифицирована трофологическая недостаточность, наличие длительной диареи, перенесенный панкреонекроз, тяжелый ХП, включающий кальцификацию паренхимы или внутрипротоковые кальцинаты в сочетании с расширением ГПП. Начальная доза полиферментного препарата назначалась в соответствии с рекомендациями РГА, составляя не менее 25000 Ед липазы на основной приём пищи и 10000 единиц на промежуточный приём (рисунок 28).

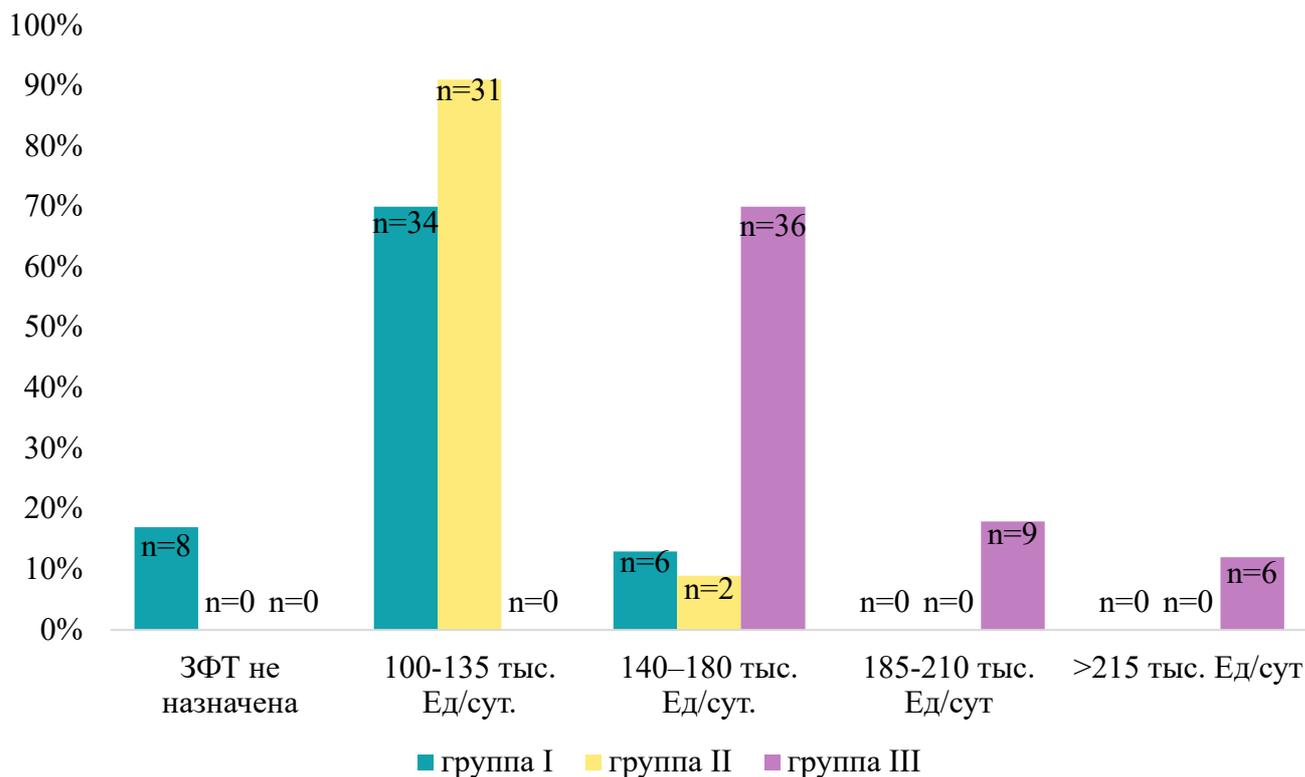


Рисунок 28. Суточные дозировки курсовой/пожизненной впервые назначенной и после коррекции, проводимой ранее, заместительной ферментной терапии в исследуемых группах

Пациентам, у которых сохранялись клинические симптомы, несмотря на прием начальных доз, мы увеличивали дозы панкреатина в два раза, в индивидуальных случаях назначали ИПП в стандартной дозе. Тактика с введением в терапию ИПП применялась не систематически.

Пациентам с тяжелой экзокринной недостаточностью, учитывая, что для них необходима пожизненная заместительная терапия, минимальными дозировками полиферментных препаратов были от 40 000 Ед липазы на основной прием пищи и 20 000 Ед на перекусы.

Результативность лечения мы определяли по прибавке массы тела, у пациентов с дефицитом, снижению выраженности клинических симптомов, а также с изменениями в бактериальном составе кишечной микробиоты.

3.5 Этап II. Визит второй. Повторное обследование пациентов после назначения или коррекции ранее назначенной ЗФТ

В соответствии с дизайном исследования ряд пациентов из исследуемых групп обращались амбулаторно в индивидуальном порядке (в нашем исследовании «визит по требованию»): группа I, n=15 (31,3%); группа II, n=14 (42,4%); группа III, n=22 (43,1%). В соответствии с жалобами, данными осмотра, лабораторными, инструментальными исследованиями, с последующей идентификацией патологического состояния пациентам проводилась коррекция и/или назначение симптоматической терапии (таблица 12).

Наиболее частые жалобы, предъявляемые пациентами:

1) Рецидив болевого абдоминального синдрома: группа I, n=10 (20,8%); группа II, n=12 (36,4%); группа III, n=21 (41,2%);

2) Диарейный синдром, в том числе с сохранением консистенции кала типов 6–7 по Bristol scale: группа I, n=2 (4,2%); группа II, n=6 (18,2%); группа III, n=11 (21,6%);

3) Симптомы диспепсии: группа I, n=5 (10,4%); группа II, n=7 (21,2%); группа III, n=22 (43,1%).

Только в группе с тяжёлой степенью экзокринной недостаточности у пациентов, n=11 (21,6%), были выявлены одновременно все три типа жалоб.

Таблица 12. Коррекция терапии

Терапия	Число пациентов, которым потребовалась коррекция терапии в группах		
	I	II	III
Эскалация доз панкреатических ферментов, n (%)	10 (66,7%)	14 (100%)	20 (90,9%)
Назначение ИПП, n (%)	5 (33,3%)	4 (28,6%)	15 (68,2%)
Назначение кишечных антисептиков, n (%)	0	2 (14,3%)	9 (40,9%)
n (%) - от числа пациентов, требующих коррекции терапии			

На контрольный визит через 6 месяцев \pm 1 явились все включенные во II этап участники исследования. Осуществлено повторное обследование пациентов, включающее сбор анамнеза течения заболевания в течение 6 месяцев (\pm 1), физикальное обследование, лабораторные исследования, в частности забор образца кала для сквенирования.

Клиническая характеристика

Наиболее частой жалобой на контрольном визите, как и при визите 1 была абдоминальная боль/ чувство давления/тяжести в эпигастральной области, также с преобладанием в группе ХП с тяжёлой степенью ЭНПЖ (n=20; 39,2%, от общего количества пациентов в группе). Затем, как и при первом визите жалобы следовали по убыванию: симптомы диспепсии (метеоризм, флатуленция, субъективное чувство урчания, ощутимой перистальтики), диарея с частотой актов дефекации \geq 3 раз в сутки и разнородности консистенции кала.

Продемонстрирован высокий уровень доказательства эффективности персонализированного подхода к назначению и/или коррекции к ЗФТ у пациентов всех групп (рисунки 29, 30, 31).

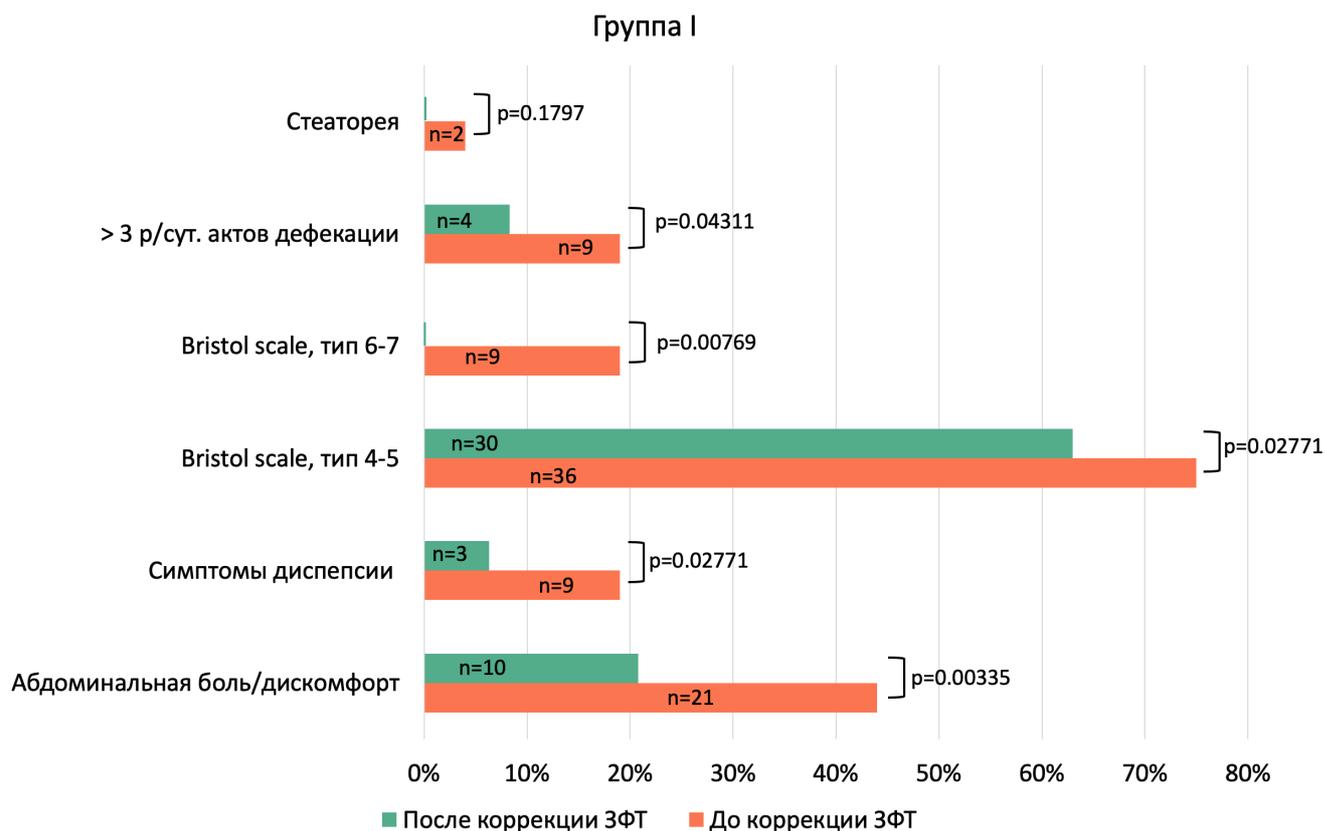


Рисунок 29. Клинические симптомы пациентов при визите-2, группа I

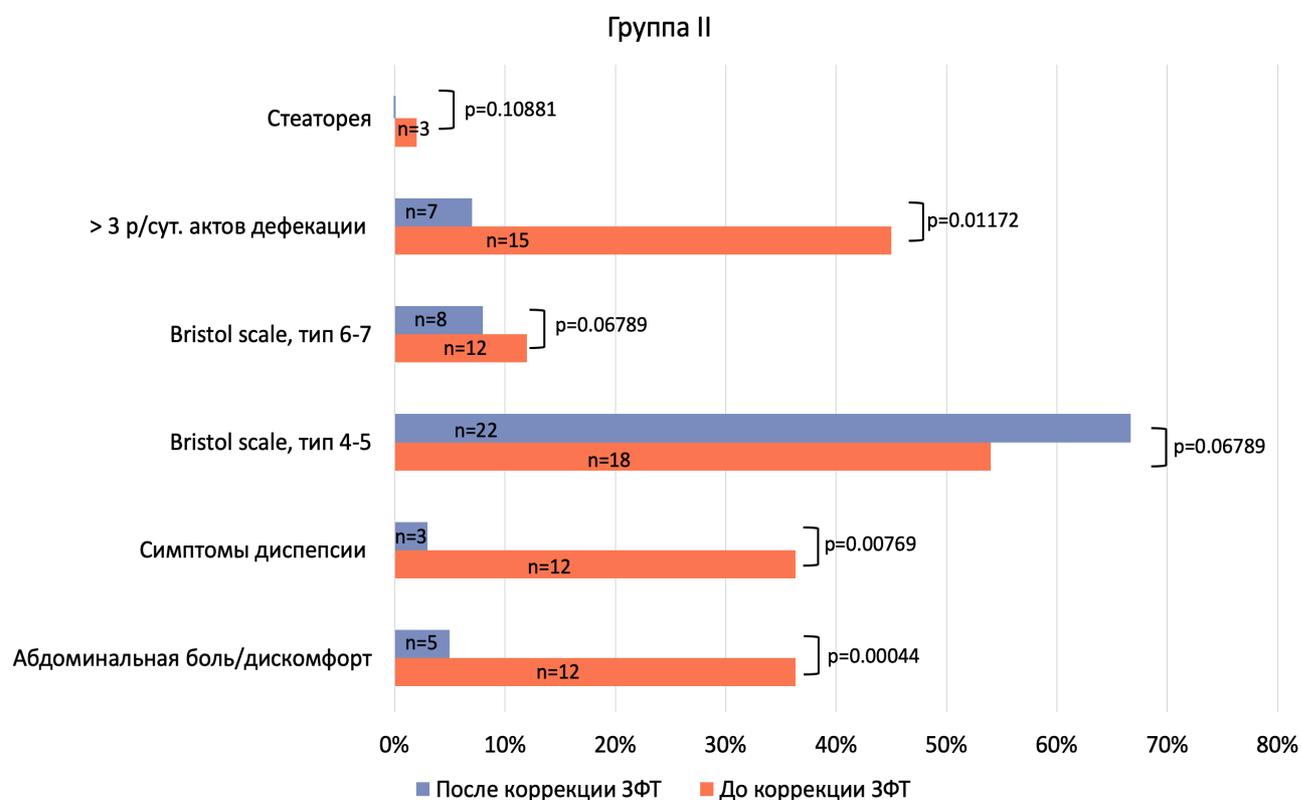


Рисунок 30. Клинические симптомы пациентов при визите-2, группа II

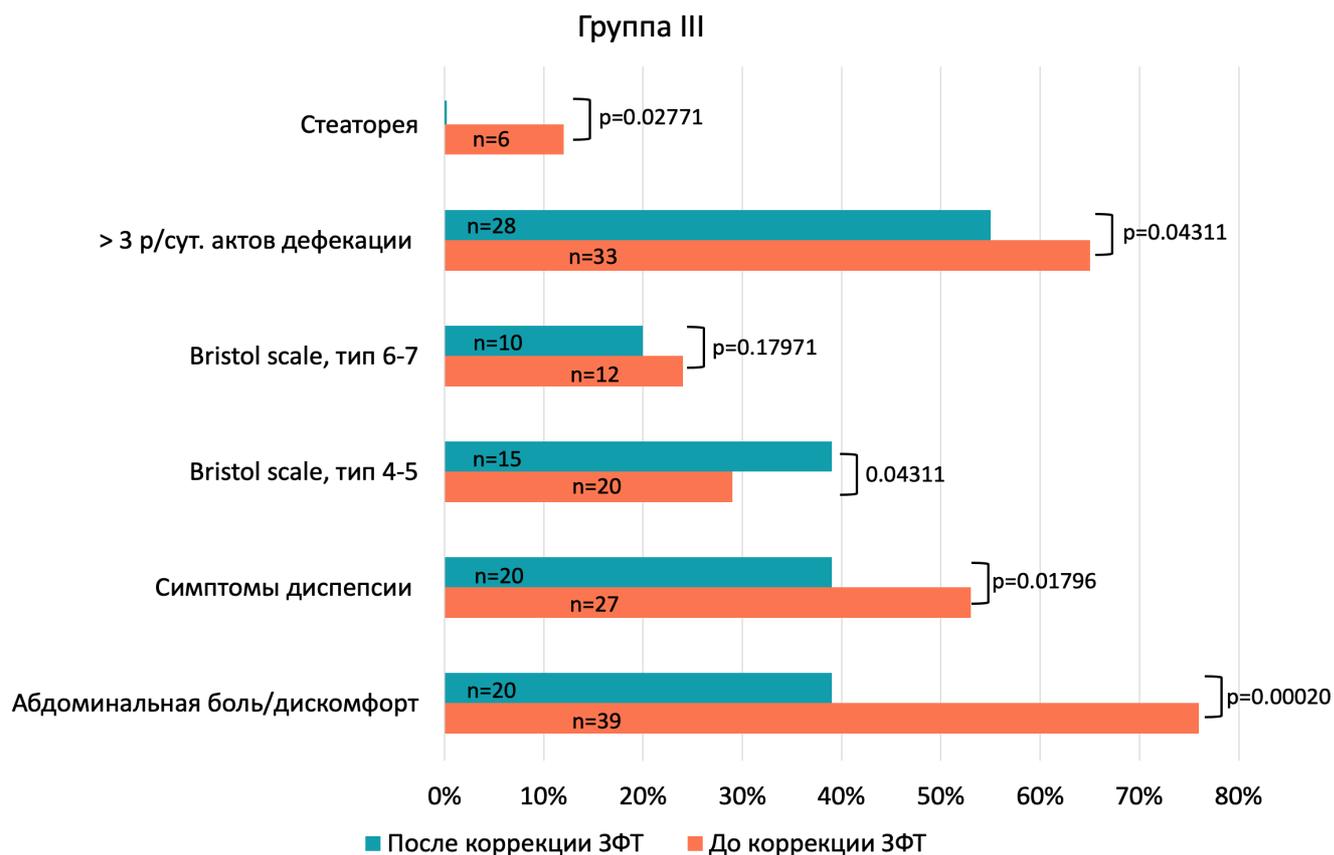


Рисунок 31. Клинические симптомы пациентов при визите-2, группа III

Абдоминальная боль регрессировала на 23% ($p=0,00335$) в группе без экзокринной недостаточности (с 43,8% до 20,8%), на 21,2 % ($p=00044$) в группе с лёгкой степенью ЭНПЖ (с 36,4% до 15,2%), на 37,3% ($p=0,0002$) в группе с ХП и тяжёлой ЭНПЖ (с 76,5% до 39,2%). Также статистически значимо было снижение жалоб на симптомы диспепсии в группе I.

В ходе расспроса пациентов выявлено полное нивелирование стеатореи во всех трёх группах, со статистической значимостью в группе с тяжёлой степенью ЭНПЖ ($p=0,02771$).

3.6 Определение таксономических особенностей кишечной микробиоты пациентов после назначения/коррекции ЗФТ

Типовая представленность отличалась в группах незначительно при сравнении с визитом-1. При повторном исследовании на уровне типов (рисунок 32) доминирующими типовым таксоном во всех группах был филум *Firmicutes*, почти

равномерной представленности, с незначительно меньшим показателем в группе с тяжёлой ЭНПЖ (78,28%). Обнаружен незначительный рост бактерий других типов за счёт уменьшения филума *Firmicutes*. В группе II в сравнении с визитом-1: у пациентов с лёгкой степенью ЭНПЖ на долю *Firmicutes* приходилось 81,32%.

Тип *Actinobacteria* в группе I наиболее представлен в сравнении с пациентами, имеющими лёгкую и тяжёлую степени экзокринной недостаточности (8,1%, 5,1% и 5,8%).

Бактерии типа *Bacteroidetes* также остались доминирующими в группе ХП и тяжёлой экзокринной недостаточностью (8,7% против 6,4% и 7,61% в группах I и II).

Филум *Verrucomicrobiota* остался доминирующим в группе ХП с тяжёлой степенью ЭНПЖ (7,1%), с последующим снижением к группе без экзокринной недостаточности (4,1%).

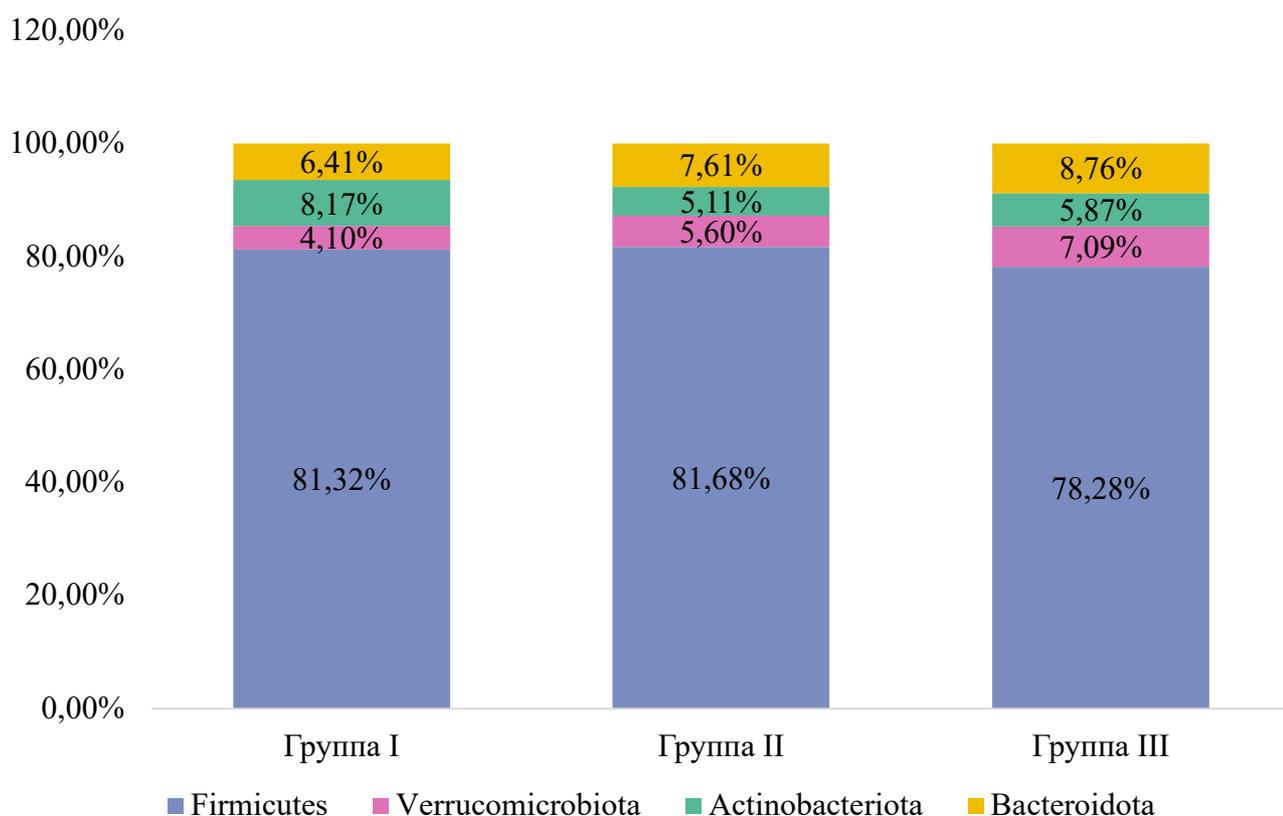


Рисунок 32. График относительной представленности четырех наиболее распространенных типов микробиоты в образцах кала пациентов с ХП и различной степенью ЭНПЖ

Таксономические особенности на уровне семейств в исследуемых группах, определенная с помощью CoDa-дендрогаммы

Для метагеномного анализа кишечной микробиоты, полученного при визите-2 также выбраны топ-10 распространенных семейств (рисунок 33).

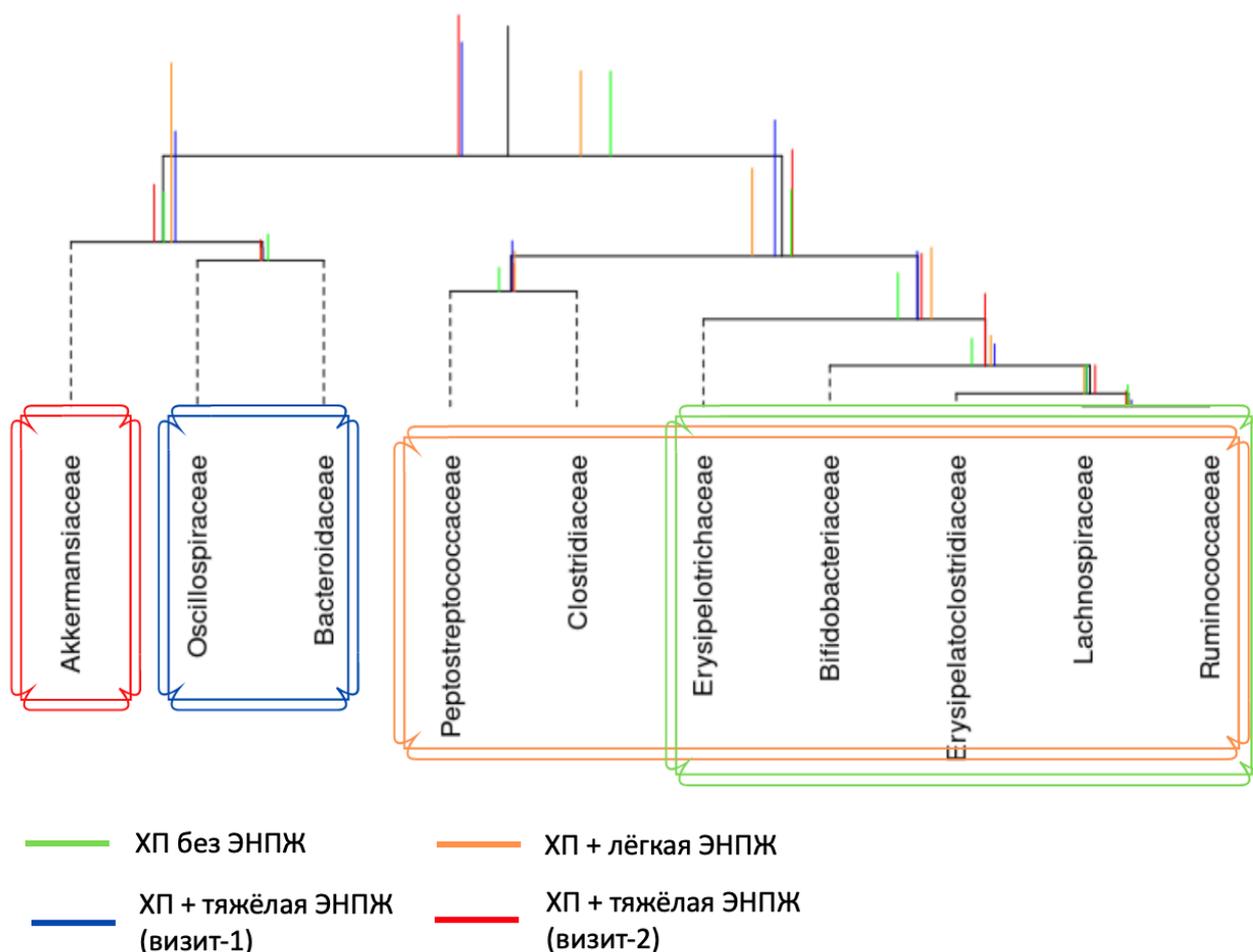


Рисунок 33. Повторный анализ бактериального состава на уровне семейств в исследуемых группах

Доминирующие семейства были определены для всех случаев с ХП с/без ЭНПЖ. Одна группа продемонстрировала изменения в сравнении с визитом-1. У пациентов группы III помимо семейств *Oscillospiraceae* и *Bacteroidaceae*, обнаруженных ранее, определён род *Akkermansia*. Представленность семейств для групп I и II осталась в начальном виде. Также для групп пациентов с ХП без экзокринной недостаточности и с лёгкой степенью определены схожесть и большее разнообразие таксонов.

Анализ α - и β -разнообразия в исследуемыми группами так же не продемонстрировал статистически значимой разницы. Разнообразие внутри сообщества (видовое богатство), было также низким во всех группах. Разнообразие между сообществами, т. е. показатель степени дифференцированности распределения видов также не продемонстрировал межгрупповых различий ($p > 0,05$).

Также проведен анализ дифференциальной представленности таксонов на уровне рода в группах, с применением методов и с учётом ковариат, использовавшиеся при первичном анализе.

Дифференциальная представленность бактериального состава кишечной микробиоты на уровне рода

При сравнении группы пациентов с ХП без ЭНПЖ с группой пациентов ХП и лёгкой степенью ЭНПЖ (рисунок 34; справа и слева от столбцов отображен уровень статистической значимости (a), рассчитанный в результате анализа для каждого дифференциально представленного рода: * - $a < 0.5$; ** - $a < 0.01$; *** - $a < 0.001$) выделены наиболее статистически значимые рода в типе *Firmicutes*: *Holdemanella*, *Lachnospiraceae_NC_2004_group* (при визите-1 *Erysipelotrichaceae_UGG-003*), *Erysipelatoclostridium*; *mun Actinobacteria* представлен родом *Enterorhabdus*.

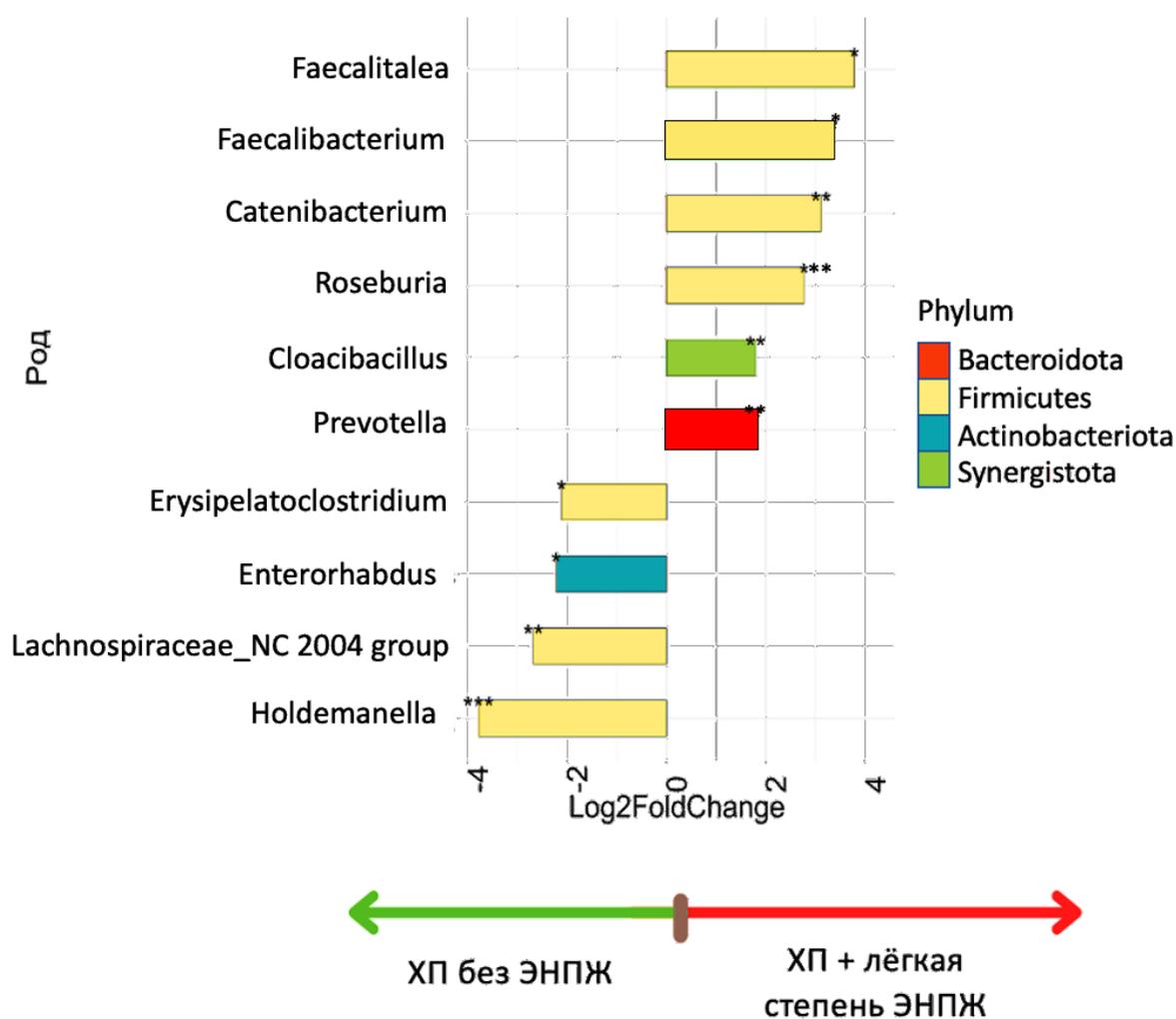


Рисунок 34. Повторный анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода и ассоциированных с группами I и II

Обнаружены изменения для группы с легкой степенью ЭНПЖ: *Firmicutes* представляют рода *Faecalibacterium* (при визите-1 *Fusobacterium*) *Faecalitalea*, *Catenibacterium*, *Roseburia*; выявлен тип *Bacteroides* под *Prevotella* (при визите-1 *Actinobacteria* – *Atopobium*); тип *Synergistota* - *Cloacibacillus*.

При дальнейшем сравнительном анализе обнаружены изменения в дифференциальной представленности между группами ХП без ЭНПЖ и группой пациентов с ХП и тяжелой ЭНПЖ (рисунок 35; справа и слева от столбцов отображен уровень статистической значимости (a), рассчитанный в результате анализа для каждого дифференциально представленного рода: * - a < 0.5; ** - a < 0.01; *** - a < 0.001).

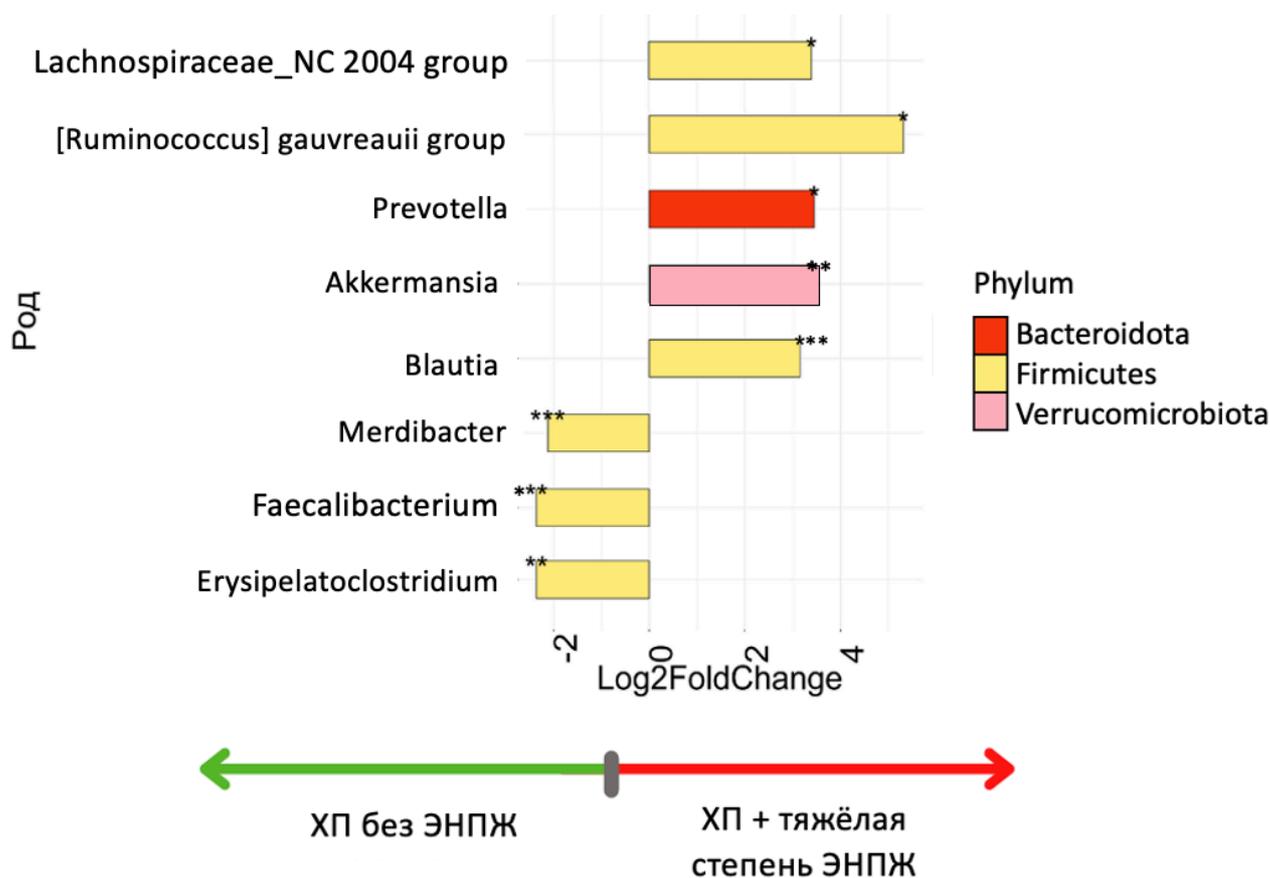


Рисунок 35. Повторный анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода и ассоциированных с группами I и III

Также, как и при визите-1 группу без ЭНПЖ представляет только тип *Firmicutes* со статистически значимыми родами *Erysipelatoclostridium* и *Merdibacter*, с добавлением нового рода *Faecalibacterium*, обнаруженного также при сравнении с пациентами, имеющими лёгкую степень. В группе с тяжелой ЭНПЖ расширен спектр таксономического разнообразия: филум *Firmicutes* представлен родами *Ruminococcus gauvreauii group*, *Lachnospiraceae_NC 2004 group* (при визите-1 *Peptostreptococcus*) и *Blautia*; тип *Bacteroides* – родом *Prevotella*; определён новый род *Akkermansia* типа *Verrucomicrobiota*.

На заключительном этапе провели сравнительный анализ дифференциальной представленности группы пациентов с ХП и легкой ЭНПЖ с группой пациентов с ХП и тяжёлой ЭНПЖ (рисунок 36).

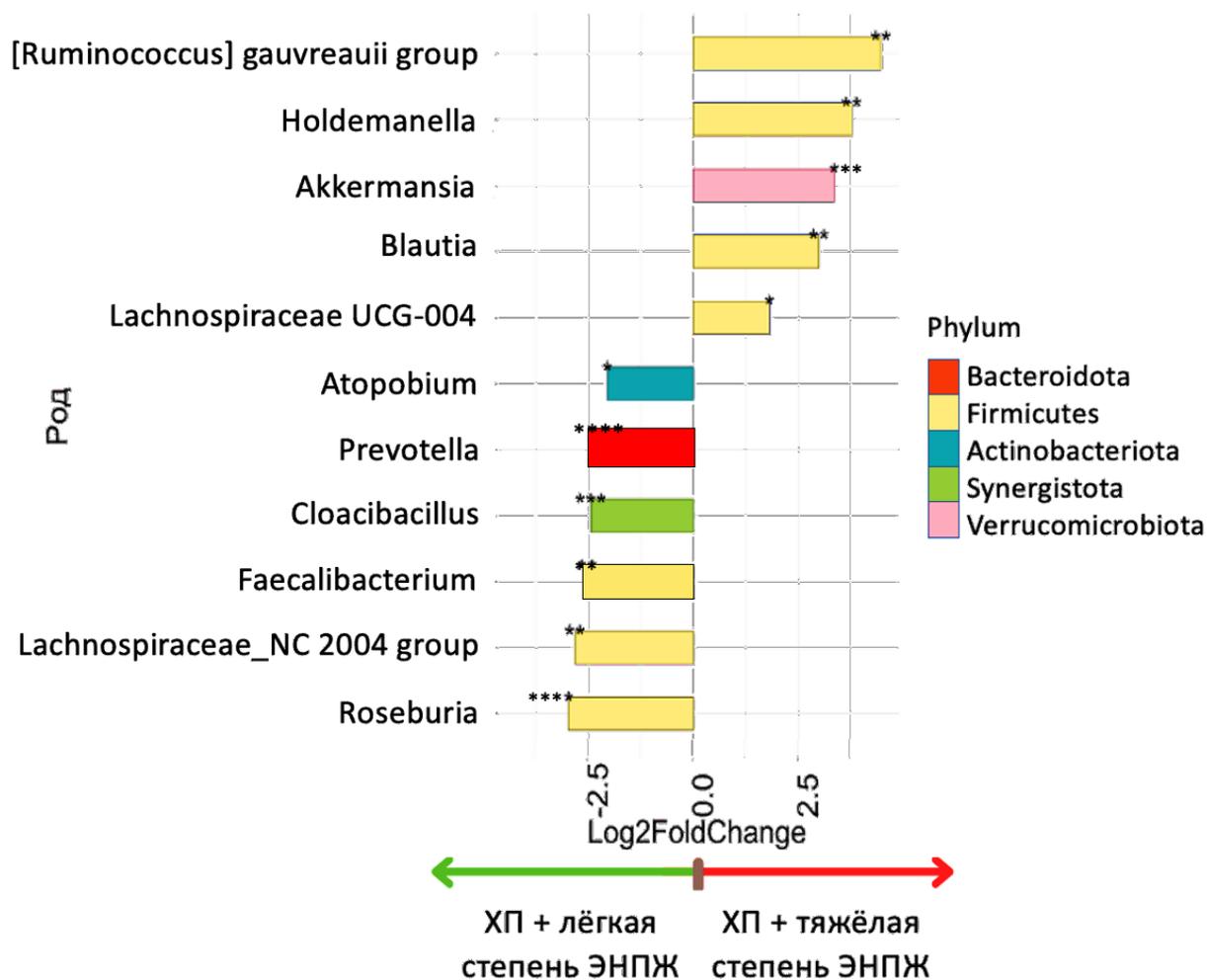


Рисунок 36. Повторный анализ дифференциальной представленности 16S ампликонов бактерий, агломерированных на уровне рода и ассоциированных с группами II и III

Выявлено, что у пациентов с легкой степенью высокопредставлены рода: *Roseburia*, *Prevotella*, *Cloacibacillus*, в меньшей степени *Lachnospiraceae_NC 2004 group*, *Faecalibacterium*, *Atopobium*. В группе с тяжелой степенью ЭНПЖ наиболее значимыми в типе *Firmicutes* были род *Ruminococcus gauvreauii group*, *Holdemanella* и *Blautia*; тип *Verrucomicrobiota* представлен родом *Akkermansia*.

3.7 Клинические примеры

Клинический пример №1. Пациент М., 44 года, находился на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении в декабре 2019 г. с основным диагнозом: хронический псевдотуморозный панкреатит, тяжёлая степень внешнесекреторной недостаточности ПЖ. Сопутствующие заболевания: ИБС; постинфарктный кардиосклероз; стентирование ветви тупого края (ВТК) от 27.12.2017г., стентирование правой коронарной артерии (ПКА) от 31.05.2018г. ХСН 1. Гипертоническая болезнь 3 ст., 1 ст., риск 4 (очень высокий). Дислипидемия 2а. Состояние после ЭРХПГ папиллосфинктеротомии, литоэкстракции от 24.07.2019г. по поводу вирсунголитиаза, холедохолитиаза.

Жалобы при поступлении: на эпизодическую боль в эпигастральной области после приема пищи, сопровождающуюся тошнотой, редко – однократной рвотой; тянущие ощущения в правом подреберье.

Анамнез заболевания. В 2000 г. (месяц не помнит) впервые появились боли в верхнем отделе живота. Со слов пациента, он проходил стационарное обследование и лечение, с положительным эффектом – абдоминальная боль купирована. Диагноз и названия медикаментозных препаратов не помнит, медицинской документации на руках нет.

В 2003 г. проходил стационарное лечение по поводу обострения болевого синдрома, связанного с погрешностью в диете (со слов пациента, качество куриного мяса было сомнительным). Диагноз (со слов пациента, медицинской документации не предоставил): псевдотуморозный, кальцифицирующий панкреатит. Лечение проведено с положительным эффектом – боль купирована. После выписки периодические рецидивы абдоминальной боли 1 раз в 2-3 года, как правило связанные с погрешностями в диете (со слов пациента, например после злоупотребления спиртосодержащих напитков).

С 2017 года началось снижение массы тела, без какой-либо самостоятельной редукции диеты, достигнув потери в 40 кг к моменту настоящего осмотра. Эпизоды болей с 2017 г. участились до 2-3-х раз в год.

В мае 2019 г. рецидив болевого синдрома, амбулаторно прошёл МРТ органов брюшной полости (обнаруженные изменения помнит ограниченно, медицинской документации не предоставил), на которой были выявлены изменения в головке ПЖ. Направлен на госпитализацию в хирургическое отделение ЧУЗ «ЦКБ «РЖД-Медицина». Диагноз установлен: Псевдотуморозный кальцифицирующий панкреатит; вируснохолитиаз; панкреатическая гипертензия. Проведена эндоскопическая ретроградная панкреатохолангиография, папиллосфинктеротомия, литоэкстракция. Оперативное вмешательство с положительной динамикой, регресс болевого синдрома. После выписки принимал ферменты (со слов пациента принимает препарат Креон: 40 тыс. ЕД на основной приём пищи, 20 тыс. ЕД на перекусы; уточняет, что принимает препарат не регулярно и не в полной дозировке), Урсосан (дозировку не помнит), ИПП (название препарата и дозировку не помнит). На фоне проводимой терапии отмечал регресс абдоминальной боли и набор массы тела на 20 кг. В октябре и ноябре 2019 года раз в месяц отмечал появление боли в верхнем квадранте живота после погрешности в диете (со слов пациента употребление пищи большого объема в отсутствие приёма Креона).

Госпитализирован в гастроэнтерологическое отделение в декабре 2019 г. в связи жалобами на боли в эпигастральной области, после еды; тянущие боли в правом подреберье.

Анамнез жизни.

Перенесенные заболевания. ИБС. Постинфарктный кардиосклероз. ОКС от 27.12.2017г., стентирование ВТК от 27.12.2017г., стентирование ПКА от 31.05.2018г. ХСН I Гипертоническая болезнь 3 ст., 1 ст., риск 4 (очень высокий). Постоянно принимает Беталок Зок 25 мг утром.

Аллергологический анамнез. Наличие эпизодов аллергических реакций в прошлом отрицает.

Наследственный анамнез. Со слов пациента заболеваний ПЖ у близких родственников не было; онкологических заболеваний не было.

Вредные привычки. Стаж курения 30 лет, последние два года по 20 сигарет за три дня (индекс курения (ИК)=10,5); до 2017 г. Со слов пациента употребление

алкоголя до 2017 г. умеренное (точные дозу, градус и количество выпиваемого спиртосодержащего напитка за однократный приём не уточняет, уклоняется от ответа; количество приёмов в месяц не уточняет), в последующие годы и до момента настоящего осмотра, употребление алкогольсодержащих напитков полностью прекращено. Употребление наркотических веществ отрицает.

Настоящее состояние больного. Температура тела 36,7⁰С. Состояние удовлетворительное. Сознание ясное. Нормостеническое телосложение. Рост 1,74 м. Вес 78 кг. ИМТ=25,8 (верхняя граница нормальной массы тела). Удовлетворительно питания. Грудная клетка бочкообразной формы (со слов пациента с детства). Кожные покровы цвета загара. Цианоза, сыпи нет. Видимые слизистые бледно-розовые, умеренной влажности. Периферических отёков нет. Периферические лимфоузлы не пальпируются, проекция безболезненна. Дыхание через нос свободное, ЧДД 16 в мин., брюшной тип дыхания. Одышки нет. Перкуторно ясный легочный звук. Границы топографической перкуссии соответствуют нормальным показателям. Аускультативно основной дыхательный шум везикулярное дыхание, проводится во все отделы; побочные шумы не выслушиваются. При осмотре области сердца верхушечный и сердечный толчок не визуализируются, умеренная пульсация *externae carotids dextra et sinistra*. Положительный венный пульс, набухание яремных вен нет. Перкуторно границы относительной тупости сердца смещены влево на 1 см. Аускультативно сердечные тоны ясные, громкие, ритм правильный. АД D=140/90 мм рт.ст., S=145/95 мм рт. ст. ЧСС 74 уд/мин. PS=74 уд/мин. (*dexter=sinister*). Селезёнка не выступает из под края рёберной дуги, не пальпируется; пальпация в левом подреберье безболезненна. Мочевыделительная система: симптом поколачивания отрицательный, диурез адекватен водной нагрузке; мочеиспускание свободное, безболезненное.

Гастроэнтерологический статус. Язык влажный с беловатым налётом по бокам и у корня языка. Глотание не нарушено. Объективно живот вздут, симметричен, участвует в акте дыхания. Перкуторно и методом флюктуации свободной жидкости в брюшной полости не выявлено. Над всеми отделами тимпанический перкуторный звук. Перистальтика активная. При поверхностной пальпации живот

безболезненный. Симптом раздражения брюшины отрицательный. При глубокой пальпации по методу Образцова-Стражеско болезненность при пальпации большой кривизны желудка и по ходу толстого кишечника, преимущественно в проекции сигмовидной кишки. **Печень.** Симптом качелей отрицательный. Визуально не увеличена. Перкуторно границы печени не выходят из-под края рёберной дуги. При пальпации печень безболезненна, мягко-эластической консистенции, поверхность гладкая. Пальпация в точке Керра безболезненна. Желчный пузырь не пальпируется. Симптомы Ортнера, Мюсси, Захарьина отрицательны. Стул тип 4 по Bristol scale, 3–4 раза в сутки.

Результаты лабораторных и инструментальных методов обследования

Клинический анализ крови. Эритроциты (RBC) – $5,29 \times 10^{12}/л$; гемоглобин (HGB) – 149 г/л; гематокрит (HCT) – 46,5%; средний объём эритроцита (MCHC) – 320 г/л; среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH); тромбоциты (PLT) – $242 \times 10^9/л$; средний объём тромбоцита (MPV) – 11,3 фл; тромбоцит (PCT) – 0,27%; лейкоциты (WBC) – $10,56 \times 10^9/л$; абсолютное количество нейтрофилов (NEUT#) – $8,46 \times 10^9/л$; абсолютное количество лимфоцитов (LYMPH#) – $1,26 \times 10^9/л$; абсолютное количество эозинофилов (EO#) – $0,01 \times 10^9/л$; абсолютное количество базофилов (BASO#) – $0,06 \times 10^9/л$; абсолютное количество моноцитов (MONO#) – $0,77 \times 10^9/л$; СОЭ – 32 мм/ч.

Биохимический анализ крови. Альбумин – 48,1 г/л; аланинаминотрансфераза (АЛТ) – 19 Ед/л; аспартатаминотрансфераза (АСТ) – 20,8 Ед/л; α -амилаза – 78 Ед/л; билирубин прямой – 2,5 ммоль/л; билирубин общий – 7,2 ммоль/л; холестерин – 6 ммоль/л; креатинин – 62 ммоль/л; С-реактивный белок – 7,29 мг/л (n=0-5); γ -глутамилтрансфераза – 11 Ед/л; глюкоза - 6,72 ммоль/л; общий белок – 79 г/л; мочевины – 3,6 ммоль/л; щелочная фосфатаза – 89 Ед/л; трансферрин -3,21 г/л; витамин В12 – 186,34 пмоль/л; железо сывороточное – 16 мкмоль/л; ферритин – 98,01 нг/мл; витамин D – 32,06 нг/мл.

Копрологическое исследование. Цвет коричневый; консистенция мягкая, оформленный; запах обычный каловый; остатки не переваренной пищи отсутствуют; кровь отсутствует; гной отсутствует; слизь не обнаружено; реакция кала –

кислая; реакция на скрытую кровь отрицательно; реакция на стеркобилин положительно; реакция на билирубин отрицательно; мышечные волокна незначительное количество; мышечные волокна без исчерченности значительное количество; соединительнотканые волокна отсутствуют; жир нейтральный отсутствует; жирные кислоты отсутствуют; клетчатка неперевариваемая умеренное количество; растительная клетчатка перевариваемая отсутствует; крахмал внутри-и внеклеточный не обнаружено.

Определение активности эластазы-1 в кале с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Панкреатическая эластаза-1 кала <50 мкг/г (n = >200 мкг/г).

Ультразвуковое исследование. Печень. Косой вертикальный размер правой доли 14 см. Эхоструктура паренхимы равномерной эхогенности. Внутрипеченочные сегментарные протоки, долевые протоки не расширены, гепатикохоледох конусовидный 9–7 мм в диаметре, камней в просвете не определяется. Пневмобилия не дифференцируется; портальная вена 10 мм в диаметре. Желчный пузырь. Застойный с перегибами, увеличен до 13,6 x 4,2 см, стенки толщиной до 2–3 мм, в просвете желчь с наличием дисперсной взвеси. Перивезикально выпота не определяется. Поджелудочная железа. По передненижнему контуру головки узловой комплекс 47 x 26 мм неравномерно пониженной эхогенности с зонами обызвествления. По передневерхнему контуру головки ПЖ относительно четкий. Структура диффузно неравномерной эхогенности без видимого отёка с наличием кальцинатов на всем протяжении продольно протоку. Вирсунгов проток дистальные головки расширен до 6–8 мм в диаметре. Выпота в сальниковой сумке нет. Селезёнка 8,6 x 4,0 см; не увеличена; мелкозернистая. Парааортальные, паракавальные лимфоузлы не увеличены. Продольно воротной вене единичные лимфоузлы до 6–8 мм. Свободной жидкости в брюшной полости на уровне таза не определяется. **Заключение:** водянка желчного пузыря; псевдотуморозный панкреатит, обострение.

Эзофагогастродуоденоскопия. Пищевод свободно, просвет не деформирован, слизистая оболочка бледно-розовая, гладкая, эластичная; складки легко расправляются при инсуффляции воздухом. Зубчатая линия расположена типично, кардио-эзофагеальный жом смыкается полностью. Желудок в размерах не

увеличен, не деформирован, полностью расправляется при инсуффляции воздухом. В просвете умеренное количество желчи; складки выражены, извитые, эластичные, слизистая оболочка диффузно гиперемирована по верхушкам складок. Перистальтика глубокая, прослеживается по всем стенкам. Привратник округлой формы, не деформирован, открывается широко, смыкается полностью. Луковица двенадцатиперстной кишки не деформирована, слизистая оболочка бледно-розовая, блестит. Определяется реактивная воспалительная инфильтрация задней стенки ДПК, включая зону БДС, с умеренным свободно проходимым сужением просвета. Заключение: реактивный инфильтративный дуоденит.

Магнитно-резонансная томография поджелудочной железы с внутривенным контрастированием Омнискан. Исследование повторное, сравнение с КТ-исследованием от мая 2019 г. В брюшной полости свободной жидкости нет. Поджелудочная железа расположена обычно, размерами в области хвоста до 20 мм, тела до 20 мм, головка ПЖ поперечным размером до 38 мм неоднородной структуры; очагов патологического накопления контраста после болюсного внутривенного усиления не определяется; в структуре головки ПЖ один из участков более округлой формы без четких контуров размерами 20x20 мм, неоднородной структуры преимущественно пониженного МР-сигнала на T2ВИ и диффузного слабоповышенного МР-сигнала на T1Fsat. При ретроспективном исследовании (КТ-исследование от мая 2019 г.) прежних размеров и структуры с наличием мелких кальцинатов. На всем протяжении виден извитой и резко расширенный главный панкреатический проток до 7–8 мм в области тела и головки ПЖ. Обструкции и «обрыва» его не обнаружено. В структуре головки видны мелкие кистозные включения. В динамике с предыдущим исследованием пространство между головкой ПЖ и стенкой ДПК расширенно, заполнено более выраженным неоднородным кистозным солидным инфильтратом, распространяющимся в значительно утолщённую стенку ДПК. В этой зоне визуализируются лимфатические узлы размерами 7–8 мм. Выраженные отек и тяжесть парапанкреатической клетчатки вокруг головки ПЖ. Печень не увеличена, внутripеченочные желчные протоки не расширены. Желчный пузырь увеличен с перегибом в области шейки, с застойным содержимым.

Пузырный проток расширен до 20 мм. Холедох прослеживается до терминального отдела шириной 5–6 мм. В дистальном отделе отмечается его равномерное конусо-видное сужение. Селезёнка не изменена. В паренхиме верхнего сегмента правой почки сохраняется образование до 15–16 мм с единичными перегородками в структуре.

Заключение (при сравнении с КТ-исследованием от мая 2019 г.). Хронический псевдотуморозный панкреатит, кистозно-воспалительная трансформация двенадцатиперстной кишки, с признаками обострения. Панкреатической гипертензия. Паренхиматозная киста правой почки.

На основании данных КТ-исследования верифицирован диагноз хронического панкреатита, рецидив. Также верифицирована экзокринная недостаточность поджелудочной железы тяжёлой степени на основании данных лабораторного показателя панкреатической эластазы-1 кала менее 50 мкг/г. На основании данных анамнеза (отсутствие жалоб на потерю массы тела), объективного осмотра, в частности нормальных показателях ИМТ, ОМП, а также показателей, находящихся в пределах референсных значений, клинического и биохимического анализов крови, включая анализы жирорастворимых витаминов, а также отсутствие нейтрального жира в кале, данных за наличие трофологической недостаточности не получено. Пациентом было подписано информированное согласие о добровольном участии в клиническом исследовании. С учётом наличия у пациента тяжёлой степени внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы он был включён в 3 группу исследуемых.

У пациента был взят образец кала, который был собран им в соответствии с протоколом. Образец подвергли немедленной заморозке при температуре -20 C^0 . В течение двух часов в термосумке с замороженными хладоэлементами образец транспортирован в лабораторию, где хранился при температуре -80 C^0 до анализа.

Метагеномное секвенирование образца кала. На основании данных, полученных при первичном скрининге в группе III исследуемых пациентов, таксономический состав кишечной микробиоты был представлен родами *Akkermansia*,

Blautia, Holdemanella, Lachnospiraceae_UCG-004, Peptostreptococcus, Prevotella, Ruminococcus torques group, UCG-002.

На основании данных клинического обследования пациенту было проведено лечение. Назначен стол - щадящая диета, также назначено дробное питание с равномерным распределением пищи на 6 порций небольшого размера, без ограничения потребления жиров. Заместительная ферментная терапия (препарат Креон) 40 000 Ед липазы на основные приёмы пищи и 25 000 Ед липазы на перекусы. Препарат Креон должен был приниматься с пищей, которая содержит хоть небольшое количество жира. Не рекомендовано принимать ЗФТ с пищевыми продуктами, не содержащими жир, такими как фрукты, соки и морсы. Кроме того, учитывая наличие болевого синдрома пациенту проводилась обезболивающая терапия: стерофундин+папаверин+дротаверин в/в капельно, дексалгин в/м, однократно Трамадол в/м. С учётом наличия дуоденита назначены ИПП; сужения холедоха и водянкой желчного пузыря – Бускопан, Урсосан.

На фоне проведённой терапии состояние пациента улучшилось, на 5-й день купирован болевой абдоминальный синдром, при объективном осмотре вздутие живота не наблюдалось уже на 3-и сутки госпитализации, а болезненность при пальпации не выявлена к 7-м суткам. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии на 12-е сутки. Даны рекомендации по режиму диеты, с сохранением режима дробного питания и потребления продуктов, содержащих жир. Также рекомендовано отказаться от табакокурения. ЗФТ рекомендовано продолжить в объёме 40 тыс. Ед липазы на основные приемы пищи, 25 на перекусы. Контрольное обследование было назначено на июнь-июль 2020 г. в соответствии с протоколом исследования.

В январе 2020 г. пациент явился на амбулаторный приём ранее назначенного времени в связи с жалобами на неустойчивый характер стула: эпизоды диареи (тип 6 по Bristol scale) в течении 2-3-х дней, без редукции диетического питания и потерю массы тела, что связывал с уменьшением объёма принимаемой пищи.

Пациенту была скорректирована доза панкреатических ферментов: 50 тыс. Ед липазы на основные приёмы пищи (3 р/день) и 25 тыс. Ед. липазы на перекусы (3 р/день). Назначен контрольный приём через две недели, однако пациент, до назначенного ранее контрольного обследования на июнь-июль, за консультацией не обращался.

Контрольное обследование, июль 2020 г. Амбулаторно пациент прошёл обследование в размере сдачи лабораторных анализов, повторного УЗИ органов брюшной полости, сбора образца кала на метагеномное исследование (образец доставлен в термопакете с хладоэлементами).

На консультативном осмотре жалоб не предъявлял. Рекомендации соблюдал в полном объёме: назначенный режим ЗФТ не нарушал. При объективном осмотре живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах. Стул ежедневно 1-2 раза в сутки, тип 4-5 по Bristole scale. Клинический и биохимический анализы крови: без клинически значимых изменений.

Ультразвуковое исследование. Поджелудочная железа. По передненижнему контуру головки узловой комплекс 41 x 23 мм неравномерно пониженной эхогенности с зонами обызвествления. По передневерхнему контуру головки ПЖ относительно четкий. Структура ПЖ диффузно неравномерной эхогенности без видимого отёка с наличием кальцинатов на всем протяжении продольно протоку. Вирсунгов проток не расширен. Выпота в сальниковой сумке нет. **Заключение:** УЗИ-признаки хронического панкреатита, ремиссия.

Метагеномное секвенирование образца кала. На основании данных, полученных в группе III исследуемых пациентов, таксономический состав кишечной микробиоты имел тенденцию к элевации бактериального разнообразия и нормализации эубиоза, в частности появление бактерий типа *Bacteroides* род *Prevotella* и рода *Lachnospiraceae* *NC 2004 group* типа *Firmicutes*.

Данный клинический пример иллюстрирует случай неэффективности проводимого режима ЗФТ. В первую очередь низкой осведомлённостью пациента о своём заболевании и не менее низкой приверженностью к лечению. Не регулярный

приём панкреатических ферментов привёл к нарушению всего конвейера пищеварения, а следовательно, и нарушению эубиоза кишечного микробиома. Персонализированный подбор режима ЗФТ в конкретном случае позволил добиться регресса клинической симптоматики экзокринной недостаточности. Кишечная микробиота, анализ которой продемонстрировал появление потенциально полезных таксонов в группе пациентов с тяжёлой ЭНПЖ, была достоверно улучшена в сравнении с этой же группой до лечения.

Анализ подобных случаев позволяет думать, что адекватно подобранная ЗФТ современными микрокапсулированными препаратами, позволяет полностью заменить экзокринную функцию поджелудочной железы в долгосрочной перспективе улучшая состав микробиоты.

Клинический пример №2. Пациент Р., 61 года, находился на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении в июле 2019 г. с основным диагнозом: хронический калькулёзный панкреатит, средней степени тяжести по M-ANNHEIM C (11 баллов). Стриктура главного панкреатического протока. Панкреатическая гипертензия. Панкреатиколитиаз. Тромбоз селезёночной вены с формированием портальной гипертензии. Сопутствующий: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, эндоскопически негативная стадия. ЖКБ. Хронический калькулёзный холецистит. Стеатоз печени.

Жалобы при поступлении: на периодические ноющие боли в эпигастрии, правом подреберье, чаще возникающие после приёма пищи; неустойчивый характер стула (чередование нормальноформленного с кашицеобразным); изжогу.

Анамнез заболевания.

Впервые опоясывающие боли в верхних отделах живота появились в 1994 г. Со слов пациента (медицинской документации не предоставил) проводилась диагностическая лапароскопия, но причина болевого синдрома не выявлена. Проводилась симптоматическая терапия с положительным эффектом (купирована боль). Далее самочувствие удовлетворительное.

В 2002 г. тупая травма живота (обстоятельства пациент умалчивает), после которой спустя 3 месяца вновь появились подобные приступы болей. Госпитализирован в ГКБ № N при обследовании: ЭГДС – эрозивный гастрит, признаки состоявшегося кровотечения; УЗИ органов брюшной полости -гематома верхнего полюса селезёнки, гематома левой почки. В мае 2002 г. выполнена лапаротомия, при которой выявлен прорыв старой гематомы большого сальника в брюшную полость; проводилась санация дренирование брюшной полости; послеоперационный период без осложнений.

В сентябре 2002 г. находился на стационарном лечении в ГКБ № N. На основании проведённого обследования (мед. документации не предоставлено) установлен диагноз: Рак головки поджелудочной железы; синдром портальной гипертензии; осумкованная гематома поддиафрагмального пространства слева; асцит (медицинской документации не предоставил). Выполнена диагностическая лапаротомия, в рамках которой произведена пункция ПЖ (гистологическое заключение – железистый рак) (медицинской документации не предоставил). Выписан с незначительным улучшением под наблюдение онколога по месту жительства. Со слов пациента под наблюдением в окодиспансере находился до 2007 г. Назначенную терапию не помнит. Далее периодически беспокоили ноющие боли в эпигастрии, правом подреберье, в связи с чем принимал оmez, альмагель, фестал с незначительным положительным эффектом. Затем длительный период без обострений. За консультациями к врачам не обращался.

В ноябре 2018 длительное время принимал НПВП по поводу патологии опорно-двигательного аппарата, на фоне прободения которой появились боли в эпигастральной области, правом подреберье. Амбулаторно проходил обследование и лечение (терапию не помнит) с положительным эффектом (медицинской документации не предоставил).

При контрольном обследовании по данным УЗИ от марта 2019 г. – диффузные изменения печени, калькулёзный холецистит (мед. документации не предоставил). При МСКТ органов брюшной полости с контрастированием от мая 2019 г. выявлено: гепатоспленомегалия, портальная гипертензия, конкремент желчного

пузыря, хронический кальцифицирующий панкреатит, кисты почек. Консультирован амбулаторно, назначена терапия: оmez, фосфоглив, без эффекта. В связи с сохраняющимся болевым синдромом, а также неустойчивый характер стула госпитализирован в отделение патологии поджелудочной железы.

Анамнез жизни. Сопутствующие заболевания: Гипертоническая болезнь 2 ст., 2 ст., риск 3. Постоянно принимает: Индапамид, Конкор. Диетanamнез: питание регулярное, аппетит сохранён. Диетические рекомендации соблюдает не регулярно.

Аллергологический анамнез. Наличие эпизодов аллергических реакций, в частности на лекарственные препараты, в прошлом отрицает.

Наследственный анамнез. Со слов пациента заболеваний ПЖ у близких родственников не было; онкологических заболеваний не было.

Вредные привычки. Табакокурение отрицает. Со слов пациента алкоголем не злоупотребляет (до 2002 года употреблял крепкие напитки до 0,5 л 2–3 раза в месяц). Употребление наркотических веществ отрицает.

Настоящее состояние больного. Температура тела 36,7⁰С. Общее состояние удовлетворительное. Сознание ясное. Нормостеническое телосложение. Повышенного питания. Рост 1,64 м. Вес 74 кг. ИМТ=27,5 кг/м². Кожные покровы и видимые слизистые физиологичной окраски, умеренной влажности. Периферических отёков нет. Периферические лимфоузлы не пальпируются, проекция безболезненна. Дыхание через нос свободное, ЧДД 16 в мин., брюшной тип дыхания. Одышки нет. Перкуторно ясный легочный звук. Границы топографической перкуссии и подвижность нижнего края лёгких соответствуют нормальным показателям. Аускультативно основной дыхательный шум везикулярное дыхание, проводится во все отделы; побочные шумы не выслушиваются. При осмотре области сердца верхушечный и сердечный толчок не визуализируются, умеренная пульсация *externae carotids dextra et sinistra*. Положительный венный пульс, набухание яремных вен нет. Перкуторно границы относительной тупости сердца смещены влево на 1 см. Аускультативно сердечные тоны ясные, громкие, ритм правильный. АД D=120/70 мм рт.ст., S=125/75 мм рт. ст. ЧСС 68 уд/мин. PS=68 уд/мин. (*dexter=sinister*). Селезёнка не

выступает из-под края рёберной дуги, не пальпируется; пальпация в левом подреберье безболезненна. Мочевыделительная система: симптом поколачивания отрицательный, диурез адекватен водной нагрузке; мочеиспускание свободное, безболезненное.

Гастроэнтерологический статус. Язык влажный с беловатым налётом по бокам и у корня языка. Глотание не нарушено. Объективно живот вздут, симметричен, участвует в акте дыхания. На передней брюшной стенке визуализируются послеоперационные линейные рубцы. Перкуторно и методом флюктуации свободной жидкости в брюшной полости не выявлено. Над всеми отделами тимпанический перкуторный звук. Перистальтика активная. При поверхностной пальпации живот безболезненный. Симптом раздражения брюшины отрицательный. При глубокой пальпации по методу Образцова-Стражеско болезненность при пальпации большой кривизны желудка, поперечноободочной кишки. **Печень.** Симптом качелей отрицательный. Визуально не увеличена. Перкуторно границы печени не выходят из-под края рёберной дуги. При пальпации отмечает наличие болезненности в правом подреберье. Печень не пальпируется. Пальпация в точке Керра безболезненна. Желчный пузырь не пальпируется. Симптомы Ортнера, Мюсси, Захарьина отрицательны. Тип стула варьируется 4-6 по Bristol scale, 2-3 раза в сутки.

Результаты лабораторных и инструментальных методов обследования

Клинический анализ крови. Эритроциты (RBC) – $4,44 \times 10^{12}/л$; гемоглобин (HGB) – 140 г/л; гематокрит (HCT) – 40,8%; средний объём эритроцита (MCHC) – 91,9 фл; среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) – 31,5 пг; тромбоциты (PLT) – $118 \times 10^9/л$; средний объём тромбоцита (MPV) – 8,8 фл; тромбоциты (PCT) – 0,10%; лейкоциты (WBC) – $10,56 \times 10^9/л$; абсолютное количество нейтрофилов (NEUT#) – $3,5 \times 10^9/л$; абсолютное количество лимфоцитов (LYMPH#) – $0,8 \times 10^9/л$; абсолютное количество эозинофилов (EO#) – $0,2 \times 10^9/л$; абсолютное количество базофилов (BASO#) – 0; абсолютное количество моноцитов (MONO#) – 0; СОЭ по Вестергрену – 8 мм/ч.

Биохимический анализ крови. Альбумин – 48,1 г/л; аланинаминотрансфераза (АЛТ) – 18 Ед/л; аспартатаминотрансфераза (АСТ) – 26 Ед/л; α -амилаза – 78

Ед/л; билирубин прямой – 4,1 ммоль/л; билирубин общий – 18,7 ммоль/л; холестерин – 4,43 ммоль/л; креатинин – 62 ммоль/л; С-реактивный белок – 7,29 мг/л (n=0-5); γ -глутамилтрансфераза – 23 Ед/л; глюкоза – 5,23 ммоль/л; общий белок – 78,8 г/л; мочевины – 3,6 ммоль/л; щелочная фосфатаза – 83,3 Ед/л.

Копрологическое исследование. Неоформленный; остальные характеристики в пределах нормы, в частности нейтральный жир не обнаружен.

Определение активности эластазы-1 в кале с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Панкреатическая эластаза-1 кала >500 мкг/г (n = >200 мкг/г).

Ультразвуковое исследование. Поджелудочная железа визуализирована фрагментарно, головка дифференцируется нечётко, более повышенной эхогенности по сравнению с другими участками ПЖ, в головке кальцинат 4 мм, тело 14 мм, хвост 15 мм, контуры неровные, нечёткие, паренхима неоднородна, повышенной эхогенности. Вирсунгов проток расширен до 4,5 мм.

Заключение: УЗ-признаки гепатомегалии, диффузных изменений печени, диффузных изменений ПЖ, панкреатической гипертензии, расширения воротной вены, хр. Холецистита, холецистолитиаза, спленомегалии.

Эзофагогастродуоденоскопия. Пищевод свободно, просвет не деформирован, слизистая оболочка бледно-розовая, гладкая, эластичная; складки легко расправляются при инсuffляции воздухом. Зубчатая линия расположена типично, кардио-эзофагеальный жом смыкается полностью. Желудок в размерах не увеличен, не деформирован, полностью расправляется при инсuffляции воздухом. В просвете умеренное количество желчи; складки выражены, извитые, эластичные, слизистая оболочка диффузно гиперемирована по верхушкам складок. Перистальтика глубокая, прослеживается по всем стенкам. Привратник округлой формы, не деформирован, открывается широко, смыкается полностью. Луковица двенадцатиперстной кишки не деформирована, слизистая оболочка бледно-розовая, блестит. Определяется реактивная воспалительная инфильтрация задней стенки ДПК, включая зону БДС, с умеренным свободно проходимым сужением просвета. Заключение: реактивный инфильтративный дуоденит.

Заключение МСКТ с болюсным контрастированием. Выпота в брюшную полость, плевральных полостях и полости перикарда нет. Поджелудочная железа обычной формы и положения размерами головка 28 мм, тело 20 мм, хвост 19мм. Контуры неровные, чёткие. Плотность паренхимы 40-50 Н. Структура неоднородная, в головке в боковой ветви определяется конкремент диаметром 5 x 4 мм. ГПП неравномерно расширен в головке до 6,5-7мм, в теле хвосте до 3–3,5 мм. В преампулярной части диаметр снижается до 2 мм, прослеживается вплоть до ампулы. Признаков новообразования не выявлено. Перипанкреатическая клетчатка структурна. Единичные перипанкреатические лимфатические узлы до 3–3,5 мм, вероятно поствоспалительного генеза.

Заключение. КТ-картина панкреатикоэктазии, вероятно вызванной стриктурой главного панкреатического протока поспанкреатического генеза, начального панкреатиколитиаза. Состояние после тромбоза селезёночной вены с формированием портальной гипертензии. КТ-признаков новообразований не выявлено. КТ-признаки капиллярной гемангиомы печени, калькулёзного холецистита. Ретролистез L₅/S₁.

На основании данных КТ-исследования верифицирован диагноз хронического панкреатита, рецидив. На основании данных анамнеза (отсутствие жалоб на потерю массы тела), объективного осмотра, в частности ИМТ и ОМП выше нормы, а также показателей, находящихся в пределах референсных значений, клинического и биохимического анализов крови, а также отсутствие нейтрального жира в кале, данных за наличие трофологической недостаточности не получено. Пациентом было подписано информированное согласие о добровольном участии в клиническом исследовании. С учётом отсутствия у пациента внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы он был включён в группу I исследуемых.

У пациента был взят образец кала, который был собран им в соответствии с протоколом. Образец подвергли немедленной заморозке при температуре -20 С⁰. В течение двух часов в термосумке с замороженными хладоэлементами образец транспортирован в лабораторию, где хранился при температуре -80 С⁰ до анализа.

Метагеномное секвенирование образца кала. На основании данных, полученных в группе I исследуемых пациентов, таксономический состав кишечной микробиоты при первичном скрининге был представлен родами *Erysipelotrichaceae_UGG-003*, *Erysipelatoclostridium*, *Enterorhabdus*, *Holdemanella*, *Merdibacter*

Хотя у пациента уровень ферментативной активности соответствует норме, и по клиническим показателям нет данных за трофологическую недостаточность у пациента есть прямые показания к проведению заместительной терапии экзогенными ферментами: при КТ-исследовании обнаружены кальцификаты паренхимы, стриктура ГПП, начальный панкреатиколитиаз, в анамнезе перенесенное вмешательство (пункция) на ПЖ, кроме того у пациента выявлена патология опорно-двигательного аппарата, что потенциально может свидетельствовать о развитии остеопороза и прогрессировании ХП. Помимо перечисленного у пациента неустойчивый характер стула. На основании вышеперечисленного пациенту было проведено лечение. Назначена щадящая диета, дробное питание с равномерным распределением пищи на 6 порций небольшого размера, без ограничения потребления жиров. Заместительная ферментная терапия (препарат Панкреатин) 30 000 Ед липазы на основные приёмы (3 раза в день) пищи и 20 000 Ед липазы на перекусы (3 раза в день). Препарат Панкреатин должен был приниматься во время приёма пищи, которая содержит хоть небольшое количество жира. Также не рекомендовалось принимать Панкреатин с пищевыми продуктами, не содержащими жир, такими как фрукты, соки и морсы. Помимо пищеварительных ферментов пациенту проводилась следующая терапия: Платифиллин, раствор Тринальгина в/м.

На фоне проведённой терапии на 3-й день регресс болевого абдоминального синдрома. На 5-й день при пальпаторном исследовании болезненности не выявлено. За время госпитализации стул 1–2 раза в день, тип 3-4 по Bristol scale. Гемодинамика стабильна. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии на 12-е сутки. Даны рекомендации по режиму диеты, с сохранением режима дробного питания и потребления продуктов, с ограничением, но не с полным исключением,

содержащих жиры. ЗФТ рекомендовано продолжить в том же объёме на постоянной основе. Контрольное обследование было назначено на январь 2020 г. в соответствии с протоколом исследования.

Контрольное обследование, январь 2020 г. В стационаре пациент прошёл контрольное обследование в размере сдачи лабораторных анализов (клинический и биохимический анализы крови, копрограмма, уровень панкреатической эластазы-1 в кале), повторного УЗИ органов брюшной полости, сбора образца кала на метагеномное исследование.

При осмотре жалоб не предъявлял. Рекомендации соблюдал в полном объёме: назначенный режим ЗФТ не нарушал. При объективном осмотре живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах. Стул ежедневно 1 раз в сутки, тип 4-5 по Bristole scale.

Клинический и биохимический анализы крови: без клинически значимых изменений. **Нейтральный жир** в кале не обнаружен.

Определение активности эластазы-1 в кале с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Панкреатическая эластаза-1 кала = 468 мкг/г ($n = >200$ мкг/г).

Ультразвуковое исследование поджелудочной железы.

Заключение: УЗ-признаки диффузных изменений печени, диффузных изменений ПЖ, с наличием кальцификатов, хронического холецистита, холецистолитиаза.

Метагеномное секвенирование образца кала.

На основании данных, полученных в группе I исследуемых пациентов при повторном скрининге, таксономический состав кишечной микробиоты имел тенденцию к потенциальному улучшению состояния и бактериальному эубиозу, в частности появление бактерий рода *Fecalibacterium* и *Lachnospiraceae_NC 2004 group*.

Пример №2 демонстрирует случай неназначенной терапии полиферментными препаратами, необходимой в настоящем случае. Не осуществлён персонифицированный подход. Так как у пациента был поставлен диагноз рак ПЖ в 2007 г. (далее диагноз был исключён), а ЗФТ не назначалась. Также у пациента низкая

осведомлённость о в своём заболевании. Отсутствие необходимого приёма панкреатических ферментов привёл к нарушению конвейера пищеварения, а следовательно, и нарушению эубиоза кишечного микробиома, который был виден при первой интерпретации полученных данных. Индивидуальный подбор режима ЗФТ в конкретном случае позволил добиться нормализации и стабилизации клинического состояния пациента, с убедительными субъективными ощущениями и улучшением качества жизни. Кишечная микробиота, анализ которой продемонстрировал появление потенциально полезных таксонов в группе пациентов с ХП без экзокринной недостаточности, была достоверно улучшена в сравнении с этой же группой до лечения.

Анализ подобных случаев позволяет думать, что адекватно подобранная ЗФТ современными микрокапсулированными препаратами, позволяет полностью заменить функцию поджелудочной железы в долгосрочной перспективе улучшая состав микробиоты.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В соответствии с дизайном исследования мы определяли степень трофологической недостаточности по клиническим и лабораторным показателям [12]. Из 132 пациентов недостаточность питания, которая соответствовала всем критериям, была лишь у 3-х (9%) пациентов из группы с ХП и лёгкой ЭНПЖ и у 8-ми (16%) пациентов из группы с тяжёлой недостаточностью ПЖ, которые соответствовали всем критериям наличия трофологической недостаточности. Более того в каждой группе обнаружено по три случая с ожирением (7% от общего числа обследованных). ИМТ в подавляющем большинстве был в норме или имелась избыточная масса тела. ОМП в группах II и III в 88% соответствовал норме. Лабораторные показатели (гемоглобин, абсолютное число лимфоцитов, общий белок, альбумин, нейтральный жир в кале) в 92% случаев соответствовали референсным значениям.

В подавляющем большинстве случаев мы обнаружили критическую неосведомленность пациентов о собственном заболевании, что в итоге обуславливало нерациональный подход к диете, терапии, образу жизни, а в ряде случаев невыполнению условий приёма заместительной ферментной терапии. Исходя из анамнеза пациенты забывали принимать панкреатические ферменты, принимали меньшие дозы, либо дозировка изначально назначена в дозировке, противоречащей национальным рекомендациям. В ряде случаев ЗФТ была не назначена вовсе (в группе II в 45%, в группе III в 41% случаев), что было особенно недопустимо для группы с тяжелой степенью экзокринной недостаточности, потенцируя риск развития дефицита жирорастворимых витаминов и ряда осложнений, таких как остеопороз и саркопения [11].

В обеих группах с экзокринной недостаточностью различной степени тяжести наблюдали недопустимо низкие назначенные дозы ЗФТ, тогда как в соответствии с рекомендациями РГА необходим пожизненный прием панкреатических ферментов у пациентов с тяжелой экзокринной недостаточностью. В ходе сбора анамнеза установлено, что в большинстве случаях пренебрегалось увеличением дозировок полиферментных препаратов, вместо этого назначались ингибиторы протонной

помпы, а в других случаях и антибактериальные препараты, назначение которых основывалось на клинической симптоматике.

Трофологическая недостаточность отсутствовала в подавляющем большинстве случаев, что напрямую указывает на необходимость изучения и поиск других возможных критериев, которые бы отражали степень дефицита панкреатических ферментов в отдельных случаях.

Анализируя таксономический состав кишечной микробиоты у пациентов с ХП разной этиологии с наличием/без экзокринной недостаточности, мы обнаружили определённое своеобразие состава КМ как в образцах, собранных при первом визите, так и в биоматериале после подбора и контроля адекватной состоянию каждого пациента ЗФТ. Отдельные бактериальные сигнатуры, представляющие микробиоту здорового населения мы обнаружили в образцах пациентов, взятых как при первом, так и при втором визитах, но в разных соотношениях. Уровень разнообразия и состав варьировались между тремя группами (таблица 13).

Таблица 13. Основные рода, обнаруженные для каждой группы пациентов с хроническим панкреатитом. Для сравнения представлен перечень таксонов, характерных для группы здорового населения РФ (контрольная группа)

Группа I (n=48)	Группа II (n=33)	Группа III (n=51)	Здоровое* население РФ (n=96)
До назначения/коррекции терапии ЗФТ			
<i>Erysipelotrichaceae_UGG-003,</i> <i>Erysipelatoclostridium,</i> <i>Enterorhabdus,</i> <i>Holdemanella,</i>	<i>Atopobium,</i> <i>Catenibacterium,</i> <i>Cloacibacillus,</i> <i>Clostridium innococum group,</i>	<i>Akkermansia,</i> <i>Blautia</i> <i>Holdemanella,</i> <i>Lachnospiraceae_</i>	

<i>Merdibacter</i>	<i>Faecalitalea</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Lachnospiraceae</i> _ND 2004 group, <i>Roseburia</i> , <i>Ruminococcus torques</i> group	<i>UCG-004</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Ruminococcus torques</i> group, <i>UCG-002</i>	<i>Akkermansia</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Coprococcus</i> , <i>Faecalibacterium</i> ,
После назначения/коррекции терапии ЗФТ			
<i>Erysipelatoclostridium</i> , <i>Enterorhabdus</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Holdemanella</i> , <i>Lachnospiraceae</i> _ND 2004 group, <i>Merdibacter</i>	<i>Atopobium</i> , <i>Catenibacterium</i> <i>Cloacibacillus</i> , <i>Faecalitalea</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Lachnospiraceae</i> _ND 2004 group, <i>Prevotella</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Ruminococcus</i> <i>torques</i> group	<i>Akkermansia</i> <i>Blautia</i> , <i>Holdemanella</i> , <i>Lachnospiraceae</i> _ND <i>UCG-004</i> , <i>Lachnospiraceae</i> _ND 2004 group, <i>Prevotella</i> , <i>Ruminococcus torques</i> group	<i>Lachnospiraceae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Ruminococcus</i>
* - контрольная группа			
Цветом выделено сходство с контрольной группой			

В микробиоте пациентов с ХП после коррекции терапии в сравнении с анализом микробиоты в отсутствии ЗФТ или её неадекватном подборе мы отметили повышение представленности бактерий потенциальных продуцентов короткоцепочечных жирных кислот — ацетата и бутирата. В то время как при первичном анализе отмечалась представленность условно- или потенциально патогенных

микроорганизмов. К тому же при сравнении с группой контроля, проанализированных ранее образцов здорового населения РФ, определены в разной степени рода сходные с пациентами групп ХП и ЭНПЖ, такие как *Faecalibacterium*, *Akkermansia*, *Roseburia*, *Prevotella*, *Lachnospiraceae* и *Ruminococcus*. Особый интерес представляет род *Akkermansia*, обнаруженный только в группе с тяжёлой экзокринной недостаточностью.

Также мы сравнили бактериальный состав КМ пациентов со сходными зарубежными исследованиями. Обнаружены минимальные сходства таксонов на разных уровнях у пациентов с ХП, что вероятно связано не только с географическим положением и диетическими предпочтениями, но и в большинстве своём с принципами отбора пациентов и размером выборки [15].

Одним из факторов, характеризующий таксономический состав КМ, является α -разнообразие. У пациентов всех групп мы наблюдали снижение видового разнообразия [16], что свидетельствует о потенциальном протекании патологических процессов в среде, где таксоны колонизируются. В частности, снижение α -разнообразия описано у пациентов с ХП в большинстве исследований, изучающих кишечную микробиоту при ХП [38, 57, 64, 51, 131]. В исследовании Frost F., (2020) пациенты с ХП демонстрировали резко снижение микробного разнообразия (индекс разнообразия Шеннона, $p < 0,001$) с повышенной численностью факультативных патогенных организмов ($p < 0,001$), таких как *Enterococcus* ($q < 0,001$), *Streptococcus* ($q < 0,001$), и *Escherichia.Shigella* ($q < 0,002$) [51].

Для анализа структурных различий в сообществах КМ в исследуемых группах вычислили несходство Bray-Curtis (Брея-Кёртиса), оценивающее разницу между образцами с анализом основных координат. Обнаружили равное распределение в случаях ХП и разной степени ЭНПЖ, и группе ХП без ЭНПЖ [16], что также демонстрирует сходство с похожими исследованиями [64, 132].

Ни один из анализов разнообразия в нашем исследовании не показал зависимости от степени ЭНПЖ, насколько это может быть определено путем сопоставления концентраций панкреатической эластазы-1 кала. Являясь индикатором нарушения бактериального зубиоза, низкое микробное разнообразие обычно снижает

устойчивость кишечной экосистемы к интродукции чужеродных видов, оставляя открытые ниши, которые могут быть впоследствии заполнены микробными патогенами. В соответствии с этими предположениями, сообщается о снижении разнообразия кишечной микробиоты при ряде кишечных расстройств, таких как болезнь Крона, язвенный колит или рецидивирующая диарея, связанная с *Clostridium difficile* [29, 34, 80]. Можно предположить, что уменьшение микробного разнообразия, обнаруженное у пациентов с ХП, независимо от степени ЭНПЖ, вероятно, увеличивает восприимчивость к чрезмерному росту микробных патогенов [9].

Исходя из полученных результатов у пациентов всех групп преобладал тип Firmicutes, что автоматически определяет их в энтеротип 3 семейства Ruminococcus. Для данного типа характерны общие метаболические признаки: продукция карбоновых и короткоцепочечных жирных кислот, расщепление целлюлозы с образованием метана [69]. Три других обнаруженных типа в разных пропорциях представляли Actinobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroides, что сопоставимо с группой сравнения, изученной ранее КМ здоровой популяции населения РФ, где наибольший процент относительной численности также был представлен филумом Firmicutes [117]. Что касается типовой представленности КМ у пациентов с ХП различной этиологии, сообщаются разнородные данные: у пациентов с ХП и панкреатогенным СД преобладание типов Firmicutes и Actinobacteria [64]. У пациентов с хроническим алкогольным панкреатитом [38] и в случаях с ХП различной этиологии, в частности с ЭНПЖ, доминировали представители типа Proteobacteria, что не сопоставимо с нашим исследованием. Об увеличении доли филума Bacteroides, определяющий энтеротип-1 определён у пациентов с ХП различной этиологии при сравнении с группой непанкреатогенных заболеваний [51].

Таким образом можно определить тип Firmicutes доминирующим, как среди здорового населения, так и среди пациентов страдающих ХП, вне зависимости от наличия или степени тяжести ЭНПЖ.

Для анализа доминирующих семейств были выбраны 10 наиболее распространенных. Группа пациентов с лёгкой экзокринной недостаточностью продемонстрировала наибольшее количество представителей как при первом анализе, так и при

повторном. Помимо семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Erysipelatoclostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae*, обнаруженных также в группе сравнения (пациенты без ЭНПЖ), выделены представители *Peptostreptococcaceae* и *Clostridiaceae*. Необходимо уточнить, что подобная дифференцировка не проводилась в схожих исследованиях. Бактерии, принадлежащие семействам *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, доминируют среди фекальных бактерий здоровых взрослых, составляя в среднем с 10%–45% от общего числа фекальных бактерий, принадлежащих *Lachnospiraceae*, и 16%–27% к *Ruminococcaceae* [81]. Семейство *Ruminococcaceae* описано на основе филогенетического анализа последовательностей генов 16S рРНК и включает немало родов: типовой *Ruminococcus*, производители КЦЖК, в частности бутирата, *Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, и другие. Семейство *Ruminococcaceae* морфологически разнообразно, все виды являются облигатными анаэробами. Ферментация углеводов дает различные пропорции ацетата, формиата, сукцината, лактата и этанола [69].

Семейство *Lachnospiraceae* также описано на основе филогенетического анализа последовательностей генов 16S рРНК; семейство включает 18 признанных родов: типовой род *Lachnospira*, *Butyrivibrio*, *Catonella*, *Roseburia*, *Lachnospiraceae*_ND 2004 group и др. Семейство морфологически разнообразно, все представители являются анаэробами. В нашем исследовании обнаружен род *Roseburia* у пациентов II группы, со статистической значимостью ($\alpha < 0,001$) при анализе повторно взятых образцов. Метаболический потенциал заключается в производстве водорода, углекислого газа и большого количества бутирата в результате ферментации глюкозы и ацетата. Помимо этого, обнаружен род *Lachnospiraceae*_ND 2004 group, также производители КЦЖК, у пациентов всех групп в основном после коррекции/назначения ЗФТ. Увеличение таксонов данного семейства может быть показателем эффективности проводимой терапии у пациентов с ЭНПЖ, хотя и необходимо учитывать факт, что аномальное увеличение содержания *Lachnospiraceae* может быть одним из факторов, вызывающих метаболические заболевания, такие как сахарный диабет и ожирение [26].

Согласно анализу секвенирования *16S pPHK* семейство *Peptostreptococcaceae* находится в порядке *Clostridiales*, класс *Clostridia* в типе *Firmicutes*, основными метаболитами которого являются масляная и капроновая кислоты [57]. Таксоны, отнесенные в настоящее время к *Clostridiaceae*, обычно являются облигатно анаэробными палочками, грамположительны, хотя значительное число, особенно термофильных видов, грамотрицательны на всех фазах роста. Большинство предполагаемых видов, принадлежащих к *Clostridiaceae*, образуют эндоспоры или, содержат специфические гены спорообразования. Важно, что почти все представители типового рода *Clostridium sensu stricto* семейства образуют бутират в качестве основного продукта брожения. Семейство *Erysipelatoclostridiaceae* относится к относительно новому вместе с другими членами кластера *Clostridia* [131]. Типовой род *Erysipelatoclostridium* обнаружен в нашем исследовании у пациентов с ХП без экзокринной недостаточности, как до, так и после коррекции терапии.

В группе сравнения до назначения/коррекции терапии ЗФТ выделено семейство *Erysipelotrichaceae*, многие таксоны которого считаются оппортунистическими патогенами. Сообщается о значительном обогащении семейством у пациентов с колоректальным раком в сравнении со здоровым контролем [101], и у людей с ожирением [131].

Семейство *Bifidobacteriaceae*, известное, как «платформа» для становления и поддержания гомеостаза кишечной экосистемы, обеспечивает адекватное пищеварение [8]. Из-за важности бифидобактерий для здоровья человека, а также из-за их пробиотического потенциала геномы большого количества видов и штаммов *Bifidobacterium* были секвенированы. Исследования *in vitro* показали, что *Bifidobacteria* могут производить противомикробные соединения, такие как органические кислоты, железоусвояющие соединения, и бактериоцины, а компоненты клеточной стенки участвуют в модуляции врожденных иммунных реакций. Исследования семейства *Bifidobacteriaceae* подвержены многочисленной критике из-за плохих дизайнов и слабых выводов, тем не менее указывают, что их присутствие в толстом кишечнике человека наиболее связано с преимуществами для здоровья

[70]. В нашем исследовании таксоны принадлежали группам с ХП без ЭНПЖ и с лёгкой степенью.

Для пациентов группы с тяжёлой ЭНПЖ, как до, так и после коррекции терапии определено семейство *Akkermansia*. Наиболее типичный и широко изучаемый вид – *Akkermansia muciniphila*. Авторы одних исследований считают ее как бактерию разрушающую муцин, важного компонента слоя слизи, выстилающего кишечный эпителий [117]. Другие авторы связывают снижение представленности *Akkermansia muciniphila* с повышенным риском развития СД и ожирения, рассматривая вид, как потенциальный пробиотик и новую терапевтическую мишень для нормализации микробиоты при иммунных заболеваниях, неспецифическом язвенном колите, метаболическом синдроме и колоректальном раке [129]. Есть мнение, что применение панкреатических ферментов уменьшает симптомы, связанные с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы [131], что продемонстрировано и в нашем исследовании, вызывая колонизацию *Akkermansia* и последующей нормализацией кишечного барьера. Наряду с этим таксоны *Akkermansia* обнаружены в тканях ПЖ пациентов, перенесших ПДР, наряду с другими комменсальными бактериями: *Klebsiella*, *Faecalibacterium* и *Prevotella* [103], а в отдельных исследованиях характеризуется, как маркерный таксон, обогащенный в образцах кала у пациентов с протоковой аденокарциномой [67].

Выделенное в нашем исследовании, для группы с ХП и тяжёлой экзокринной недостаточностью при первом визите до назначения/коррекции терапии, семейство *Oscillospiraceae* – распространенное, но редко культивируемое бактериальное семейство, обычно встречающееся в микробиоте кишечника человека, члены которого способны производить бутират. Сообщается, что *Oscillospiraceae* имеет основополагающее значение для здоровья хозяина, малопредставлено в случаях с воспалительными заболеваниями кишечника, а относительное изобилие у пациентов с желчнокаменной болезнью, что вероятно связано с дискинезией и гипотонией желчного пузыря [126].

Для этой же группы определено семейство *Bacteroidaceae*, которая является частью активной кишечной микробиоты человека и участвует почти во всех

категориях бактериальных функций [64]. Являются значимыми клиническими патогенами и встречаются в большинстве анаэробных инфекций с сопутствующей смертностью более 19%. Также поддерживают сложные и в целом полезные отношения с хозяином локализуясь в кишечнике, выйдя за пределы которого могут вызвать значительную патологию, включая бактериемию и образование абсцессов. К тому же виды семейства *Bacteroidaceae* имеют самые высокие механизмы устойчивости к антибиотикам и самые высокие показатели резистентности среди всех анаэробных патогенов [98].

Таким образом, при отсутствии индивидуального подхода к подбору режима терапии ЗФТ, отсутствии должной частоты наблюдений в каждом случае, можем наблюдать, что тяжелая экзокринная недостаточность сопровождается меньшим разнообразием семейств в сравнении с лёгкой и случаями без ЭНПЖ, а представители продуценты КЦЖК малопредставлены.

Бактерии кишечника обладают ферментами, которые отсутствуют в клетках хозяина. Как правило непереваренные пищевые волокна, белки, пептиды могут быть ферментированы в слепке и толстой кишке бактериями кишечника. Основными продуктами ферментативных реакций являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), определяемые, как группы жирных кислот с менее чем шестью атомами углерода, и включают муравьиную кислоту (формиат, C1), уксусную кислоту (ацетат, C2), пропионовую кислоту (пропионат, C3), масляную кислоту (бутират, C4) и валериновую кислоту (валерат, C5), а 95% всех КЦЖК в кишечнике составляют ацетат, пропионат, бутират. Их концентрация в кишечнике находится в соотношении 3:1:1. Диета, специфическое разнообразие микробиоты кишечника и определённое количество комменсальных бактерий играют чрезвычайно важную роль в производстве КЦЖК. Микробные преобразования непереваренных волокон в КЦЖК опосредуются конкретными членами кишечных бактерий. Небольшое количество кишечных бактерий, включая *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii* и *Ruminococcus bromii*, составляют большую часть производителей бутирата. Ферментация резистентного крахмала в значительной степени способствует выработке бутирата в толстой кишке, в которой доминирует

Ruminococcus bromii. Согласно образованию трех основных КЦЖК, ацетат может быть получен из пирувата двумя различными способами: через ацетил-КоА кишечными бактериями, например, *Blautia hydrogenotrophica* [113]. В нашем исследовании мы обнаружили значительное увеличение количества представителей рода (альфа <0.001) *Blautia* в случаях ХП с тяжёлой ЭНПЖ после коррекции терапии экзогенными ферментами, что указывает на потенциальное изменение состояния микробиоты. Однако нельзя достоверно сказать об однозначных преимуществах данного рода, учитывая, что при сравнении с группами здорового населения РФ данный род не обнаружен [117]. Высокий уровень *Blautia* обнаружен, как один из участников эпизодов бактериемии, в случаях с раком молочной железы [28], при ожирении [45]. О дефиците рода сообщается у пациентов с хроническими заболеваниями печени и гепатоцеллюлярной карциномой, у пациентов с раком, связанным с колитом [101]. Несмотря на перечисленные негативные факторы, большинство свойств этого рода связано с его потенциальными пробиотическими функциями, и причинно-следственная связь между избытком/недостатком *Blautia* и болезнями не установлена [126].

Род *Fusobacterium* обнаружен в нашем исследовании у пациентов с ХП и лёгкой экзокринной недостаточностью ПЖ при первичном анализе микробиоты, тогда как после коррекции терапии (экскавации доз полиферментных препаратов) отсутствовал. Увеличение рода обнаружено и в анализе микробиоты пациентов с хроническим алкогольным панкреатитом [38]. Об увеличении видов *Fusobacterium* сообщается для случаев колоректального рака [67], обнаружен в образцах опухоли языка, связанной с воспалительными маркерами IL1B, IL6, IL8 и др., наряду с чем являются наиболее часто выделяемыми анаэробными видами в нормальной флоре полости рта [128]. Роль *Fusobacterium* при раке языка может следовать моделям прогрессирования заболеваний, вовлеченных в колоректальный рак и рак поджелудочной железы [94]. Также обнаружено, что *Fusobacterium* «процветает» в клетках рака толстой кишки (бактерий рода F. обнаружено в сотни раз больше, чем в здоровых тканях и часто ассоциируется с язвенным колитом. Хотя достоверно не определено организм вызывает эти заболевания или род «процветает» в среде, которую

создают эти заболевания, учитывая, что род грамотрицательных представителей *Fusobacterium* сам по себе не является основным патогеном [38].

Другой находкой было увеличение рода *Prevotella* филума *Bacteroides* у пациентов с ХП и тяжёлой внешнесекреторной недостаточностью, до и после коррекции терапии; у пациентов с лёгкой степенью данный род обнаружен после лечения. Таксон также был обнаружен для группы с хроническим алкогольным панкреатитом [38]. Штаммы семейства *Prevotellaceae* являются грамотрицательными, анаэробными и неспорообразующими бактериями [28]. Увеличение богатства и разнообразия *Prevotella* обнаружено у пациентов в опухолевых тканях с плоскоклеточной карциномой полости рта [130]. О *Prevotella* сообщается, как о роде обнаруженном в ткани ПЖ пациентов с панкреатодуоденальной резекцией (ПДР) [101].

Отдельного внимания заслуживают таксоны рода *Peptostreptococcus* и *Erysipelotrichaceae_UGG-003* у пациентов с ХП без ЭНПЖ и *Lachnospiraceae_ND 2004 group*, у пациентов с ХП и легкой степенью ЭНПЖ, что частично совпадает с результатами исследования китайских учёных по исследованию КМ у пациентов с ХП [130]. *Peptostreptococcus* является одним из основных комменсальных родов КМ, одновременно с чем сообщается об обогащении им опухолевых тканей при плоскоклеточной карциноме полости рта [101]. *Lachnospiraceae_ND 2004 group* (также обнаружен у пациентов с ХП без ЭНПЖ) относится к семейству *Lachnospiraceae* и схож по метаболическим путям с родом *Roseburia* [107]. Необходимо отметить, что кроме китайского исследования, касающегося ХП и ЭНПЖ, данные рода выделены не были, что может указывать на их специфичность для КМ при ХП, сопровождающийся внешнесекреторной недостаточностью. После подбора наиболее эффективной дозы ЗФТ из трёх вышеперечисленных родов, только *Lachnospiraceae_ND 2004 group* был дифференцирован при повторном анализе кала.

Интересно, что только в группе II определён род *Catenibacterium* из семейства *Erysipelotrichaceae* [16] с одним известным видом *Catenibacterium mitsuokai*. *Catenibacterium mitsuokai* и *Holdemanella biformis* были связаны с дисбиозом микробиома кишечника, вызванным диетой с высоким содержанием жиров, углеводов

[44] и липидным профилем у пациентов при голодании [30]. Индивидуален был и род *Faecalitalea*. Его единственный представитель вид *Faecalitalea cylindroideis*. Анаэроб, метаболические пути которого определены гидролизом аргинина и мочевины, деградацией L-глутамата с единственным источником энергии триптофаном. В литературе данный род бактерий упоминается в единичных источниках при исследованиях на лабораторных животных. О его роли при заболевании ПЖ у человека возможны лишь гипотетические предположения [99].

На фоне коррекции терапии нами обнаружено появление сообществ в трёх группах пациентов, схожих с таксонами, которые были определены ранее, для здоровых субъектов РФ. В первую очередь род *Faecalibacterium*, обнаруженный во многих исследованиях и играющий потенциально полезную роль для здоровья хозяина. Единственный представитель рода — это вид *Faecalibacterium prausnitzii*, который является единственным видом в роде *Faecalibacterium*, и одним из наиболее распространенных микробов кишечника человека, составляющий около 5% в фекалиях человека [95]. В литературе вид рассматривается, как маркер здоровья кишечника из-за его меньшего содержания у пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника, по сравнению со здоровым контролем [76, 91, 117]. *Faecalibacterium prausnitzii*, является потребителем ацетатов и производит бутират и биоактивные противовоспалительные молекулы. Показано, что уменьшение *F. prausnitzii* в кишечнике прогрессивно снижает способность к самозащите от воспалительных воздействий [91]. Вид хорошо известен, как: таксон, обилие которого уменьшается у людей с ожирением [79]; является одним из наиболее перспективных для развития пробиотиков следующего поколения или биотерапии [81], а фекальная трансплантация *F. prausnitzii* является эффективным терапевтическим подходом к диабету и его осложнениям [119].

Род *Roseburia* обнаружен среди здоровой популяции населения РФ, а в нашем исследовании у пациентов с лёгкой ферментативной недостаточностью до ($\alpha < 0,01$) и после ($\alpha < 0,001$) коррекции терапии с элевацией доз панкреатических ферментов. *Roseburia* принадлежит кластеру *Clostridium XIVa*. Имеет пять характерных видов (*Roseburia intestinalis*, *Roseburia hominis*, *Roseburia inulinivorans*, *Roseburia*

faecis, *Roseburia cecicola*), все из которых производят КЦЖК, такие как ацетат, пропионат и бутират [88]. Бактерии рода *Roseburia*, грамотрицательные, анаэробные, бутиратпроизводящие, считаются постоянными обитателями кишечного тракта млекопитающих, кроме того гидролизуют и ферментируют крахмал, производят H₂, CO₂ [96]. Существуют данные о положительной связи *Roseburia* между низкими показателями AUDIT (шкала идентификации расстройств, связанных с употреблением алкоголя) и обилием рода. Приводит к регрессу симптомов, связанных с заболеваниями печени алкогольной этиологии, улучшая экосистему кишечника [109], путём регулирования барьерного гомеостаза, иммунных клеток и высвобождения цитокинов через метаболит бутирата, предотвращая дисбиоз кишечника и потенцируя регресс симптомов [114]. Сообщается об уменьшении числа представителей рода *Roseburia* в биоптатах слизистой оболочки подвздошной кишки у пациентов с болезнью Крона. Один из видов рода *Roseburia R. hominis* проявляет активность ферментов β-глюкуронидазы и β-глюкозидазы *in vitro*. β-Глюкуронидазы участвуют в метаболизме ксенобиотиков, в биодоступности активных метаболитов, происходящих из пищевых соединений. Её снижение указывает на потенциальную роль *R. hominis* в патогенезе у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона [78]. *Roseburia intestinalis*, рассматривается с позиций потенциальной пробиотической роли, являясь терапевтической мишенью в заболеваниях человека, путем регулирования барьерного гомеостаза, иммунных клеток и высвобождения цитокинов через метаболит бутирата [88]. Увеличение доли рода у пациентов с ХП и лёгкой ЭНПЖ после коррекции ЗФТ (статистическая достоверность признака $\alpha < 0,01$ до коррекции против $\alpha < 0,001$ после коррекции/назначения терапии) вероятно, связано с приближением уровня ферментов к физиологическому уровню, что стабилизирует барьерный гемостаз, а в долгосрочной перспективе приводит к восстановлению эубиоза.

Наше исследование также определило ряд не менее интересных таксонов (*Holdemanella*, *Atopobim*, *Blautia*), не встречающихся в микробиоте пациентов с хроническим панкреатитом в предыдущих исследованиях, что вероятно связано с нашим подходом к делению групп, зависящее от степени экзокринной

недостаточности [16]. Статистически значимым было определение рода *Holdemanella* у пациентов с ХП без внешнесекреторной недостаточности ($\alpha > 0.001$) и с тяжёлой степенью ЭНПЖ ($\alpha > 0.01$) как до коррекции терапии, так и после. Информация о роде малопредставлена. Экспериментальные исследования говорят о положительной роли рода, заключающейся в возможности снижения пролиферации опухолевых клеток в случаях с колоректальными аденомами [60]. Род *Ato-robit*, дифференцирован у пациентов с ХП без ЭНПЖ, таксоны которого рассматриваются как этиологические агенты широкого круга инфекционно-воспалительных заболеваний человека, являются строгими анаэробами и постоянными жителями ротовой полости, желудочно-кишечного и урогенитального тракта. Представители рода упоминаются, как участники разнообразных инфекционно-воспалительных заболеваний: периодонтиты, вагиниты, уретриты, а также бактериемию и сепсис [48].

Наше исследование на первом этапе продемонстрировало разнообразие кишечной микробиоты у пациентов с различной степенью ЭНПЖ, от группы с ХП без ферментной недостаточности, до группы с тяжёлой степенью, учитывая промежуточный начальный вариант лёгкой степени [16]. На втором этапе мы получили дополнительные различия, уже на внутригрупповых уровнях, полученные под воздействием экзогенных факторов, в нашем случае путём коррекции ЗФТ, времени и течения основного заболевания. Мы получили определённые биомаркёры, как показатели недоброкачественного течения болезни/или некорректно назначенной терапии, так и показатели благоприятного течения после экскавации доз, а в ряде случаев назначению высокодозной терапии ЗФТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая трудности диагностики ХП, оценки качества проводимой ЗФТ, отсутствие критериев для оценки прогрессирования заболевания, в соответствии с целью исследования, мы оценили особенности таксономического состава КМ у пациентов страдающих ХП с/без сопутствующей экзокринной недостаточностью ПЖ. В соответствии с полученными данными мы готовы предложить некоторые таксоны в качестве диагностических маркёров, отражающих эффективность выбранного режима ЗФТ.

До назначения/коррекции терапии выявлены рода играющие потенциально негативную роль в течение заболевания. Такие как *Holdemanella*, *Erysipelotrichaceae*, для группы без экзокринной недостаточности; *Atopobium*, *Catenibacterium*, *Fusobacterium*, *Faecalitalea*, для случаев с лёгкой ЭНПЖ; *Holdemanella*, *Blautia*, *Peptostreptococcus* в случаях тяжёлой степени [16]. Роль потенциально полезных таксонов выполняют *Akkermansia*, *Lachnospiraceae*, *Prevotella*, *Ruminococcus* (у пациентов группы III), *Roseburia*, *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae*.

После назначения/экскавации доз заместительной ферментной терапии обнаружены бактерии, выполняющие определённую положительную роль в организме, и встречающиеся у здоровых субъектов РФ. Также необходимо добавить, что часть потенциальных патогенов, обнаруженных ранее, не были обнаружены при повторном исследовании.

Учитывая выделение определённых таксонов, как характерных биомаркёров отражающих эффективность ЗФТ у пациентов с ХП и различной степенью экзокринной недостаточности, мы уточнили алгоритм диагностики и подхода к тактике ведения (рисунок 37).

Исследования кишечной микробиоты у пациентов с ХП немногочисленны, разнородны и требуют дальнейшего изучения. На данном этапе понятно, что микробиом кишечника хозяина и патологии ПЖ, в частности хронический панкреатит тесно связаны. В нашем исследовании выявлены потенциальные биомаркёры, характерные для каждой стадии ХП и степени тяжести ЭНПЖ, что даёт

представление о сложной взаимосвязи между КМ и патологическим состоянием организма при панкреатите [16].

Мы доказали, что эффективная, персонализированная и контролируемая ЗФТ в долгосрочном периоде приводит кишечную микробиоту к состоянию эубиоза. Что ещё раз доказывает отсутствие необходимости в необоснованном назначении в первую очередь антибиотиков. Ценность исследования состава кишечной микробиоты у пациентов с ХП и сопутствующей экзокринной недостаточностью очевидна и необходима в качестве диагностического и прогностического биомаркёра, в частности отражающего эффективность заместительной ферментной терапии.



Рисунок 37. Алгоритм диагностики эффективности заместительной ферментной терапии и тактики ведения при ХП с экзокринной недостаточностью ПЖ на основании таксономического состава кишечной микробиоты

ВЫВОДЫ

1. На основании анамнеза, клинико-лабораторных данных у пациентов с хроническим панкреатитом и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы определена неэффективная тактика лечения в 21 (44%) случае с лёгкой степенью тяжести, в 42 (82%) случаях с тяжёлой степенью.

2. У пациентов с хроническим панкреатитом независимо от наличия и степени тяжести экзокринной недостаточности поджелудочной железы наблюдается снижение бактериального разнообразия, снижение родов бактерий, продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, снижение родов бактерий с потенциально пробиотическими функциями, превалирование условно-патогенных таксонов по сравнению со здоровым контролем.

3. Через 6 (± 1) месяцев после назначения или эскалации панкреатических ферментов у пациентов с хроническим панкреатитом независимо от наличия и степени тяжести экзокринной недостаточности поджелудочной железы обнаружено увеличение доли продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, уменьшение условно-патогенных таксонов, увеличение родов бактерий с потенциально пробиотическими функциями.

4. Для пациентов с хроническим панкреатитом и различной степенью экзокринной недостаточности поджелудочной железы выделены бактериальные рода (биомаркёры) условно-патогенных таксонов, отражающих неблагоприятное течение патологического процесса и биомаркёров, отражающих эффективность выбранного режима заместительной терапии полиферментными препаратами.

5. Разработан алгоритм оценки эффективности заместительной ферментной терапии при хроническом панкреатите с различной степенью экзокринной недостаточности поджелудочной железы на основании таксономического состава кишечной микробиоты

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В комплексное обследование пациентов с хроническим панкреатитом и наличием экзокринной недостаточности поджелудочной железы целесообразно включить генетическое исследование таксономического состава кишечной микробиоты для оценки характера течения патологического процесса, эффективности проводимой заместительной ферментной терапии и оценки прогноза заболевания.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1) Для улучшения качества диагностики эффективности выбранного режима заместительной ферментной терапии у пациентов с хроническим панкреатитом и различной степенью экзокринной недостаточности поджелудочной железы рекомендуется подробное исследование функционального потенциала кишечной микробиоты и выявление определённых бактерий на уровне видов при помощи полногеномного секвенирования, с использованием полученных результатов в качестве дополнительных биомаркёров.

2) Для установления связей изменения состава кишечной микробиоты с патогенезом и прогрессированием хронического панкреатита в зависимости от степени экзокринной недостаточности поджелудочной железы рекомендуется изучение отдельных видов бактерий, их метаболического потенциала и взаимодействия друг с другом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИП – аутоиммунный панкреатит

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БК – болезнь Крона

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ГПП – главный панкреатический проток

ДИ – доверительный интервал

ДПК – двенадцатиперстная кишка

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗК – здоровые контроли

ЗФТ – заместительная ферментная терапия

ИМТ – индекс массы тела

ИК- индекс курения

ИПП – ингибиторы протонной помпы

ИФА – иммуноферментный анализ

КМ – кишечная микробиота

КТ – компьютерная томография

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

КОЕ – колониеобразующая единица

МРТ – магнитно-резонансная томография

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

ОМП – окружность мышц плеча

ОТЕ – операционная таксономическая единица

ОП – острый панкреатит

ПЖ – поджелудочная железа

ПФ – полиферментные препараты

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭ-1 – панкреатическая эластаза - 1

РГА – Российская гастроэнтерологическая ассоциация

СД – сахарный диабет

СИБР – синдром избыточного бактериального роста

СО – среднее отклонение

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

УЗИ -ультразвуковое исследование

ХАП – хронический алкогольный панкреатит

ХП – хронический панкреатит

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

ЭУС – эндоскопическая ультрасонография

ЭНПЖ – экзокринная недостаточность поджелудочной железы

НМР - Human Microbiome Project

MetaНIT - Metagenomics of human intestinal tract

16S рРНК- 16 субъективная единица рибосомальной рибонуклеиновой кислоты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ардатская М.Д. Синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке// Медицинский совет. -2016. -14. -С. 88-95.
2. Бордин Д.С. Ключевые позиции панъевропейских клинических рекомендаций по диагностике и лечению хронического панкреатита в фокусе гастроэнтеролога/ Кучерявый Ю.А. // Российский Медицинский журнал. -2017. -№10.- С. 730–737.
3. Гриневич В.Б. Патогенетические основы комплексной терапии больных хроническим панкреатитом / Сас Е.И., Кравчук Ю.А. [и соавт.] // Альманах клинической медицины. -2015. -40. -С.72–81.
4. Ивашкин В. Т. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению хронического панкреатита / Маев И. В., Охлобыстин А. В., Кучерявый Ю. А. [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. -2014. - №4. -С.70-94.
5. Ивашкин В.Т. Использование метода определения панкреатической эластазы в кале в диагностике хронического панкреатита // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. -2002. -№2. -С.10.
6. Ивашкин В.Т. Кишечный микробиом как фактор регуляции деятельности энтеральной и центральной нервной системы / Ивашкин К.В. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. -2017. -27 (5). -С.-11-19.
7. Ивашкин В.Т. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению экзокринной недостаточности поджелудочной железы / Маев И.В., Охлобыстин А.В., Алексеенко С. А., [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. -2017. -27(2). - С.-72-100.

8. Кожевников А.А. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / Раскина К.В., Мартынова Е.Ю., и др. // Российский медицинский журнал. -2017. -17. С.-1244-1247.
9. Левченко А.И. Синдром избыточного бактериального роста и экзокринная недостаточность поджелудочной железы при хроническом панкреатите / Осипенко Ю.В., Кучерявый Ю.А., Бордин Д.С. // Эффективная фармакотерапия. - 2020. -16(30). С.-56–64. doi: 10.33978/2307-3586-2020-16-30-56-64.
10. Маев И.В. Принципы заместительной ферментной терапии при экзокринной недостаточности поджелудочной железы / Вьючнова Е.С., Кучерявый Ю.А. // Доказательная гастроэнтерология. -2013. -1. С.-68-74.
11. Маев И.В. Распространенность саркопении у пациентов с хроническим панкреатитом: метаанализ / Андреев Д.Н., Кучерявый Ю.А., Левченко А.И. // Терапевтический архив. -2020. -92(12). С.-43-47. doi: 10.26442/00403660.2020.12.200430
12. Маев И.В. Статус питания больных хроническим панкреатитом / Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н., Бидеева Т.В. // Терапевтический архив. -2016. -88(2). С. -81-89. doi: 10.17116/terarkh201688281-89.
13. Маев И.В. Эволюция представлений о синдроме раздраженного кишечника: учебное пособие / Ю.А. Кучерявый, С.В. Черёмушкин. -Москва: Форте Принт, 2013. - 80 с.
14. Маев И.В. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы: клиническое значение и подходы к коррекции с позиций доказательной медицины / Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. // Терапевтический архив. -2021. -93 (4). С. -509–515. doi: 10.26442/00403660.2021.04.200800.
15. Маев И.В. Изменения кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом: систематизация литературных данных / А.И. Левченко, Д.Н. Андреев// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2022; 32(4): 17-26. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2022-32-4-17-26>

16. Маев И.В. Сравнительный анализ кишечной микробиоты у больных с экзокринной недостаточностью поджелудочной железы различной степени тяжести/ А.И. Левченко, Ю.С. Галеева, Д.Н. Андреев// Терапевтический архив. 2023; 95(2):130-139. doi: 10.26442/00403660.2023.02.202056
17. Никонова Е.Л. Микробиота: Монография / Е.Л. Никонова, Е.Н. Попова. -Москва, 2019. -256 с.
18. Петри А. Наглядная медицинская статистика: учебное пособие / А. Петри., К. Сэбин -Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. -168 с.
19. Пиневиц А.В. Микробиология. Биология прокариотов: Учебник. В 3 т. Том 1. // А.В. Пиневиц -СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2006. – 352с.
20. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA: учебное пособие / О.Ю. Реброва. - Москва. МедиаСфера, 2002. -312с
21. Унгурияну Т. Н. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела Уоллиса в программе Stata / Гржибовский А.М. // Экология человека. -2014. -№6. -С.-55-58.
22. Хатьков И.Е. Российский консенсус по диагностике и лечению хронического панкреатита / Маев И.В., Абдулхаков С.Р., Алексеенко С.А., [и соавт.] // Терапевтический архив. -2017. -89 (2). -С.105-113.
23. Хатьков И.Е. Спорные вопросы Российского консенсуса по диагностике и лечению хронического панкреатита / Маев И.В., Бордин Д.С., Кучерявый Ю.А., [и соавт.] // Альманах клинической медицины. -2016. -44(6). -С.654-660.
24. Хендерсон Д. М. Патопфизиология органов пищеварения: учебное пособие/ Д.М. Хендерсон – Москва: Издательство БИНОМ, 3-е издание, 2018. – 272 с.
25. Ammann R.W. Pancreatitis Study Is obesity an additional risk factor for alcoholic chronic pancreatitis? / Raimondi S., Maisonneuve P., Mullhaupt B., [et al.] // Pancreatology. -2010. -10. -С. 47-53.

26. Arora T. The gut microbiota and metabolic disease: current understanding and future perspectives / Bäckhed F. // *Journal of Internal Medicine*. -2016. -Vol. 280. -№4. -P.339–349.
27. Bagul A. Evaluation of the Manchester Classification System for Chronic Pancreatitis/ Siriwardena A.K. // *Journal of the Pancreas*. -2006. -Vol. 7. -№ 4. P. 390–396.
28. Bard J.-M. Relationship between intestinal microbiota and clinical characteristics of patients with early stage breast cancer / Luu H.T., Dravet F., Michel C., [et al] // *FASEB Journal*. -2015. -29.
29. Boland K. Microbiome composition is altered in patients with IBD independent of endoscopic activity / Turpin W., Mohammadi A. [et al.] *Gastroenterology*. -2017. -152(5).
30. Brahe L.K., et al. Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity / Le Chatelier E., Prifti E., Pons N., [et al.] *Nutrition & Diabetes*. -2015. -5:e159. doi: 10.1038/nutd.2015.9.
31. Büchler M.W. A proposal for a new clinical classification of chronic pancreatitis / Martignoni M.E., Friess H., Malfertheiner P. // *BMC Gastroenterology*. -2009. -9:93 doi:10.1186/1471-230X-9-93.
32. Capurso G. Systematic review and meta-analysis: small intestinal bacterial overgrowth in chronic pancreatitis / Signoretti M., Archibugi L. [et al.] // *United European Gastroenterology Journal*. 2016. Vol. 4. No 5. P. 697–705.
33. Catalano M.F. EUS-based criteria for the diagnosis of chronic pancreatitis: the Rosemont classification / Sanai A., Levy M., Romagnuolo J., Wiersema M. [et al.] // *Gastrointestinal Endoscopy*. -2009. -69 (7). -P.1251-1261. doi.org/10.1016/j.gie.2008.07.043.
34. Chang J.Y. Decreased diversity of the fecal microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea / Antonopoulos D.A., Kalra A., [et al.] // *Journal Infection Disease*. -2008. -197(3). -P.435–438.

35. Cheng M. Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas / Ning K. // *Genomics Proteomics Bioinformatics*. -2019. -17(1). P. 4-12. doi: 10.1016/j.gpb.2018.02.004.
36. Chistoserdova L. Functional metagenomics: recent advances and future challenges // *Biotechnology Genetic Engineering*. -2009. -26. – P. 335–352. doi: 10.5661/bger-26-335.
37. Chonchubhair H.N. Small intestinal bacterial overgrowth in chronic pancreatitis patients with pancreatic exocrine insufficiency; a prospective cohort study / Bashir Y., Dobson M., Ryan B., [et al.] // *Gut*. -2017. 66:A9.
38. Ciocan D. Characterization of intestinal microbiota in alcoholic patients with and without alcoholic hepatitis or chronic alcoholic pancreatitis / Rebours V., Voican C.A., [et al.] // *Scientific REPOrTs*. -2018. -8. doi:10.1038/s41598-018-23146-3.
39. Claesson M.J. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly / Cusack S., O'Sullivan O., Greene-Diniz R., [et al.] // *Proceeding of the National Academy of Sciences of the U S A*. -2011. -108. P. -4586–4591.
40. Conwell D.L. , Miller F.H. , Morteale K.J. , et al. American Pancreatic Association Practice Guidelines in Chronic Pancreatitis: Evidence-Based Report on Diagnostic Guidelines / Lee L.S., Yadav D., Longnecker D.S. [et al.] // *Pancreas*. -2014. -43(8). P. 1143–1162. doi: 10.1097/MPA.0000000000000237.
41. Dănău A. Small Intestinal Bacterial Overgrowth as Potential Therapeutic Target in Parkinson's Disease / Dumitrescu L., Lefter A., Tulbă D., [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. -2021. -22(21). doi: 10.3390/ijms222111663.
42. Diéguez-Castillo C. State of the Art in Exocrine Pancreatic Insufficiency / Jiménez-Luna C., Prados J., [et al.] // *Medicina*. -2020. -56(10). -P. 523. doi.org/10.3390/medicina56100523.
43. Dominguez-Muñoz J.E. Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency // *Current Opinion in Gastroenterology*. -2018. -34(5). -P. 349-354. doi: 10.1097/MOG.0000000000000459.

44. Duda-Chodak A. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review // Tarko T., Satora P., Sroka P. // *European Journal of Nutrition*. -2015. -54. -P. 325–341. doi: 10.1007/s00394-015-0852-y.
45. Duncan S.H. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss / Lobley G., Holtrop G., Ince J., [et al.] // *International Journal of Obesity*. -2008. -32. -P. 1720–1724.
46. El Kurdi B. Factors That Affect Prevalence of Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Chronic Pancreatitis: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression / Babar S., El Iskandarani M., [et al.] // *Clinical and Translational Gastroenterology*. -2019. -10(9):e00072. doi:10.14309/ctg.0000000000000072.
47. Erdogan A. Small intestinal bacterial overgrowth: Duodenal aspiration vs glucose breath test / Rao S.S., Gulley D., [et al.] // *Neurogastroenterology & Motility*. -2015. -27. P. 481–489.
48. Evdokimova N.V. Bacteria *Atopobium* genus and their role in development of infectious inflammatory diseases / Chernenkaya T.V. // *Medical alphabet*. -2018. -2(35). -P. 43-45.
49. Forsmark C.E. Oral pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) in patients with pancreatic cancer (PCa) is infrequent and suboptimal: A national level analysis / Tang G., Tuft M., Xu H., [et al.] // *Pancreas*. -2017. -46:1400.
50. Frost F. Impaired Exocrine Pancreatic Function Associates With Changes in Intestinal Microbiota Composition and Diversity / Kacprowski T., Ruhlemann M., Weiss F.U. [et al.] // *Gastroenterology*. -2019. -156(4). P. 1010-1015. doi: 10.1053/j.gastro.2018.10.047.
51. Frost F. The Gut Microbiome in Patients With Chronic Pancreatitis Is Characterized by Significant Dysbiosis and Overgrowth by Opportunistic Pathogens / Weiss F. U., Sandler M., [et al.] // *Clinical and Translational Gastroenterology*. -2020. -11: e00232. <https://doi.org/10.14309/ctg.00000000000000232>
52. Gardner T.B. ACG Clinical Guideline: Chronic Pancreatitis / Adler D.G., Forsmark C.E., Sauer B.G., [et al.] // *American Journal of Gastroenterology*. -2020. -115(3). -P. 322-339. <https://doi.org/10.14309/ajg.00000000000000535>.

53. Gesualdo M. Pancreatic Diseases and Microbiota: A Literature Review and Future Perspectives / Rizzi F., Bonetto S., Rizza S., [et al.] // *Journal Clinical Medicine*. -2020. -9(11). doi: 10.3390/jcm9113535
54. Ghodeif A.O. Pancreatic Insufficiency / Azer S.A. // *StatPearls* [интернет ресурс]. -2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555926/>
55. Gill S.R. (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome Pop M., DeBoy R.T., Eckburg P.B., [et al.] // *Science*. -2006. -312. -P.1355–1359. doi:10.1126/science.1124234.
56. Gubergrits N.B. Morphological and functional alterations of small intestine in chronic pancreatitis / Linevskiy Y.V., Lukashevich G.M., [et al.] // *JOP*. -2012. -13. -P. 519–528.
57. Hamada S. Differences in Gut Microbiota Profiles between Autoimmune Pancreatitis and Chronic Pancreatitis / Masamune A., Nabeshima T., Shimosegawa T., [et al.] // *Tohoku Journal Experimental medicine*. -2018. -244 (2). -P. 113-117.
58. Han M.-M. The alterations of gut microbiota in mice with chronic pancreatitis / Zhu X.-Y., Peng Y.-F., [et al.] // *Ann Transl Med*. -2019. - 7(18). -P.464.
59. Hegyi P. Working Group for the International (IAP – APA – JPS – EPC) Consensus Guidelines for Chronic Pancreatitis. International Consensus Guidelines for Risk Factors in Chronic Pancreatitis. Recommendations from the working group for the international consensus guidelines for chronic pancreatitis in collaboration with the International Association of Pancreatology, the American Pancreatic Association, the Japan Pancreas Society, and European Pancreatic Club / Párniczky A., Lerch M.M., Sheel A.R.G., , Rebours V., [et al.] *Pancreatology*. -2020. -20(4). -P.579-585. doi: 10.1016/j.pan.2020.03.014.
60. Hindson J. Anti-tumorigenic endogenous gut bacteria in mice and humans / *Natural Review Gastroenterology Hepatology*. -2020. -17, 132. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0274-z>.

61. Hirota M. The sixth nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan / Shimosegawa T., Masamune A., [et al.] // *Pancreatology*. -2012. -12. -P.79–84.
62. Hollemans R.A. Pancreatic exocrine insufficiency following acute pancreatitis: Systematic review and study level meta-analysis / Hallensleben N.D.L., Mager D.J., Kelder J.C. [et al.] // *Pancreatology*. -2018. -18. -P.253–262. doi: 10.1016/j.pan.2018.02.009.
63. Hugon P. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings / Dufour J.-C., Colson P., Fournier P.-E., [et al.] // *Lancet Infectious Diseases*. -2015. -15. -P. 1211–1219. doi:10.1016/S1473-3099(15)00293-5.
64. Jandhyala S.M. Altered intestinal microbiota in patients with chronic pancreatitis: implications in diabetes and metabolic abnormalities / Madhulika A., Deepika G., [et al.] // *Scientific Reports*. -2018. 7:43640. [https://doi: 10.1038/srep43640](https://doi.org/10.1038/srep43640).
65. Jo J.-H. Research Techniques Made Simple: Bacterial 16S Ribosomal RNA Gene Sequencing in Cutaneous Research / E.A. Kennedy, H.H. Kong // *Journal of Investigative Dermatology*. -2016. -136. -P. 23-27. doi:10.1016/j.jid.2016.01.005.
66. Johnson J.S. Demkowicz P, Chen L, et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis / Spakowicz D.J., Hong B.Y., Petersen L.M., [et al.] // *Nature Communications*. -2019. -10(1):5029. doi: 10.1038/s41467-019-13036-1.
67. Kartal E. A faecal microbiota signature with high specificity for pancreatic cancer/ Schmidt T.S.B., Molina-Montes E., [et al.] // *Gut*. -2022. doi: 10.1136/gutjnl-2021-324755.
68. Keim V. Clinical value of a new fecal elastase test for detection of chronic pancreatitis / Teich N., Moessner J. // *Clinical Laboratory*. -2003. -49(5-6). -P.209-215.
69. La Reau A.J. Sequence-based analysis of the genus *Ruminococcus* resolves its phylogeny and reveals strong host association / Meier-Kolthoff J.P., Suen G. // *Microbial Genomics* 2016 Dec; 2(12): e000099. doi: 10.1099/mgen.0.000099.
70. Lee A.A. Small Intestinal Bacterial Overgrowth Is Common in Chronic Pancreatitis and Associates with Diabetes, Chronic Pancreatitis Severity, Low Zinc Levels,

and Opiate Use / Baker J.R., Wamsteker E.J., Saad R., [et al.] // *American Journal Gastroenterology*. -2019. -114(7). -P.-1163-1171. doi: 10.14309/ajg.0000000000000200. PMID: 31008737; PMCID: PMC6610753.

71. Levitt M.D. Volume, composition, and source of intestinal gas / Bond J.H. // *Gastroenterology*. -1970. -59. -P. 921–929.

72. Levy P. Epidemiology of chronic pancreatitis: Burden of the disease and consequences / Dominguez-Munoz E., [et al.] // *United European Gastroenterol J*. -2014. -2. -P. 345–354.

73. Li J. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome / Jia H., Cai X., Zhong H. [et al.] // *Natural Biotechnology*. -2014. -32. -P. 834–841. doi:10.1038/nbt.2942.

74. Lindkvist B. Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency // *World Journal Gastroenterology*. -2013. -14;19(42). -P.7258-7266. doi: 10.3748/wjg.v19.i42.7258.

75. Lo'hr J.M. United European Gastroenterology evidence - based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis (HaPanEU) / Dominguez-Munoz E., Rosendahl J., Besselink M., [et al.] // *United European Gastroenterology Journal*. -2017. -5(2). -P.153–199.

76. Lopez-Siles M. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics / Duncan S.H., Garcia-Gil L.J., Martinez-Medina M. // *ISME Journal*. -2017. -11. -P. 841–852. doi:10.1038/ismej.2016.176.

77. Machicado J.D. Epidemiology of Recurrent Acute and Chronic Pancreatitis: Similarities and Differences / Yadav D. // *Digestive disease and sciences*. -2017. -62(7). -P. 1683-1691. doi: 10.1007/s10620-017-4510-5.

78. Machiels K. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis / Joossens M., Sabino J., De Preter V. // *Gut*. -2014. -63(8). -P.1275-1283. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304833.

79. Maioli T.U. Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders / Borrás-Nogues E., Torres L., [et al.] *Frontiers in Pharmacology*. -2021. -12. doi:10.3389/fphar.2021.740636.
80. Manichanh C. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach / Rigottier-Gois L., Bonnaud E., [et al.] // *Gut*. -2006. -55(2). -P.205–211.
81. Martín R. Functional Characterization of Novel *Faecalibacterium prausnitzii* Strains Isolated from Healthy Volunteers: A Step Forward in the Use of *F. prausnitzii* as a Next-Generation Probiotic / Miquel S., Benevides L., Bridonneau C., Robert V., [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. 2017. - 30;8. -P.1226. doi: 10.3389/fmicb.2017.01226.
82. Mayerle J. Genetics and pathophysiology of pancreatitis / Sandler M., Hegyi E., Beyer G., Lerch M.M. // *Gastroenterology*. 2019. -156(7). -P.1951–1968. doi: 10.1053/j.gastro.2018.11.081.
83. Mizrahi-Man O. Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: evaluation of effective study designs / Davenport E.R., Gilad Y., White B.A. // *PLoS ONE*. -2013. -8,e53608. doi:10.1371/journal.pone.0053608.
84. Moore W.E.C. Human fecal flora - normal flora of 20 Japanese-hawaiians / Holdeman L.V. // *Journal Applied Microbiology*. -1974. -27. -P.961–979.
85. Morgan X.C. Chapter 12: human microbiome analysis / Huttenhower C. // *PLoS Computational Biology*. -2012. -8(12):e1002808.
86. Navarro S.S. Chronic pancreatitis. Some important historical aspects. Pancreatitis crónica. Algunos aspectos históricos relevantes // *Gastroenterología y hepatología*. -2018. -41(7). -P.474.e1-474.e8. doi: 10.1016/j.gastre.2018.07.005
87. Neish A.S. Microbes in gastrointestinal health and disease // *Gastroenterology*. -2009. -136. -P. 65–80. doi:10.1053/j.gastro.2008.10.080.
88. Nie K. *Roseburia intestinalis*: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species / Ma K., Luo W., [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. -2021. -11. -P. 757-718. doi:10.3389/fcimb.2021.757718.

89. Ouyang, G. The global, regional, and national burden of pancreatitis in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / Pan G., Liu Q., [et al.] // BMC Medicine. -2020. -18. -P.388.
90. Palmer C. Development of the human infant intestinal microbiota / Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O. // PLoS Biology. -2007. -5:e177.
91. Parsaei M. The importance of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health and diseases / Sarafraz N., Moaddab S.Y., Leylabadlo E.H. // New Microbes New Infect. -2021. -43. P.1009-1028. doi:10.1016/j.nmni.2021.100928.
92. Pimentel M. ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth / Saad R.J., Long M.D., Rao Satish S.C. // The American Journal of Gastroenterology. -2020. -115(2). -P. 165-178. doi: 10.14309/ajg.0000000000000501.
93. Poretsky R. Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics / Rodriguez R.L., Luo C., Tsementzi D., Konstantinidis K.T. // PLoS One. -2014. -9:e. P. 938-927.
94. Pushalkar S. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by Induction of innate and adaptive immune suppression / Hundeyin M., Daley D., [et al.] // Cancer Discovery. -2018. -8(4). -P.403–416.
95. Qin J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / Li R., Raes J., Arumugam M., [et al.] // Nature. -2010. -464. P.59–65. doi:10.1038/nature08821.
96. Rainey F.A. Family V. Lachnospiraceae fam. nov. In: De Vos P: textbook / Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R, Ludwig W., Rainey F.A., Whitman W.B. // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. - New York. -2009: 2nd edn, vol. 3 (The Firmicutes). -P. 921.
97. Rajilic-Stojanovi M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota FEMS (Federation of European Microbiological Societies) / de Vos W.M. // Microbiologie Review. -2014. -38. P.996–1047.

98. Raymond F. The initial state of the human gut microbiome determines its reshaping by antibiotics / Ouameur A.A., Déraspe M., Iqbal N., [et al.] // *ISME Journal*. -2016. -10. -P.707–720.
99. Reimer L. C. BacDive in 2019: bacterial phenotypic data for High-throughput biodiversity analysis / Vetschinova A., Carbasse J.S., Söhngen C., [et al.] // *Nucleic Acids Research*. -2019. -47(D1). -P. D631–D636. <https://doi.org/10.1093/nar/gky879>.
100. Rezaie A. How to Test and Treat Small Intestinal Bacterial Overgrowth: An Evidence-Based Approach / Pimentel M., Rao S.S. // *Current Gastroenterology Reports*. -2016. -18:8. doi: 10.1007/s11894-015-0482-9.
101. Richard M.L. Mucosa-associated microbiota dysbiosis in colitis associated cancer / Liguori G., Lamas B., Brandi G., [et al.] // *Gut Microbes*. -2018. -9(2). -P.131–142. doi:10.1080/19490976.2017.1379637.
102. Rodrigues-Pinto E. Clube Portugues do pancreas recommendations for chronic pancreatitis: Etiology, natural history and diagnosis / Caldeira A., Soares J.B., Antunes T., [et al.] // *Ge Portuguese Journal of Gastroenterology*. -2019. -26. -P. 346–355. doi: 10.1159/000497388.
103. Rogers M.B. Disturbances of the Perioperative Microbiome Across Multiple Body Sites in Patients Undergoing Pancreaticoduodenectomy / Aveson V., Firek B., Yeh A., [et al.] // *Pancreas*. -2017. -46. P.260–267. doi: 10.1097/MPA.0000000000000726.
104. Sankaran S.J. Frequency of progression from acute to chronic pancreatitis and risk factors: a meta-analysis / Xiao A.Y., Wu L.M., Windsor J.A., [et al.] // *Gastroenterology*. -2015. -149. P. 1490-1500.
105. Schneider A. The M-ANNHEIM classification of chronic pancreatitis: introduction of a unifying classification system based on a review of previous classifications of the disease / Lo'hr J.M., Singer M.V. // *Journal of Gastroenterology*. -2007. -42. -P.101–119. doi:10.1007/s00535-006-1945-4.

106. Scholz, M. B. Next generation sequencing and bioinformatic bottlenecks: the current state of metagenomic data analysis / Lo C.-C., Chain P.S. // *Current Opinion in Biotechnol.* – 2012. -23.
107. Selber-Hnatiw S. Human gut microbiota: toward an ecology of disease / Rukundo B., Ahmadi M., Akoubi H. , [et al.] // *Front. Microbiology.* -2017. -8. -P.1265.
108. Sender R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body/ Fuchs S., Milo R. // *PLOS Biology.* -2016. -14(8): e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>.
109. Seo B. Roseburia spp. Abundance Associates with Alcohol Consumption in Humans and Its Administration Ameliorates Alcoholic Fatty Liver in Mice / Jeon K, Moon S, Lee K, [et al.] // *Cell Host Microbe.* -2020. -27(1). -P. 25-40. doi: 10.1016/j.chom.2019.11.001.
110. Sethi V. Gut microbiota promotes tumor growth in mice by modulating immune response / Kurtom S., Tarique M., [et al.] // *Gastroenterology.* -2018. -155(1). -P.33–37.
111. Signoretti M. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with chronic pancreatitis / Stigliano S, Valente R, et al. // *Journal Clinical of Gastroenterology.* -2014. -48. -P.S52–S55.
112. Sikkens E.C. Patients with exocrine insufficiency due to chronic pancreatitis are undertreated: A Dutch national survey / Cahen D.L., van Eijck C., Kuipers E.J., et al. // *Pancreatology.* -2012. -12. -P.71–73. doi: 10.1016/j.pan.2011.12.010.
113. Sun M. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases / Wu W., Liu Z., Cong Y. // *Journal Gastroenterology.* -2017. -52(1). -P.1-8. doi:10.1007/s00535-016-1242-9.
114. Tamanai-Shacoori Z. Roseburia Spp.: A Marker of Health? / Smida I., Bousarghin L., Meuric V., et al. // *Future Microbiology.* -2017. -12 (2). -P.157–170. doi: 10.2217/fmb-2016-0130.
115. Tett A. Prevotella diversity, niches and interactions with the human host / Pasolli E., Masetti G., Ercolini D., et al. // *Natural Review Microbiology.* -2021. -19(9). -P.585-599. doi: 10.1038/s41579-021-00559-y.

116. Therrien A. Prevalence of Small Intestinal Bacterial Overgrowth among Chronic Pancreatitis Patients: A Case-Control Study / Bouchard S., Sidani S., Bouin M. // *Canadian Journal Gastroenterol Hepatology*. -2016. -18(4). P.379-385. doi: 10.1155/2016/7424831.
117. Tyakht A. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia / Kostryukova E., Popenko A., et al. // *Natural Commun*. -2013. – 4. -P. 2469. <https://doi.org/10.1038/ncomms3469>.
118. Vanga R.R. Diagnostic performance of measurement of fecal elastase-1 in detection of exocrine pancreatic insufficiency: Systematic review and meta-analysis / Tansel A., Sidiq S., et al. // *Clinical Gastroenterol. Hepatol*. -2018. -16. -P.1220–1228. doi: 10.1016/j.cgh.2018.01.027.
119. Vrieze A. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome / Van Nood E., Holleman F., Salojärvi J., [et al.] // *Gastroenterology*. -2012. -143. -P.913–916. doi: 10.1053/j.gastro.2012.06.031.
120. Watanabe T. Immunopathogenesis of pancreatitis / Kudo M., Strober W. // *Mucosal Immunology*. -2017. -10(2). -P.283-298. doi: 10.1038/mi.2016.101.
121. Wei M.-Y. The microbiota and microbiome in pancreatic cancer: more influential than expected. / S. Shi, [et al.] // *Molecular Cancer*. -2019. -15.
122. Whitcomb D.C. Chronic pancreatitis: An international draft consensus proposal for a new mechanistic definition / Frulloni L., Garg P., [et al.] // *Pancreatology*. -2016. -16. -P.218–224.
123. Whitcomb D.C. International consensus statements on early chronic pancreatitis: Recommendations from the working group for the international consensus guidelines for chronic pancreatitis in collaboration with the International Association of Pancreatology, American Pancreatic Association, Japan Pancreas Society, PancreasFest Working Group and European Pancreatic Club / Shimosegawa T., Chari S.T., [et al.] // *Pancreatology*. -2018 (18). -P.1424-3903.

124. Whitcomb D.C. North American Pancreatitis Study Group. Pancreatitis: TIGAR-O Version 2 Risk/Etiology Checklist With Topic Reviews, Updates, and Use Primers // Clinical Transl Gastroenterology. -2019. -10(6):e00027. doi: 10.14309/ctg.0000000000000027.
125. Wu G.D. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes / Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., [et al.] // Science. -2011. -334. -P.105–108.
126. Liu X. A Comprehensive Assessment of the Safety of *Blautia producta* DSM 2950. Microorganisms./ Guo W, Cui S, Tang X, Zhao J, et al.// 2021 Apr 23;9(5):908. doi: 10.3390/microorganisms9050908
127. Yang J. Oscillospira - a candidate for the next-generation probiotics/ Li Y, Wen Z, Liu W, Meng L, Huang H.// Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1987783. doi: 10.1080/19490976.2021.1987783.
128. Yatsunencko T. Human gut microbiome viewed across age and geography / Rey F.E., Manary M.J., Trehan I., [et al.] // Nature. -2012. -486. -P.222–227.
129. Ye X. Impact of smoking on the risk of pancreatitis: a systematic review and meta-analysis / Lu G., Huai J., Ding J. // PloS One. -2015. -10.
130. Zhang L. The Oral Microbiota May Have Influence on Oral Cancer / Liu Y., Zheng H.J., Zhang C.P. // Front Cell Infect Microbiol. -2020. -9. -P.476. doi:10.3389/fcimb.2019.00476.
131. Zhang M. Association between acute pancreatitis and small intestinal bacterial overgrowth assessed by hydrogen breath test / Zhu H.M., He F., Li B.Y., [et al.] // World Journal Gastroenterol. -2017. -23(48). -P.8591-8596. doi: 10.3748/wjg.v23.i48.8591.
132. Zhou C.-H. Altered diversity and composition of gut microbiota in Chinese patients with chronic pancreatitis / Meng Y.-T., [et al.] // Pancreatology. -2020. -20(1). -P.16-24. <https://doi:10.1016/j.pan.2019.11.013>.