

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

 На правах рукописи

ПОЛУНИНА
Анна Владимировна

СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ
С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
(COVID-19)

3.1.21. Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург — 2025

Работа выполнена на кафедре пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Новикова Валерия Павловна — доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Захарова Ирина Николаевна — доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра педиатрии, заведующая

Ермоленко Константин Дмитриевич — доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», НИО кишечных инфекций, заведующий.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «14» мая 2025 года в 10-00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.062.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, д. 39, к. 2) и на официальном сайте ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России <http://gpmu.org/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 21.2.062.02

доктор медицинских наук, доцент

Тыртова Людмила Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень её разработанности. За время пандемии, длившейся с 11 марта 2020 г. по 5 мая 2023 г. (ВОЗ), и в последующий период по всему миру было зарегистрировано свыше 777 млн случаев заболевания и более 7 млн летальных исходов (Заболевание COVID-19 у детей и подростков ..., 2021; COVID-19 Coronavirus Pandemic ..., 2024). Несмотря на окончание пандемии, на сегодняшний день более 1000 различных генетических линий вируса SARS-CoV-2 продолжают играть эпидемиологическую роль в циркуляции инфекции (Abdool Karim S.S., 2021; Singh J. et al., 2021; Plante J.A. et al., 2021; Yurkovetskiy L. et al., 2020). Особую актуальность приобрела профилактика т.н. постковидного синдрома — симптомокомплекса, включающего разнообразные симптомы, зачастую сохраняющиеся в течение недель, месяцев и даже лет после острого периода заболевания (Башняк В.С., 2023; Beyerstedt S., 2021; Wang W., 2020; Files J.K. et al., 2021; Lamers M.M. et al., 2020; Zeng F.M. et al., 2022; Zang R. et al., 2020; Yong S.J., 2021).

Многочисленные исследования убедительно свидетельствуют, что вирус SARS-CoV-2, возбудитель COVID-19, воздействует не только на дыхательную систему, но и на различные органы и ткани организма, которые содержат рецепторы ангиотензин-превращающего фермента 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2), играющие ключевую роль в проникновении вируса в клетку (Calò L.A. et al., 2010; Ou X. et al., 2020; Files J.K. et al., 2021; Hoffmann M. et al., 2020; Zang R. et al., 2020). Среди наиболее поражаемых систем — желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) (Харитонов Л.А. и др., 2021; Hashimoto T. et al., 2012; Files J.K. et al., 2021). У детей частота гастроэнтерологических симптомов при этом заболевании, по данным разных авторов, составляет от 5 до 67%; наиболее частыми симптомами являются боли в животе и диарея (Ермоленко К.Д. и др., 2020; Смирнов В.С., Тотолян А., 2020; Печкуров. Д.В. и др., 2022; Qian Q. et al., 2021).

Несмотря на то что дети переносят COVID-19 в легкой форме, постковидный синдром встречается у них вне зависимости от тяжести перенесенной инфекции (Beyerstedt S. et al., 2021; Wang W. et al., 2020; Files J.K. et al., 2021). Отмечено, что в постковидный период у детей увеличивается частота желудочно-кишечных проявлений (Ахмедов В.А., 2022; Григорьев К.И., Харитонов Л.А., 2022). Патогенез гастроинтестинальных симптомов в постковидный период у детей мало изучен.

Наличие желудочно-кишечных симптомов у пациентов с COVID-19 связывают с обнаружением как полного генома вируса SARS-CoV-2, так и его фрагментов (субгеномной рибонуклеиновой кислоты (РНК)) в образцах кала и биоптатах слизистой оболочки кишечника инфицированных людей (Beyerstedt S., 2021; Wang W. et al., 2020), проникновением вируса в клетки кишечного эпителия различными путями (Сесорова И.С. и др., 2023; Смирнов В.С., Тотолян А., 2020) и активной его репликацией в энтероцитах, что способствует длительному вирусоносительству и усилению воспалительных процессов в кишечнике (Effenberger M. et al., 2020; Zeng F.M. et al., 2022). Установлено, что механизмы поражения ЖКТ вирусом SARS-CoV-2 не ограничиваются только прямым воздействием на энтероциты; вирус может вызывать дисбаланс микроорганизмов, населяющих кишечник, нарушение функционирования оси «кишечная микробиота — легкие» (Zhou J. et al., 2023; Солдатова О.В. и др., 2023) и повышение проницаемости кишечной стенки (Гаус О.В., Ливзан М.А., 2020; Якупова А.А. и др., 2021).

У детей изучение кишечной микробиоты молекулярно-биологическими методами и его взаимосвязи с наличием вируса SARS-CoV-2 в кишечнике при новой коронавирусной инфекции в отечественной науке проведено в единичных работах. Ранее также не изучались кишечная проницаемость и эффективность пробиотикотерапии при инфекции COVID-19 у детей для профилактики постковидного синдрома.

Проявления постковидного синдрома со стороны ЖКТ могут быть весьма разнообразными, начиная от относительно легких, таких как изжога, вздутие живота, диарея или запор и боли в животе (Савватеева О.А. и др., 2023; Rizvi A. et al., 2021), и заканчивая более серьезными нарушениями, самым частым из которых является синдром раздраженного

кишечника (СРК) (Ахмедов В.А., 2022; Бельмер С.В. и др., 2020; Григорьев К.И., Харитонов Л.А., 2022). Однако предикторы развития постковидного СРК и факторы, препятствующие его возникновению у детей, не изучены. Прогнозирование исходов новой коронавирусной инфекции перспективно для персонализированной терапии желудочно-кишечных проявлений COVID-19 и профилактики возникновения постковидного СРК.

Цель исследования. На основе комплексного изучения клинических проявлений новой коронавирусной инфекции и их динамики, молекулярно-биологических и иммунологических параметров выявить патогенетические механизмы возникновения гастроэнтерологических симптомов при COVID-19, усовершенствовать методы их лечения и профилактики постковидного поражения ЖКТ у детей.

Задачи исследования.

1. Описать клинические особенности течения новой коронавирусной инфекции, в т.ч. гастроинтестинальных проявлений COVID-19 и их динамику у детей разного возраста.

2. Охарактеризовать состояние кишечной микробиоты и кишечной проницаемости, их динамику и взаимосвязь с гастроинтестинальными симптомами у детей на фоне течения новой коронавирусной инфекции и в постковидный период.

3. Выявить частоту вирусыведения SARS-CoV-2 из стула у детей с новой коронавирусной инфекцией и в постковидный период и взаимосвязь вирусыведения с гастроэнтерологическими симптомами, состоянием микробиоценоза и кишечной проницаемостью.

4. Оценить клиническую эффективность назначения синбиотика, представляющего собой комплекс из 9 пробиотических штаммов в концентрации 4,5 млрд КОЕ и пребиотика (фруктоолигосахарида), при новой коронавирусной инфекции у детей и его влияние на кишечный микробиоценоз и кишечную проницаемость.

5. С помощью нейронной сети выделить признаки, сопровождающие наличие постковидных гастроинтестинальных симптомов у детей через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции.

Научная новизна проведенных исследований. Проведена комплексная оценка патогенетических механизмов воздействия вируса SARS-CoV-2 на желудочно-кишечный тракт у детей.

Впервые установлено, что в дебюте заболевания наличие диареи коррелирует с уровнем С-реактивного белка (СРБ) в крови.

Впервые в России проведена оценка микробиоценоза кишечника при COVID-19 у детей методом секвенирования 16S рибосомной РНК (рРНК); показаны изменения микробиоты в ходе болезни и в постковидный период и выявлена связь конкретных видов и родов микроорганизмов с гастроэнтерологическими проявлениями коронавирусной инфекции. Род *Vampirivibrionia* ($p=0,016$) ассоциирован с абдоминальной болью в начале болезни, *Alphaproteobacteria* ($p=0,009$), *Fusobacteriia* ($p=0,05$), *Methanobacteria* ($p=0,05$) — при выздоровлении, а *Actinobacteria* ($p=0,016$), *Actinobacteriota* ($p=0,031$), *Desulfovibrionia* ($p=0,029$), *Desulfobacterota* ($p=0,029$), *Vampirivibrionia* ($p=0,016$) — в постковидный период.

Впервые проведено исследование уровня кишечной проницаемости у детей с новой коронавирусной инфекцией, ее динамики в ходе болезни и установлена связь с гастроэнтерологическими клиническими проявлениями.

Выявлена взаимосвязь между выделением вируса SARS-CoV-2 из кала и микробиоценозом у детей, переносящих новую коронавирусную инфекцию с поражением желудочно-кишечного тракта и в постковидный период.

Проведена оценка эффективности приема синбиотика для профилактики гастроэнтерологических проявлений в постковидный период.

С помощью нейронной сети выделены 5 признаков, сопровождающих наличие постковидных гастроинтестинальных симптомов у детей через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции (выявление рода *Actinobacteriota* в стуле методом 16S рРНК секвенирования, выявление вида *Actinobacteria* в стуле методом 16S рРНК секвенирования,

отсутствие синбиотического лечения, повышенный уровень зонулина в стуле, пищевая аллергия в анамнезе).

Созданы 2 базы данных детей с новой коронавирусной инфекцией: «Результаты обследования микробиоты методом 16S рРНК секвенирования детей с новой коронавирусной инфекцией при легком и среднем течении в динамике и в постковидный период» (свидетельство о регистрации базы данных RU 2023622307, 10.07.2023. Заявка № 2023621868 от 19.06.2023), «Течение новой коронавирусной инфекции COVID-19 у детей без коморбидной патологии» (свидетельство о регистрации базы данных RU 2024622058, 16.05.2024. Заявка от 27.04.2024).

Теоретическая и практическая значимость.

1. Доказано, что в течении новой коронавирусной инфекции у детей частота диареи (11,1%) связана с провоспалительным статусом, а боли в животе (13,3%) зависят от изменения микробного разнообразия, нарушения кишечной проницаемости и выделения вируса SARS-CoV-2 из кала, что, возможно, связано с цитопатогенным действием вируса.

2. Продемонстрировано, что в течение двух недель с момента заболевания новой коронавирусной инфекцией на фоне значимого снижения вирусывыделения SARS-CoV-2 из кала и неизменного уровня зонулина такие симптомы, как тошнота, рвота, диарея, полностью купируются, а частота болей в животе уменьшается в 2 раза.

3. С помощью 16S рРНК секвенирования выявлены микробиологические маркеры абдоминальной боли: род *Vampirivibrionia* ($p=0,016$) был ассоциирован с абдоминальной болью в начале болезни, *Alphaproteobacteria* ($p=0,009$), *Fusobacteriia* ($p=0,05$), *Methanobacteria* ($p=0,05$) — при выздоровлении, а *Actinobacteria* ($p=0,016$), *Actinobacteriota* ($p=0,031$), *Desulfovibrionia* ($p=0,029$), *Desulfobacterota* ($p=0,029$), *Vampirivibrionia* ($p=0,016$) — в постковидный период.

4. С помощью нейросети установлено, что ведущую роль в развитии гастроинтестинальных симптомов через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции играют нарушения кишечной микробиоты, а именно выявление рода *Actinobacteriota* и вида *Actinobacteria* в стуле методом 16S рРНК секвенирования, отсутствие синбиотического лечения, повышенный уровень зонулина в стуле и пищевая аллергия в анамнезе.

5. Доказано, что при наличии факторов риска развития гастроинтестинальных симптомов через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции детям необходимо диспансерное наблюдение и профилактическое лечение.

6. Установлено, что для профилактики постковидных гастроинтестинальных расстройств эффективно использование синбиотика, содержащего комплекс из 9 пробиотических штаммов в концентрации 4,5 млрд КОЕ и пребиотика (фруктоолигосахарида) в возрастной дозировке, на 30 дней после выздоровления от новой коронавирусной инфекции.

Методология и методы исследования. Методология диссертационной работы построена на основе изучения и обобщения данных отечественной и зарубежной литературы о состоянии ЖКТ у детей с новой коронавирусной инфекцией.

Исследование проведено в соответствии с законодательством Российской Федерации, международными этическими нормами, изложенными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2000) и «Правилах клинической практики в Российской Федерации» (2003); одобрено этическим комитетом Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета (протокол № 1/8 от 25.01.2021). Пациенты и их законные представители подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Тип исследования: проспективное, наблюдательное клиническое исследование по типу «случай — контроль».

Применены анамнестический, клинический, лабораторный, молекулярно-генетический, рентгенологический методы исследований. Исследование на проницаемость кишечника — кала на зонулин — проводилось на базе НИЦ ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (лаборант Блинов А.Е.) методом иммуноферментного анализа.

Исследование 16S рРНК секвенирования микробиоты проводилось молекулярно-генетическим методом в лаборатории «СЕРБАЛАБ», Санкт-Петербург (заведующий — врач-генетик Дудурич В.В.).

Выявление вируса SARS-CoV-2 в стуле проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на базе генетической лаборатории «СЕРБАЛАБ», Санкт-Петербург (заведующий лабораторией Полев Д.Е.).

Рентгенологические методы исследования выполнены на базе клиники СПбГПМУ МЗ РФ.

Положения, выносимые на защиту.

1. В дебюте заболевания новой коронавирусной инфекцией у детей наблюдаются следующие гастроинтестинальные симптомы: боли в животе (13,3%), диарея (11,1%), рвота (10,7%) и тошнота (5,9%), причем частота диареи взаимосвязана с повышением уровня СРБ, а болевой синдром связан с изменением микробного разнообразия, нарушением кишечной проницаемости и выделением вируса SARS-CoV-2 из кала. К моменту выздоровления от новой коронавирусной инфекции на фоне значимого снижения вирусовыделения SARS-CoV-2 из кала и неизменного уровня зонулина такие симптомы, как тошнота, рвота, диарея, полностью купируются, а частота болей в животе уменьшается в 2 раза.

2. В постковидный период у детей отмечается нарастание гастроинтестинальных жалоб: болей в животе (18,9%), тошноты (4,1%), диареи (16,4%), при этом вирусовыделение из кала снижается до уровня 5,7%, но значимо увеличивается уровень зонулина, что свидетельствует о нарушении кишечной проницаемости. Болевой синдром в постковидный период коррелирует с наличием таких микроорганизмов, как *Cyanobacteria* ($p=0,05$), *Vampirivibrionia* ($p=0,016$), *Desulfobacterota* ($p=0,029$), *Desulfovibrionia* ($p=0,029$), *Actinobacteriota* ($p=0,031$), *Actinobacteria* ($p=0,016$), *Coriobacteriia* ($p=0,056$). С помощью нейронной сети выделены 5 признаков (выявление рода *Actinobacteriota* в стуле методом 16S рРНК секвенирования, выявление вида *Actinobacteria* в стуле методом 16S рРНК секвенирования, отсутствие синбиотического лечения, повышенный уровень зонулина в стуле, пищевая аллергия в анамнезе), сопровождающих наличие постковидных гастроинтестинальных симптомов у детей через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции.

3. Назначение синбиотика, содержащего комплекс из 9 пробиотических штаммов в концентрации 4,5 млрд КОЕ и пребиотика (фруктоолигосахарида) в возрастной дозировке, на 30 дней после выздоровления от новой коронавирусной инфекции значительно снижает частоту постковидных гастроинтестинальных симптомов и также исключает изменения уровня кишечной проницаемости и изменения биоразнообразия микробиоты как в случае использования антибиотиков для лечения осложнений инфекций, так и при отсутствии антибактериальной терапии.

Апробация результатов. Результаты диссертационного исследования доложены на IV Международной научной конференции «Микробиота человека и животных» (Санкт-Петербург, 3–4 октября 2022 г.), на конгрессе с международным участием «Здоровые дети — будущее страны - 2022» (Санкт-Петербург, 1–3 июня 2022 г.), на XX юбилейной ежегодной городской научно-практической конференции с международным участием «Современные проблемы педиатрии» (21–22 декабря 2022 г.), на конгрессе с международным участием «Здоровые дети — будущее страны» (15–16 июня 2023 г.), на VIII Российском конгрессе «Функциональные заболевания в терапевтической и педиатрической практике» (Санкт-Петербург, 16 мая 2024 г.), на Межрегиональной научно-практической конференции «XI Беляевские чтения: современные подходы к диагностике, лечению и профилактике заболеваний у детей» (Тверь, 23 мая 2024 г.), на конгрессе с международным участием «Здоровые дети — будущее страны» (31 мая — 2 июня 2024 г.).

Результаты диссертационного исследования используются в работе стационаров города, таких как СПбГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова», а также в работе практикующих участковых врачей-педиатров г. Санкт-Петербурга, работающих в СПбГБУЗ ГП № 56 ДПО № 48 и СПб ГБУЗ ГП № 19 ДПО № 43. Отдельные положения диссертации использованы при написании учебно-методических пособий, клинических рекомендаций «Поражения органов пищеварения при постковидном синдроме» (утверждены

17-м Национальным конгрессом терапевтов и 25-м съездом Научного общества гастроэнтерологов России, Москва, 12–14 октября 2022 г.), включены в лекции и практические занятия для студентов педиатрического факультета на кафедре пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми и на кафедре инфекционных заболеваний у детей имени профессора М.Г. Данилевича ФГБОУ ВО СПбГПМУ.

Личный вклад автора в получение результатов. Автором самостоятельно выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой теме, составлен план исследования, изучены и проанализированы анамнестические данные, собраны данные из первичной медицинской документации; проведено клиническое обследование, самостоятельно выполнена обработка полученных результатов. Анализ, интерпретация, изложение полученных данных, формулирование выводов и практических рекомендаций выполнены автором лично. Пациенты, наблюдавшиеся в отделении новой коронавирусной инфекции Клиники ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, и амбулаторные пациенты, находившиеся под наблюдением в СПб ГБУЗ ГП № 56 ДПО № 48, были осмотрены автором лично.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 7 статей в рецензируемых научных журналах, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, из которых 4 статьи входят в базу данных Scopus. Зарегистрированы 2 базы данных: «Результаты обследования микробиоты методом 16S рРНК секвенирования детей с новой коронавирусной инфекцией при легком и среднем течении в динамике и в постковидный период» (свидетельство о регистрации базы данных RU 2023622307, 10.07.2023. Заявка № 2023621868 от 19.06.2023), «Течение новой коронавирусной инфекции COVID-19 у детей без коморбидной патологии» (свидетельство о регистрации базы данных RU 2024622058, 16.05.2024. Заявка от 27.04.2024).

Объем и структура диссертационной работы. Текст диссертации изложен на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, двух глав, включающих в себя обзор литературы, материалы и методы, трех глав с описанием и обсуждением результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 20 таблицами и 36 рисунками. Список литературы состоит из 266 источников, из которых 64 отечественных и 202 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая характеристика обследованных больных и дизайн исследования

Диагноз новой коронавирусной инфекции и степень тяжести заболевания устанавливались согласно методическим рекомендациям (Методические рекомендации «Особенности клинических проявлений ...», 2020; Профилактика, диагностика и лечение ..., 2023). Критериями включения в исследование явились: возраст детей от 1 до 17 лет, имеющих симптомы острой респираторной инфекции и положительный тест на SARS-CoV-2 мазка из зева и носа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); подписанное пациентом или его законным представителем информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: возраст 17 лет 11 месяцев 29 дней и старше; возраст младше 1 года; отрицательный тест на SARS-CoV-2 мазка из зева и носа методом ПЦР; тяжелые и критические формы (острый респираторный дистресс-синдром, септический шок, сепсис, мультивоспалительный синдром); отсутствие подписанного пациентом или его законным представителем информированного согласия на участие в исследовании; отказ пациента от продолжения участвовать в исследовании.

Всего в исследование были включены 270 пациентов с новой коронавирусной инфекцией, среди которых 141 мальчик (52,2%) и 129 девочек (47,8%). Средний возраст обследованных мальчиков составил 9,19 лет (95% ДИ 8,30–10,10), девочек — 9,68 лет (95% ДИ 8,79–10,60). По возрасту различий между ними не обнаружено, $p=0,423$ (по критерию Манна — Уитни). Для формирования возрастных групп больных использовали возрастную периодизацию ВОЗ

(Заболевание COVID-19 у детей и подростков ..., 2021). Большинство обследованных детей имели легкое течение болезни (56%), течение средней тяжести наблюдалось у 44% детей.

Для оценки роли синбиотика, содержащего $\geq 1 \times 10^9$ КОЕ пробиотических микроорганизмов, в т.ч. лактобактерий — $6,6 \times 10^8$ КОЕ, *Lactobacillus acidophilus* LA-14 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Lactobacillus rhamnosus* GG — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Lactobacillus casei* LC-11 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 — $1,11 \times 10^{10}$ КОЕ, *Lactobacillus plantarum* Lp-115 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Lactobacillus salivarius* Ls-33 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, в т.ч. бифидобактерии — $3,3 \times 10^8$ КОЕ, *Bifidobacterium longum* Bl-05 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Bifidobacterium lactis* Bl-04 — $1,11 \times 10^8$ КОЕ, *Bifidobacterium bifidum* Bb-02/lactis — $1,11 \times 10^8$ КОЕ и пребиотический компонент фруктоолигосахариды — 0,538 г, именуемый далее синбиотиком, в профилактике постковидных гастроэнтерологических симптомов, изменений микробиоты и кишечной проницаемости у детей были обследованы 32 ребенка, в том числе 21 мальчик и 14 девочек, средний возраст — 9,5 лет) с инфекцией COVID-19 легкой и средней степени тяжести, рандомизированные на 2 группы. Дети 1-й группы в течение 4 недель после выздоровления принимали синбиотик в возрастной дозировке. Пациенты 2-й группы после выздоровления данный синбиотик не принимали. Для оценки роли синбиотика в профилактике постковидных гастроэнтерологических симптомов, изменений микробиоты и кишечной проницаемости у детей, получавших антибиотики по поводу бактериальных осложнений новой коронавирусной инфекции, были обследованы 12 детей с COVID-19, имеющих такие бактериальные осложнения, как пневмонии, синусит, отит. Все дети получали антибиотики и далее принимали в течение 4 недель синбиотик. Протокол исследования был такой же. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

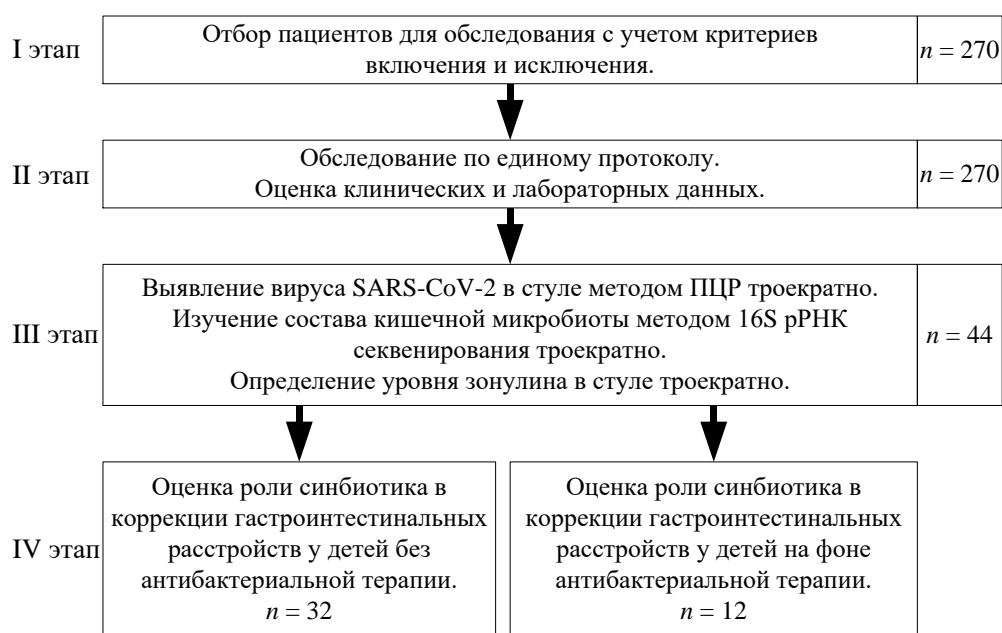


Рисунок 1 — Дизайн исследования

Методы клинического, лабораторного и инструментального обследования детей

Всем больным проводилось комплексное обследование, включающее в себя изучение жалоб, анамнеза и оценку физического развития, особенностей клинического течения заболевания, лабораторное и инструментальное обследования. Оценивались данные эпидемиологического анамнеза и эпидемиологического окружения согласно временным методическим рекомендациям (Методические рекомендации «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» версии 2 (утв. Минздравом России)) (Особенности клинических проявлений и лечения ..., 2020; Профилактика, диагностика и лечение ..., 2023).

Среди клинических параметров оценивались такие симптомы новой коронавирусной инфекции, как температура тела, кашель, слизистое отделяемое из носа, боль в горле, гиперемия задней стенки глотки, гипертрофия небных миндалин, anosmia, агевзия, боли в грудной клетке, одышка, боли в животе, диарея, рвота, головные боли, головокружение, боль в мышцах/суставах, изменения на коже, лимфаденопатия, гепатомегалия, спленомегалия. Все признаки оценивались в динамике заболевания. В катамнезе (через месяц после выздоровления от COVID-19)) оценивали выраженность гастроэнтерологических симптомов.

Стандартный набор лабораторных методов обследования включал: клинический анализ крови (оценены уровень гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитарная формула и скорость оседания эритроцитов (СОЭ)); биохимический анализ крови с определением аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и СРБ; общий анализ мочи и копрограмму. По показаниям проводилось такие исследования, как коагулограмма, фибриноген, D-димер, ферритин. Исследование проводилось на базе НИЦ ФГБОУ ВО СПбГПМУ. Всем измеряли сатурацию с помощью пульсоксиметра АРМЕД; по показаниям назначали рентгенографическое исследование и/или компьютерную томографию органов грудной клетки.

Молекулярно-генетические методы исследования включали ПЦР-диагностику мазков из носоглотки на наличие генетического материала вируса SARS-CoV-2 всем больным на этапе диагностики инфекции. Также проводилось выявление вируса SARS-CoV-2 в стуле методом ПЦР у 44 детей в начале заболевания, при выздоровлении и через 30 дней после выздоровления. Исследование выполнялось на амплификаторе Real-time CFX96 Touch, Bio-Rad, США, с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп», Южная Корея. Исследование проводилось на базе генетической лаборатории «СЕРБАЛАБ», Санкт-Петербург (заведующий лабораторией Полев Д.Е.).

Изучение состава кишечной микробиоты методом 16S рРНК секвенирования детей с новой коронавирусной инфекцией проводилось у 44 детей с легким и среднетяжелым течением. Обследование проводилось в лаборатории «СЕРБАЛАБ», Санкт-Петербург (врач-генетик Дудурич В.В.). Забор материала осуществлялся у больных в трех временных точках: на момент острого заболевания новой коронавирусной инфекции, на момент выздоровления от новой коронавирусной инфекции и через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции. Для сравнения использовались результаты 16S рРНК секвенирования 30 здоровых детей аналогичного возраста (база генетической лаборатории «СЕРБАЛАБ»).

Зонулин в стуле определяли у 44 детей. Забор материала выполнили на момент острого заболевания новой коронавирусной инфекции, на момент выздоровления от инфекции и через месяц после выздоровления. Исследование кала на зонулин проводилось на базе НИЦ ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (лаборант Блинов А.Е.) методом иммуноферментного анализа с помощью тест-системы IDK Zonulin ELISA (Immundiagnostik AG, Германия).

Для статистической обработки данных использовалась программа Jamovi версии 2.3.28. Количественные данные описывались различными способами в зависимости от типа распределения. Если гипотеза о нормальности распределения принималась, показатели представлялись в формате среднее \pm стандартное отклонение с указанием 95% доверительного интервала ($M \pm \sigma$, 95% ДИ). В случае отклонения гипотезы о нормальности данные описывались в виде медианы (Me) и квартилей $Q1$ и $Q3$: $Me(Q1; Q3)$. Для проверки нормальности распределения применялся критерий Шапиро — Уилка. При нормальном распределении применялся t-критерий Стьюдента, при этом в случае неоднородности дисперсий учитывалась поправка Уэлча. Если распределение данных не соответствовало нормальному, применялся критерий Манна — Уитни. Парные выборки сравнивались с помощью критерия Вилкоксона, а при сравнении трёх и более связанных выборок использовался критерий Фридмана.

Для переменных, характеризующих качественные признаки, указывались абсолютные значения и доли в процентах. Сравнение групп по качественным данным проводилось с использованием χ^2 -критерия Пирсона. В случаях, когда минимальное ожидаемое значение было меньше 10, использовался точный критерий Фишера. При множественных сравнениях для предотвращения ложноположительных результатов применялась поправка Бонферрони.

Результаты считались статистически значимыми, если уровень значимости составлял $p < 0,05$.

При определении группы риска возникновения постковидных гастроинтестинальных симптомов с помощью нейронной сети применяли комбинированный метод глобальной оптимизации, случайного поиска, инерционного и генетического алгоритмов. Структура нейронной сети включала входной слой из 7 нейронов, 2 скрытых слоя из 10 и 9 нейронов, выходной слой из одного нейрона. Обучение нейронной сети осуществляли методами обратного распространения ошибки и сопряженных градиентов. Чувствительность нейронной сети составила 95,0%, специфичность — 87,5%, точность — 91,0%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ жалоб у 270 детей в дебюте заболевания показал, что наиболее часто дети, больные COVID-19, жаловались на повышение температуры тела (75,2%). С высокой частотой отмечались респираторные жалобы: насморк (62,2%), кашель (48,1%); реже встречались боль в горле (17,4%) и потеря обоняния (аносмия; 11,5%), боль в грудной клетке (5,2%), потеря вкуса (агевзия; 3,7%). Частота одышки составила 1,9%. Из гастроэнтерологических жалоб: боли в животе отмечены у 13,3%, диарея — у 11,1%, рвота — у 10,7% детей и тошнота — у 5,9%.

Частота и структура симптомов, выявленных у детей при коронавирусной инфекции, в нашем исследовании полностью соответствуют данным, приведенным в Методических рекомендациях «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» (утв. Минздравом России) (версия 2 от 03.07.2020). Нами выявлены возрастные особенности гастроэнтерологических жалоб: у подростков, переносящих новую коронавирусную инфекцию, значительно чаще, чем у детей раннего возраста, отмечалась тошнота — 13,1% и 1,6% ($p = 0,043$). Частота остальных гастроэнтерологических жалоб не имела возрастных различий. Что касается остальных симптомов, то у детей разных возрастных групп не отмечено значимых различий в температурной реакции, частоте насморка, агевзии и одышки. В то же время кашель, боли в грудной клетке ($p = 0,007$), боль в горле ($p < 0,001$), anosmia ($p = 0,002$), головные боли ($p = 0,001$) значительно чаще встречались в группе подростков и реже — у детей более раннего возраста.

Преморбидный фон во всех возрастных группах не имел значимых различий. Неблагоприятные факторы анамнеза одинаково часто встречались во всех возрастных группах. Наиболее часто выявлены патологическая беременность (28,5%), раннее искусственное вскармливание (27%), анемия и перенесенные детские инфекции, а также глистно-паразитарные инвазии.

В дебюте заболевания большинство детей (56%) имели удовлетворительное состояние, переносили новую коронавирусную инфекцию в легкой форме. У 115 детей (44%) степень тяжести болезни расценивалась как средняя. При оценке физического развития из 270 детей у 261 (96,6%) отмечался средний уровень физического развития. Результаты объективного обследования органов ЖКТ у больных в дебюте COVID-19 не выявили возрастных различий в частоте таких симптомов, как вздутие живота, пальпаторная болезненность в эпигастральной области, по ходу кишечника, в правом подреберье и характер стула ($p > 0,05$). Из 270 пациентов, у 76 (28,14%) детей диагностирована острая внебольничная пневмония. Выявлены возрастные различия в данных клинического обследования дыхательной системы. У подростков реже выслушивалось везикулярное дыхание ($p < 0,005$) и чаще — жесткое дыхание; у них же чаще выявлялось укорочение перкуторного тона ($p = 0,046$), что согласуется с данными о большей частоте пневмонии в подростковом возрасте ($n = 25$ (41,0%, $p = 0,013$)).

В клиническом анализе крови в дебюте заболевания у пациентов, переносящих новую коронавирусную инфекцию, выявлены: лейкоцитоз — 7%, лейкопения — 17%, лимфопения — 3,2%, лимфоцитоз — 5,2%, нейтропения — 4,3%, нейтрофилез — 9%, повышение СОЭ — 25%, анемический синдром — 11%. Средние значения уровня СРБ у детей с легким течением заболевания составили $7,33 \pm 1,20$ мг/л; со среднетяжелым — $21,38 \pm 3,10$ мг/л; $p < 0,05$. Сатурация у всех детей была в норме (98–97% SaO₂).

В целом следует отметить, что ведущими клиническими проявлениями у детей с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией в дебюте заболевания были респираторные симптомы. Частота гастроэнтерологических жалоб имела максимальное значение, равное 16,4%. Значимое уменьшение частоты большинства симптомов отмечено к 10-му дню наблюдения, а их исчезновение — на 14-е сутки. Наиболее длительно сохранялся кашель. Анализ гастроэнтерологических жалоб показывает, что частота тошноты (5,9% и 1,5%, $p=0,016$), рвоты (10,7% и 2,6%, $p<0,001$), болей в животе (13,3% и 6,7%, $p<0,001$) и жидкого стула (11,1% и 2,6%, $p=0,002$) значимо уменьшается к моменту выздоровления (рисунок 2, а).

Гастроэнтерологические жалобы оценивались также через 30 дней после выздоровления. В постковидный период рвота полностью отсутствует, тогда как частота таких гастроэнтерологических жалоб, как жидкий стул (2,6% и 16,4%, $p<0,001$) и боли в животе (6,7% и 18,9%, $p<0,001$), увеличивается (рисунок 2, б).

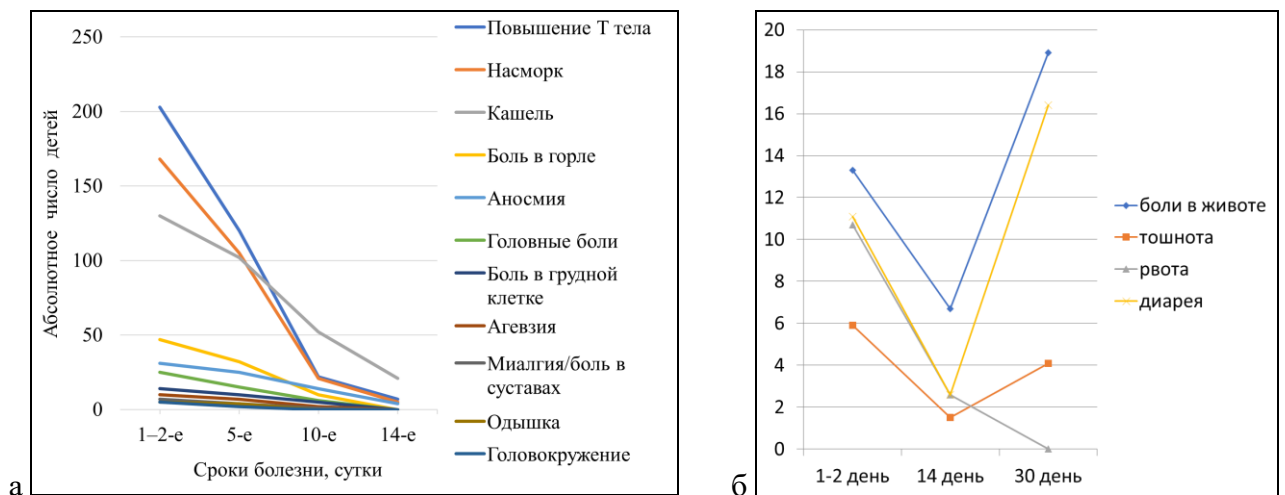


Рисунок 2 — Динамика жалоб у детей: а — при COVID-19; б — гастроэнтерологических при COVID-19

Дальнейшие наши исследования были направлены на выяснение причины данной динамики. Проведенный нами анализ показал, что из всех гастроэнтерологических симптомов только диарея была взаимосвязана с маркерами воспаления. Остальные гастроэнтерологические симптомы не были связаны с маркерами воспаления, и их динамика требовала дополнительного анализа.

Мы выявили, что в начале заболевания частота выделения вируса SARS-CoV-2 из стула составила 47,7%, в момент выздоровления (через 14 дней) — 15,9%, и через 1 месяц после выздоровления — 5,7% (рисунок 3).

Корреляционный анализ между частотой гастроэнтерологических жалоб и частотой выделения вируса SARS-CoV-2 в стуле выявил положительную значимую корреляционную связь между наличием болей в животе и вирусывыделением как в начале ($p<0,001$), так и в конце заболевания ($p=0,011$). Эти данные позволяют предположить, что желудочно-кишечная симптоматика у детей с новой коронавирусной инфекцией связана с непосредственным цитопатогенным действием на кишечный эпителий.

Однако после выздоровления, когда частота выделения вируса значительно снижалась, частота гастроэнтерологических симптомов увеличивалась. Для поиска причин этого явления нами проведена оценка кишечного микробиома детей на фоне течения новой коронавирусной инфекции и в постковидный период.

Сравнение микробиома у 44 детей в возрасте 3–14 лет, имеющих легкую или среднюю степень тяжести течения COVID-19, в начале заболевания с микробиомом 30 здоровых детей методом 16S рПНК секвенирования выявило, что у детей с COVID-19 в начале заболевания на уровне родов преобладали *Family_XI_UCG-00* и *Erysipelotrichaceae_UCG-003*, в сравнении со здоровыми детьми (рисунок 4).

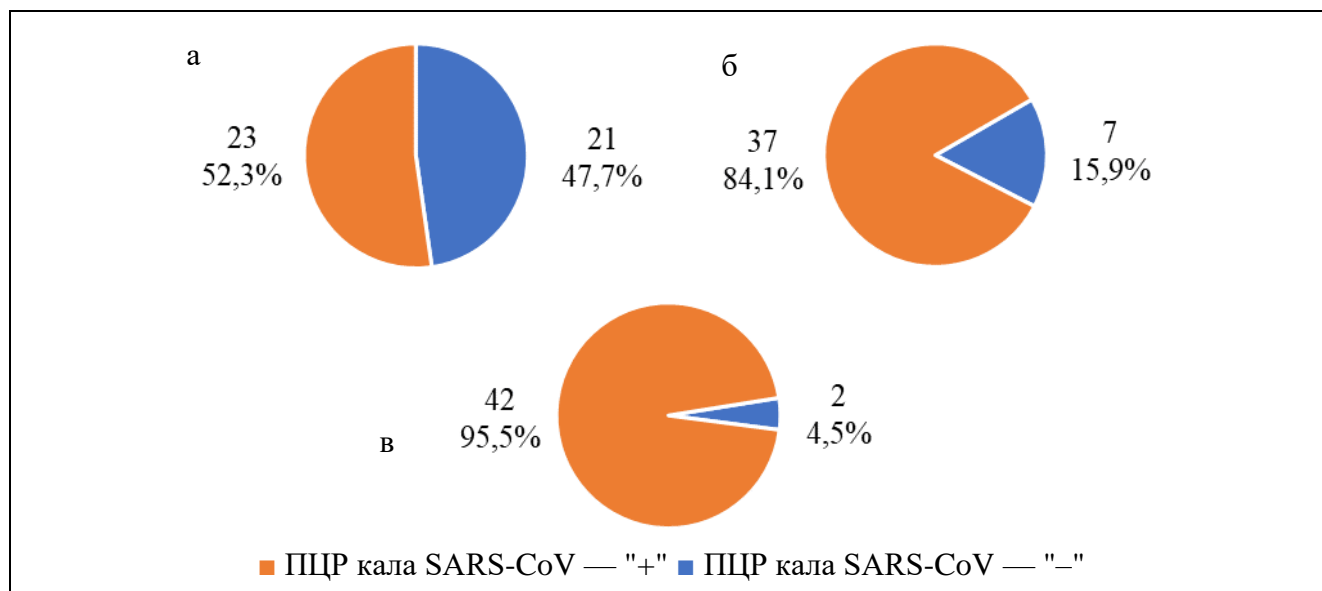


Рисунок 3 — Частота выявления вируса SARS-CoV-2 в стуле (ПЦP) у детей ($p > 0,05$): а — в начале заболевания; б — при выздоровлении; в — на 30-е сутки от момента выздоровления

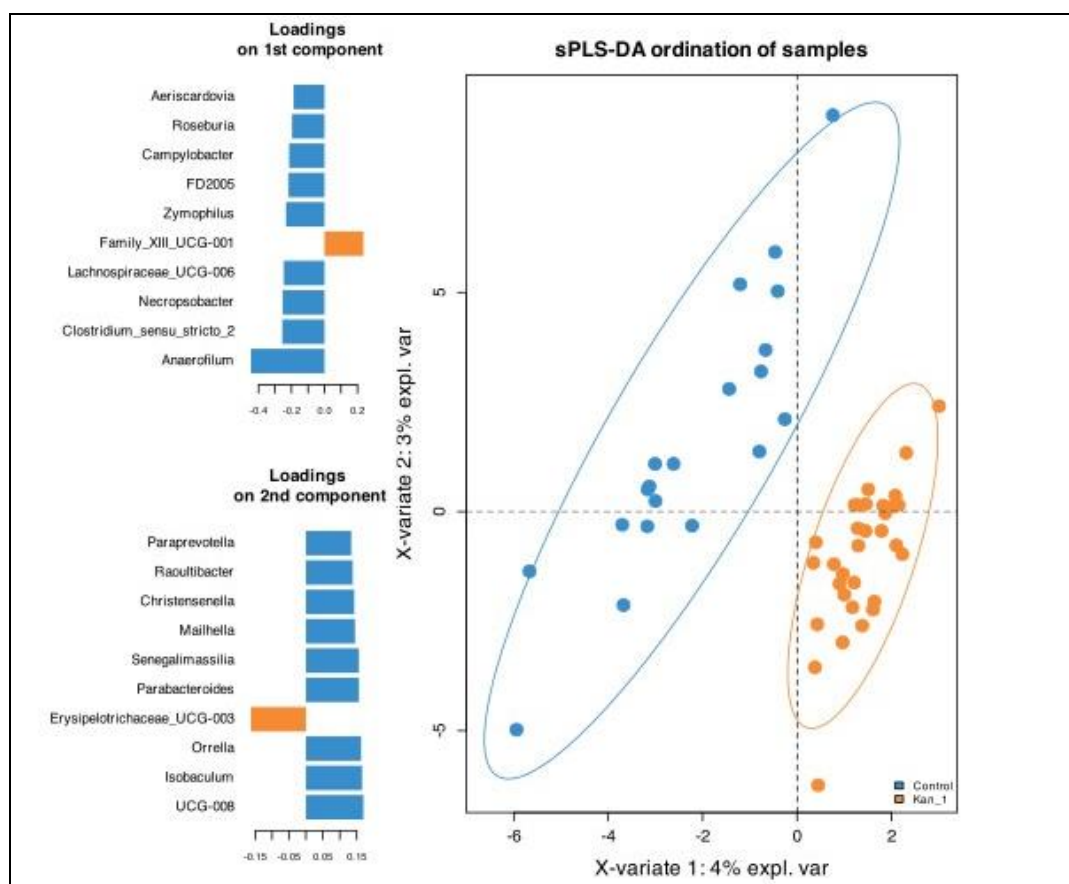


Рисунок 4 — Выявление таксонов, преобладание которых характерно для группы здоровых детей (■) и детей, заболевших COVID-19, в начале заболевания (■) на уровне родов

В это же время выявлены таксоны, преобладание которых было характерно для каждой группы на уровне вида. У здоровых детей преобладали такие таксоны, как *Lactococcus_rafinolactis*, *Lactobacillus_fermentum*. У детей в начале заболевания COVID-19 отмечается преобладание таких видов, как *Dialister_succinatiphilus*, *Parabacteroides_johnsonii*, *Klebsiella_pneumoniae/quasipneumoniae*, *Blautia_coccoides/hansenii/marasmii/producta/stercoris*. (рисунок 5).

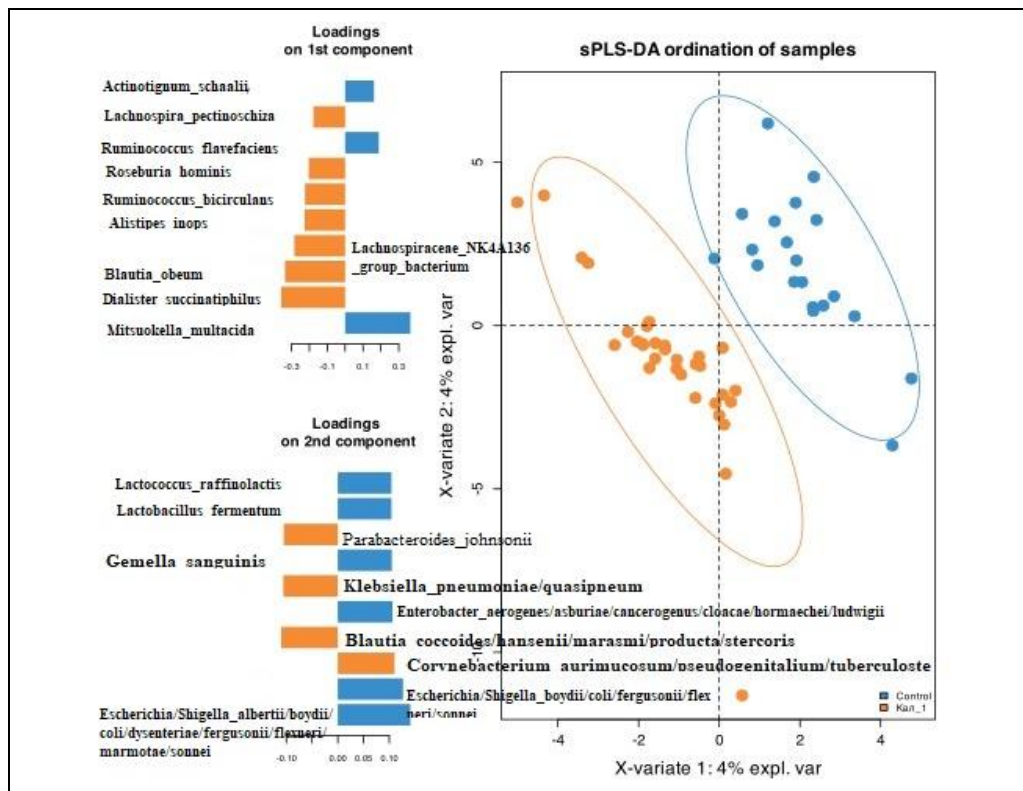


Рисунок 5 — Выявление таксонов, преобладание которых характерно для каждой группы на уровне видов при сравнении детей, переносящих COVID-19 (■), и группы здоровых (■)

Альфа-разнообразие кишечной микробиоты (индекс биоразнообразия Шеннона) в начале заболевания COVID-19 в нашем исследовании было выше, чем у здоровых детей, $p = 0,003979$.

Сравнение микробиома всех детей в начале заболевания COVID-19 ($n = 44$) с микробиомом тех же детей через 2 недели после начала заболевания COVID-19 позволило установить, что к моменту выздоровления от COVID-19 в микробиоте в большей степени выявлялись *Marvinbryantia*, *Anaerospobacter*, *Clostridium sensu stricto*, *Osscillospira*, *Pseudoscardovia* (рисунок 6).

В результате сравнения индекса биоразнообразия Шеннона с использованием теста Вилкоксона также не было найдено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

В начале заболевания из 44 детей боли в животе встречались у 21 (47,7%) ребенка, рвота — у 11 (3,1%), жидкий стул — у 5 (11,3%) детей. Сравнительный анализ микробиоты детей, имеющих боли в животе, в начале заболевания и микробиоты детей без болевого синдрома выявил различия только по одному классу микроорганизмов — *Vampirivibrionia* ($p = 0,016$), их количество было значимо выше у детей с болями в животе.

У детей, не выделяющих вирус SARS-CoV-2 в стуле, в начале заболевания отмечается тенденция к преобладанию таких родов, как *UCG-002*, *Akkermansia*, *Family XII AD3011 group*, *Lactobacillus*, *Barnesiella*. У детей, выделяющих вирус SARS-CoV-2 в стуле, в начале заболевания отмечается тенденция к преобладанию таких родов, как *Lachnospira*, *Holdemania*, *Feacalibacterium*. Однако статистически значимых различий не получено.

В результате сравнения индекса Шеннона с использованием теста Вилкоксона у этих групп пациентов так же не было найдено статистически значимых различий.

Сравнение микробиома детей, выделяющих из кала вирус SARS-CoV-2, через 2 недели заболевания с микробиомом детей без вируса в стуле через 2 недели заболевания показало, что у детей, выделяющих вирус SARS-CoV-2 в стуле, через 14 дней с момента заболевания отмечается преобладание таких родов, как *Sanguibacteroides*, *Clostridium sensu stricto 2*, *CHKC1001*, *CAG-56*, *Lactonifactor* (рисунок 7).

Биоразнообразие микробиоты у детей, выделяющих вирус из стула к моменту выздоровления, оцененное по индексу Шеннона, было значимо меньше, чем у детей, не выделяющих вирус из кишечника ($p = 0,008431$) (рисунок 8).

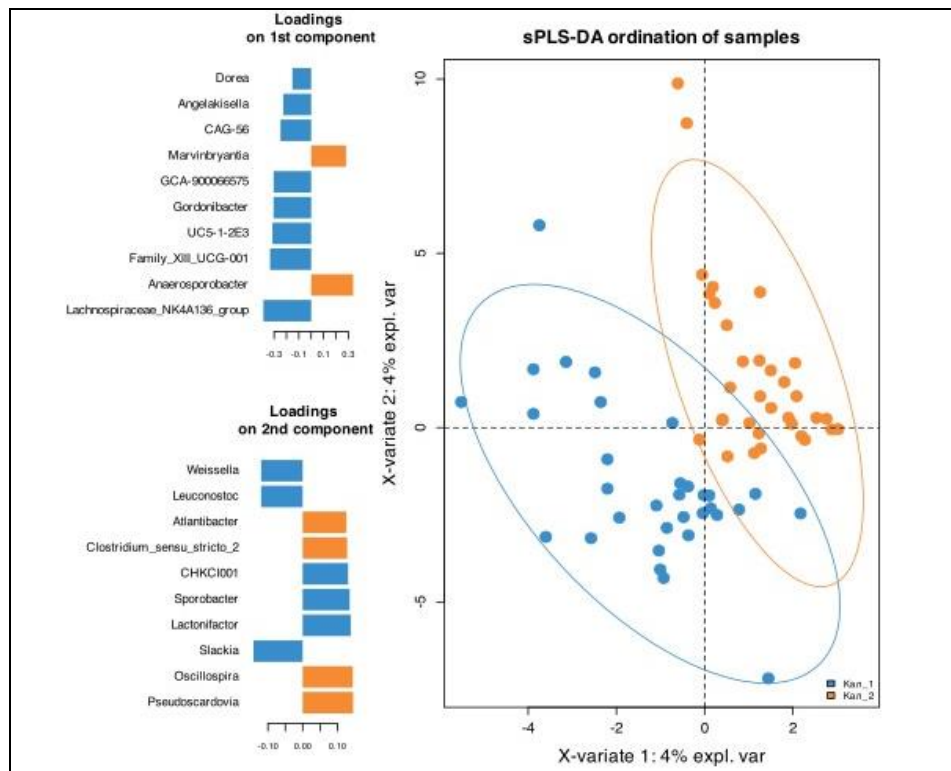


Рисунок 6 — Таксоны, преобладание которых характерно для каждой группы детей в начале болезни (■) и при выздоровлении (■) на уровне родов

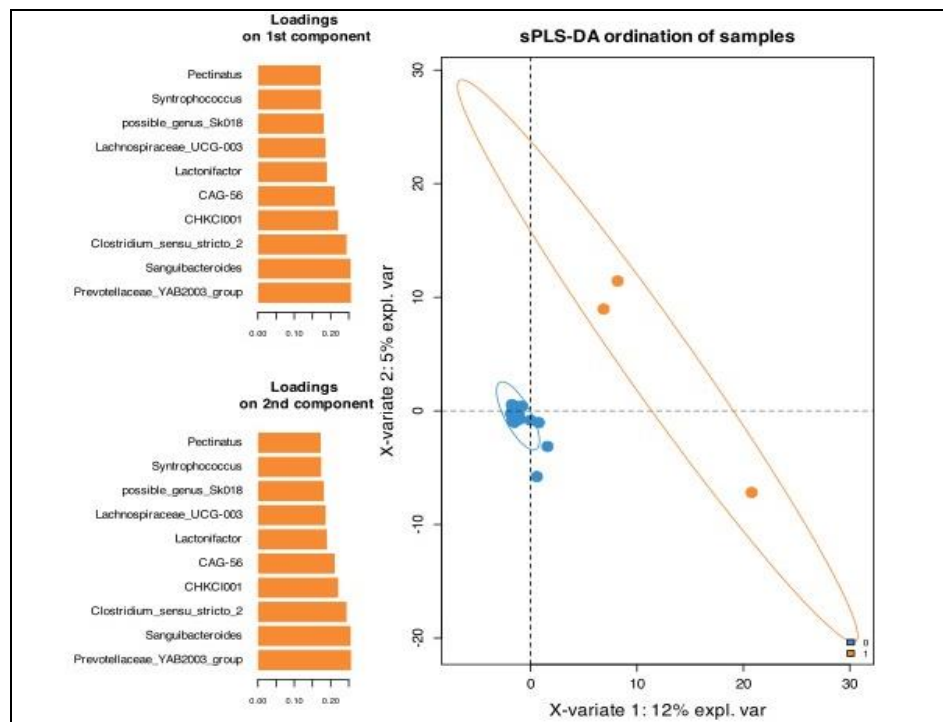


Рисунок 7 — Сравнение микробиома детей, выделяющих из кала вирус SARS-CoV-2 (■), через 2 недели заболевания с микробиомом детей без вируса в стуле через 2 недели заболевания (■)

Из всех гастроинтестинальных симптомов сохранялись на момент выздоровления жидкий стул — у 5 пациентов (11,3%), боли в животе — у 7 пациентов (15,9%); остальные симптомы — тошнота и рвота — купированы полностью. При проведении корреляционного анализа частоты болей в животе на 14-е сутки заболевания и микробного состава образцов кала у пациентов отмечена значимая взаимосвязь между выделением таких микроорганизмов, как *Alphaproteobacteria* ($p = 0,009$), *Fusobacteriia* ($p = 0,05$), *Methanobacteria* ($p = 0,05$).

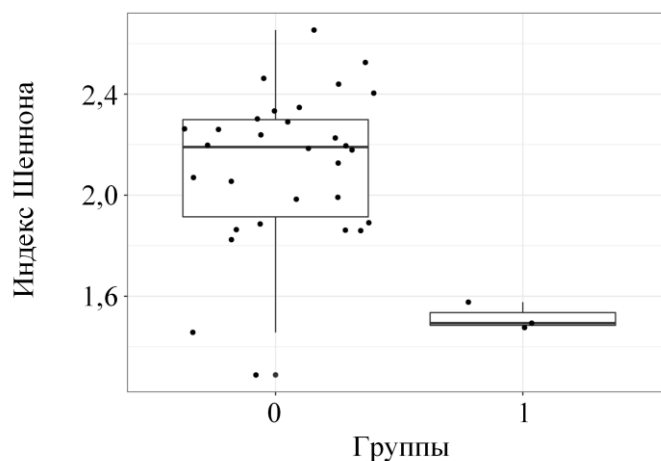


Рисунок 8 — Сравнение индекса биоразнообразия (Шеннона) между группами детей, выделяющих из кала вирус SARS-CoV-2 (обозначен «1»), через 2 недели заболевания с микробиомом детей без вируса в стуле в то же время (обозначен «0»)

Обращает на себя внимание, что гастроинтестинальные жалобы на 30-е сутки с момента выздоровления вновь появлялись у некоторых детей: диарея — у 6 (13,6%) пациентов, боли в животе были у 17 (38,6%) пациентов. Эти жалобы не были связаны с выделением вируса из стула, поскольку через 30 дней вирусывыделение отмечено только у 2 детей.

Для группы детей, наблюдаемых через месяц после выздоровления от COVID-19, характерно преобладание таких групп организмов, как *Gordonibacter_pamelaeae*, *Lachnospiraceae, Family XIII UCG-001* (рисунок 9).

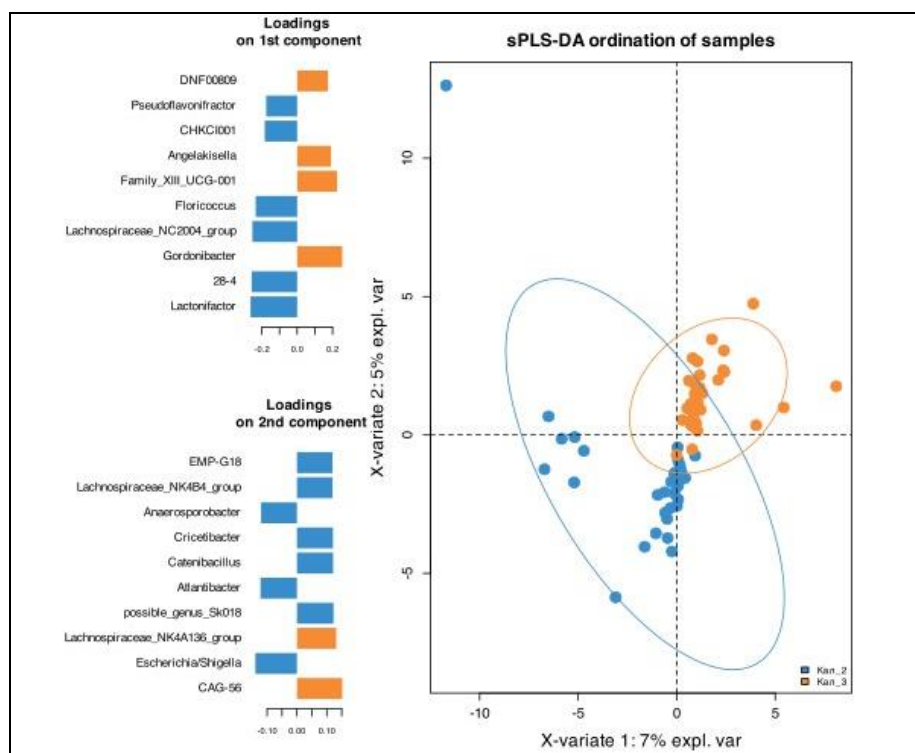


Рисунок 9 — Выявление таксонов, преобладание которых характерно для детей, выздоровевших от COVID-19 (■), и детей через месяц после выздоровления от COVID-19 (■) на уровне родов

В то же время для группы детей, выздоровевших от COVID-19, характерно преобладание таких групп организмов, как *Escherichia/Shigella*, *Lactonifactor_longoviformis* (см. рисунок 9).

В результате сравнения индекса биоразнообразия Шеннона с использованием теста Вилкоксона не было найдено статистически достоверных различий между группой детей,

наблюдаемых через месяц после выздоровления от COVID-19, и группой детей, выздоровевших от COVID-19, на 14-й день от начала заболевания ($p=0,1481$).

При анализе микробиоты на 30-е сутки с момента выздоровления у пациентов, имеющих боли в животе и без таковых, отмечено значимое преобладание при болях таких микроорганизмов, как *Cyanobacteria* ($p=0,05$), *Vampirivibrionia* ($p=0,016$), *Desulfobacterota* ($p=0,029$), *Desulfovibrionia* ($p=0,029$), *Actinobacteriota* ($p=0,031$), *Actinobacteria* ($p=0,016$) и *Coriobacteriia* ($p=0,056$).

Уровни зонулина в стуле в начале болезни ($77,38\pm 12,59$ нг/мл) и через 14 дней от ее начала на момент выздоровления ($76,26\pm 13,10$ нг/мл) не имели статистически значимых различий ($p=0,75$). Средние показатели на всем протяжении наблюдения не превышали референсных значений; в дебюте заболевания 13 (37,14%) детей, а через 14 дней 10 (28,57%) детей имели повышенную концентрацию зонулина в кале ($p > 0,05$) по сравнению с исходным показателем. Через месяц после выздоровления уровень зонулина в кале значительно увеличивался ($82,64\pm 11,99$ нг/мл). Динамика уровня зонулина представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Динамика уровня зонулина в стуле у детей с новой коронавирусной инфекцией

Время исследования	В начале болезни (1)	Через 14 дней (2)	Через 1 мес после выздоровления (3)
Уровень зонулина, нг/мл	$77,38\pm 12,59$	$76,26\pm 13,10$	$82,64\pm 11,99$
Примечание — $p_{1,2}=0,75$; $p_{1,3}=0,04$; $p_{2,3}=0,04$.			

Отмечена значимая взаимосвязь между уровнем зонулина и болями в животе во всех временных точках измерения ($p < 0,001$).

Проведена оценка роли синбиотика в профилактике постковидных гастроэнтерологических симптомов, изменений микробиоты и кишечной проницаемости у детей с инфекцией COVID-19 легкой и средней степени тяжести (рисунки 10 и 11).

У детей, не получавших синбиотик, выявлено увеличение разнообразия микроорганизмов, в том числе по показателю индекса Шеннона были найдены статистически значимые различия ($p < 0,01$). Увеличивалось содержание родов *Enterococcus*, *Prevotellaceae*, *GCA-900066575*, *Howardella*, *Lachnospiraceae NK4A136 group* и видов *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Anaerostipes hadrus*, *Parabacteroides distasonis*, *Roseburia intestinalis*, *Mitsuokella jalaludinii*, *Weissella cibaria/confusa/koreensis/minor*, *Veillonella dispar/parvula*, *Lactobacillus curvatus/graminis/ sakei*, *Succinatimonas hippei*, *Bacteroides nordii*, *Lactobacillus brevis/casei/delbrueckii/ paracasei/rhamnosus*, *Leuconostoc citreum/gelidum/holzapfelii/mesenteroides*, *Oscillibacter ruminantium*, *Sneathia sanguinegens*, *Pseudomonas deceptionensis/fluorescens/fragi/ lundensis/ psychrophila/putida/ syringae/ taiwanensis/ weihenstephanensis*. На фоне повышения разнообразия микроорганизмов уровень зонулина в кале повышался на 30-е сутки по сравнению с показателем на 14-е сутки статистически значимо ($87,95\pm 10,96$ нг/мл; $p=0,048$), и отмечалось учащение болей в животе и появление диареи и тошноты, в отличие от детей, получавших синбиотик.

При изучении микробиома детей с COVID-19 на 14-е сутки после начала заболевания и через 30 суток после лечения синбиотиком не установлено статистически значимых различий в разнообразии микроорганизмов на уровне родов. Также не получено различий при сравнении индекса Шеннона. Выявление таксонов, преобладание которых характерно для каждой группы на уровне родов, показало, что у детей, получавших синбиотик, увеличилось количество таких микроорганизмов, как *Weissella*, *Veillonella* и *Oscillospira*, однако это увеличение не было статистически значимым. Анализ таксонов, преобладание которых характерно для каждой группы на уровне вида, выявил, что после приема синбиотика в микробиоме статистически незначимо уменьшается содержание *Prevotella_stercorea*, *Veillonella_dispar/parvula* и *Bacteroides_fragilis*.

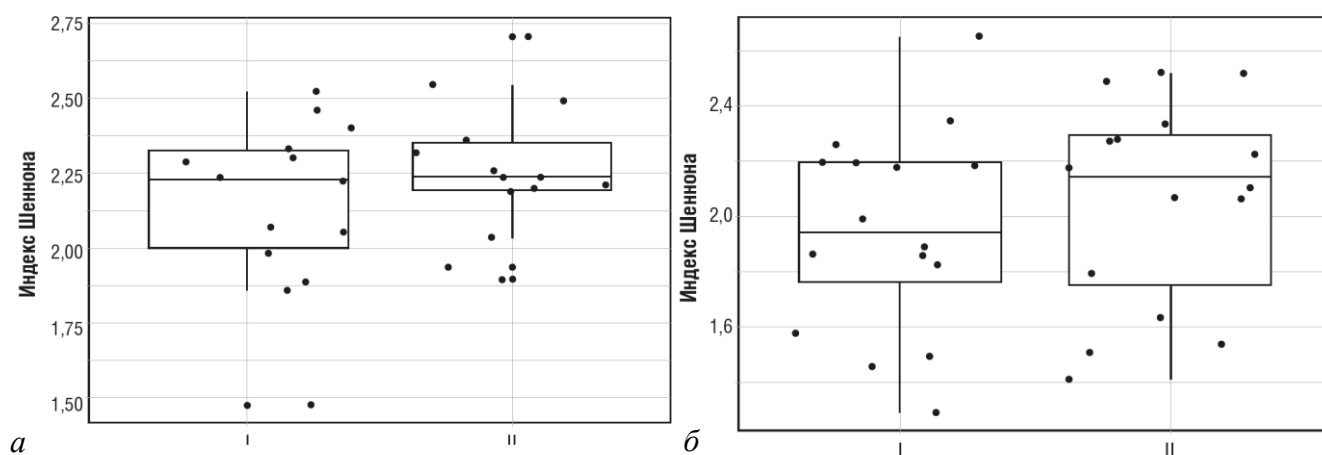


Рисунок 10 — Динамика индекса биоразнообразия (Шеннона) в первой (а) и второй (б) группах исследования. I — 14-е сутки от начала заболевания (выздоровление), II — 30-е сутки с момента выздоровления

Симптом	На момент выздоровления от COVID-19		Через 30 дней после выздоровления	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
Боли в животе Abdominal pain	4 (25)	4 (25)	3 (18,75)	7 (43,75)
Тошнота / Nausea	0	0	0	2 (12,5)
Рвота / Vomiting	0	0	0	0
Диарея / Diarrhea	0	0	0	4 (25)

Рисунок 11 — Динамика кишечных симптомов у детей первой и второй групп, перенесших COVID-19, не получавших антибиотики, в постковидный период при разных стратегиях терапии, n (%)

У детей, получивших синбиотик, не зарегистрировано статистически значимых повышений уровня зонулина на 30-е сутки по сравнению с показателем на 14-е сутки ($79,02 \pm 11,87$ нг/мл; $p = 0,40$).

Дети с инфекцией COVID-19, осложненной бактериальной инфекцией, имели в начале заболевания диарею в 58,3% случаев, боли в животе — в 75%, рвоту — в 66,6% случаев. На фоне антибактериальной терапии в 46% случаев сохранялась диарея, $p > 0,05$. Прием синбиотика через 30 дней купировал все гастроинтестинальные симптомы (рвота отсутствовала полностью, боль в животе и диарея сохранялись в 8,3% случаев). У детей с COVID-19 после антибактериальной терапии повышалось содержание бактерий родов *Campilobacterota* и *Desulfobacterota* и уменьшалось содержание рода *Patescibacteria*. Через месяц после приема синбиотика содержание бактерий родов *Campilobacterota* и *Patescibacteria* возвращалось к исходному, а содержание рода *Desulfobacterota* оставалось немного выше, чем в начале болезни. Данные представлены на рисунке 12.

После приема синбиотика у детей, перенесших новую коронавирусную инфекцию и получавших антибактериальную терапию, не было найдено статистически значимых различий в разнообразии при сравнении индекса Шеннона с использованием теста Вилкоксона.

Изучение кишечной проницаемости у пациентов, имеющих бактериальные осложнения и получающих антибиотики, показало, что уровень зонулина в начале заболевания и к моменту выздоровления был одинаково повышенным ($81,52 \pm 11,20$ нг/мл и $81,80 \pm 11,92$ нг/мл; $p > 0,05$). Однако через месяц после приема уровень зонулина в стуле значительно снижался до $72,67 \pm 14,30$ нг/мл ($p < 0,05$).

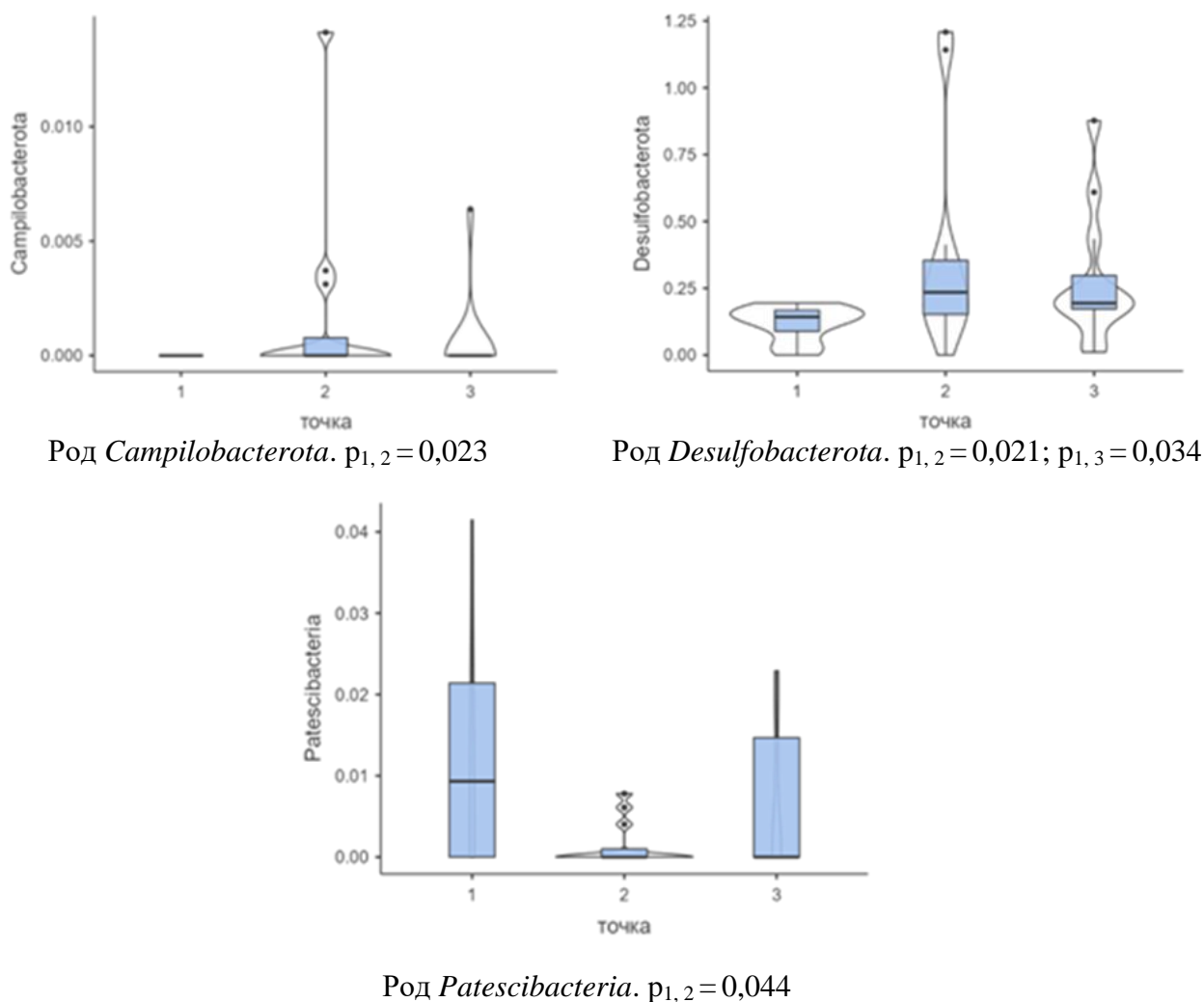


Рисунок 12 — Динамика изменений микробиоты у детей на фоне антибиотикотерапии и синбиотика

Проведенные исследования позволили провести анализ патогенетических механизмов развития гастроинтестинальных симптомов в постковидный период у детей и расчет факторов риска развития гастроинтестинальных симптомов у детей после перенесенной коронавирусной инфекции. С помощью нейронной сети, учитывающей 400 показателей, выделены 5 признаков, сопровождающих наличие постковидных гастроинтестинальных симптомов у детей через месяц после выздоровления от новой коронавирусной инфекции. Это выявление рода *Actinobacteriota* в стуле методом 16S рНК секвенирования через месяц после выздоровления, выявление вида *Actinobacteria* в стуле методом 16S рНК секвенирования через месяц после выздоровления, отсутствие синбиотического лечения, повышенный уровень зонулина в стуле и пищевая аллергия в анамнезе. Чувствительность нейронной сети составила 95,0%, специфичность — 87,5%, точность — 91,0%.

ВЫВОДЫ

1. Новая коронавирусная инфекция протекает в легкой форме у 56% детей, у 44% детей инфекция имеет среднюю степень тяжести. COVID-19 у детей сопровождается симптомами, характерными для острой респираторной вирусной инфекции, такими как насморк (62,2%), кашель (48,1%), боль в горле (17,4%) ($p > 0,05$). При этом у подростков кашель (60,7%), боли в грудной клетке (13,1%) и боли в горле (29,5%) встречаются чаще, чем у детей раннего возраста, у них же чаще диагностируется пневмония (41%, $p = 0,013$).

2. В дебюте новой коронавирусной инфекции у детей гастроинтестинальные жалобы проявляются в виде болей в животе, диареи, рвоты, тошноты, причем тошнота значимо чаще отмечается у подростков (13,1%, $p < 0,05$). Частота тошноты (5,9% и 1,5%, $p = 0,016$), рвоты (10,7% и 2,6%, $p < 0,001$), болей в животе (13,3% и 6,7%, $p < 0,001$) и диареи (11,1% и 2,6%, $p = 0,002$) значимо уменьшается к моменту выздоровления. Диарея взаимосвязана с маркером воспаления. Уровень С-реактивного белка у детей с диареей ($19,42 \pm 1,80$ мг/л) выше, чем при ее отсутствии ($7,33 \pm 1,20$ мг/л, $p < 0,05$).

3. Выявлены значимые изменения микробиоты у детей, переносящих новую коронавирусную инфекцию, в сравнении с группой здоровых детей ($p = 0,003$) и динамические ее изменения от начала заболевания к выздоровлению и в постковидный период. Сравнительный анализ микробиоты детей, имеющих боли в животе, в начале заболевания и микробиоты детей без болевого синдрома выявил различия только по одному классу микроорганизмов — *Vampirivibrionia* ($p = 0,016$), их количество значимо выше у детей с болями в животе. На 14-е сутки найдены значимые корреляционные связи между выделением микроорганизмов, таких как *Alphaproteobacteria* ($p = 0,009$), *Fusobacteriia* ($p = 0,05$), *Methanobacteria* ($p = 0,05$), и болями в животе. Через месяц после выздоровления боли в животе взаимосвязаны с наличием *Actinobacteria* ($p = 0,016$), *Actinobacteriota* ($p = 0,031$), *Desulfovibrionia* ($p = 0,029$), *Desulfobacterota* ($p = 0,029$), *Vampirivibrionia* ($p = 0,016$).

4. Уровень зонулина в кале в начале заболевания ($77,38 \pm 12,59$, $p > 0,05$) и на момент выздоровления ($77,38 \pm 12,59$, $p > 0,05$) не превышает референсных значений, однако в постковидный период, через 1 месяц после выздоровления, уровень фекального зонулина значимо повышается ($82,64 \pm 11,99$, $p < 0,05$), что свидетельствует о нарушении кишечной проницаемости. Также отмечается корреляционная взаимосвязь между болями в животе и уровнем зонулина на всем протяжении болезни и в постковидный период.

5. Выделение вируса SARS-CoV-2 из стула на момент острого заболевания наблюдается в 47,7% случаев, на момент выздоровления — в 15,9%, через месяц от момента выздоровления — только в 5,7% ($p > 0,05$), при этом выявлена положительная значимая корреляционная связь между наличием болей в животе и вирусовыделением SARS-CoV-2 в стуле как в начале ($p < 0,001$), так и в конце заболевания ($p = 0,011$). В постковидный период боли в животе не связаны с вирусовыделением SARS-CoV-2 в стуле.

6. Назначение синбиотика, содержащего комплекс из 9 пробиотических штаммов в концентрации 4,5 млрд КОЕ и пребиотика (фруктоолигосахарида), после перенесенной новой коронавирусной инфекции на 30 дней в возрастной дозировке значимо снижает частоту гастроинтестинальных проявлений (боли в животе, диарея), препятствует нарушению кишечной проницаемости и нарушениям кишечной микробиоты даже после приема антибактериальной терапии.

7. Анализ, проведенный с помощью нейросети, установил, что ведущую роль в патогенезе постковидных гастроинтестинальных расстройств играет нарушение кишечной микробиоты, а именно выявление рода *Actinobacteriota* и вида *Actinobacteria* в стуле методом 16S рНК секвенирования, повышенная кишечная проницаемость (высокий уровень зонулина в стуле), пищевая аллергия и отсутствие синбиотического лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для профилактики постковидных гастроинтестинальных расстройств всем перенесшим новую коронавирусную инфекцию, независимо от использования антибиотиков в лечении осложнений, предложено использование синбиотика, содержащего комплекс из 9 пробиотических штаммов в концентрации 4,5 млрд КОЕ и пребиотика (фруктоолигосахарида), в возрастной дозировке на 30 дней после выздоровления.

2. Все дети, перенесшие новую коронавирусную инфекцию, должны пройти диспансерный осмотр через 30 дней после выздоровления для своевременного выявления гастроинтестинальных постковидных расстройств.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перспективы дальнейшей разработки обозначенной темы лежат в продолжении проспективного наблюдения за изменениями состояния желудочно-кишечного тракта у детей после перенесенной новой коронавирусной инфекции для разработки персонализированной терапии и расширения спектра изучаемых факторов, оказавших влияние на исход состояния желудочно-кишечного тракта в постковидный период. Перспективно изучение кишечной микробиоты при инфицировании различными штаммами вируса SARS-CoV-2, как в виде моно-, так и в сочетании с ко-инфекцией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Полунина, А.В. Состав кишечной микробиоты при COVID-инфекции (научный обзор) / В.П. Новикова, А.В. Полунина // **Профилактическая и клиническая медицина**. — 2020. — № 4 (77). — С. 81–86.
2. Ось "легкие-кишечник" и COVID-инфекция / В.П. Новикова, А.И. Хавкин, А.В. Горелов, А.В. Полунина // **Инфекционные болезни**. — 2021. — Т. 19, № 1. — С. 91–96. (ВАК, Scopus)
3. Полунина, А.В. Уровень зонулина при инфекции Covid-19 у детей. Пилотное исследование / А.В. Полунина, В.П. Новикова, А.Е. Блинов // **Инфекционные болезни**. — 2022. — № 3. — С. 56.
4. Gastrointestinal manifestations of novel coronavirus infection. Review and meta-analysis / В.П. Новикова, А.В. Полунина, К.А. Кликунова // **University Therapeutic Journal**. — 2022. — Т. 4, № 4. — С. 5-15. (ВАК)
5. Динамика уровня зонулина в стуле при инфекции COVID-19 и в постковидный период у детей/ А.В. Полунина, В.П. Новикова, А.Е. Блинов [и др.] // **Инфекционные болезни**. — 2022. — Т. 20, № 3. — С. 35–40. (ВАК, Scopus)
6. Состояние желудочно-кишечного тракта у детей при новой коронавирусной инфекции и цитокиновый статус. Есть ли связь? / А.В. Полунина, М.А. Шакмаева, Д.О. Иванов [и др.] // **Children's Medicine of the North-West**. — 2022. — Т. 10, № 4. — С. 69–74.
7. Поражения органов пищеварения при постковидном синдроме. Клинические рекомендации/ В.Б. Гриневич, Л.Б. Лазебник, А.В. Полунина [и др.] // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология**. — 2022. — № 12 (208). — С. 4–68. (ВАК, Scopus)
8. Особенности кишечного микробиома у детей при новой коронавирусной инфекции / А.В. Полунина, В.В. Дудурич, Л.Г. Данилов [и др.] // **Медицина: теория и практика**. — 2022. — Т. 7, № 4. — С. 63–67.
9. Особенности изменения кишечного микробиома и кишечной проницаемости у детей с новой коронавирусной инфекцией./ Полунина А.В., Новикова В.П., Дудурич В.В. [и др.] // В сборнике: Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей. Материалы Юбилейного XXX Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ. — 2023. — С. 102-104.
10. Состояние желудочно-кишечного тракта у детей при новой коронавирусной инфекции и в постковидный период. Роль синбиотика в коррекции клинических симптомов, кишечной микробиоты и проницаемости кишечной стенки/ В.П. Новикова, А.В. Полунина, С.Л. Баннова [и др.] // **РМЖ. Мать и дитя**. — 2023. — Т. 6, № 3. — С. 283–289. (ВАК, Scopus)
11. Эффективность применения синбиотика Максилак® при новой коронавирусной инфекции после антибактериальной терапии/ В.П. Новикова, А.В. Полунина, С.Л. Баннова [и др.] // **Педиатрия. Consilium Medicum**. — 2024. — № 2. — С. 167–172. (ВАК)
12. Полунина, А.В. Особенности легкого и среднетяжелого течения COVID-19 у детей разного возраста / А.В. Полунина // **Children's Medicine of the North-West**. — 2024. — Т.12, № 4. — С. 211–223. (ВАК)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения
ГП	— городская поликлиника
ДИ	— доверительный интервал
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДПО	— детское поликлиническое отделение
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РНК	— рибонуклеиновая кислота
рРНК	— рибосомная рибонуклеиновая кислота
СОЭ	— скорость оседания эритроцитов
СРБ	— С-реактивный белок
СРК	— синдром раздраженного кишечника
COVID-19	— CoronaVirus Infictious Disease-19
SARS-CoV-2	— Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus-2 (коронавирус с тяжелым острым респираторным синдромом-2)