



Особенности дыхательных тестов (водород + метан), данных непрямой эластометрии печени у реконвалесцентов COVID-19

Кручинина М. В.^{1,2}, Светлова И. О.^{1,2}, Логвиненко И. И.^{1,2}, Громов А. А.¹, Каштанова Е. В.¹, Пономарева Н. Е.¹, Кручинина Э. В.²

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», ул. Б. Богаткова 175/1, 630089, Новосибирск, Россия

² ФГБОУ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Красный проспект, 52, 630091, Новосибирск, Россия

Для цитирования: Кручинина М. В., Светлова И. О., Логвиненко И. И., Громов А. А., Каштанова Е. В., Пономарева Н. Е., Кручинина Э. В. Особенности дыхательных тестов (водород + метан), данных непрямой эластометрии печени у реконвалесцентов COVID-19. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;203(7): 131–144. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-131-144

✉ Для переписки:

Кручинина

Маргарита

Витальевна

kruchmargo

@yandex.ru

Кручинина Маргарита Витальевна, д. м. н., доцент; ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией гастроэнтерологии; доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней

Светлова Ирина Олеговна, к. м. н., доцент; доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и переподготовки врачей

Логвиненко Ирина Ивановна, д. м. н., профессор; заместитель руководителя по лечебной работе; профессор кафедры неотложной терапии с эндокринологией и пропатологией факультета повышения квалификации и переподготовки врачей

Громов Андрей Александрович, к. м. н.; старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний

Каштанова Елена Владимировна, д-р биол. наук, доцент; ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний

Пonomарева Наталия Евгеньевна, ординатор лаборатории гастроэнтерологии

Кручинина Элина Владимировна, студент 6 курса

Резюме

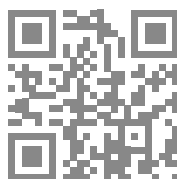
Цель исследования: изучить показатели эластичности печени, уровни водорода и метана в выдыхаемом воздухе, их ассоциации с клинико-биохимическими показателями у пациентов, перенесших COVID-19.

Материалы и методы. Обследовано 30 пациентов (средний возраст $51,8 \pm 2,91$), перенесших COVID-19 (подтвержден тестом на РНК SARS-CoV-2 или наличием антигена SARS-CoV-2) через 12–16 недель после появления первых симптомов, из них у 11 была выявлена пневмония. 19 человек (средний возраст $47,1 \pm 3,09$), не перенесшие COVID-19, составили группу сравнения. Пациентам выполнено клинико-биохимическое исследование, определена степень фиброза печени (FibroScan® 502 Echosens, Франция), проведено измерение уровней водорода (H₂) и метана (CH₄) в выдыхаемом воздухе (базисное и после приема раствора лактулозы) (GastroCheck Gastrolyzer, Bedfont Scientific Ltd., England).

Результаты. Перенесенная инфекция COVID-19 прямо коррелировала с возрастом ($r=0,331$, $p=0,022$), мужским полом ($r=0,324$, $p=0,025$), наличием фиброза печени ($r=0,291$, $p=0,044$). Пациенты, перенесшие COVID-19, чаще имели фиброз печени ($p<0,001$) и более высокие значения эластичности печени в кПа ($p=0,018$) на фоне избыточной массы тела и ожирения (63,3%) и повышенного индекса массы тела ($p=0,03$) по сравнению с группой контроля. Наличие фиброза печени ассоциировано с перенесенной пневмонией средней степени тяжести ($p<0,001$). Среди перенесших COVID-19 достоверно больше не-продуцентов метана ($p=0,02$), меньше лиц со средним уровнем метана в выдыхаемом воздухе ($p=0,016$). У реконвалесцентов COVID-19 реже выявлялся синдром избыточного бактериального роста (СИБР) по сравнению с контролем ($p=0,04$), но чаще регистрировались признаки замедленного транзита по кишечнику ($p<0,05$). Наличие фиброза печени у перенесших COVID-19 ассоциировано с выявлением СИБР (23,3% против 5,2%, $p<0,001$), который, вероятно, вносит вклад в патогенез повреждения печени. Уровни водорода через 120 мин и метана через 60 мин после приема раствора лактулозы различали реконвалесцентов COVID-19 и не перенесших COVID-19 с AUC 0,683 и 0,660, соответственно.

Выявлены ассоциации уровней газов в выдыхаемом воздухе с клинико-биохимическими показателями: наличие избыточной массы тела и ожирения обнаружило обратные ассоциации с уровнем продукции метана ($r=-0,342$, $p<0,05$), его концентрацией после приема лактулозы в различные временные промежутки, а также базисным уровнем водорода ($r=-0,313$, $p<0,05$); степень ожирения также обратно коррелировала с уровнем выделения метана ($r=-0,368$, $p=0,038$). Установлены прямые связи между показателями эластичности печени в кПа и уровнем продукции водорода ($r=0,275$, $p<0,05$).

EDN: KANUGG



Выводы. Получены косвенные признаки выраженных изменений в кишечном микробиоме, которые, очевидно, вносят вклад в более тяжелое течение COVID-19, развитие фиброза печени, поэтому воздействие на кишечную микрофлору может рассматриваться как потенциальный таргет при лечении пациентов с COVID-19.

Ключевые слова: реконвалесценты COVID-19, фиброз печени, водород, метан, выдыхаемый воздух

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-203-7-131-144>

Features of respiratory tests (hydrogen + methane), indirect liver elastometry data in COVID-19 convalescents (pilot study)

M. V. Kruchinina^{1,2}, I. O. Svetlova^{1,2}, I. I. Logvinenko^{1,2}, A. A. Gromov¹, E. V. Kashtanova¹, N. E. Ponomareva¹, E. V. Kruchinina²

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, st. B. Bogatkova 175/1, 630089, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State Medical University, Red Avenue, 52, 630091, Novosibirsk, Russia

For citation: Kruchinina M. V., Svetlova I. O., Logvinenko I. I., Gromov A. A., Kashtanova E. V., Ponomareva N. E., Kruchinina E. V. Features of respiratory tests (hydrogen + methane), indirect liver elastometry data in COVID-19 convalescents (pilot study). *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;203(7): 131–144. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-131-144

✉ *Corresponding author:*

Margarita V. Kruchinina
kruchmargo
@yandex.ru

Margarita V. Kruchinina, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor; Leading Researcher, Head of the Laboratory of Gastroenterology; Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases; ORCID 0000–0003–0077–3823, Researcher ID: A-7750–2014, Scopus Author ID 25646427600

Irina O. Svetlova, Candidate of Sciences in Medicine, Associate Professor; Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Faculty of Advanced Training and Retraining of Physicians

Irina I. Logvinenko, Doctor of Medical Sciences, Professor; Deputy Head of medical work; Professor of the Department of Emergency Therapy with Endocrinology and Occupational Pathology, Faculty of Advanced Training and Retraining of Doctors; ORCID 0000–0003–1348–0253

Andrey A. Gromov, Candidate of Sciences in Medicine; Senior Researcher, Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Studies of Therapeutic Diseases; ORCID 0000–0001–9254–4192

Elena V. Kashtanova, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor; Leading Researcher, Head of the Laboratory for Clinical Biochemical and Hormonal Studies of Therapeutic Diseases; ORCID 0000–0003–2268–4186

Natalia E. Ponomareva, Intern of the laboratory of gastroenterology

Elina V. Kruchinina, 6th-year medical student

Summary

Purpose of the work: to study liver elasticity indicators, hydrogen and methane levels in exhaled air, and their associations with clinical and biochemical parameters for patients who underwent COVID-19.

Materials and methods. We examined 30 patients (mean age 51.8±2.91) who underwent COVID-19 (confirmed by SARS-CoV-2 RNA test or SARS-CoV-2 antigen) 12–16 weeks after the onset of the first symptoms, of which 11 were diagnosed with pneumonia. 19 people (mean age 47.1±3.09) who did not have COVID-19 made up the comparison group. The patients underwent a clinical and biochemical study, the degree of liver fibrosis was determined (FibroScan® 502 Echosens, France), the levels of hydrogen (H₂) and methane (CH₄) in the exhaled air were measured (baseline and after taking lactulose solution) (GastroCheck Gastrolyzer, Bedfont Scientific Ltd., England).

Results. Past COVID-19 infection was directly correlated with age ($r=0.331$, $p=0.022$), male gender ($r=0.324$, $p=0.025$), and presence of liver fibrosis ($r=0.291$, $p=0.044$). COVID-19 survivors were more likely to have liver fibrosis ($p<0.001$) and higher liver elasticity in kPa ($p=0.018$) with overweight and obesity (63.3%) and elevated body mass index ($p=0.03$) compared with the control group. The presence of liver fibrosis was associated with moderate pneumonia ($p<0.001$). Among those who had COVID-19, there were significantly more non-producers of methane ($p=0.02$), fewer people with an average level of methane in exhaled air ($p=0.016$). In COVID-19 convalescents, bacterial overgrowth syndrome (BOS) was detected less frequently than in controls ($p=0.04$), but signs of delayed intestinal transit were more often recorded ($p<0.05$). The presence of liver fibrosis

in survivors of COVID-19 is associated with BOS detection (23.3% vs. 5.2%, $p < 0.001$), which probably contributes to the pathogenesis of liver damage. Hydrogen levels at 120 min and methane at 60 min after ingestion of lactulose solution distinguished between COVID-19 convalescents and COVID-19 survivors with an AUC of 0.683 and 0.660, respectively.

The associations of the levels of gases in the exhaled air with clinical and biochemical parameters were revealed: the presence of overweight and obesity showed inverse associations with the level of methane production ($r = -0.342$, $p < 0.05$), its concentration after taking lactulose at various time intervals, and also the basic level of hydrogen ($r = -0.313$, $p < 0.05$); the degree of obesity was also inversely correlated with the level of methane emission ($r = -0.368$, $p = 0.038$). Direct links were established between indicators of liver elasticity in kPa and the level of hydrogen production ($r = 0.275$, $p < 0.05$).

Conclusions. Obtained indirect signs of pronounced changes in the intestinal microbiome, which obviously contribute to a more severe course of COVID-19, the development of liver fibrosis, so the impact on the intestinal microflora can be considered as a potential target in the treatment of patients with COVID-19.

Keywords: COVID-19 convalescents, liver fibrosis, hydrogen, methane, exhaled air

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Недавняя вспышка коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19), вызванная Коронавирусом-2 тяжелого острого респираторного синдрома Коронавирус-2 (SARS-CoV-2), привела к всемирной пандемии. Диссеминированное повреждение легких с развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) – основная причина смертности при COVID-19. Однако, высокая частота поражения вирусом органов вне дыхательных путей, включая печень и желудочно-кишечный тракт, указывает на то, что COVID-19 можно рассматривать как системное инфекционное и воспалительное заболевание [1].

Показано, что вирус SARS-CoV-2 может поражать желудочно-кишечный тракт несколькими путями. Во-первых, возможно его прямое рецептор-опосредованное проникновение в клетки слизистых оболочек с их последующей гибелью. Во-вторых, он способен индуцировать мукозиты и изменять проницаемость эпителиальных барьеров. Наконец, вирус, возможно, влияет на состав микробиоты кишечника, нарушает взаимодействие оси «кишка–легкие» и таким образом дополнительно способствует прогрессированию респираторных симптомов [2].

Имеются данные о том, что типичные респираторные симптомы были свойственны преимущественно первой волне заболевших коронавирусной инфекцией, а симптомы поражения желудочно-кишечного тракта – второй волне [3, 4].

При оценке течения заболевания у 74 больных с COVID-19, имевших гастроэнтерологические жалобы, было показано, что тяжелые и критические ее формы встречались у них достоверно чаще (соответственно в 22,97 и 31,08% случаев), чем у пациентов, у которых эти симптомы отсутствовали (8,14 и 20,45% больных) [5].

Известно, что коронавирус проникает в организм через рецепторы ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) [angiotensin converting enzyme 2, ACE2]. Высокая экспрессия рецепторов АПФ2 при COVID-19 отмечается не только во II типе альвеолярных клеток (AT2) в легких, но и в железистых

эпителиальных клетках желудка, двенадцатиперстной кишки и прямой кишки [6–9], что может приводить к возникновению желудочно-кишечных симптомов [10]. В некоторых случаях диарея может выступать на первый план в клинической картине COVID-19 [11].

Хотя печеночная недостаточность, по-видимому, не возникает при отсутствии ранее существовавшего заболевания печени, поражение печени при COVID-19 может коррелировать с общей тяжестью заболевания и служить прогностическим фактором для развития ОРДС. Спектр потенциальных патофизиологических механизмов поражения печени при COVID-19 обширен, включает прямую цитотоксичность в результате активной вирусной репликации SARS-CoV-2 в печени, иммуно-опосредованное повреждение печени из-за тяжелой воспалительной реакции, гипоксические изменения, вызванные дыхательной недостаточностью, сосудистые изменения из-за коагулопатии, эндотелита или правожелудочковой сердечной недостаточности, лекарственное поражение печени и обострение основного заболевания печени [12].

Исследование гистологических препаратов печени 48 умерших пациентов с COVID-19 выявило обширный тромбоз просвета на портальном и синусоидальном уровнях, а также портальный фиброз, сопровождающийся значительной активацией перицитов [13]. Effenberger M. et al. показано, что развитие фиброза печени с увеличением ее плотности ассоциировано с тяжелым течением COVID-19 [14].

Вирус SARS-CoV-2 может непосредственно поражать клетки печени, что подтверждается обнаружением повышенной экспрессии рецепторов АПФ-2 в холангиоцитах [15, 16]. Показано, что вирус может напрямую связываться с ACE2-позитивными холангиоцитами, но не обязательно с гепатоцитами. Эти результаты свидетельствуют, что поражение печени у пациентов с атипичной пневмонией и SARS-CoV-2 могут быть вызваны дисфункцией холангиоцитов и другими причинами, такими

как медикаментозное и системное воспалительное повреждение [15].

Наряду с печенью, мишенью COVID-19 является и кишечник. Известно, что ACE2 в изобилии содержится в эпителии легких и кишечника, другие авторы указывают, что экспрессия ACE2 в первую очередь выражена на люминальной поверхности дифференцированных клеток тонкокишечного эпителия, тогда как более низкая экспрессия наблюдается в криптовых клетках и толстой кишке [17]. Hashimoto T. et al. связали аминокислотную транспортную функцию ACE2 с микробной экологией в желудочно-кишечном тракте. При этом эпителиоциты с мутантным ACE2 проявляли пониженную экспрессию антимикробных пептидов. Авторы предположили возможную связь COVID-19 с измененной микробиотой кишечника [17].

Trottein F. et al. показано, что дефицит ACE2 изменяет состав микробиоты кишечника у мышей, а у пациентов с COVID-19 развивается дисбиоз кишечника, сопровождающийся уменьшением разнообразия и численности бактерий. Этот дисбиоз имеет серьезные последствия: микробиота кишечника может дистанционно стимулировать реакцию организма хозяина на вирусные инфекции дыхательных путей. Дисбиоз может ухудшить исход заболевания, поскольку количество бактерий-комменсалов уменьшается, что способствует размножению патогенов. Роль микробиоты кишечника при коронавирусной инфекции еще предстоит уточнить с целью определения того, может ли дисбиоз служить биомаркером тяжести заболевания, а восстановление эубиоза – методом его лечения [18].

Связь между легкими и желудочно-кишечным трактом до конца не изучена. Хорошо известно, что в респираторном тракте обитает своя микробиота, но у пациентов с респираторными инфекциями обычно наблюдается дисфункция кишечника или вторичные осложнения дисфункции кишечника, которые связаны с более тяжелым клиническим течением заболевания, что свидетельствует

о кишечно-легочной перекрестности. Этот феномен наблюдается у пациентов с COVID-19. Многочисленные исследования показали, что модулирование микробиоты кишечника может уменьшить энтерит и связанную с ИВЛ пневмонию, а также может обратить вспять некоторые побочные эффекты антибиотиков [19].

Существует тесное взаимодействие между кишечником и печенью, именуемое «ось кишечник-печень» [20]. Более 70% кровотока печени обеспечивается воротной веной, осуществляющей венозный отток из кишечника. При нарушении кишечного барьера печень подвергается воздействию токсических факторов, поступающих из кишечника. В свою очередь, изменение физиологических процессов в печени может стать толчком для развития дисфункции кишечника [21, 22]. Было продемонстрировано, что избыточный бактериальный рост в тонкой кишке может играть определенную роль в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени [23], алкогольной болезни печени [24], патологии печени, связанной с полным парентеральным питанием и интестинальной недостаточностью [25]. В этом контексте при заболеваниях печени актуальны вопросы распознавания синдрома избыточного бактериального роста (СИБР), а воздействие на кишечную микробиоту становится потенциальной терапевтической и профилактической стратегией.

Гипотеза настоящего исследования состояла в том, что у пациентов, перенесших COVID-19, вероятно повреждение печени с изменением ее эластичности и нарушение кишечной микробиоты, что отражается изменением газового состава выдыхаемого воздуха. Большая степень изменения эластичности печени, возможно, ассоциирована с большими нарушениями при проведении дыхательного теста.

Цель исследования: изучить показатели эластичности печени, уровни водорода и метана в выдыхаемом воздухе, их ассоциации с клинико-биохимическими показателями у пациентов, перенесших COVID-19.

Материалы и методы

Данная работа является фрагментом проспективного наблюдательного исследования, которое проводится на базе Центра медицинской профилактики «НИИТПМ-филиал ИЦиГ СО РАН» с 2020 г., в соответствии с Национальными стандартами РФ ГОСТ-Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP), с обязательным соблюдением этических принципов, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. (с дополнениями 1983 г.) и получением информированного согласия у пациентов. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом (протокол № 23 от 26.05.2020 г.).

Критерии включения: 1. Подписание информированного согласия на участие в исследовании. 2. Реконвалесcentes: COVID-19 (с кодом U07.1 или U07.2) старше 18 лет или пневмонии (не COVID-19) старше 18 лет. 3. Способность понимать и выполнять требования протокола исследования. 4.

Отсутствие противопоказаний к диагностическим процедурам, предусмотренным протоколом исследования.

Критерии исключения: Отказ от участия в исследовании.

Обследовано 30 пациентов, перенесших COVID-19 (2 группа) через 12–16 недель после появления первых симптомов, средний возраст $51,8 \pm 2,91$, из них 13 мужчин и 17 женщин.

Диагноз COVID-2019 считался верифицированным при наличии положительного результата лабораторного исследования на PHK SARS-CoV-2 (с применением методов амплификации нуклеиновых кислот) или антигена SARS-CoV-2 (с применением иммунохроматографического анализа) вне зависимости от клинических проявлений [26] и/или антитела класса IgA, IgM и/или IgG к SARS-CoV-2 у пациентов с клинически подтвержденной инфекцией COVID-19 [27].

Из 30 человек 11 (36,7%) пациентов перенесли COVID-2019, осложненный пневмонией, 19 больных (63,3%) – неосложненный COVID-2019 (проявления ОРВИ). Все пациенты получали противовирусные препараты, в 25 случаях (83,3%) – антибактериальную терапию (в том числе, амоксициллин/клавулановая кислота, азитромицин, левофлоксацин, моксифлоксацин, кларитромицин). Пациентам с пневмонией назначались глюкокортикостероиды.

В качестве группы сравнения обследованы 19 человек (средний возраст $47,1 \pm 3,09$, 8 мужчин и 11 женщин) – 1 группа – без манифестирующей патологии внутренних органов, не перенесшие COVID-2019 (подтверждено результатами лабораторных исследований).

Кровь для биохимических исследований брали путем венепункции с помощью вакутейнеров натощак после 12-часового воздержания от приема пищи. Содержание триглицеридов, холестерина липопротеидов высокой плотности, общего холестерина, глюкозы крови, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы определяли энзиматическими методами на автоматическом биохимическом анализаторе Kone Lab Prime 30i. Центрифугирование крови выполнено на центрифуге CM-6M Elmi.

Исследование показателей крови проведено с помощью автоматического гематологического анализатора HTI MicroCC-20 Plus (High Technology, Inc, США).

Степень фиброза печени установлена методом непрямого эластометрии (FibroScan® 502 Echosens, Франция).

Для выявления синдрома раздраженного кишечника, синдрома избыточного бактериального роста, определения времени кишечного транзита, мальабсорбции лактозы, в режиме реального времени GastroCheck Gastrolyzer (Bedfont Scientific Ltd., England) одновременно измерялись уровни водорода (H_2) и метана (CH_4) в выдыхаемом воздухе. Проводилось измерение базовых уровней газов в выдыхаемом воздухе (в миллионных долях -м.д.). Если базисные уровни водорода

и метана не превышали 5 м.д., пациентам проводилось исследование с провоцирующей дозой лактулозы 15 мл (1 пакетик – 667 мг/мл сиропа, Abbott, Нидерланды), растворенной в 200 мл воды. С помощью GastroCheck Gastrolyzer регистрировали пробы выдыхаемых газов каждые 15 мин в течение первого часа и каждые 30 мин в течение последующего часа.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS, ver.26. Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента, Пирсона в случае, когда распределение подчинялось нормальному закону; в случаях отклонения распределения от нормального закона использовались непараметрические критерии (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова). В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и среднеквадратичная ошибка среднего значения (m) или среднеквадратическое отклонение (SD). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05. Величину и значимость корреляции между количественными параметрами оценивались путем вычисления коэффициента корреляции Пирсона (r) с расчетом 95% доверительного интервала.

Для выявления различий в уровнях газов в выдыхаемом воздухе у пациентов, перенесших COVID-19, и не перенесших COVID-19 на втором этапе статистической обработки произведена процедура нормализации показателей. Затем проведена обработка данных методом Volcano plot, который учитывает данные t-test и кратность изменений показателей. Оценка диагностической точности использования уровней газов в качестве биомаркеров для различения перенесших и не перенесших COVID-19 произведена с помощью ROC-анализа. Кластерный анализ (K-means clustering) (система методов машинного обучения – Random Forest) с применением программного обеспечения MATLAB (R2019a, Math Works) обеспечил визуализацию различий между изучаемыми группами по уровням газов в выдыхаемом воздухе.

Результаты и обсуждение

Пациенты обследованных групп не различались между собой по возрасту и полу (таблица 1). В группе пациентов, перенесших COVID-19, отмечены более высокие значения индекса массы тела ($p=0,03$). В данной группе установлены более высокие уровни показатели плотности печени ($p=0,018$). Среди реконвалесцентов COVID-19 выявлено 8 человек (26,7%) с наличием фиброза печени разной степени, в большинстве случаев – у пяти человек выявлен фиброз 1 степени (F1), у двух пациентов – фиброз 2 степени (F2), один пациент имел 4 степень фиброза (F4). Все пациенты с повышением показателей плотности печени перенесли COVID-19, осложненный развитием пневмонии средней степени тяжести ($p<0,001$). У трех пациентов с пневмонией с меньшей степенью поражения легочной ткани (10–15%) выявлены пограничные значения эластичности

печени (степень фиброза 0–1). В группе сравнения фиброз 2 степени выявлен лишь у одного человека, у остальных – F0. Следует заметить, что ни один из обследованных не указал на наличие в анамнезе диффузной патологии печени, не обследовался и не лечился по этому поводу. В связи с наличием избыточной массы тела и ожирения у большей части пациентов, перенесших COVID-19 (19 человек = 63,3% обследованных) можно предположить наличие у них метаболически ассоциированной жировой болезни печени [28].

Многими исследователями было показано, что наличие жировой болезни печени является фактором риска более тяжелого осложнения течения Covid-19 и худшего прогноза. Portincasa P. et al. установлено, что в подгруппе пациентов с НАЖБП наличие фиброза печени может представлять

собой дополнительный и независимый фактор риска тяжелого заболевания COVID-19, независимо от метаболических сопутствующих заболеваний [29]. По данным ряда исследований, механизмы повреждения печени при воздействии SARS-CoV-2 предполагают как непосредственное цитотоксическое действие вируса на гепатоциты и особенно – на холангиоциты, а также иммуноопосредованное (цитокиновый шторм), гипоксическое. Существенный вклад вносят гепатотоксические эффекты антибиотиков, противовирусных, гормональных препаратов [12].

В настоящей работе косвенным подтверждением наличия синдрома цитолиза является повышенная активность АЛТ у пациентов, перенесших COVID-19 ($p < 0,001$). Более высокие уровни щелочной фосфатазы у пациентов второй группы по сравнению с контролем ($p = 0,008$), вероятно, связаны с явлениями холестаза [12]. Возможно, на уровень активности данного фермента влияет и повреждение кишечника, поскольку ЩФ содержится и в энтероцитах [30].

Частота повышения уровня печеночных трансаминаз (АЛТ и АСТ) у пациентов с COVID-19 колеблется от 2,5% до 76,3% [31, 32]. В недавнем метаанализе совокупный уровень АСТ и АЛТ за пределами референсного диапазона у пациентов с коронавирусной инфекцией составлял 20–22,5% и 14,6–20,1%, соответственно [31, 33]. Эти отклонения могли сопровождаться незначительным повышением уровня общего билирубина почти в 35% случаев [31, 32, 34]. Хотя повышение холестатических ферментов печени [щелочная фосфатаза (ЩФ) и гамма-глутамилтрансфераза (ГГТП)] первоначально считалось довольно редким [35, 36], недавние обзоры подчеркивают повышение уровня ЩФ и ГГТП в 6,1% и 21,1% пациентов с COVID-19, соответственно [31, 33]. Более того, сообщалось о двухфазном паттерне с начальным повышением уровня трансаминаз, сопровождаемым холестатическими ферментами печени, что может отражать холестаз, вызванный синдромом системной воспалительной реакции на гепатоцеллюлярном / канальцевом уровне или более тяжелое повреждение желчных протоков на более поздней стадии заболевания [37]. Хотя показано, что поражение печени, связанное с COVID-19, является легким, оно может затронуть значительную часть пациентов, особенно с более тяжелым течением заболевания. В свете центральной роли печени в синтезе альбумина, реагентов острой фазы и факторов свертывания крови дисфункция печени может влиять на мультисистемные проявления COVID-19, такие как ОРДС, коагулопатия и полиорганная недостаточность [1, 38, 39]. Более того, печень является основным органом метаболизма и детоксикации в организме человека, и даже умеренная потеря функции печени может изменить профиль безопасности и терапевтическую эффективность противовирусных препаратов, метаболизируемых в печени.

COVID-19, как и любая системная вирусная инфекция, часто ассоциирована с преходящим подъемом уровня трансаминаз, что может отражать общую активацию иммунной системы или

воспаление, вызванное циркулирующими цитокинами, без нарушения функции печени, которое обозначается как «сторонний гепатит» (bystander hepatitis) [40]. Кроме того, уровень трансаминаз может повышаться на фоне приема лопинавира и ритонавира и возвращаться к норме после прекращения лечения [41]. Гистологическое исследование биоптатов печени у больных с COVID-19 выявило мелкокапельную жировую инфильтрацию и слабо выраженное воспаление в дольках печени. Инвазии вируса в гепатоциты обнаружено не было [42].

Было показано, что повышение уровня аланиновой аминотрансферазы (АЛТ), снижение содержания тромбоцитов, а также низкий уровень альбумина в крови в момент поступления ассоциируются с более высокими показателями летальности больных [43].

Yip T. C., et al. установлено, что повреждение печени независимо ассоциировано с неблагоприятными исходами у пациентов с COVID-19 [44]. Пациенты с неалкогольной жировой болезнью печени и неалкогольным стеатогепатитом при наличии метаболических коморбидных состояний (сахарного диабета, артериальной гипертензии и ожирения) относятся к группе повышенного риска тяжелого течения инфекции COVID-19 [40].

Поскольку значения эластичности печени, полученные с помощью метода непрямого эластомерии, зависят не только от уровня фиброза печени, но и степени инфильтративных изменений, синдрома цитолиза, холестаза, коагулопатии, выраженности стеатоза [45], можно предположить влияние всех вышеперечисленных факторов на полученные значения степени фиброза печени в настоящем исследовании. Для более точного установления стадии фиброза необходимо наблюдение в динамике.

Уровень глюкозы крови натощак у пациентов, перенесших COVID-19, оказался выше, чем в контроле ($p = 0,042$), показатели липидного профиля, пуринового обмена были несколько выше у реконвалесцентов COVID-19 по сравнению со первой группой, но уровни достоверности различия не достигали.

По данным общего анализа крови в группе, перенесших COVID-19, выявлены достоверно более низкие уровни количества эритроцитов ($p = 0,011$), гемоглобина ($p < 0,05$), лейкоцитов ($p = 0,003$) и более высокие значения СОЭ ($p = 0,036$), чем в группе сравнения. Изменения показателей крови, описанные в целом ряде исследований [46–48], являются результатом непосредственного воздействия вируса на клетки красной и белой крови, а также иммуноопосредованных воздействий [46].

Пациентам изучаемых групп было проведено исследование газов – водорода (H_2) и метана (CH_4) в выдыхаемом воздухе. Эти газы образуются в просвете кишечника вследствие бактериального воздействия на углеводы в тонкой и толстой кишке. Полученные таким образом H_2 и CH_4 попадают в кровь и переносятся в альвеолы, после чего их можно обнаружить в выдыхаемом воздухе. Levitt M. D. установил связь между выработкой H_2 и CH_4 в полости кишечника и их выделением при выдохе [49]. Точность измерения H_2 и CH_4 в миллионных долях (м.д.) в выдыхаемом воздухе

К статье

Особенности дыхательных тестов (водород + метан), данных непрямой эластометрии печени у реконвалесцентов COVID-19 (стр. 131–144)

To article

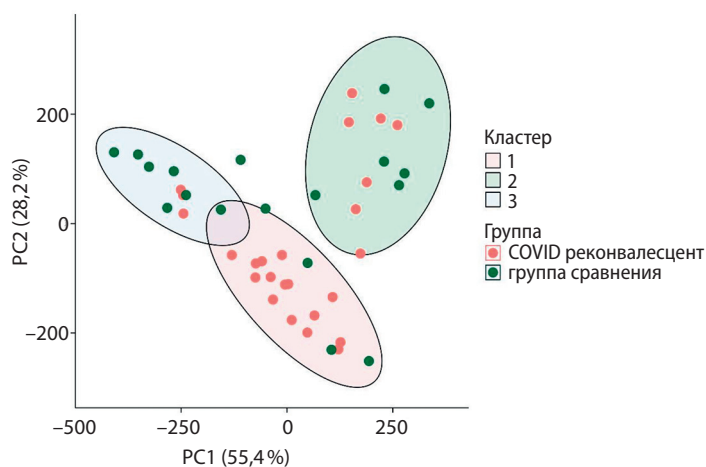
Features of respiratory tests (hydrogen + methane), indirect liver elastometry data in COVID-19 convalescents (pilot study) (p. 131–144)

Рисунок 4.

Кластерный анализ (K-means clustering) уровней газов в выдыхаемом воздухе в изученных группах. Красные точки – реконвалесценты COVID-19, зеленые точки – обследуемые контрольной группы. Розовый, голубой и зеленый кластер объединяют пациентов со сходными уровнями газов в выдыхаемом воздухе.

Figure 4.

Cluster analysis (K-means clustering) of gas levels in the exhaled air in the studied groups. Red dots are COVID-19 convalescents, green dots are the examined control group. The pink, blue and green clusters group together patients with similar levels of gases in the exhaled air.



К статье

Экспериментальное изучение гепатопротекторного влияния водного экстракта листьев Джинуры Прокумбенс на модели фруктозоиндуцированного неалкогольного стеатоза печени (стр. 151–157)

To article

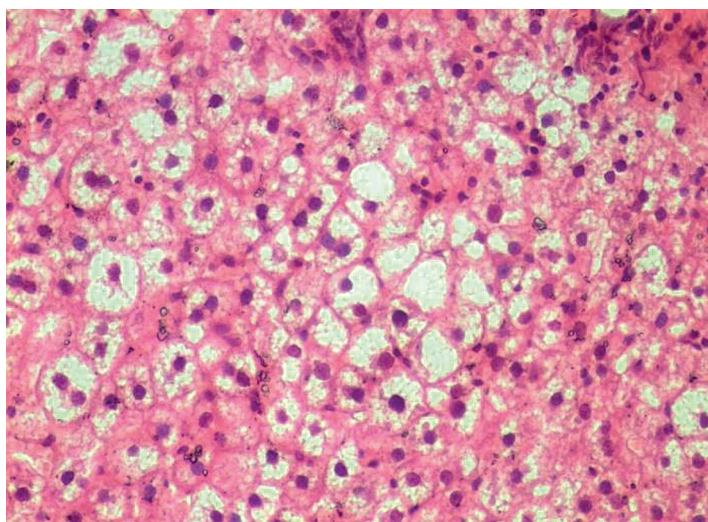
Experimental study of the hepatoprotective effect of the aqueous extract of Jinura Procumbens leaves on the model of fructose-induced non-alcoholic liver steatosis (p. 151–157)

Фотография 1.

Изменения в ткани печени у животных из группы «Стеатоз», гистологический срез. Гепатоциты с признаками мелкокапельной и крупнокапельной жировой дистрофии, набуханием цитоплазмы, эксцентричным расположением ядер клеток (80%), степень стеатоза – III. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение – x400.

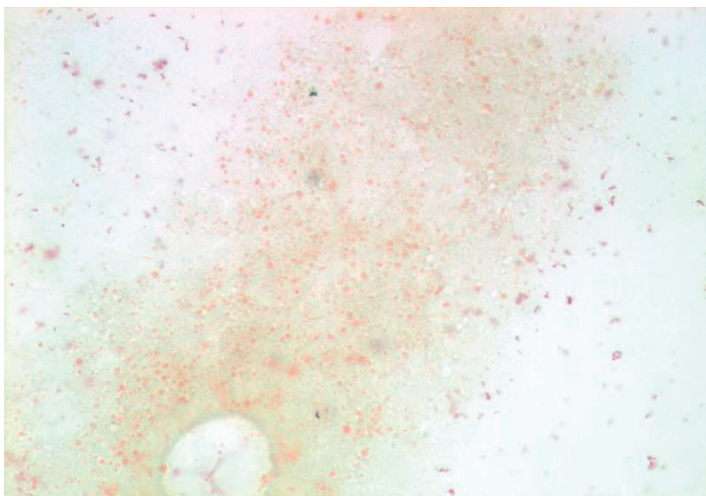
Photo 1.

Changes in liver tissue in animals from the "Steatosis" group, histological section. Hepatocytes with signs of small-drop and large-drop fatty dystrophy, cytoplasm swelling, eccentric arrangement of cell nuclei (80%), steatosis degree – III. Staining with hematoxylin and eosin, magnification – x400.



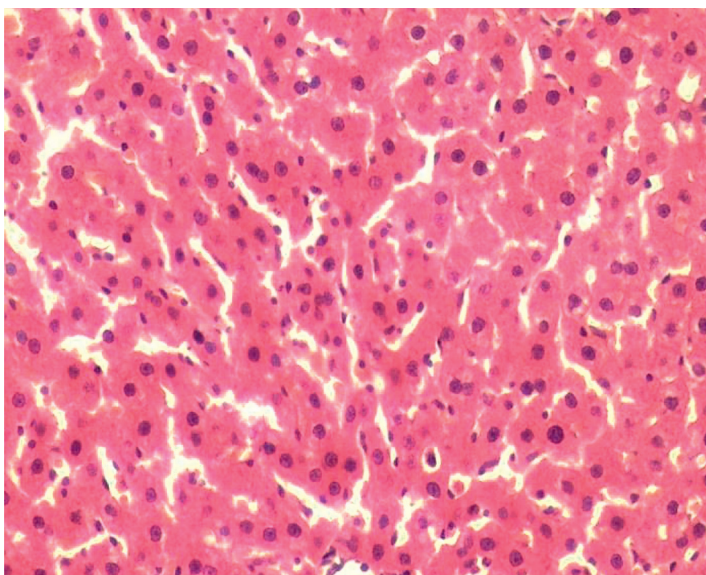
Фотография 2. Изменения в ткани печени у животных из группы «Стеатоз», гистологические срезы. В цитоплазме гепатоцитов – округлые вакуоли различных размеров оранжево-желтого цвета, соответствующие нейтральным липидам. Окраска суданом III, увеличение – x400.

Photo 2. Changes in liver tissue in animals from the “Steatosis” group, histological section. There are rounded vacuoles of various sizes of orange-yellow color corresponding to neutral lipids in the cytoplasm of hepatocytes. Staining with Sudan III, magnification – x400.



Фотография 3. Ткань печени животных контрольной группы. Интрацитоплазматические оптически пустые вакуоли, соответствующие нейтральным липидам, менее, чем в 5% гепатоцитов. Степень стеатоза – 0. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение – x400.

Photo 3. Liver tissue of control group animals. Intracytoplasmic optically empty vacuoles corresponding to neutral lipids in less than 5% of hepatocytes. Steatosis degree – 0. Staining with hematoxylin and eosin, magnification – x400.



Фотография 4. Изменения в ткани печени у животных из группы «Стеатоз+ДП», гистологический срез. Гепатоциты с признаками мелкокапельной и крупнокапельной жировой дистрофии (20%), степень стеатоза – I. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение – x400.

Photo 4. Changes in liver tissue in animals from the group “Steatosis + DP”, histological section. Hepatocytes with signs of small-drop and large-drop fatty dystrophy (20%), steatosis degree – I. Staining with hematoxylin and eosin, magnification – x400.

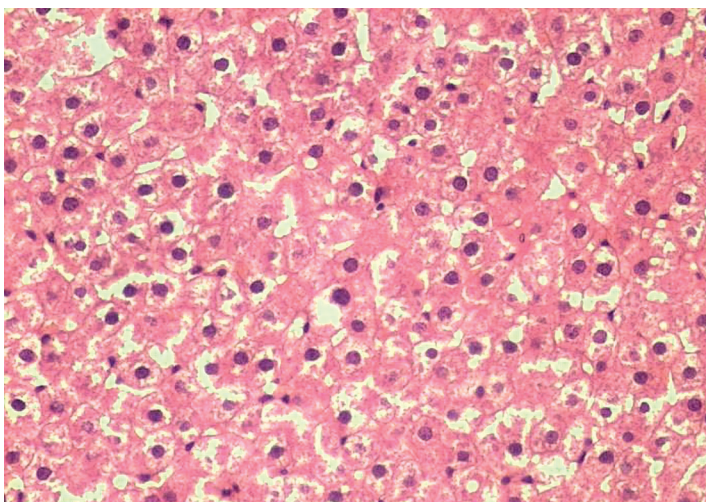


Таблица 1.
Клинико-биохимическая характеристика обследуемых групп (M±m)
Table 1.
Clinical and biochemical characteristics of the examined groups (M±m)

Показатели	1-я группа сравнения (не перенесшие COVID-19), n=19	2-я группа – пациенты, перенесшие COVID-19, n=30	p=	
Возраст, годы	47,1±3,09	51,8±2,91	0,31	Age, years
Пол (мужчины/женщины), чел (%)	8 (42,1%)/11 (57,9%)	13 (43,3%)/17 (56,7%)	0,229	Gender (male/female), pers. (%)
Наличие фиброза печени, степени фиброза, чел. (%)	1 (5,26%) – F2	8 (26,7%) F1–5 (16,7%) F2–2 (6,7%) F4–1 (3,3%)	0,001	Presence of hepatic fibrosis, degree of fibrosis, pers. (%)
Значения эластичности печени (кПа)	4,35±0,33	5,22±0,54	0,018	Liver elasticities (kPa)
Индекс массы тела, кг/м ²	25,3±3,7	31,8±2,9	0,03	Body mass index, kg/m ²
Общий холестерин, мг/дл	196,9±10,32	205,2±13,84	0,982	Total cholesterol, mg/dl
Холестерин ЛПВП, мг/дл	50,19±5,47	48,47±4,26	0,633	HDL cholesterol, mg/d
Триглицериды, мг/дл	128,3±20,6	151,1± 41,0	0,736	Triglycerides, mg/dl
Глюкоза крови натощак, ммоль/л	5,43±0,26	5,99±0,14	0,042	Fasting blood glucose, mmol/l
Общий белок, г/л	75,04±1,8	73,13±1,02	0,511	Total protein, g/l
АЛТ, Ед/л	22,0±1,72	52,71±0,33	0,001	ALT, u/l
АСТ, Ед/л	26,6±3,15	34,6±6,88	0,356	AST, u/l
ГГТП, Ед/л	30,87±4,85	35,11±9,26	0,788	GGTP, u/l
ЩФ, Ед/л	102,4±25,01	170,28±10,53	0,008	Alkaline Phosphatase, u/l
Общий билирубин, мкмоль/л	14,41±1,99	15,51±2,88	0,625	Total bilirubin, mmol/l
Мочевая кислота, мг/дл	344,86±24,48	350,2±36,67	0,912	Uric acid, mg/dl
Креатинин, мкмоль/л	78,1±2,78	80,77±3,58	0,642	Creatinine, mkm/l
Мочевина, ммоль/л	5,37±0,43	6,02±0,49	0,332	Urea, mmol/l
Количество эритроцитов, ×10 ¹² /л	4,83±0,11	4,39±0,1	0,011	Number of red blood cells, ×10 ¹² /l
Уровень гемоглобина, г/л	141,6±3,78	130,13±4,71	0,05	Haemoglobin level, g/l
Цветовой показатель	0,86±0,018	0,84±0,019	0,153	Color indicator
СОЭ, мм/ч	9,61±1,59	18,46±3,12	0,036	ESR, mm/h
Количество тромбоцитов, ×10 ⁹ /л	248,5±16,6	232,1±13,6	0,600	Platelet count, %
Количество лейкоцитов, ×10 ⁹ /л	7,46±0,82	4,87±0,31	0,003	Number of leukocytes, ×10 ⁹ /l
Эозинофилы,%	2,72±0,5	2,95±0,53	0,910	Eosinophile, %
Базофилы,%	0,8±0,16	0,98±0,02	0,498	Basophils, %
Нейтрофилы палочкоядерные,%	4,07±0,74	6,40±2,6	0,512	Stab neutrophil, %
Нейтрофилы сегментоядерные,%	57,4±7,14	56,1±1,36	0,378	Segmented neutrophils, %
Лимфоциты,%	30,7±2,98	29,8±2,16	0,759	Lymphocytes, %
Моноциты,%	8,1±0,61	8,45±0,64	0,599	Monocytes, %
	1st group comparisons (non-COVID-19), n=19	Group 2 – Patients with COVID-19, n=30	p=	Parameter

помогает выявить непереносимость, мальабсорбцию углеводов, избыточный бактериальный рост, оценить скорость транзита кишечного содержимого. Первоначально определен базисный уровень водорода, значения, превышающие 10 м.д. расценивались как наличие СИБР [50]. Исследование с раствором лактулозы проводилось пациентам с базисными уровнями H₂ менее 10 м.д. Тест на наличие СИБР считался положительным при повышении уровня водорода более или равно 20 м.д. и/или метана на более или равно 10 м.д. в течение 90 минут после приема лактулозы [50, 51]. Скорость транзита

кишечного содержимого оценивалась по времени появления пиков газов – быстрый транзит: повышение более 20 м.д. через 60 минут, нормальный транзит – через 80 минут, медленный – через 100 минут или позже. Не-продуцентами водорода/метана считались обследуемые, у которых уровень газов за весь период исследования не превышал 2 м.д., средними уровнями газов считались 10–30 м.д., значения более 30 м.д. расценивались как высокие. Пациенты исследованных групп не различались по частоте не-продуцентов водорода, а также доле лиц со средними и высокими его уровнями

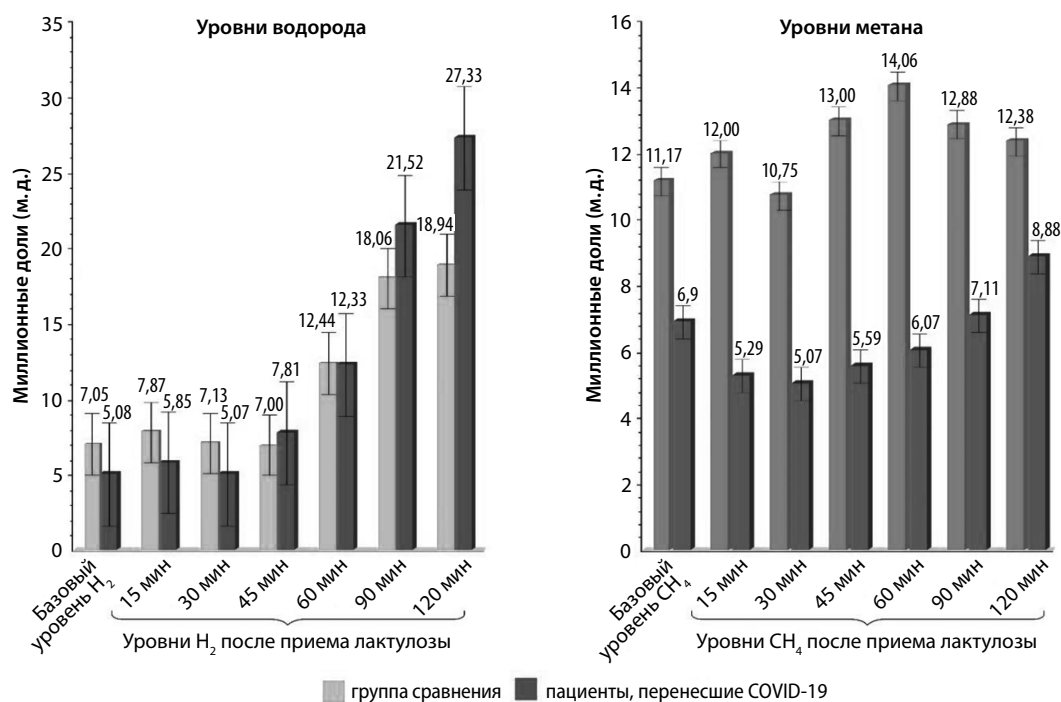
Таблица 2.
Частота параметров выдыхаемых газов в изучаемых группах, %

Table 2.
Parameters of exhaled gases in the studied groups, %

Показатели	1-я группа сравнения (не перенесшие COVID-19), n=19	2-я группа-пациенты, перенесшие COVID-19, n=30	p=	
Не-продуценты H ₂ , чел (%)	4 (21%)	6 (20%)	>0,1	Non-producers of H ₂ , people (%)
Средние уровни H ₂ , чел (%)	13 (68,4%)	21 (70%)	>0,1	Mean H ₂ levels, people (%)
Высокие уровни H ₂ , чел (%)	2 (10,5%)	3 (10%)	>0,1	High H ₂ levels, people (%)
Не-продуценты CH ₄ , чел (%)	11 (57,9%)	22 (73,3%)	0,02	Non-producers of CH ₄ , people (%)
Средние уровни CH ₄ , чел (%)	5 (26,3%)	2 (6,7%)	0,016	Average levels of CH ₄ , people (%)
Высокие уровни CH ₄ , чел (%)	3 (15,7%)	6 (20%)	>0,1	High levels of CH ₄ , people (%)
Наличие СИБР, чел (%)	9 (47,4%)	10 (33,3%)	0,04	Presence of SIBO, people (%)
СИБР+наличие фиброза печени, чел. (%)	1 (5,2%)	7 (23,3%)	0,001	SIBO+presence of liver fibrosis, people (%)
Наличие замедленного транзита по кишечнику, чел (%)	12 (63,1%)	22 (73,3%)	0,05	Presence of delayed transit through the intestine, people (%)
	1st group comparisons (non-COVID-19 survivors), n=19	Group 2 – patients who underwent COVID-19, n=30		Parameters

Рисунок 1.
Уровни водорода и метана в выдыхаемом воздухе (базовые и в динамическом наблюдении в течение 2 часов после приема провоцирующей дозы лактулозы) в обследованных группах (M+SD).

Figure 1.
Levels of hydrogen and methane in the exhaled air (baseline and in dynamic observation within 2 hours after taking a provocative dose of lactulose) in the examined groups (M+SD).



в выдыхаемом воздухе после приема раствора лактулозы (таблица 2). Среди перенесших COVID-19 оказалось достоверно больше не-продуцентов метана ($p=0,02$), меньше лиц со средним уровнем метана в выдыхаемом воздухе ($p=0,016$). У реконвалесцентов COVID-19 реже выявлялся СИБР по сравнению с контролем ($p=0,04$), но чаще регистрировались признаки замедленного транзита по кишечнику ($p<0,05$). При анализе уровня газов в выдыхаемом воздухе у пациентов, перенесших COVID-19 и имеющих фиброз печени оказалось, что большая часть из них 7 человек (87,5%) имеют

СИБР. Сочетание СИБР и фиброза в группе реконвалесцентов COVID-19 оказалось достоверно чаще, чем в группе сравнения (23,3% против 5,2%, $p<0,001$). Данное обстоятельство, очевидно, вносит вклад в патогенез повреждения печени у пациентов, перенесших COVID-19 [12].

Базовые уровни водорода и метана, а также показатели уровней газов после приема раствора лактулозы в изучаемых группах представлены на рисунке 1.

Достоверных различий в базисных концентрациях водорода и метана в выдыхаемом воздухе

Рисунок 2.

Нормализация уровней газов в выдыхаемом воздухе, клинических данных, показателей фиброза печени в изучаемых группах (слева – параметры до нормализации, справа – после нормализации).

Figure 2. Normalization of the levels of gases in the exhaled air, clinical data, indicators of liver fibrosis in the studied groups (on the left – the parameters before normalization, on the right – after normalization).

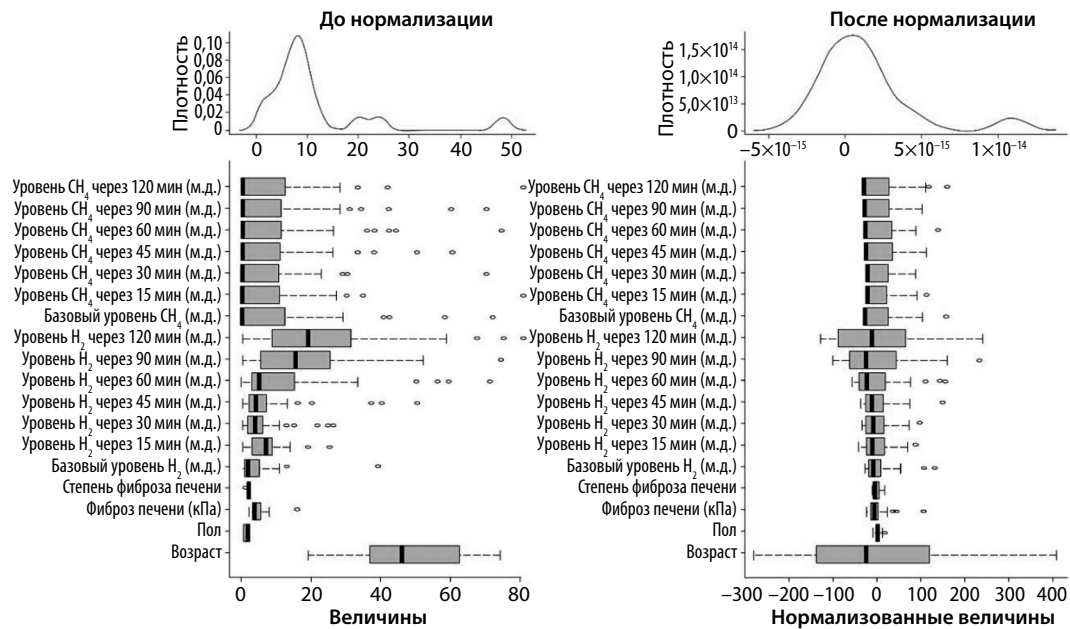


Таблица 3.

Уровни газов в выдыхаемом воздухе, исследованные методом Volcano plot (непарная статистика), потенциальные биомаркеры для различия перенесших COVID-19 и группы сравнения

Table 3.

Volcano plot ex- piratory gas levels (unpaired statistics), potential biomark- ers to distinguish between COVID-19 survivors and com- parison groups

Газы в выдыхаемом воздухе	Кратность изменений (FC)	log2(FC)	Значения «p» (raw.p val)	-log10(p)	
Уровень водорода через 120 мин после приема раствора лактулозы (м.д.)	1,6154	0,6919	0,0506	1,2957	Hydrogen level 120 minutes after lactulose solution intake (ppm)
Уровень метана через 60 мин после приема раствора лактулозы (м.д.)	0,48337	-1,0488	0,0997	1,001	Methane level 60 minutes after lactulose solution intake (ppm)
	Frequency of changes (FC)	log2(FC)	«p» Values (raw.p val)	-log10(p)	Gases in the exhaled air

между двумя группами не выявлено, вероятно, из-за большой дисперсии уровней показателей. Однако, выявлены некоторые тенденции отличий. Более низкие уровни водорода в выдыхаемом воздухе у пациентов, перенесших COVID-19, как базисные, так и после приема раствора лактулозы в течение первого часа, затем сменились некоторым увеличением концентрации водорода в течение последующего времени (на 90 и 120 минуте) по сравнению с контрольной группой. Подобные особенности могут косвенно свидетельствовать о замедлении транзита кишечного содержимого [52, 53].

На втором этапе статистической обработки произведена нормализация уровней газов в выдыхаемом воздухе, а также данных по возрасту, полу, степени фиброза печени (рисунок 2).

Анализ нормализованных уровней газов методом Volcano plot позволил установить уровни параметров, дифференцирующих пациентов, перенесших COVID-19, от группы сравнения (таблица 3).

Из данных таблицы 3 следует, что уровень водорода в выдыхаемом воздухе через 120 минут после приема раствора лактулозы выше у пациентов, перенесших COVID-19, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Напротив, установлена тенденция ($p = 0,099$) к снижению уровня метана через 60 мин после приема раствора лактулозы у реконвалесцентов COVID-19 по сравнению с контрольной группой.

Использование ROC-анализа уровней вышеописанных газов обеспечило AUC 0,683 для концентрации водорода через 120 мин после приема раствора лактулозы и AUC 0,66 для уровня метана через 60 мин после приема лактулозы в различии перенесших и не перенесших COVID-19 (рисунок 3).

Проведение кластерного анализа уровней газов в выдыхаемом воздухе (рисунок 4) позволило выделить три кластера: в розовом облаке преобладали реконвалесценты COVID-19, в голубом – не перенесшие COVID-19 лица контрольной группы, в зеленом оказались пациенты обеих групп. Преобладающее число пациентов, перенесших COVID-19, в пределах розового кластера имело более тяжелое течение заболевания по сравнению с больными, оказавшимися в других кластерах.

Более низкие уровни метана у реконвалесцентов COVID-19 как базисные, так и после приема раствора лактулозы на протяжении двух часов, по сравнению с не перенесшими COVID-19, вероятно, свидетельствуют о выраженном угнетении деятельности метанобразующих бактерий.

Низкие уровни водорода и метана в выдыхаемом воздухе могут быть обусловлены наличием ацетогенных, нитратвосстанавливающих, сульфатвосстанавливающих, бактерий, вызывающих дефицит выработки H_2 вследствие длительной антибактериальной терапии [54]. Вместе с тем,

Рисунок 3.

ROC-кривые для уровня водорода через 120 мин после приема раствора лактулозы (слева) и уровня метана через 60 мин после приема лактулозы в дифференцировании пациентов, перенесших и не перенесших COVID-19.

Figure 3.

ROC curves for hydrogen levels 120 min after lactulose solution intake (left) and methane levels 60 min after lactulose intake in differentiating COVID-19 survivors and non-survivors.

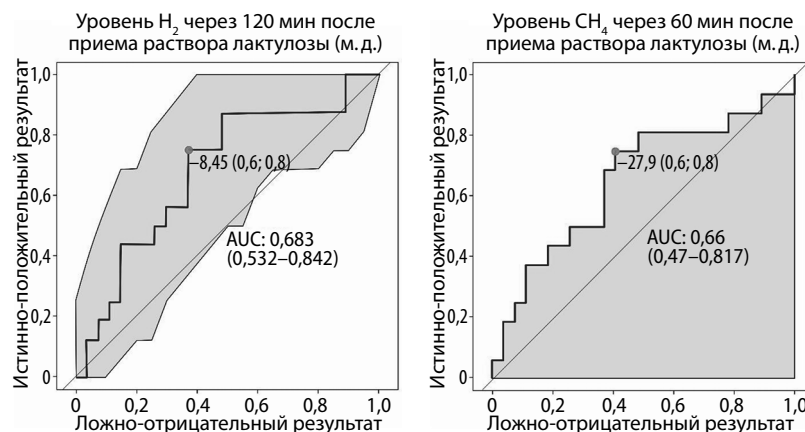


Рисунок 4*.

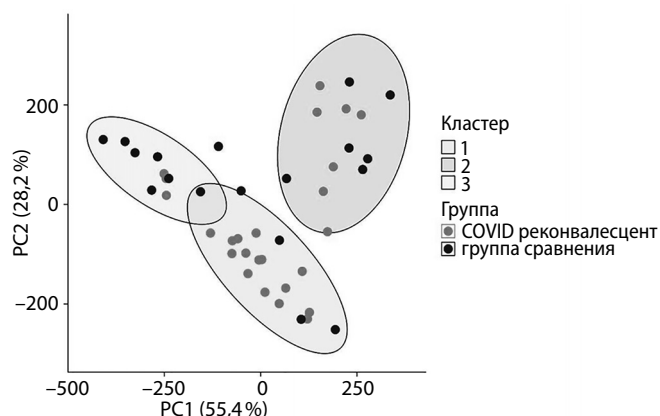
* цветной вариант диаграммы – на вклейке в журнал (стр. III)

Figure 4*.

* the figure is duplicated on a colored insert in a magazine (p. III)

Кластерный анализ (K-means clustering) уровней газов в выдыхаемом воздухе в изученных группах.

Cluster analysis (K-means clustering) of gas levels in the exhaled air in the studied groups.



показано значительное снижение уровня бифидо- и лактобактерий при COVID-19 даже без влияния антибиотиков, при этом выявлен рост преимущественно метанобразующих кокков, которые нарушают перистальтику кишечника, изменяют консистенцию кала. Установлено повышение количества *Ruminococcus gnavus*, *Ruminococcus torques*, *Bacteroides dorei* (известна их связь с нарушением работы иммунной системы и воспалительными болезнями кишечника [55]) и понижение *Bifidobacterium adolescentis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*. Малое количество двух из них – *F. prausnitzii* и *B. bifidum* – в новом исследовании было связано с риском тяжелого течения инфекции [56].

С другой стороны, чем больше изменений в микробиоме было у пациентов с COVID-19, тем более высокие концентрации медиаторов воспаления (цитокинов и других) были обнаружены [56].

По данным Zuo T. et al., пациенты с COVID-19 имели значительные изменения в микробиомах кала по сравнению с контрольной группой, характеризующиеся обогащением условно-патогенных микроорганизмов и истощением полезных комменсалов во время госпитализации. Истощенные симбионты и дисбактериоз кишечника сохранялись даже после выведения вируса SARS-CoV-2 (определено по мазкам из зева) и исчезновения

респираторных симптомов. Исходная численность *Coprobasillus*, *Clostridium ramosum* и *Clostridium hathewayi* коррелировала с тяжестью COVID-19; наблюдалась обратная корреляция между численностью *Faecalibacterium prausnitzii* (противовоспалительной бактерии) и тяжестью заболевания. В ходе госпитализации *Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides massiliensis* и *Bacteroides ovatus*, которые подавляют экспрессию ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) в кишечнике мыши, обратно коррелировали с вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 в образцах фекалий пациентов. По мнению авторов, стратегии изменения кишечной микробиоты могут снизить тяжесть заболевания [57].

Влияние пролонгированного приема целого ряда препаратов, включая антибиотики, противовирусные, кортикостероидные, на состояние микробиоты, в том числе, у пациентов с COVID-19 описано в ряде исследований [58, 59]. Кроме воздействия на микробиоту, известно влияние антибиотиков на моторику желудочно-кишечного тракта [60].

В настоящее время подтверждена гипотеза влияния дисбиотических изменений кишечной микрофлоры зараженного организма на длительность и тяжесть течения COVID-19 [57, 61]. Наличие оси «кишечник-легкие» определяет затяжное течение инфекции COVID-19 с более длительной

репликацией вируса, развитием осложнений при отсутствии воздействия на микробиоту у таких пациентов [57].

Исследование корреляций в обследованных нами группах выявило, что перенесенная инфекция COVID-19 прямо коррелировала с возрастом ($r=0,331$, $p=0,022$), мужским полом ($r=0,324$, $p=0,025$), наличием фиброза печени ($r=0,291$, $p=0,044$). Наличие избыточной массы тела и ожирения обнаружило обратные ассоциации с уровнем продукции метана ($r=-0,342$, $p<0,05$), его концентрацией после приема лактулозы в различные временные промежутки, а также базисным уровнем водорода ($r=-0,313$, $p<0,05$). Степень ожирения также обратно коррелировала с уровнем выделения метана ($r=-0,368$, $p=0,038$), его базисными значениями ($r=-0,335$, $p<0,05$), концентрацией на 15 минуте ($r=-0,408$, $p=0,02$), на 30 минуте ($r=-0,378$, $p=0,033$), на 45 минуте ($r=-0,460$, $p=0,008$), на 60 минуте ($r=-0,478$, $p=0,006$), на 90 минуте ($r=-0,385$, $p=0,029$), на 120 минуте ($r=-0,392$, $p=0,026$) после приема раствора лактулозы. Индекс массы тела продемонстрировал прямые ассоциации с возрастом ($r=0,614$, $p<0,0001$) и обратные – с базисным уровнем водорода ($r=-0,429$, $p=0,011$), а также уровнями метана на 45 минуте ($r=-0,351$, $p=0,049$), на 60-й минуте ($r=-0,358$, $p=0,044$).

Установлены прямые связи между показателями эластичности печени в кПа и уровнем продукции водорода ($r=0,275$, $p<0,05$). Из биохимических показателей наиболее тесная связь выявлена между показателем эластичности печени и активностью ГГТП ($r=0,418$, $p=0,022$). Степень выявленного фиброза печени оказалась связанной с рядом параметров общего анализа крови – установлены обратные корреляции с количеством эритроцитов ($r=-0,354$, $p=0,037$), уровнем гемоглобина ($r=-0,359$, $p=0,034$), процентным содержанием эозинофилов ($r=-0,409$, $p=0,022$) и прямыми – с содержанием сегментоядерных лейкоцитов ($r=0,436$, $p=0,029$) и СОЭ ($r=0,297$, $p=0,088$).

Уровень продукции водорода прямо коррелировал с наличием СИБР ($r=0,304$, $p=0,045$), концентрацией H_2 после приема провоцирующей дозы лактулозы, обратно – с наличием замедленного транзита кишечного содержимого ($r=-0,482$, $p=0,002$).

Заключение

Таким образом, пациенты, перенесшие COVID-19, чаще имели фиброз печени ($p<0,001$) и более высокие показатели эластичности печени ($p=0,018$) на фоне избыточной массы тела и ожирения (63,3%) и повышенного индекса массы тела ($p=0,03$) по сравнению с группой контроля. Наличие фиброза печени ассоциировано с перенесенной пневмонией средней степени тяжести ($p<0,001$).

Наличие синдромов цитолиза и холестаза, вероятно, связано со снижением эластичности печени у реконвалесцентов COVID-19.

Среди перенесших COVID-19 достоверно больше не-продуцентов метана ($p=0,02$), меньше лиц со средним уровнем метана в выдыхаемом воздухе ($p=0,016$). У реконвалесцентов COVID-19

Уровень продукции метана обратно коррелировал с базисной концентрацией водорода ($r=-0,475$, $p<0,001$), уровнем H_2 через 30 минут ($r=-0,477$, $p=0,002$), 45 минут ($r=-0,441$, $p=0,004$) и прямо – с величинами базисных значений метана, а также его уровней в течение 120 минут.

Наличие СИБР у пациентов оказалось наиболее связанным с уровнями водорода на 15 минуте ($r=0,517$, $p<0,0001$) и на 30 минуте ($r=0,357$, $p=0,019$) после приема лактулозы.

Замедленный транзит кишечного содержимого обратно связан с продукцией водорода ($r=-0,487$, $p<0,001$), а также уровнями водорода в промежутки – на 45, 60, 90 и 120 минутах после приема лактулозы.

При анализе корреляций уровней газов в выдыхаемом воздухе с биохимическими показателями наибольшее количество ассоциаций установлено с активностью щелочной фосфатазы, при этом она прямо коррелировала с уровнями водорода на 60-й, 90-й, 120-й минуте после приема лактулозы, когда последняя достигает толстого кишечника. Обратные корреляции установлены между активностью ЩФ и наличием замедленного транзита кишечного содержимого ($r=-0,402$, $p=0,034$), а также с уровнями метана после приема раствора лактулозы.

Выявлены некоторые прямые ассоциации между наличием СИБР и активностью АСТ ($r=0,294$, $p=0,086$), обратные – между уровнями метана на 90 минуте и активностью АЛТ ($r=-0,320$, $p=0,065$). Уровень общего билирубина оказался обратно связанным с базисным уровнем водорода ($r=-0,426$, $p=0,013$) и прямо – с базисным уровнем метана ($r=0,411$, $p=0,017$), а также его концентрацией в период нахождения лактулозы в тонкой кишке – на 15 и 30 минуте после ее приема. Уровень общего холестерина в большей степени обратно коррелировал с базисным уровнем метана ($r=-0,326$, $p=0,06$), а также его содержанием по мере продвижения лактулозы по тонкой и толстой кишке. Величины тощакowej глюкозы выявили прямые ассоциации с уровнем водорода только на 120 минуте после приема лактулозы ($r=0,435$, $p=0,013$), связи с уровнем метана во время прохождения лактулозы в тонкой кишке (15 и 45 минуты) и в толстой (60 и 120 минуты) оказались обратными.

реже выявлялся СИБР по сравнению с контролем ($p=0,04$), но чаще регистрировались признаки замедленного транзита по кишечнику ($p<0,05$).

Наличие фиброза печени у перенесших COVID-19 ассоциировано с выявлением СИБР (23,3% против 5,2%, $p<0,001$), который, вероятно, вносит вклад в патогенез повреждения печени.

Уровень водорода в выдыхаемом воздухе через 120 минут после приема раствора лактулозы выше у реконвалесцентов COVID-19 ($p<0,05$), а уровень метана через 60 мин после приема раствора лактулозы – ниже ($p=0,099$) по сравнению с контрольной группой. ROC-анализ обеспечил различение изученных групп с использованием уровней этих газов с AUC 0,683 и 0,660, соответственно.

Кластерный анализ позволил выделить группу пациентов с более тяжелым течением COVID-19, базируясь на уровнях газов в выдыхаемом воздухе.

Перенесенная инфекция COVID-19 прямо коррелировала с возрастом ($r=0,331$, $p=0,022$), мужским полом ($r=0,324$, $p=0,025$), наличием фиброза печени ($r=0,291$, $p=0,044$). Выявлены ассоциации уровней газов в выдыхаемом воздухе с клинико-биохимическими показателями: наличие избыточной массы тела и ожирения обнаружило обратные ассоциации с уровнем продукции метана ($r=-0,342$, $p<0,05$), его концентрацией после приема лактулозы в различные временные промежутки, а также базисным уровнем водорода ($r=-0,313$, $p<0,05$); степень

ожирения также обратно коррелировала с уровнем выделения метана ($r=-0,368$, $p=0,038$). Установлены прямые связи между показателями эластичности печени в кПа и уровнем продукции водорода ($r=0,275$, $p<0,05$). Активность щелочной фосфатазы прямо коррелировала с уровнями водорода и обратно – с концентрацией метана после приема раствора лактулозы.

Получены косвенные признаки выраженных изменений в кишечном микробиоме, которые, очевидно, вносят вклад в более тяжелое течение COVID-19, развитие фиброза печени, поэтому воздействие на кишечную микрофлору может рассматриваться как потенциальный таргет при лечении пациентов с COVID-19.

Работа выполнена в рамках темы «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324–2018–0001, Рег. № AAAA-A17–117112850280–2.

The work was carried out within the framework of the topic "Epidemiological monitoring of the state of public health and the study of molecular genetic and molecular biological mechanisms for the development of common therapeutic diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention and treatment" No. 0324–2018–0001, Reg. No. AAAA-A17–117112850280–2.

Литература | References

- Zhang C., Shi L., Wang F.S. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5 (5): 428–430. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30057-1
- Ivashkin V. T., Sheptulin A. A., Zolnikova O. Yu. et al. New Coronavirus Infection (COVID-19) and Digestive System. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2020;30(3):7–13. (In Russ.) doi:10.22416/1382-4376-2020-30-3-7
Ивашкин В. Т., Шептулин А. А., Зольникова О. Ю. и соавт. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и система органов пищеварения. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020;30(3):7–13. doi:10.22416/1382-4376-2020-30-3-7
- Pan L., Mu M., Ren H. G., et al. Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(5):766–73. doi: 10.14309/ajg.0000000000000620
- Ungaro R.C., Sullivan T., Colombel J.F., et al. What should gastroenterologists and patients know about COVID-19? *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(7):1409–11. doi: 10.1016/j.cgh.2020.03.020
- Jin X., Lian J.S., Hu J.H., et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. *Gut.* 2020;69(6):1002–09. doi:10.1136/gutjnl-2020-320926
- Xiao F., Tang M., Zheng X., et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology.* 2020; 158(6):1831–33. doi:10.1053/j.gastro.2020.02.055
- Lu R., Zhao X., Li J., et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395(10224):565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
- Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 579(7798):270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
- Liang W., Feng Z., Rao S., et al. Diarrhea may be underestimated: a missing link in 2019 novel coronavirus. *Gut.* 2020;69(6):1141–43. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320832
- Wu Y., Guo C., Tang L., et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(5):434–35. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30083-2
- Song Y., Liu P., Shi X.L., et al. SARS-CoV-2 induced diarrhea as onset symptom in patient with COVID-19. *Gut.* 2020;69(6):1143–44. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320891
- Nardo A.D., Schneeweiss-Gleixner M., Bakail M., et al. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19. *Liver Int.* 2021;41:20–32. doi:10.1111/liv.14730
- Sonzogni A., Previtali G., Seghezzi M., et al. Liver histopathology in severe COVID 19 respiratory failure is suggestive of vascular alterations. *Liver Int.* 2020;40(9):2110–2116. doi: 10.1111/liv.14601
- Effenberger M., Grander C., Fritsche G., et al. Liver stiffness by transient elastography accompanies illness severity in COVID-19. *BMJ Open Gastro.* 2020;7: e000445. doi:10.1136/bmjgast-2020-000445
- Chai X., Hu L., Zhang Y., et al. Specific ACE2 Expression in Cholangiocytes May Cause Liver Damage After 2019-nCoV Infection. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.02.03.931766
- Xu J., Helfand B. Genetic risk score linked with younger age diagnosis of prostate cancer. *Oncology Times.* 2020;42(6):8,36. doi: 10.1097/01.COT.0000658832.18056.12
- Hashimoto T., Perlot T., Rehman A., et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature.* 2012;487(7408):477–481. doi:10.1038/nature11228

18. Trottein F., Sokol H. Potential Causes and Consequences of Gastrointestinal Disorders during a SARS-CoV-2 Infection. *Cell Rep.* 2020;32(3):107915. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107915
19. Bradley K.C., Finsterbusch K., Schnepf D., et al. Microbiota-Driven Tonic Interferon Signals in Lung Stromal Cells Protect from Influenza Virus Infection. *Cell Rep.* 2019;28(1):245–256.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2019.05.105
20. Compare D., Coccoli P., Rocco A., et al. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012 Jun;22(6):471–6. doi: 10.1016/j.numecd.2012.02.007
21. Quigley E.M., Stanton C., Murphy E.F. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications. *J Hepatol.* 2013;58(5):1020–7. doi: 10.1016/j.jhep.2012.11.023
22. Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 2005;308(5728):1635–1638. doi:10.1126/science.1110591
23. Abu-Shanab A., Quigley E.M. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010;7(12):691–701. doi: 10.1038/nrgastro.2010.172
24. Vanner S. The small intestinal bacterial overgrowth. Irritable bowel syndrome hypothesis: implications for treatment. *Gut.* 2008 Sep;57(9):1315–21. doi: 10.1136/gut.2007.133629.
25. Terjung B., Söhne J., Lechtenberg B., et al. p-ANCA in autoimmune liver disorders recognise human beta-tubulin isotype 5 and cross-react with microbial protein FtsZ. *Gut.* 2010;59(6):808–16. doi: 10.1136/gut.2008.157818
26. [Temporary guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)]. Moscow. Version 4 (03/27/2020). Moscow. 2020. 12 p. (in Russ.)
Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 4 от 27.03.2020. – Текст: непосредственный. – М., 2020. – 12 с.
27. [Temporary guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)]. Moscow. Version 7 (06/23/2020). Moscow. 2020. pp. 137–139. (in Russ.)
Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 7 от 23.06.2020. – Текст: непосредственный. – М., 2020. – 166 с.
28. Demirtas C.O., Yilmaz Y. Metabolic-associated Fatty Liver Disease: Time to integrate ground-breaking new terminology to our clinical practice? *Hepatology Forum.* 2020; 1(3):79–81. doi: 10.14744/hf.2020.2020.0024
29. Portincasa P., Krawczyk M., Smyk W., Lammert F., Di Ciaula A. COVID-19 and non-alcoholic fatty liver disease: Two intersecting pandemics. *Eur J Clin Invest.* 2020;50(10): e13338. doi: 10.1111/eci.13338
30. [Clinical laboratory diagnostics: national guidelines]. edd. Dolgova V.V., Menshikov V.V. Moscow. GEOTAR–Media Publ., 2021. 928 p. (in Russ.)
Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. 1 / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меншикова. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2021. – 928 с.
31. Kulkarni A.V., Kumar P., Tevethia H.V., et al. Systematic review with meta-analysis: liver manifestations and outcomes in COVID-19. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;52(4):584–599. doi:10.1111/apt.15916
32. Yadav D.K., Singh A., Zhang Q., et al. Involvement of liver in COVID-19: systematic review and meta-analysis. *Gut.* 2021;70(4):807–809. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322072
33. Parasa S., Desai M., Thoguluva Chandrasekar V., et al. Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Fecal Viral Shedding in Patients With Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open.* 2020;3(6): e2011335. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.11335
34. Kumar-M.P., Mishra S., Jha D.K., et al. Coronavirus disease (COVID-19) and the liver: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int.* 2020;14(5):711–722. doi: 10.1007/s12072-020-10071-9
35. Xu L., Liu J., Lu M., et al. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int.* 2020 May;40(5):998–1004. doi: 10.1111/liv.14435
36. Huang C., Wang Y., Li X., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
37. Bernal-Monterde V., Casas-Deza D., Letona-Giménez L., et al. SARS-CoV-2 Infection Induces a Dual Response in Liver Function Tests: Association with Mortality during Hospitalization. *Biomedicines.* 2020;8(9):328. doi:10.3390/biomedicines8090328
38. Sun J., Aghemo A., Forner A., Valenti L. COVID-19 and liver disease. *Liver Int.* 2020;40(6):1278–1281. doi: 10.1111/liv.14470. PMID: 32251539.
39. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395(10234):1417–1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5
40. Boettler T., Newsome P.N., Mondelli M.U., et al. Care of patients with liver disease during the COVID-19 pandemic: EASL- ESCMID position paper. *JHEP Rep.* 2020;2(3):100113. doi:10.1016/j.jhepr.2020.100113
41. Ong J., Young B.E., Ong S. COVID-19 in gastroenterology: a clinical perspective. *Gut.* 2020;69(6):1144–45. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321051
42. Xu Z., Shi L., Wang Y., et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(4):420–2. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X
43. Zhou F., Yu T., Du R., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020;395(10229):1054–62. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
44. Yip T.C., Lui G.C., Wong V.W., et al. Liver injury is independently associated with adverse clinical outcomes in patients with COVID-19. *Gut.* 2021;70(4):733–742. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321726
45. Ferraioli G., Filice C., Castera L. WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 3: liver. *Ultrasound Med Biol.* 2015;41(5):1161–79. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2015.03.007
46. Kaur G., Sandeep F., Olayinka O., Gupta G. Morphologic Changes in Circulating Blood Cells of COVID-19 Patients. *Cureus.* 2021;13(2): e13416. doi:10.7759/cureus.13416
47. Nazarullah A., Liang C., Villarreal A., et al. Peripheral Blood Examination Findings in SARS-CoV-2 Infection. *Am J Clin Pathol.* 2020;154(3):319–329. doi: 10.1093/ajcp/aqaa108

48. Pozdnyakova O., Connell N. T., Battinelli E. M., et al. Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection. *Am J Clin Pathol*. 2021;155(3):364–375. doi: 10.1093/ajcp/aqaa231
49. Levitt M. D. Production and excretion of hydrogen gas in man. *N Engl J Med*. 1969;281(3):122–7. doi: 10.1056/NEJM196907172810303
50. Pimentel M., Saad R. J., Long M. D., Rao S. S. C. ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol*. 2020;115(2):165–78. doi: 10.14309/ajg.0000000000000501
51. Quigley E. M. M., Murray J. A., Pimentel M. AGA Clinical Practice Update on Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Expert Review. *Gastroenterology*. 2020;159(4):1526–1532. doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.090
52. Chatterjee S., Park S., Low K., et al. The degree of breath methane production in IBS correlates with the severity of constipation. *Am J Gastroenterol*. 2007 Apr;102(4):837–41. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01072.x
53. Bratten J. R., Jones M. P. Small intestinal motility. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007;23(2):127–33. doi: 10.1097/MOG.0b013e32801424f3
54. Kim S., Covington A., Pamer E. G. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol Rev*. 2017;279(1):90–105. doi:10.1111/imr.12563
55. Zuo T., Ng S. C. The Gut Microbiota in the Pathogenesis and Therapeutics of Inflammatory Bowel Disease. *Front Microbiol*. 2018;9:2247. doi: 10.3389/fmicb.2018.02247
56. Yeoh Y. K., Zuo T., Lui G. C., et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut*. 2021;70(4):698–706. doi: 10.1136/gutjnl-2020-323020
57. Zuo T., Zhang F., Lui G. C. Y., et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology*. 2020;159(3):944–955. doi: 10.1053/j.gastro.2020.05.048
58. Drapkina O. M., Gambaryan M. G., Gorny B. E., et al. Health promotion and prevention of chronic non-communicable diseases in the context of the COVID-19 pandemic. Consensus of experts of the National society of evidence-based pharmacotherapy and the Russian society of the prevention of non-communicable diseases. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(3):2605. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2020-2605
Драпкина О. М., Гамбарян М. Г., Горный Б. Э. и соавт. Укрепление здоровья и профилактика хронических неинфекционных заболеваний в условиях пандемии и самоизоляции. Консенсус экспертов Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины и Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(3):2605. doi:10.15829/1728-8800-2020-2605
59. Osipenko M. F., Bikbulatova E. A., Kholin S. I. Prevention and therapy of antibiotic-associated diarrhea: place of probiotics. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2017;(11):104–106. (In Russ.) doi:10.21518/2079-701X-2017-11-104-106
Осипенко М. Ф., Бикбулатова Е. А., Холин С. И. Профилактика и лечение антибиотико-ассоциированной диареи: место пробиотиков. Медицинский Совет. 2017;(11):104–106. doi:10.21518/2079-701X-2017-11-104-106
60. Chernikov V. V., Surkov A. N. Antibiotic-associated diarrhea in children: principles of prophylaxis and treatment. *Current Pediatrics*. 2012;11(2):48–55. (In Russ.) doi:10.15690/vsp.v11i2.210
Черников В. В., Сурков А. Н. Антибиотик-ассоциированная диарея у детей: принципы профилактики и лечения. Вопросы современной педиатрии. 2012;11(2):48–55. doi:10.15690/vsp.v11i2.210
61. Gu S., Chen Y., Wu Z., et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2669–2678. doi: 10.1093/cid/ciaa709