

Получена: 15 февраля 2022 / Принята: 16 июля 2022 / Опубликовано online: 31 августа 2022

DOI 10.34689/SH.2022.24.4.006

УДК 616-053.2

## МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ НЕОНАТАЛЬНОМ СЕПСИСЕ

**Людмила Л. Ахмалтдинова**<sup>1,2</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-5602-6136>

**Светлана И. Колесниченко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3515-8900>

**Алена В. Лавриненко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9436-8778>

**Жібек А. Жұмаділова**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3227-1692>

**Ольга В. Авдиенко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9122-1279>

**Людмила Г. Паниbrateц**<sup>3</sup>, **Елена В. Виноградская**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> НАО «Медицинский университет Караганды», г. Караганда, Республика Казахстан;

<sup>2</sup> НАО «Национальный научный кардиохирургический центр», г. Нур-Султан, Республика Казахстан;

<sup>3</sup> КГП «Областная клиническая больница», Перинатальный центр №2, г. Караганда, Республика Казахстан;

<sup>4</sup> КГП «Областная клиническая больница», Перинатальный центр №1, г. Караганда, Республика Казахстан.

**Введение:** по-прежнему существует острая неудовлетворенная медицинская потребность в диагностике гипервоспаления, связанного с сепсисом у новорожденного. Большая вариабельность степени зрелости при рождении, особенности функционирования всех органов и систем вносит свой вклад в биомаркерный анализ и его прикладное значение.

**Цель:** исследовать биомаркеры воспаления раннего неонатального сепсиса.

**Материалы и методы:** Исследование обсервационное когортное. Обследовано 75 новорожденных детей, находящихся на лечении в отделениях интенсивной терапии. Критерием определения случая «сепсис» был положительный посев крови. Группу контроля составили дети с отрицательной гемокультурой, проходившие лечение в отделении интенсивной терапии. Применяли бактериологический и иммунологический метод исследования (проточная цитометрия, иммунофлуоресцентный анализ цитокинов).

Для статистической обработки использовали непараметрический критерий Краскела — Уоллиса, критерий Манна-Уитни. Категорийные данные рассчитывали с использованием критерия Хи-квадрат.

**Результаты:** СРБ показал хорошую применимость в случае раннего неонатального сепсиса, в отличие от прокальцитонина, который при превосходной специфичности, имеет низкую чувствительность и большую вариабельность.

Ни лейкоцитоз, ни лейкопения, ни субпопуляции лейкоцитов не показали надежных дискриминирующих характеристик. Однако простой и общедоступный нейтрофильно-лимфоцитарный индекс показал специфичность 80% и в целом зарекомендовал себя как достаточно надежный индекс. Базовый иммунный статус характеризуется только снижением CD8 лимфоцитов. Цитокины - стандартные маркеры воспаления, однако сложно получить значимые различия из-за обилия кофакторов, которые влияют на их уровень. Но при этом крайне перспективным следует признать sCD40 и IL-17a, которые недостаточно изучены при неонатальном сепсисе.

**Выводы:** Исследование маркеров воспаления раннего неонатального сепсиса показало, что гипервоспалительный синдром превалирует в патогенезе неонатального сепсиса. Значительная вариация отличает сывороточные маркеры новорожденных детей, включая классические (СРБ, ПКТ, NRL, интерлейкины 6, 8), что говорит, что для диагностики они должны применяться с осторожностью. Есть необходимость изучения новых диагностических мишеней на основании маркеров воспаления. По результатам нашего исследования, такими мишенями, как крайне перспективными маркерами, следует признать sCD40 и IL-17a, которые были ранее недостаточно изучены при неонатальном сепсисе.

**Ключевые слова:** Неонатальный сепсис, воспаление, биомаркеры, СРБ, прокальцитонин.

### Abstract

## INFLAMMATORY MARKERS IN NEONATAL SEPSIS

**Lydmila L. Akhmaltdinova**<sup>1,2</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-5602-6136>

**Svetlana I. Kolesnichenko**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3515-8900>

**Alena V. Lavrinenko**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9436-8778>

**Zhibek A. Zhumadilova**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3227-1692>

**Olga V. Avdienko**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9122-1279>

**Lyudmila G. Panibratets**<sup>3</sup>, **Elena V. Vinogradskaya**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> NJSC «Medical University of Karaganda», Karaganda, Republic of Kazakhstan;

<sup>2</sup> NJSC «National Scientific Cardiac Surgery Center», Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan;

<sup>3</sup> Regional Clinical Hospital "Perinatal Center No. 2, Karaganda, Republic of Kazakhstan;

<sup>4</sup> Regional Clinical Hospital "Perinatal Center No. 1, Karaganda, Republic of Kazakhstan.

**Background:** There is still an urgent medical need for the diagnosis of hyperinflammation associated with sepsis in the newborn. In the case of neonatal sepsis, everything is complicated by many factors that affect the biomarker analysis: a large variability in the degree of maturity at birth, features of the functioning of all organs and systems, and especially the immune system.

**Aim:** Our research is devoted to the study of biomarkers of inflammation in early neonatal sepsis.

**Materials and methods:** Observational cohort study. In the study up to 75 newborns treated in intensive care units are included. The criterion for defining a case of "sepsis" was a positive blood culture. The control group consisted of children with negative blood culture, who were treated in the intensive care unit. We used bacteriological and immunological research methods (flow cytometry for cell markers, immunofluorescence analysis of cytokines)

Statistical analysis was performed using the non-parametric Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney test with Holm correction (R statistics). Categorical data were calculated using the Chi-square test.

**Results:** C reactive protein showed a good applicability in the case of early neonatal sepsis, in contrast to procalcitonin, which demonstrates an excellent specificity, has a low sensitivity and high variability.

Neither leukocytosis, leukopenia, leukocyte subpopulations showed reliable discriminatory characteristics. However, a simple and publicly available neutrophil-lymphocyte index presented 80% specificity and generally proved to be a reliable index. The basic immune status is characterized only by a decrease in CD8 lymphocytes. Cytokines are standard markers of inflammation; however, it is difficult to obtain meaningful differences due to the abundance of cofactors that affect their levels. But at the same time, sCD40 and IL-17a, which have not been sufficiently studied in neonatal sepsis, should be recognized as extremely promising.

**Conclusions:** The study of inflammation markers of early neonatal sepsis showed that hyperinflammatory syndrome prevails in the pathogenesis of neonatal sepsis. Significant variation in serum markers of newborns, including the classic ones (CRP, PCT, NRL, interleukins 6, 8), suggests that they should be used with caution for diagnosis. There is a need to study new new diagnostic targets based on markers of inflammation. According to the results of our study, sCD40 and IL-17a, which were previously insufficiently studied in neonatal sepsis, should be recognized as such targets as extremely promising markers.

**Keywords:** Neonatal sepsis, inflammation, biomarkers, CRP, procalcitonin.

Түйіндеме

## НЕОНАТАЛЬДЫ СЕПСИСТЕГІ ҚАБЫНУ МАРКЕРЛЕРІ

**Людмила Л. Ахмалдинова**<sup>1,2</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-5602-6136>

**Светлана И. Колесниченко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3515-8900>

**Алена В. Лавриненко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9436-8778>

**Жібек А. Жұмаділова**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-3227-1692>

**Ольга В. Авдиенко**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9122-1279>

**Людмила Г. Панибратец**<sup>3</sup>, **Елена В. Виноградская**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> «Қарағанды медициналық университеті» "КЕАҚ, Қарағанды қ., Қазақстан Республикасы;

<sup>2</sup> Ұлттық ғылыми кардиохирургия орталығы" КЕАҚ, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан Республикасы;

<sup>3</sup> №2 Перинаталдық орталық" Облыстық клиникалық ауруханасы "КМК, Қарағанды қ., Қазақстан Республикасы;

<sup>4</sup> "Облыстық клиникалық аурухана" КМК №1 перинаталдық орталық, Қарағанды қ., Қазақстан Республикасы;

**Анықтама:** Неонатальды сепсиске байланысты гиперқабынуды диагностикалау үшін жедел медициналық қажеттілік әлі күнге дейін өзекті. Неонатальды сепсис кезіндегі барлық биомаркерлердің талдауы көптеген факторлармен қиындатылады: туылғаннан кейін жетілу дәрежесінің жылдам өзгерістері, барлық мүшелер мен жүйелердің, әсіресе иммундық жүйенің жұмысының ерекшеліктері.

**Мақсаты:** Біздің жобамыз ерте неонатальды сепсис кезіндегі қабынудың биомаркерлерін зерттеуге арналған.

**Әдістері:** Бақылау когортты зерттеу. Зерттеуге реанимация бөлімшелерінде емделген 75 жаңа туған нәрестелер алынды. «Сепсис» жағдайын анықтау критерийі оң қан культурасы болып саналды. Бақылау тобына қан культурасы теріс, жансақтау бөлімінде емделген балалар кірді. Біз бактериологиялық және иммунологиялық зерттеу әдістерін қолдандық (жасуша маркерлері үшін ағынды цитометрия, цитокиндердің иммунофлуоресценттік талдауы).

Статистикалық талдау параметрлік емес Крускал-Уоллис сынағы, Холм түзетуімен Манн-Уитни сынағы (R статистикасы) арқылы орындалды. Категориялық деректер Хи-квадрат тесті арқылы есептелді.

**Нәтижелері:** С реактивті ақуыз ерте неонатальды сепсис жағдайында жақсы қолдану мүмкіндігін көрсетті, ал прокальцитонин айырмашылығы тамаша спецификалық, бірақ төмен сезімталдық пен жоғары өзгергіштік.

Лейкоцитоз да, лейкопения да, лейкоциттердің субпопуляциясы да сенімді дискриминациялық сипаттамаларды көрсетпеді. Дегенмен, қарапайым және жалпыға қол жетімді нейтрофил-лимфоцит индексі 80% спецификаны көрсетті және әдетте жеткілікті сенімді көрсеткіш болып шықты. Негізгі иммундық статус тек CD8 лимфоциттерінің төмендеуімен сипатталады. Цитокиндер қабынудың стандартты маркерлері болып табылады, бірақ олардың деңгейіне әсер ететін кофакторлардың көптігіне байланысты маңызды айырмашылықтарды анықтау қиын. Бірақ сонымен бірге неонатальды сепсиске жеткілікті зерттелмеген sCD40 және IL-17a өте перспективті деп танылуы керек.

**Қорытынды:** Ерте неонатальды сепсисің қабыну маркерлерін зерттеу неонатальды сепсисің патогенезінде гиперқабыну синдромының басым болатынын көрсетті. Жаңа туылған нәрестелердің сарысу маркерлерінің, соның ішінде классикалық (CRP, PCT, NRL, интерлейкиндер 6, 8) айтарлықтай ауытқуы оларды диагностика үшін сақтықпен қолдану керектігін көрсетеді. Қабыну маркерлеріне негізделген жаңа диагностикалық мақсаттарды зерттеу қажет. Біздің зерттеуіміздің нәтижелері бойынша неонатальды сепсиске бұрын жеткіліксіз зерттелген sCD40 және IL-17a өте перспективалы маркерлер ретінде мақсатты деп танылуы керек.

**Түйінді сөздер:** неонатальды сепсис, қабыну, биомаркерлер, CRP, прокальцитонин.

#### Библиографическая ссылка:

Ахмалтдинова Л.Л., Колесниченко С.И., Лавриненко А.В., Жұмаділова Ж.А., Авдиенко О.В., Панибратец Л.Г., Виноградская Е.В. Маркеры воспаления при неонатальном сепсисе // Наука и Здравоохранение. 2022. 4(Т.24). С. 44-50. doi 10.34689/SH.2022.24.4.006

Akhmaltidinova L.L., Kolesnichenko S.I., Lavrinenko A.V., Zhumadilova Zh.A., Avdienko O.V., Panibratets L.G., Vinogradskaya E.V. Inflammatory markers in neonatal sepsis // *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2022, (Vol.24) 4, pp. 44-50. doi 10.34689/SH.2022.24.4.006

Ахмалтдинова Л.Л., Колесниченко С.И., Лавриненко А.В., Жұмаділова Ж.А., Авдиенко О.В., Панибратец Л.Г., Виноградская Е.В. Неонатальды сепсискегі қабыну маркерлері // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2022. 4 (Т.24). Б. 44-50. doi 10.34689/SH.2022.24.4.006

#### Введение

Сепсис новорождённых является одной из самых актуальных проблем педиатрии, он занимает третье место среди причин смертности в неонатальный период. Летальность составляет от 13 до 70 % [12]. В Казахстане коэффициент смертности детей до года от сепсиса за 2019 году вырос до 4.30, а в Карагандинской области составил 8,68 на 1000 живых детей [1].

При этом за последние три десятилетия был достигнут незначительный прогресс в лечении сепсиса новорождённых. Ранняя диагностика имеет ключевое значение для предотвращения неблагоприятного исхода. Однако по-прежнему существует острая неудовлетворенная медицинская потребность в диагностике гипервоспаления связанного с сепсисом у новорожденного.

Уникальные физиологические особенности органов и систем первых дней жизни, особенно уникальное состояние иммунной системы в момент рождения, вносят свой вклад в осложнения и неблагоприятный исход. Именно поэтому даже ранний и поздний неонатальный сепсис отличаются вовлечением разных механизмов иммунной системы и требуют разных маркеров.

Классически сепсис относили к проявлению гипервоспалительного синдрома, но недавние данные показали, что патогенез воспаления при системной инфекции сложнее. Все больше появляются данных о роли иммуносупрессии при сепсисе [8, 11]. Однако ее роль при сепсисе новорождённых еще не определена.

Изучение воспалительного синдрома у новорождённых может помочь лучше определить иммунную патофизиологию неонатального сепсиса [15, 9].

Это также может помочь в идентификации уникальных биомаркеров, которые могут иметь

клиническое значение для иммуномониторинга, прогнозирования результатов или даже таргетной терапии. В случае неонатального сепсиса все осложняется множеством факторов, влияющих на исходы и прогноз сепсиса: большая вариабельность степени зрелости при рождении, зависимость от массы тела, срока беременности, которые меняются каждый день календарного возраста [6].

**Цель:** исследовать биомаркеры воспаления раннего неонатального сепсиса.

#### Материалы и методы исследования

На проведение исследований получено разрешение Комитета по биоэтике Карагандинского медицинского университета №19 от 5.08.2019г. В исследование включались дети, после получения информированного согласия от их родителей. Исследование проводилось на базе областного и городского перинатальных центров и областной клинической детской больницы г.Караганды в сотрудничестве с клиническими врачами и руководством клиник. Исследование наблюдательное когортное.

#### Характеристика пациентов

В исследование вошли 25 новорождённых детей до 4 суток жизни, находящихся на лечении в отделениях интенсивной терапии. Критерием определения случая «сепсис» был положительный посев крови.

Контрольную группу составили 50 детей, также находящиеся на лечении в отделении интенсивной терапии, с отрицательным посевом крови и неподтвержденными на момент выписки прочими инфекционными осложнениями.

Объектом исследования была кровь из центрального катетера, забираемая одновременно в объеме 0,5 мл в пробирки с гепарином для проведения иммунологического анализа и 1-3 мл для бактериологического анализа.

Таблица 1. Информация о пациентах.  
(Table 1. Patient information).

Показатель	Контрольная группа	Неонатальный сепсис	P-value
Вес при рождении Me[Q1;Q3]	2190 [1710; 2950]	2100 [1400; 2920]	>0.05
Срок гестации Me[Q1;Q3]	34 [33; 38]	33 [29,5; 38]	>0.05
Кесарево сечение, случаев	28 (56%)	17 (68%)	>0.05
n	50	25	-

**Бактериологические методы исследования**

Анализ проводился с помощью системы BD BACTEC™ FX (питательная среда Peds Plus Medium). После появления признаков роста, проводился высеv крови на плотные питательные среды. Идентификация микроорганизмов проводилась с помощью время-пролетной масс-спектрометрии (Microflex-LT, Bruker Daltonics, США).

**Иммунологические методы исследования**

Общий анализ крови определяли на гематологическом анализаторе Mindray (Китай, 2014). Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (NLR) определяли как соотношение процентного содержания нейтрофилов к лимфоцитам.

Для исследования иммунологических параметров использовался метод проточной цитометрии. Исследование проведено на цитометре Partec CyFlow Space (Германия, 2012г.в.) и моноклональных антителах производства Becton Dickinson. Использовали безотмывочную технологию фиксации и

лизиса с помощью OptiLyse C, No-Wash Lysing Solution согласно инструкции производителя (США, 2021г).

Отрицательный контроль составлял неокрашенный образец. Настройки компенсации проводились с помощью встроенного программного обеспечения (Flow Max).

Для дифференцировки популяций использовали гейты по FSC/SCS и маркеры CD3 (Т-лимфоциты общие), CD4 (Т-лимфоциты хелперы), CD8 (Т-цитотоксические лимфоциты), CD19 (В-лимфоциты), CD56+/16+ (натуральные киллеры).

Для анализа цитокинов применялся метод мультиплексного иммуноанализа на основании технологии Luminex с использованием MILLIPLEx MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel производства Millipore согласно инструкции производителя на приборе Bioplex3D.

Анализ С-реактивного белка (СРБ) и прокальцитонина проводила лаборатория госпиталя методом иммунохемилюминесценции. Необходимо отметить, что прокальцитонин назначался не всем детям контрольной группы.

**Методы статистического анализа**

Статистический анализ проводился в программах R statistics (Compare Groups and rstatix packages) и Statistica с применением непараметрического критерия Краскела — Уоллиса. Для повторных парных сравнений использовали критерий Манна-Уитни с поправкой Холма (R statistics). Категорийные данные рассчитывали с использованием критерия Хи-квадрат. Данные о диагностической значимости, специфичности и чувствительности получали с помощью он-лайн ресурса <https://www.scistat.com/>

**Результаты**

Данные содержания лейкоцитов и субпопуляций представлены в таблице 2.

Таблица 2.

**Основные показатели лейкоцитов.**

(Table 2 The main indicators of leukocytes).

Показатель	Контрольная группа	Неонатальный сепсис	P-value
Лейкоцитоз 10 <sup>9</sup> /л, Me[Q1;Q3]	15,3 [14,4; 20,7]	13,3 [10,72; 17,3]	>0,05
Лейкопения менее 5 *10 <sup>9</sup> /л, (количество/общее число)	1/50 (2%)	2/25 (8%)	>0,05
Лейкоцитоз более 20*10 <sup>9</sup> /л, (количество/общее число)	15/50 (30%)	8/25 (32%)	>0,05
Лимфоциты %, Me[Q1;Q3]	50,0 [38,6; 67,8]	48,0 [32,3; 54,1]	>0,05
Нейтрофилы %, Me[Q1;Q3]	34,0 [19,15; 40,4]	41,2 [31,5; 56,5]	0,04
Лимфоциты 10 <sup>9</sup> /л Me[Q1;Q3]	8,0 [5,8; 10,6]	5,26 [3,2; 9,6]	>0,05
Нейтрофилы 10 <sup>9</sup> /л, Me[Q1;Q3]	4,66 [3,27; 7,19]	5,72 [2,9; 7,7]	>0,05
NRL, Me[Q1;Q3]	0,56 [0,27; 0,80]	0,8 [0,8; 1,48]	0,02
NRL>1 (количество/общее число)	10/50 (20%)	14/25 (56%)	0,04
Диагностическая оценка шансов [±95% CI]		5,01 [1,7; 14,5]	
Чувствительность. %		56	
Специфичность. %		80	
Прогностическая ценность положительного результата. %		58,3	
Прогностическая ценность отрицательного результата. %		78,3	
CD3, %, Me[Q1;Q3]	68,0 [62,5;71,5]	54,0 [49,5;68,9]	>0,05
CD4, %, Me[Q1;Q3]	45,0 [36,5; 49,7]	41,0 [25,1; 53,0]	>0,05
CD8, %, Me[Q1;Q3]	25,5 [20,0; 32,7]	19,0 [9,3; 24,2]	0,03
CD4/CD8, Me[Q1;Q3]	1,69 [1,23; 2,63]	2,0 [2,10; 2,98]	0,04
CD19, %, Me[Q1;Q3]	22,0 [14,5; 29,7]	19,0 [13,3; 28,2]	>0,05
CD56/16, %, Me[Q1;Q3]	13,4 [9,5; 19,5]	17,0 [6,1; 24,7]	>0,05

Данные по общему содержанию лейкоцитов значимо не отличались в наших группах. Не было значительного преобладания ни лейкоцитоза, ни лейкопении. Мы отметили абсолютное и относительное смещение субпопуляций, ожидаемое при инфекционном процессе, при этом были выражены не резко.

Однако, использование NRL тем не менее помогает проявить различия между группой контроля и сепсиса. В качестве диагностического инструмента со значением более 1 его диагностическая значимость статистически применима, хотя и чувствительность его не велика.

Были измерены основные субпопуляции. Как и ожидалось, базовые показатели изменились классическим для воспаления образом, но значимости достиг только уровень CD 8 - лимфоцитов. Это отразилось на соотношении CD4/CD8.

СРБ и прокальцитонин является базовым показателем для оценки активности воспалительного процесса. Представляем данные его содержания в исследуемых группах (Таблица 3).

Таблица 3.

**Данные CRP в исследуемых группах.**

(Table 3 CRP data in the study groups).

Показатель	Контрольная группа	Неонатальный сепсис	P-value
СРБ мг/л, Me[Q1;Q3]	0,6 [0,0; 4,5]	6,0 [1,6;12,0]	0,02
CRP > 5 мг/л (число/всего)	11/50 (22%)	15/25 (60%)	0,004
Диагностическая оценка шансов [±95% CI]		5,3 [1,87; 15]	
Чувствительность, %		60	
Специфичность, %		78	
Прогностическая ценность положительного результата, %		56,7	
Прогностическая ценность отрицательного результата, %		79,5	
Прокальцитонин, нг/мл	0,05 [0,03; 0,12]	0,16 [0, 13; 0,31]	0,04
Прокальцитонин > 1 нг/л (число/всего)	2/25 (8%)	6/25 (24%)	>0,05
Диагностическая оценка шансов [±95% CI]		3,6 [0,6; 20]	
Чувствительность, %		24	
Специфичность, %		92	
Прогностическая ценность положительного результата, %		75	
Прогностическая ценность отрицательного результата, %		54	

Медианные значения СРБ явно разделяют две группы, но диагностическая значимость при этом удовлетворительная. Специфичность и прогностическая значимость отрицательного результата достигают 78-79%, но чувствительность не достаточная.

Медианные значения прокальцитонина достигают значимости между группами, однако различия в числе

положительных тестов между группами не значимо. Диагностическая оценка шансов имеет нижний предел доверительного интервала менее 1, что говорит о недостаточной значимости теста у этой группы пациентов. Однако специфичность при этом достигает 92%. Уровень цитокинов представлены в таблице 4.

Таблица 4.

**Сывороточные маркеры при неонатальном сепсисе.**

(Table 4 Serum markers in neonatal sepsis).

Показатель	Контрольная группа Me[Q1;Q3]	Неонатальный сепсис Me[Q1;Q3]	P-value
TGF, пг/мл	14,48 [7,4; 29,0]	18,89 [8,0; 39,0]	>0,05
G-CSF, пг/мл	273 [114; 810]	520 [138; 1536]	>0,05
GM-CSF, пг/мл	15,0 [9,7; 24,1]	24,0 [12,4; 31,3]	>0,05
IFNa, пг/мл	73 [57,7; 82,9]	56 [40,6; 72,2]	>0,05
IFNg, пг/мл	3,93 [0,9; 5,1]	7,5 [3,3; 18,9]	>0,05
MCP, пг/мл	2827 [1173; 6446]	3164 [585; 2677]	>0,05
sCD40, пг/мл	3303 [2397; 3846]	868 [470; 1580]	0,005
IL-17a, пг/мл	0,87 [0,43; 1,33]	2,71 [1,27; 5,46]	0,045
IL-1, пг/мл	110 [17; 785]	692 [30; 1933]	>0,05
IL-9, пг/мл	2,45 [0,41; 3,46]	8,44 [4,4; 12,63]	0,02
IL-6, пг/мл	2400 [55; 2800]	4400 [60; 7800]	>0,05
IL-8, пг/мл	1722 [149; 6644]	3051 [572; 8344]	>0,05
TNF-a, пг/мл	135 [112; 163]	299 [175; 310]	0,021

Набор цитокинов включает в себя факторы врожденного иммунитета, ростовые факторы, ключевые цитокины разных звеньев Th- ответа, основные провоспалительные цитокины. В первую очередь в

классических провоспалительных цитокинах (IL-1, IL-8, IL-6) можно отметить крайнюю степень вариабельности этих показателей. Мы видим явный и ожидаемый, кратный рост медианных значений при сепсисе, однако

значимости эти данные не достигли. Факторы роста моноцитов и нейтрофилов, а также интерферон-гамма, как ростовой фактор лимфоцитов, в общем случае тоже не показали статистически однозначных результатов. Противовоспалительный TGF также не отличался. Значимости достигли sCD40, IL-17a, TNF-а и сывороточный TREM.

### Обсуждение

Неонатальный сепсис до сих пор остается проблемой педиатрии. Клинические проявления воспалительного синдрома у новорожденных могут быть стерты либо вариативны. Нормальный диапазон лабораторных маркеров зависит от срока гестации или постнатального возраста, колеблется в ответ на сосуществующие процессы неинфекционного характера. Хотя наличие положительного посева крови является золотым стандартом, однако сокращенный объем крови, применимый к младенцам и восприимчивость к более низким концентрациям возбудителя, снижает чувствительность этого метода.

Даже по сравнению с детьми старшего возраста новорожденные проявляют уникальный иммунный ответ на септический шок, что затрудняет диагностику и прогнозирование. Таким образом, неонатальные специфические клинические исследования необходимы для улучшения выживаемости и отдаленных результатов для этих групп населения. Лучшее понимание патофизиологии взаимодействия иммунной системы младенца и возбудителя откроет новые возможности нацеленных на улучшение исходов.

C-реактивный белок является базовым диагностическим тестом и наиболее часто используется для диагностики состояний, связанных с гипервоспалением. Исследования, оценивающие роль СРБ в диагностике раннего неонатального сепсиса (РНС), сообщают о различной чувствительности и специфичности от 29 до 100% и от 60 до 100% соответственно [15]. Большинство авторов говорит о низкой клинической выгоде в случае РНС [14,2]. Есть множество состояний, при которых наблюдается ложное повышение уровня СРБ. В нашем исследовании, при использовании отсечки 5мг/л его диагностическая значимость для этой категории пациентов оказалась удовлетворительной. Диагностическая оценка шансов достигает 5,1, и отрицательный результат позволяет с некоторой долей уверенности отвергнуть диагноз (специфичность и прогностическая значимость отрицательного результата выше, чем положительного) [15, 9, 6, 14].

Прокальцитонин (ПКТ) в периоде новорожденности имеет множество особенностей. Так *Танцюра Л.Д.* находит транзиторно повышенные уровни ПКТ в сыворотке [2], *Чурсина Е.С и Дементьева Г.М.* в обзоре литературы, приводят данные, что что ПКТ повышается у новорожденных и в ответ на респираторный дистресс-синдром и другие неинфекционные состояния [3]. В нашем исследовании так же, при высокой специфичности (92%), общая диагностическая значимость этого теста не велика.

Стандартные показатели анализа крови используют для диагностики РНС, но без большого успеха. По данным одних авторов было показано, что лейкопения

имеет низкую чувствительность (29%), но высокую специфичность (91%) для диагностики неонатального сепсиса [13]. *Sharma D. и соавт.* [15] утверждали, что значения ниже 5000/мм<sup>3</sup> для лейкоцитов имеют высокую специфичность (91%) в отношении диагностики сепсиса. Нейтропения по данным *Philip A.G.* оказалась более предсказуемой для неонатального сепсиса чем нейтрофилия [4]. В нашем исследовании в целом подтверждаются эти данные, мы отметили изменения числа нейтрофилов в первую очередь в ответ на системную инфекцию, однако дискриминационная способность показателя была низкой.

Мы предложили использовать нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, который показал специфичность 80%. Ранее уже были исследования, что NLR имеет лучшие диагностические возможности, чем СРБ, в том числе у недоношенных и маловесных детей [4,3,10,7]. Однако остается вопрос референтного значения, который у каждого автора заметно отличается и динамично должен меняться с каждым календарным днем.

Базовый иммунный статус становится отражением системной воспалительной реакции, и мы ввели его в наше исследование, чтобы найти источник сдвигов. В то время как большинство общепринятых показателей подверглось большой вариации и не изменилось существенно, мы обнаружили изменения со стороны CD8-лимфоцитов. Его количественные характеристики снижались, что привело к изменению соотношения CD4/CD8.

Цитокины в сыворотке показали значительную вариативность. Кавартильные значения отличались в сотню раз, что и является главной причиной сложности разработки диагностических маркеров у этой категории пациентов. Мы не смогли достичь значимых различий даже в классических ИЛ-6 и ИЛ -8, несмотря на значительный рост в среднем. Но при этом значимости достигли sCD40, IL-17a, TNF-а. В этом плане особенно интересен sCD40, который является лигандом взаимодействия В-лимфоцитов, Т-хелперов и моноцитов, и его снижение говорит об активации функциональной активности иммунной системы и повышенном расходе лиганда на коммуникацию. Фактор некроза опухоли (TNF-а) и IL-17a являются мощными провоспалительными агентами, последний из которых отвечает за вовлечение нейтрофилов в воспаление.

### Заключение

Исследование маркеров воспаления раннего неонатального сепсиса показало, что особенности иммунофизиологии новорожденных вносят существенный вклад в базовые иммунные маркеры воспаления. В нашем исследовании мы доказали, что гипер-воспаление является основным направлением течения процесса, однако существующие маркеры должны применяться с осторожностью из-за их значительной вариации. Широкая вариация относится и к клиническим маркерам воспаления – СРБ, ПКТ, NRL, что существенно затрудняет использование их в качестве диагностических инструментов. Цитокины – классические сигнальные молекулы воспалительного процесса, однако и в этом случае сложно получить значимые различия из-за обилия кофакторов, которые

влиют на их уровень. И есть необходимость изучения новых новых диагностических мишеней. По результатам нашего исследования, такими мишенями, как крайне перспективными маркерами, следует признать sCD40 и IL-17a, которые были ранее недостаточно изучены при неонатальном сепсисе.

#### **Информация о финансировании:**

Это исследование финансируется Комитетом Науки Министерства Образования и Науки (ИРН AP08857386 грант «Иммунологические аспекты сепсиса новорождённых»)

#### **Вклад авторов в исследование**

**Ахмалтдинова Л. и Колесниченко С.** - авторы концепции и дизайн.

**Ахмалтдинова Л.** разработка методологии и руководство проектом. Подготовка первоначального варианта статьи.

**Лавриненко А.** – менеджмент ресурсов исследования.

**Лавриненко А. и Колесниченко С.** исследования в области микробиологии.

**Жумадилова Ж. и Авдиенко О** - иммунологические исследования.

**Кадырова И.** – статистическая обработка данных.

**Кадырова И., Лавриненко А.** - доработка рукописи.

**Панибратец Л. и Виноградская Е.** - клиническая часть исследования, анализ историй, диагнозов и рекрутинг пациентов.

Все авторы прочитали и согласились с версией рукописи.

#### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### **Сведения о публикации:**

Данный материал не опубликован и не подавался в другие издательства и журналы.

#### **Литература:**

1. Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организаций здравоохранения в 2019 году: Статистический сборник. // Министерство здравоохранения РК Астана, 2020, 01.07.2020., 323 с.

2. Танцюра Л.Д. Прокальцитонин у новорожденных детей. Неоднозначность оценки // Современная педиатрия. 2018. №5(93). С.37-41.

3. Чурсина Е.С., Деметьева Г.М. Прокальцитонин и его значение как маркера тяжелых бактериальных инфекций у новорожденных детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2007. №6. С.21-26.

4. Alkan Ozdemir S., Arun Ozer E., Ilhan O., Sutcuoglu S. Can neutrophil to lymphocyte ratio predict late-onset sepsis in preterm infants? // J. Clin. Lab. Anal. 2018. №32(4). e22338.

5. Can E., Hamilcikan S., Ca C. The Value of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio for Detecting Early-onset Neonatal Sepsis // J. Pediatr. Hematol. Oncol., 2018. №40(4). e229-e232.

6. Gilfillan M., Bhandari V. Neonatal sepsis biomarkers: where are we now? // Research and Reports in Neonatology. 2019. №9. P.9-20.

7. Hincu M.-A., Zonda G.-I., Stanciu G.D., Nemescu D., Paduraru L. Relevance of Biomarkers Currently in Use or Research for Practical Diagnosis Approach of Neonatal Early-Onset Sepsis // Children. 2020. №7. P.309.

8. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach // Lancet Infect Dis. 2013. №13. P.260–268.

9. Khan F. C-reactive Protein as a Screening Biomarker in Neonatal Sepsis // J Coll Physicians Surg Pak. 2019. №29(10). P.951-953.

10. Li T., Dong G., Zhang M., Xu Z., Hu Y., et al Association of Neutrophil-Lymphocyte Ratio and the Presence of Neonatal Sepsis // J Immunol Res. 2020. №2. 2020. 7650713. doi: 10.1155/2020/7650713.

11. Nakamori Y., Park E.J., Shimaoka M. Immune Deregulation in Sepsis and Septic Shock: Reversing Immune Paralysis by Targeting PD-1/PD-L1 Pathway // Front. Immunol. 2021. Article 624279.

12. Odabasi I.O., Bulbul A. Neonatal Sepsis. Sisli Etfal Hastan // Tip Bul. 2020. №54. P.142-158.

13. Philip A.G., Hewitt J.R. Early diagnosis of neonatal sepsis // Pediatrics. 1980. №65. P.1036–1041.

14. Ruan L., Chen G.Y., Liu Z., Zhao Y., Xu G.Y. The combination of procalcitonin and C-reactive protein or presepsin alone improves the accuracy of diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis and systematic review // Crit Care. 2018. № 22(1). P.316.

15. Sharma D., Farahbakhsh N., Shastri S., Sharma P. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review // J Matern Fetal Neonatal Med. 2018. № 31(12). P.1646-1659.

#### **References:**

1. Zdorov'e naseleniya Respubliki Kazakhstan i deyatel'nost' organizatsii zdравookhraneniya v 2019 godu: Statisticheskii sbornik [Health of the population of the Republic of Kazakhstan and the activities of healthcare organizations in 2019: statistical collection]. Ministerstvo zdравookhraneniya RK [Ministry of Health]. Astana, 2020, 323 p. [in Russian]

2. Tancjura L.D. Prokal'tsitonin u novorozhdennykh detei. Neodnoznachnost' otsenki [Procaltsitonin in newborns. Uncertainty of assessment]. *Sovremennaya pediatriya* [Modern pediatrics]. 2018, №5(93), pp. 37-41. [in Russian]

3. Chursina E.S. Dement'eva G.M. Prokal'tsitonin i ego znachenie kak markera tjazhelykh bakterial'nykh infektsii u novorozhdennykh detei [Procalcitonin and its significance as a marker of severe bacterial infections in newborns]. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics]. 2007, №6, pp.21-26 [in Russian].

#### **Контактная информация:**

**Ахмалтдинова Людмила Леонидовна** - старший исследователь НАО «Национальный научный кардиохирургический центр», г. Нур-Султан, Республика Казахстан, НАО «Медицинский университет Караганды», г. Караганда, Республика Казахстан;

**Почтовый адрес:** Республика Казахстан, г. Караганда, ул.Гоголя, 40.

**E-mail:** immunol.lab@gmail.com

**Телефон:** +7 (7212) 50 39 30 (доб.1281)