

УДК 616-002-008.953-091: 616-022.7

DOI: 10.14427/jipai.2022.4.47

## Интерлейкин-10 в дифференциальной диагностике бактериемии, вызванной грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами, у пациентов с сепсисом

О.С. Абрамовских, Е.А. Четвернина

Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск, Россия

## Interleukin-10 in the differential diagnosis of bacteremia caused by gram-negative and gram-positive microorganisms in patients with sepsis

O.S. Abramovskikh, E.A. Chetvernina

South Ural State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

### Аннотация

*Цель исследования* – оценить возможность использования показателей ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО-α, PAD-4 и функциональной активности нейтрофилов в дифференциальной диагностике бактериемии, вызванной грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами, у пациентов с сепсисом.

*Результаты.* Проведено исследование по типу «случай-контроль» на базе когортного, в которое вошли 48 пациентов с сепсисом, у 30 из которых была получена положительная гемокультура. В зависимости от наличия в крови грамположительной либо грамотрицательной флоры пациенты были разделены на 2 группы. У пациентов обеих групп в крови на 1 и 3 сутки заболевания оценивали уровень ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО-α, PAD4, нейтрофильных внеклеточных ловушек и функциональную активность нейтрофилов. При сравнении показателей между группами у пациентов с грамотрицательным сепсисом ИЛ-10 был выше, а отношение ИЛ-6/ИЛ-10 ниже, чем у пациентов с грамположительным сепсисом в первые сутки наблюдения.

### Ключевые слова

Сепсис, цитокины, нетоз, врождённый иммунитет, грамотрицательный и грамположительный сепсис, ИЛ-10.

### Summary

*The aim of the study* was to assess the possibility of using indicators of IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF-α, PAD-4 and the functional activity of neutrophils in the differential diagnosis of bacteremia caused by gram-negative and gram-positive microorganisms in patients with sepsis.

*Results.* A case-control study was conducted on the basis of a cohort which included 48 patients with sepsis 30 of whom had a positive blood culture depending on the presence of gram-positive or gram-negative flora in the blood. They were divided into 2 groups. In patients of both groups in the blood on the 1st and 3rd day of the disease, the level of IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF-α, PAD4, NET and the functional activity of neutrophils were assessed, were determined. When comparing parameters between groups, IL-10 was higher in patients with gram-negative sepsis, and the ratio of IL-6/IL-10 was lower than in patients with gram-positive sepsis on day 1st of observation.

### Keywords

Sepsis, cytokines, netosis, innate immunity, gram-negative and gram-positive sepsis, IL-10.

### Введение

Сепсис – это угрожающая жизни органная дисфункция, вызванная нарушением регуляции реакции организма на инфекцию [1-5]. В связи с высоким процентом летальных исходов

сепсис является серьёзной проблемой здравоохранения [3]. Своевременное назначение соответствующих антимикробных препаратов – одно из самых эффективных вмешательств по снижению летальности среди пациентов с

сепсисом [3, 6]. «Кампания переживём сепсис Bundle» предлагает назначать антибиотики пациентам с возможным сепсисом, как только сепсис становится наиболее вероятным диагнозом, и не позднее, чем через 3 часа после первого подозрения на сепсис [3]. Определяющее значение в выборе наиболее подходящих режимов антимикробной терапии сепсиса является микробиологическая диагностика [7, 8]. Однако бактериемия – выделение микроорганизмов из крови – является одним из возможных, но не обязательных проявлений сепсиса. К тому же бактериологический метод исследования имеет ряд существенных недостатков, связанных с забором и транспортировкой биологического материала, а также со временем получения результата.

В основе патогенеза сепсиса лежит взаимодействие хозяина и микроорганизма [9-11], включая вирулентность возбудителя, нарушение регуляции иммунных реакций, обусловленных взаимодействием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что приводит к нарушению регуляции врождённого и адаптивного иммунного ответа [12, 13]. Исследования показали, что концентрации цитокинов / хемокинов могут увеличиваться раньше, чем концентрации существующих инфекционно-воспалительных маркеров, таких как С-реактивный белок и прокальцитонин [14].

Нейтрофилы играют определяющую роль в патогенезе сепсиса. Высвобождение воспалительных цитокинов и хемокинов при сепсисе является в том числе результатом запуска сигнальных путей нейтрофилов. Антимикробная активность нейтрофилов реализуется разными феноменами – фагоцитозом с образованием активных форм кислорода, дегрануляцией и образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ, NET) [15]. С учётом того, что ранняя антибактериальная терапия препаратом, активным в отношении флоры, которая впоследствии будет выделена из образца, является благоприятным фактором выживаемости пациентов с сепсисом, нами была определена цель исследования.

*Цель исследования* – оценить возможность использования показателей интерлейкина (ИЛ) -1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ , PAD-4 и функциональной активности нейтрофилов в дифференциальной диагностике бактериемии, вызванной грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами, у пациентов с сепсисом.

## Методы исследования

Проведено исследование в отделениях ОРИТ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» по типу «случай-контроль» на базе когортного. Были обследованы пациенты с диагнозом «сепсис» (n = 48), средний возраст – 53  $\pm$  15,6 лет. Группы обследования были сформированы исходя из результатов микробиологического исследования крови. Первую группу составили пациенты с «грамотрицательным сепсисом» (n = 16) (в крови обнаружили грамотрицательные микроорганизмы). Вторую группу составили пациенты с «грамположительным сепсисом» (n = 14) (в крови обнаружили грамположительные микроорганизмы). У 18 пациентов была отрицательная гемокультура. Контрольная группа включала 20 условно здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с группами пациентов с сепсисом, с учётом аналогичных критериев исключения из программы исследования. Иммунологическое исследование включало изучение в периферической крови уровней НВЛ, пептидиларгининдеидамидазы 4 (PAD4), ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18 и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ), показателей функции нейтрофилов (фагоцитарная активность, интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число, НСТ-тест). Обнаружение НВЛ проводили путём окрашивания препаратов по Романовскому-Гимзе согласно патенту «Способ обнаружения внеклеточной ДНК в цельной периферической крови» [16]. Цитокины и PAD4 определяли методом иммуноферментного анализа на анализаторе Adaltis Personal Lab (Италия) тест-системами «Вектор-Бест» (Россия) и «Fine Biotech» (Китай).

Иммунологические показатели сравнивали с контрольной группой в 1-е и 3-и сутки наблюдения, проводили внутригрупповые и межгрупповые сравнения в эти же сроки.

Исследование соответствовало требованиям локального этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России и положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Получено информированное согласие у всех участников исследования.

Результаты исследования обрабатывали с использованием статистического пакета MedCalc. Распределение признаков отличалось от нормального, поэтому для количественных переменных определяли медиану (Me) и интерквартильный интервал (IQR, 25 % : 75 %). Внутригрупповое сравнение выборок проводили по критерию Уилкоксона. При сравнении трёх групп использовали критерий Краскела-Уоллиса с последующим

апостериорным сравнением критерием Данна. Диагностическую значимость количественных признаков определяли ROC-анализом. Различия показателей считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Показано, что нейтрофилы оказывают разнонаправленное воздействие на организм во время иммунологических процессов, что частично можно объяснить их гетерогенностью и получаемыми ими стимулами [17]. Результаты сравнительного анализа НВЛ и функциональной активности нейтрофилов у больных с грамотрицательным и грамположительным сепсисом показали, что независимо от суток наблюдения у пациентов с сепсисом было выше абсолютное и относительное количество НВЛ в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы (табл. 1). У пациентов с грамотрицательным сепсисом на 3

сутки наблюдения активность индуцированного НСТ-теста была ниже в сравнении со значением в контрольной группе, тенденция к снижению отмечалась и в первые сутки. При межгрупповом и внутригрупповом сравнении показателей функциональной активности нейтрофилов и уровня НВЛ на 1 и 3 сутки статистически достоверных различий выявлено не было. Но стоит отметить, что у пациентов с грамположительным сепсисом имелась чёткая тенденция к снижению НВЛ на 3 сутки относительно первых, хотя результаты и не достигли статистической значимости, а у пациентов с грамотрицательным сепсисом абсолютное количество НВЛ даже несколько повысилось в динамике.

НВЛ являются частью врождённого иммунитета при ответе на микробную инфекцию и результатом скоординированного биологического процесса, посредством которого нейтрофилы высвобождают свою ядерную ДНК в сопрово-

**Таблица 1. Показатели НВЛ и функциональной активности нейтрофилов у больных с грамотрицательным и грамположительным сепсисом, (Ме [Q1...Q3])**

Показатели	Грамотрицательный сепсис (n = 16)		Грамположительный сепсис (n = 14)		Контрольная Р группа (n=20)	
	1 сутки	3 сутки	1 сутки	3 сутки		
	1	2	3	4		
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/л$	13,75 (7,24; 16,75)	10,55 (7,20; 13,70)	10,75 (8,40; 13,68)	9,25 (7,53; 15,71)	4,95 (4,45; 5,68)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$
НВЛ, %	28,00 (10,75; 39,25)	27,00 (16,00; 37,00)	25,00 (16,00; 26,50)	13,00 (11,00; 28,00)	1,5 (0,25; 2,0)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$
НВЛ, $\times 10^9/л$	2,12 (0,91; 5,50)	2,74 (0,80; 4,29)	2,28 (1,62; 3,62)	1,53 (0,78; 2,58)	0,06 (0,01; 0,14)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$
Фагоцитарная активность, %	55,00 (31,50; 70,25)	40,00 (32,00; 61,00)	52,00 (24,75; 63,75)	43,00 (27,75; 65,75)	58 (52,5; 63)	–
Интенсивность фагоцитоза, у.е.	3,26 (1,22; 7,18)	2,22 (1,18; 5,92)	2,98 (0,77; 5,89)	1,83 (0,61; 5,30)	1,90 (1,46; 2,36)	–
Фагоцитарное число, у.е.	5,90 (3,25; 9,90)	6,00 (3,70; 8,90)	6,15 (2,35; 11,23)	3,45 (2,43; 7,30)	3,35 (2,43; 4,55)	–
НСТ-тест спонтанный, %	23,50 (10,00; 33,00)	16,00 (7,00; 38,00)	35,50 (19,25; 51,00)	33,50 (12,50; 49,00)	20 (16; 22,75)	–
НСТ-тест спонтанный, у.е.	0,34 (0,11; 0,60)	0,18 (0,08; 0,65)	0,59 (0,21; 1,01)	0,68 (0,15; 0,77)	0,23 (0,18; 0,29)	–
НСТ-тест индуцированный, %	28,50 (15,25; 57,75)	23,00 (10,00; 38,00)	41,50 (16,00; 59,50)	36,00 (20,00; 51,75)	46,5 (36,75; 60,5)	$p^{к-2} = 0,002$
НСТ-тест индуцированный, у.е.	0,43 (0,20; 0,82)	0,33 (0,13; 0,40)	0,66 (0,20; 1,00)	0,58 (0,25; 0,98)	0,67 (0,51; 0,76)	

Примечание:  $p^{к-1,2,3,4}$  – достоверность различий показателей больных с сепсисом и контрольной группы.

ждении гранулярных белков и гистонов [18, 19]. Активаторами НВЛ являются факторы не только микробного, но и неинфекционного происхождения – цитокины, хемокины, иммунные комплексы, кристаллические и неорганические полифосфаты или амфотерин [20, 21]. Показано, что в случае системных инфекций, развития сепсиса, избыточное накопление компонентов НВЛ приводит к усилению повреждения тканей, полиорганной недостаточности, цитотоксичности и дисфункции эндотелия [22]. В связи с чем особого внимания заслуживает группа пациентов с сепсисом и бактериемией, вызванной грамотрицательными микроорганизмами, у которых в динамике количество НВЛ не претерпело изменений. Особенно с учётом того, что в данной группе пациентов риск неблагоприятного исхода сепсиса выше, что обусловлено, в первую

очередь, особенностями строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий и последующим развитием тяжёлой генерализованной воспалительной реакции [23].

Показано, что при нетозе происходит цепь последовательных клеточных событий, при этом ядерная локализация и цитруллинирующая активность PAD4 является необходимым условием для деконденсации и высвобождения ДНК [24], что нашло отражение и в нашем исследовании. Высокие уровни PAD 4 наблюдались у пациентов с грамположительным и грамотрицательным сепсисом, независимо от суток наблюдения, по отношению к контрольной группе. В открытых источниках литературы мы не нашли описания клинического значения НВЛ и PAD4 у пациентов с сепсисом дифференцированно при бактериемиях, вызванных грамотрицательными и грамполо-

**Таблица 2. Показатели PAD 4 и цитокинов у больных с грамотрицательным и грамположительным сепсисом, (Ме [Q1...Q3])**

Показатели	Грамотрицательный сепсис (n = 16)		Грамположительный сепсис (n = 14)		Контрольная группа (n = 20)	P
	1 сутки	3 сутки	1 сутки	3 сутки		
	1	2	3	4		
PAD4, нг/мл	36,45 (31,03; 51,78)	29,10 (25,90; 38,10)	35,70 (28,00; 53,40)	32,00 (26,70; 35,90)	0,97 (0,45; 1,21)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$ $p^{1-2*} = 0,025$
ИЛ-1β, пг/мл	2,42 (1,92; 3,41)	2,02 (0,97; 2,98)	3,07 (2,50; 4,03)	2,02 (0,97; 4,44)	1,53 (1,38; 1,86)	$p^{к-1,3} < 0,001$
ИЛ-6, пг/мл	96,88 (53,05; 194,49)	69,28 (26,02; 96,19)	96,05 (73,58; 232,05)	64,69 (36,58; 212,28)	21,66 (19,98; 23,90)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,05$
ИЛ-8, пг/мл	95,69 (56,52; 171,34)	89,61 (45,03; 162,93)	76,80 (33,52; 121,12)	56,91 (20,09; 135,130)	16,82 (15,58; 18,11)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$
ИЛ-10, пг/мл	44,48 (20,22; 59,00)	22,75 (11,63; 48,20)	15,55 (10,10; 20,07)	12,83 (7,17; 24,25)	8,44 (7,87; 9,17)	$p^{к-1,2,3} < 0,05$ $p^{1-3} = 0,032$
ИЛ-18, пг/мл	931,39 (695,94; 1102,05)	941,19 (607,25; 1010,46)	580,75 (428,85; 961,23)	522,95 (383,54; 980,83)	270,55 (265,02; 283,45)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,001$
ФНОα, пг/мл	6,89 (4,84; 19,54)	5,16 (3,03; 6,51)	10,40 (6,43; 12,78)	6,11 (0,87; 7,38)	2,23 (2,13; 3,01)	$p^{к-1,2,3,4} < 0,05$ $p^{1-2*} = 0,03$ $p^{3-4*} = 0,04$
ИЛ-10 / ФНОα, у.е.	5,25 (1,45; 6,83)	4,93 (2,31; 7,68)	1,36 (1,17; 2,62)	3,71 (1,46; 5,16)	3,675 (2,76; 4,22)	$p^{3-4*} = 0,037$
ИЛ-6 / ИЛ-10, у.е.	2,82 (1,23; 4,58)	4,28 (1,09; 5,90)	7,91 (4,76; 9,76)	4,21 (2,66; 5,50)	2,55 (2,40; 2,79)	$p^{к-3,4} < 0,05$ $p^{1-3} = 0,00018$ $p^{3-4*} = 0,004$

Примечания:

рк-1,2,3,4 – достоверность различий показателей больных с сепсисом и контрольной группы;

р1-2\* – достоверность различий показателей у больных с грамотрицательным сепсисом на 1 и 3 сутки;

р3-4\* – достоверность различий показателей у больных с грамположительным сепсисом на 1 и 3 сутки;

р1-3 – достоверность различий показателей у больных с грамположительным и грамотрицательным сепсисом на 1 сутки;

р2-4 – достоверность различий показателей у больных с грамположительным и грамотрицательным сепсисом на 3 сутки;

\* – сравнение парных выборок по критерию Уилкоксона.

жительными микроорганизмами. Полученные результаты могут иметь значения для лучшего понимания роли нейтрофилов в антибактериальной защите хозяина и воспалительном повреждении тканей, а также могут указывать на возможные будущие цели фармакологической терапии сепсиса.

Провоспалительные и противовоспалительные цитокины участвуют в регуляции иммунитета и воспаления при сепсисе. Они могут использоваться в качестве биомаркеров ранней диагностики и прогноза сепсиса, а также в качестве терапевтических мишеней для профилактики и лечения сепсиса [25]. И лишь ограниченное количество работ посвящено их роли в качестве диагностических и прогностических маркеров грамположительного и грамотрицательного сепсиса. Изучение цитокинового профиля показало достоверные изменения, выражающиеся в повышении уровней ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$  в крови у пациентов с грамположительным и грамотрицательным сепсисом на 1 и 3 сутки наблюдения (табл. 2). Также установлено повышение уровней ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с грамположительным и грамотрицательным сепсисом на 1 сутки, ИЛ-10 у пациентов с грамотрицательным сепсисом независимо от суток и у пациентов с грамположительным сепсисом на 1 сутки по отношению к изучаемым показателям в контрольной группе.

Соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов играет важную роль в поддержании иммунного гомеостаза, может иметь диагностическое и практическое значение, информируя о дисфункции иммунной защиты и выраженности воспалительного процесса. Отношение ИЛ-6/ИЛ-10 было выше в сравнении с данным показателем в группе контроля только у пациентов с грамположительным сепсисом на 1 и 3 сутки.

Внутригрупповое сравнение показало, что уровни PAD4 и ФНО- $\alpha$  снижались на 3 сутки относительно 1 суток у пациентов с грамотрицательным сепсисом. Была ниже концентрация ФНО- $\alpha$  и у пациентов с грамположительным сепсисом на 3 сутки в сравнении с 1 сутками, что отразилось на повышении отношения ИЛ-10/ФНО- $\alpha$ . Также, у пациентов с грамположительным сепсисом на 3 сутки относительно первых снижалось отношение ИЛ-6/ИЛ-10 несмотря на отсутствие достоверных различий в уровнях этих интерлейкинов в динамике. При межгрупповом сравнении изучаемых показателей у пациентов с грамотрицательным сепсисом на 1

сутки ИЛ-10 был выше, а отношение ИЛ-6/ИЛ-10 ниже, чем у пациентов с грамположительным сепсисом на те же сутки.

ИЛ-6 – мультифункциональный (плейотропный) цитокин, который синтезируется иммунными и стромальными клетками в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов, опосредованную молекулярными паттернами, связанными с патогенами и повреждением [26]. ИЛ-6 наиболее известен своими провоспалительными эффектами, однако он обладает также рядом важных физиологических и противовоспалительных функций. Он необходим для врождённого и адаптивного иммунитета, для эффективного клиренса патогена и играет важную физиологическую роль в организме человека, регулируя реакцию острой фазы, кроветворение, скорость метаболизма, липидный гомеостаз и нервное развитие [27]. ИЛ-6, как индуктор синтеза реактивных белков острой фазы, таких как С-реактивный белок (СРБ), полезный тест для ранней оценки и диагностики бактериальной инфекции, причём чувствительность и специфичность его выше, чем у СРБ при современном клиническом применении. Однако, как и ФНО- $\alpha$ , и ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 не специфичен для сепсиса, и его основная роль в качестве биомаркера сепсиса, по-видимому, является прогностической – содержание в крови ИЛ-6 имеет хорошую корреляцию с развитием, прогнозом и летальностью при сепсисе [28, 29].

ИЛ-10 – иммунорегуляторный цитокин с противовоспалительными свойствами, который играет центральную роль в инфекции, ограничивая иммунный ответ на патогены и тем самым предотвращая повреждение организма. В то же время ИЛ-10 показал способность вызывать и провоспалительные эффекты [30]. Избыточные уровни ИЛ-10 в тканях на ранних стадиях после инфекции ингибируют бактериальный клиренс, тем самым действуя как негативный регулятор защиты. Однако известно также, что ИЛ-10 важен для поддержания гомеостаза, а также регуляции клиренса нейтрофилов (снижение выживаемости / эффероцитоза). Эти два наблюдения, хотя и кажутся противоречивыми, указывают на необходимость раннего отсутствия ИЛ-10 для облегчения бактериального клиренса, но его присутствие необходимо во время фазы разрешения иммунного ответа [31]. Данные литературы подчёркивают важную роль ИЛ-10 в патогенезе сепсиса, где он выступает мощным иммуносупрессивным цитокином, концен-

трация которого в плазме крови повышается у больных сепсисом и коррелирует с тяжестью воспаления, развитием органной недостаточности и летальностью [32]. Также ИЛ-10 был идентифицирован как биомаркер при дифференцировке сепсиса с синдромом системного воспалительного ответа (SIRS) [33]. Tang Y. et al. использовали цитокины ИЛ-6/ИЛ-10 для идентификации грамотрицательных и грамположительных бактерий у детей с гематологическими заболеваниями [34]. Zhu Q et al. предложили использовать ИЛ-6 и ИЛ-10 для дифференцировки грамотрицательной и грамположительной бактериальной инфекции у взрослых с лимфомой в стадии миелосупрессии после химиотерапии [29].

Поэтому на следующем этапе с помощью ROC-анализа мы провели оценку возможности использования иммунологических показателей, с достоверными отличиями в изучаемых группах больных, в качестве биомаркеров, позволяющих дифференцировать грамположительный и грамотрицательный сепсис. При интерпретации AUC использовали общепризнанную экспертную шкалу в диапазоне от 0,5 до 1,0, причём чем выше этот показатель, тем качественнее модель [35].

Зависимая переменная была определена как бинарный признак 1 – грамотрицательный сепсис, грамположительный сепсис – 0. Независимые переменные – уровень ИЛ-10 (пг/мл) и отношение ИЛ-6/ИЛ-10 (у.е.). Построение и сравнение ROC-кривых проводили для каждого биомаркера. Характеристики диагностической эффективности показателя ИЛ-10 (пг/мл) и ИЛ-6/ИЛ-10 (у.е.) в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса представлены в таблице 3.

Максимальная диагностическая эффективность показателя крови ИЛ-10 (пг/мл) в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса достигалась при 68,7 % чувствительности и 91,7 % специфичности, что соответствовало пороговому значению ИЛ-10 крови 29 пг/мл. Очень хорошее качество модели было продемонстрировано полученным значением площади под ROC-кривой (AUC) – 0,815 (рис. 1).

Максимальная диагностическая эффективность показателя отношение ИЛ-6/ИЛ-10 (у.е.) в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса достигалась при 68,7 % чувствительности и 100 % специфичности, что соответствовало пороговому значению ИЛ-6/ИЛ-10 3,29 у.е. Площадь под ROC-кривой (AUC) – 0,906, что показывает отличное качество модели (рис. 2).

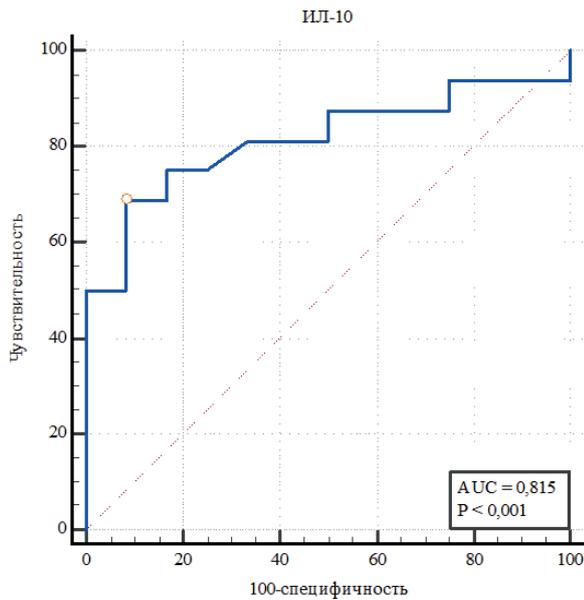
### Заключение

Чтобы снизить летальность при сепсисе, пациентам необходимо проводить немедленную эмпирическую антибактериальную терапию широкого спектра действия, но этот подход может привести к чрезмерному использованию противомикробных препаратов и резистентности к ним [36]. Помочь обеспечить поддержку принятия решений о своевременном целенаправленном терапевтическом вмешательстве может ранняя диагностика бактериальных, вызванных грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами, у пациентов с сепсисом. Особенно учитывая тот факт, что результаты посева крови не отвечают своевременным клиническим потребностям и предполагают низкий процент положительных результатов. Биомаркеры привлекают внима-

**Таблица 3. Характеристики диагностической эффективности показателя ИЛ-10 (пг/мл) и ИЛ-6/ИЛ-10 (у.е.) в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса на 1 сутки наблюдения**

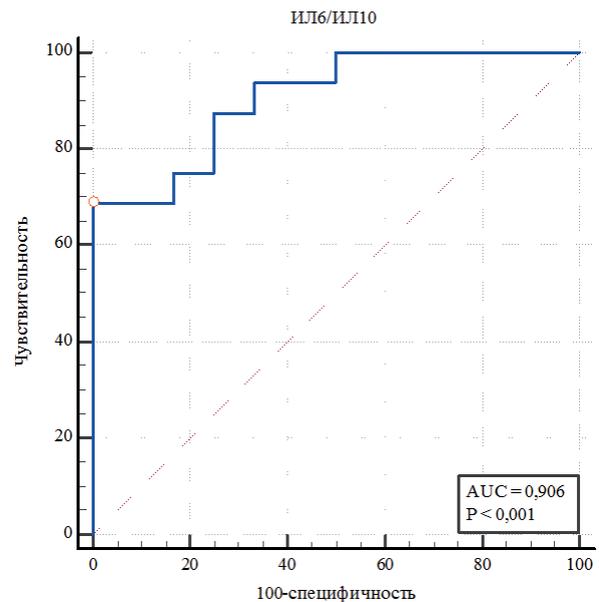
Показатель	Площадь под ROC-кривой [95% ДИ]	Чувствительность / Специфичность, % [95% ДИ]	+LR	-LR	PPV	NPV	Критерий	Значимость
ИЛ-10, пг/мл	0,815 [61,5; 99,8]	68,7 [41,3; 89,0] / 91,7 [61,5; 99,8]	8,25	0,34	91,7	68,7	> 29	z = 3,722 p = 0,0002
ИЛ-6 / ИЛ-10, у.е.	0,906 [61,5; 51,8]	68,7 [41,3; 89,0] / 100,0 [73,5; 100]	0	0,31	100	70,6	≤ 3,29	z = 7,561 p < 0,0001

Примечание: +LR – положительное отношение правдоподобия; -LR – отрицательное отношение правдоподобия; PPV – прогностическая ценность положительного результата; NPV – прогностическая ценность отрицательного результата.



**Рис. 1. ROC-кривая диагностической эффективности показателя ИЛ-10 в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса**

Примечание:  $p$  – показатель достоверности результатов, AUC – площадь под ROC-кривой.



**Рис. 2. ROC-кривая диагностической эффективности показателя ИЛ-6/ИЛ-10 в отношении грамотрицательного и грамположительного сепсиса**

Примечание:  $p$  – показатель достоверности результатов, AUC – площадь под ROC-кривой.

ние исследователей по причине того, что их количественная оценка имеет потенциал для быстрой диагностики заболевания и для прогнозирования и может служить гидом ранних терапевтических вмешательств [37]. По данным литературы, в качестве биомаркеров для диагностики грамотрицательного и грамположительного сепсиса ранее рассматривались продукты распада фибрина [38], липополисахарид-связывающий белок [39], CD11b [40], прокальцитонин [41], нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (NLR) из рутинного анализа крови и макрофагальный воспалительный белок  $1\beta$  (MIP- $1\beta$ ) [42]. Были попытки использовать и изучаемые нами цитокины. Так, Гуань обнаружил, что ИЛ-6 и ИЛ-10 тесно связаны с бактериальной инфекцией крови, и предположил, что уровень ИЛ-10 может быть различен у грамотрицательных и грамположительных инфекций, но диагностический эффект не был идеальным – чувствительность составила 64,1 %, специфичность – 70,9 % [43].

Результаты работы показали, что для пациентов с сепсисом, в крови которых были обнаружены грамотрицательные микроорганизмы, характерны высокий уровень ИЛ-10 и низкое значение отношения ИЛ-6/ИЛ10. Проведённый

ROC-анализ продемонстрировал, что уровень ИЛ-10 и отношение ИЛ-6/ИЛ-10 обладали одинаковой чувствительностью (68,7 %), но разной специфичностью – 100 % в отношении ИЛ-6/ИЛ-10 и 91,7 % – ИЛ-10, что позволяет предложить использовать оба этих показателя как вспомогательные сывороточные маркеры для быстрой и доступной дифференциальной диагностики бактериемий, вызванных грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами, у пациентов с сепсисом. Ни один биомаркер сепсиса не может быть идеальным, но многие из них могут быть полезны, особенно учитывая серьёзную проблему грамотрицательных, полирезистентных, микроорганизмов [44], которые коррелируют с неблагоприятным исходом, связанным, как правило, с запоздалой антибактериальной терапией или неадекватной терапией, в то время как адекватное назначение антибиотиков коррелирует с выживаемостью пациентов [45]. Можно предположить, что использование ИЛ-10 и ИЛ-6/ИЛ-10 в мультимаркерных панелях будет способствовать более благоприятному течению сепсиса и снижению летальности, а также препятствовать дальнейшему отбору полирезистентных штаммов возбудителей.

## Литература

1. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W. et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315: 801-810. doi: 10.1001/JAMA.2016.0287
2. L'heureux M., Brath L., Kashiouris M.G. et al. Sepsis-Induced Cardiomyopathy: a Comprehensive Review. *Curr Cardiol Rep*. 2020; 22 (5): 35. doi: 10.1007/s11886-020-01277-2
3. Rhodes A., Evans L.E., Alhazzani W. et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017; 43(3): 304-377. doi: 10.1007/s00134-017-4683-6
4. Руднов В.А., Кулабухов В.В. Сепсис-3: обновлённые ключевые положения, потенциальные проблемы и дальнейшие практические шаги. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2016; 13(4): 3-18. doi: 10.21292/2078-5658-2016-13-4-4-11
5. Никонов В.В., Соколов А.С., Фесков А.Э. Сепсис от древности до современности. Взгляд сквозь века. *Медицина неотложных состояний*. 2017; 3: 73-81.
6. Kalil A.C., Johnson D.W., Lisco S.J. et al. Early goal-directed therapy for sepsis: a novel solution for discordant survival outcomes in clinical trials. *Crit Care Med*. 2017; 45(4): 607-614. doi: 10.1097/CCM.0000000000002235
7. Сепсис: классификация, клинко-диагностическая концепция и лечение / под ред. Б.Р. Гельфанда. – 4-е изд., доп. и перераб. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2017. – 408 с.
8. Seymour C.W., Gesten F., Prescott H.C. et al. Time to treatment and mortality during mandated emergency care for sepsis. *N Engl J Med*. 2017; 376(23): 2235-2244. doi: 10.1056/NEJMoa1703058
9. McCullers J.A. The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung. *Nat Rev Microbiol*. 2014; 12(4): 252-262. doi: 10.1038/NRMICRO3231
10. Zhang H., Zhang Y., Wu J. et al. Risks and features of secondary infections in severe and critical ill COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1): 1958-1964. doi: 10.1080/22221751.2020.1812437
11. Zhang L., Forst C.V., Gordon A. et al. Characterization of antibiotic resistance and host-microbiome interactions in the human upper respiratory tract during influenza infection. *Microbiome*. 2020; 8(1): 39. doi: 10.1186/S40168-020-00803-2
12. Neely C.J., Kartchner L.B., Mendoza A.E. et al. Flagellin treatment prevents increased susceptibility to systemic bacterial infection after injury by inhibiting anti-inflammatory IL-10+ IL-12- neutrophil polarization. *PLoS One*. 2014; 9(1): e85623. doi: 10.1371/journal.pone.0085623
13. Lachiewicz A.M., Hauck C.G., Weber D.J. et al. Bacterial Infections After Burn Injuries: Impact of Multidrug Resistance. *Clin Infect Dis*. 2017; 65(12): 2130-2136. doi: 10.1093/CID/CIX682
14. Vasconcellos Â.G., Clarêncio J., Andrade D. et al. Systemic cytokines and chemokines on admission of children hospitalized with community-acquired pneumonia. *Cytokine*. 2018; 107: 1-8. doi: 10.1016/J.CYT.2017.11.005
15. Chen Z., Zhang H., Qu M. et al. Review: The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Sepsis and Sepsis-Associated Thrombosis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 653228. doi: 10.3389/fcimb.2021.653228
16. Савочкина А.Ю., Пыхова Л.Р., Абрамовских О.С. и др. Патент № 2715557 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01) G01N 1/30 (2006.01) G06M 11/00 (2006.01) G02B 21/33 (2006.01) Способ обнаружения внеклеточной ДНК в цельной периферической крови: № 2019119629: заявл. 24.06.2019; опубл. 02.03.2020; заявитель ЮУГМУ, 9 с.
17. Drescher B., Bai F. Neutrophil in viral infections, friend or foe? *Virus Res*. 2013; 171: 1-7. doi: 10.1016/j.virusres.2012.11.002
18. Долгушин, И.И., Мезенцева Е.А. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в борьбе с биоплёнкообразующими микроорганизмами: охотники или добыча? *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(5): 468-481. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-9
19. Martinod K., Fuchs T.A., Zitomersky N.L. et al. PAD4-deficiency does not affect bacteremia in polymicrobial sepsis and ameliorates endotoxemic shock. *Blood*. 2015; 125(12): 1948-1956. doi: 10.1182/BLOOD-2014-07-587709
20. Chen K.W., Monteleone M., Boucher D. et al. Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps. *Sci Immunol*. 2018; 3(26): eaar6676. doi: 10.1126/sciimmunol.aar6676
21. Sollberger G., Tilley D.O., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: the biology of chromatin externalization. *Dev Cell*. 2018; 44: 542-553. doi: 10.1016/j.devcel.2018.01.019
22. Denning L., Monowar A., Gurien S. et al. DAMPs and NETs in Sepsis. *Front Immunol*. 2019; 10: 2536. doi: 10.3389/fimmu.2019.02536
23. Holmes C.L., Anderson M.T., Mobley H.L.T., Bachman M.A. Pathogenesis of Gram-Negative Bacteremia. *Clin Microbiol Rev*. 2021; 10; 34(2): e00234-20. doi: 10.1128/CMR.00234-20.
24. Thiam H.R., Wong S.L., Qiu R. et al. NETosis proceeds by cytoskeleton and endomembrane disassembly and PAD4-mediated chromatin decondensation and nuclear envelope rupture. *PNAS*. 2020; 117(13): 7326-7337. doi: 10.1073/pnas.1909546117
25. Xia Z.F., Wu G.S. Role of cytokines in sepsis and its current situation of clinical application. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2019; 35(1): 3-7. doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.01.002.
26. Насонов Е.Л., Лиля А.М. Ингибция интерлейкина 6 при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: достижения, перспективы и надежды. *Научно-практическая ревматология*. 2017; 55(6): 590-599. doi: 10.14412/1995-4484-2017-590-599
27. McElvaney O.J., Curley G.F., Rose-John S. Interleukin-6: obstacles to targeting a complex cytokine in critical illness. *Lancet Respir Med*. 2021; 9(6): 643-654. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00103-X
28. Faix J.D. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2013; 50(1): 23-36. doi: 10.3109/10408363.2013.764490
29. Zhu Q., Li H., Zheng S. et al. IL-6 and IL-10 Are Associated With Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria Infection in Lymphoma. *Front Immunol*. 2022; 13: 856039. doi: 10.3389/fimmu.2022.856039
30. Saxton R.A., Tsutsumi N., Su L.L. Structure-based decoupling of the pro- and anti-inflammatory functions of interleukin-10. *Science*. 2021; 371(6535): eabc8433. doi: 10.1126/science.abc8433
31. Poe S.L., Arora M., Oriss T.B. et al. STAT1-regulated lung MDSC-like cells produce IL-10 and efferocytose apoptotic neutrophils with relevance in resolution of bacterial pneumonia. *Mucosal Immunol*. 2013; 6(1): 189-199. doi: 10.1038/mi.2012.62
32. Fabri A., Kandara K., Coudereau R. et al. Characterization of Circulating IL-10-Producing Cells in Septic Shock Patients: A Proof of Concept Study. *Front Immunol*. 2021; 11: 615009. doi: 10.3389/fimmu.2020.615009
33. Potjo M., Theron A.J., Cockeran R. et al. Interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist distinguish between patients with sepsis and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Cytokine*. 2019; 120: 227-233. doi: 10.1016/j.cyt.2019.05.015
34. Tang Y., Liao C., Xu X. et al. Th1/th2 Cytokine Profiles in G+/G- Bacteremia in Pediatric Hematology/Oncology Patients. *Pediatr Blood Cancer*. 2012; 58: 50-54. doi: 10.1002/pbc.2269
35. Корнеев А.А., Рязанцев С.В., Вяземская Е.Э. Вычисление и интерпретация показателей информативности

диагностических медицинских технологий. Медицинский совет. 2019; 20: 45-51. doi: 10.21518/2079-701X-2019-20-45-51

36. Niederman M.S., Baron R.M., Bouadma L. et al. Initial antimicrobial management of sepsis. *Crit Care*. 2021; 25(1): 307. doi: 10.1186/s13054-021-03736-w

37. Catenacci V., Sheikh F., Patel K. et al. The prognostic utility of protein C as a biomarker for adult sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2022; 26(1): 21. doi: 10.1186/s13054-022-03889-2

38. Deitcher S.R., Eisenberg P.R. Elevated concentrations of cross-linked fibrin degradation products in plasma. An early marker of gram-negative bacteremia. *Chest*. 1993; 103: 1107-1112.

39. Oude Nijhuis C.S.M., Vellenga E., Daenen S.M.G.J. et al. Lipopolysaccharide-binding protein: a possible diagnostic marker for Gram-negative bacteremia in neutropenic cancer patients. *Intensive Care Med*. 2003; 29(12): 2157-2161. doi: 10.1007/s00134-003-2026-2

40. Nuutila J., Jalava-Karvinen P., Hohenthal U. et al. CRP/CD11b ratio: a novel parameter for detecting gram-positive sepsis. *Hum Immunol*. 2009; 70(4): 237-243. doi: 10.1016/j.humimm.2009.01.009

41. Yan S.T., Sun L.C., Jia H.B. et al. Procalcitonin levels in bloodstream infections caused by different sources and species of bacteria. *Am J Emerg Med*. 2017; 35(4): 579-583. doi: 10.1016/j.ajem.2016.12.017

42. Li X., Yuan X., Wang C. The clinical value of IL-3, IL-4, IL-12p70, IL17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\beta$ , NLR, P-selectin, and TNF- $\alpha$  in differentiating bloodstream infections caused by gram-negative, gram-positive bacteria and fungi in hospitalized patients: An Observational Study. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(38): e17315. doi: 10.1097/MD.00000000000017315

43. Guan J, Wang Z., Liu X. et al. IL-6 and IL-10 Closely Correlate with Bacterial Bloodstream Infection. *Iran J Immunol*. 2020; 17(3): 185-203. doi: 10.22034/iji.2020.87266.1793

44. Porreca A.M., Sullivan K.V., Gallagher J.C. The Epidemiology, Evolution, and Treatment of KPC-Producing Organisms. *Curr Infect Dis Rep*. 2018; 20(6): 13. doi: 10.1007/s11908-018-0617-x

45. Paño Pardo J.R., Serrano Villar S., Ramos Ramos J.C. et al. Infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: risk factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32 Suppl 4: 41-48. doi: 10.1016/S0213-005X(14)70173-9

### Сведения об авторах

Абрамовских Ольга Сергеевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Четвернина Елена Андреевна – старший преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: elena45@mail.ru.

Поступила 24.11.2022 г.