© Коллектив авторов, 2021

Мухин В.Е.¹, Панкратьева Л.Л.², Милева О.И.³, Ярцев М.Н.⁴,
Володин Н.Н.²

Значение морфологических и функциональных особенностей нейтрофилов недоношенных новорожденных в развитии неонатальных инфекций

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства, 119435, г. Москва, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

³ «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения Москвы» (Филиал № 2), 127287, г. Москва, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Недоношенные новорожденные подвержены высокому риску развития бактериальных инфекций, в том числе вследствие функциональной недостаточности нейтрофилов.

Цель исследования – определить уровни экспрессии Fcγ-рецепторов (CD64, CD16, CD32) и интенсивность «кислородного взрыва» нейтрофилов недоношенных новорожденных, а также оценить их диагностическую ценность в выявлении инфекционных осложнений раннего неонатального периода.

Материал и методы. В исследование включали недоношенных новорожденных ($n = 102$), которые впоследствии были распределены в 3 группы: дети без инфекционного диагноза в раннем неонатальном периоде ($n = 24$), с локализованной формой бактериальной инфекции ($n = 63$) и с ранним неонатальным сепсисом ($n = 15$). Методом проточной цитофлуориметрии определяли экспрессию нейтрофилами пуповинной крови CD64, CD16, CD32, а также интенсивность «кислородного взрыва» после стимуляции нейтрофилов *E. coli* в присутствии дигидрорадамина 123.

Результаты. В группе недоношенных детей, у которых развился ранний неонатальный сепсис, выявлено значительное увеличение экспрессии CD64, снижение экспрессии CD32, а также значительное повышение продукции активных форм кислорода нейтрофилами в ответ на *E. coli* по сравнению с группами новорожденных с локализованным инфекционным процессом и без инфекционного диагноза. Продукция активных форм кислорода также была повышена у недоношенных новорожденных с локализованным инфекционным процессом в сравнении с группой недоношенных без инфекционного диагноза.

Заключение. Уровни экспрессии CD64 и CD32, а также продукции активных форм кислорода нейтрофилами недоношенных новорожденных ассоциированы с развитием неонатального сепсиса. Определение данных параметров имеет диагностическую ценность при выявлении инфекционных осложнений раннего неонатального периода.

Ключевые слова: нейтрофилы; недоношенные новорожденные; бактериальные инфекции; ранний неонатальный период; Fcγ-рецепторы; «кислородный взрыв»

Статья получена 09.02.2021. Принята в печать 16.03.2021.

Для цитирования: Мухин В.Е., Панкратьева Л.Л., Милева О.И., Ярцев М.Н., Володин Н.Н. Значение морфологических и функциональных особенностей нейтрофилов недоношенных новорожденных в развитии неонатальных инфекций. Иммунология. 2021; 42 (2): 140–147. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-140-147>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Мухин Владимир Евгеньевич –
ведущий аналитик отдела
анализа и прогнозирования
медико-биологических
рисков здоровью
ФГБУ ЦСП ФМБА России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: muhinvldmr@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-8973-7890>

Mukhin V.E.¹, Pankratyeva L.L.², Mileva O.I.³, Yartsev M.N.⁴, Volodin N.N.²

Phenotype and function of neutrophils in premature infants and their role in neonatal infections

¹ Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical-Biological Agency, 119435, Moscow, Russian Federation

² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of the Russian Federation, 117198, Moscow, Russian Federation

³ Municipal Clinical Hospital No. 24 (Branch No. 2), City Department of Health, 127287, Moscow, Russian Federation

⁴ National Research Center – Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, 115522, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Premature infants are at high risk bacterial infections development due to functional deficiency of neutrophils.

The aim of the study – to determine Fcγ-receptors expression (CD64, CD16, CD32) and respiratory burst intensity of neutrophils in preterm infants, as well as to assess their diagnostic value in identifying infectious complications of the early neonatal period.

Material and methods. Premature newborns ($n = 102$) were divided into 3 groups: neonates without infections in the early neonatal period ($n = 24$), neonates with localized bacterial infections ($n = 63$) and early neonatal sepsis ($n = 15$). Expression of CD64, CD16, CD32 by cord blood neutrophils and intensity of oxidative burst after stimulation of neutrophils with *E. coli* in the presence of dihydrorhodamine 123 were measured by flow cytometry.

Results. In the group of premature infants who developed early neonatal sepsis a significant increase in CD64 expression, a decrease in CD32 expression as well as a significant increase in the production of reactive oxygen species by neutrophils in response to *E. coli* were found in comparison with groups of newborns with a localized infectious process and without an infectious diagnosis. The production of reactive oxygen species was also increased in premature infants with a localized infectious process in comparison with the group of premature infants without an infectious diagnosis.

Conclusion. The expression levels of CD64 and CD32 as well as the production of reactive oxygen species by neutrophils of preterm infants, are associated with the development of neonatal sepsis. Determination of these parameters has diagnostic value in identifying infectious complications in early neonatal period.

Keywords: neutrophils; prematurity; bacterial infections; neonate; Fcγ-receptors; respiratory burst

Received 09.02.2021. Accepted 16.03.2021.

For citation: Mukhin V.E., Pankratyeva L.L., Mileva O.I., Yartsev M.N., Volodin N.N. Phenotype and function of neutrophils in premature infants and their role in neonatal infections. *Immunologiya*. 2021; 42 (2): 140–7. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-140-147> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For correspondence

Vladimir E. Mukhin – Leader Analyst
of Centre for Strategic Planning
and Management
of Biomedical Health Risks
of the FMBA of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: muhinvldmr@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-8973-7890>

Введение

Инфекционные осложнения и сепсис остаются ведущими причинами смертности среди новорожденных в раннем неонатальном периоде. При этом недоношенные новорожденные, особенно с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении подвергаются наибольшему риску развития инфекций по сравнению с другими возрастными группами [1]. Повышенную восприимчивость недоношенных детей к инфекциям ранее объясняли незрелостью врожденной иммунной защиты [2, 3]. Однако в настоящее время считается, что иммунная система недоношенных детей скорее характеризуется особен-

ностями адаптации иммунной реактивности, а не функциональной недостаточностью по сравнению с более зрелыми новорожденными и взрослыми людьми [4].

Нейтрофилы являются жизненно важным компонентом системы врожденного иммунитета – они первыми реагируют и обеспечивают защиту от бактериальных, вирусных и грибковых инфекций [5]. Нейтрофилы реализуют свои эффекторные функции посредством фагоцитоза, секреции антимикробных гранул и формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек [6, 7]. У недоношенных новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ наблюдается большая частота развития нейтропении [8]. Однако имеются противоречивые данные о рис-

ках развития сепсиса и уровне смертности, связанных с абсолютной нейтропенией [9, 10]. Кроме того, использование гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) для профилактики и лечения неонатальной нейтропении не показало различий в выживаемости по отношению к группе сравнения [11]. Поскольку существуют значительные различия между физиологией новорожденного и взрослого человека, фенотипические и функциональные различия гранулоцитов могут иметь жизненно важное значение. Неонатальные нейтрофилы адаптированы к внутриутробным условиям, что позволяет избежать нежелательного запуска провоспалительных реакций [12], однако одновременно это может являться препятствием для развития достаточного ответа в отношении патогенных микроорганизмов [13].

Нейтрофилы недоношенных новорожденных характеризуются сниженной способностью к фагоцитозу по сравнению с доношенными новорожденными и взрослыми. Высказывалось мнение, что этот дефицит может быть обусловлен низким уровнем циркулирующих факторов опсонизации, особенно материнских иммуноглобулинов, которые наиболее активно транспортируются через плаценту в последнем триместре беременности. Однако применение иммуноглобулинов для внутривенного введения у недоношенных новорожденных не привело к снижению частоты развития неонатального сепсиса и смертности в раннем неонатальном периоде [14]. Все больше данных свидетельствуют, что нейтрофилы доношенных новорожденных в норме не испытывают функционального дефицита вследствие своей незрелости, скорее они «запрограммированы» на снижение активности для обеспечения нормальной адаптации к внеутробной жизни [15, 16].

При обнаружении патогенов нейтрофилы фагоцитируют их, используя рецепторы компонентов системы комплемента (CR1, CR3) и Fc-домена IgG (Fcγ-рецепторы). Эти рецепторы способствуют поглощению опсонизированных антителами патогенов и запускают активацию нейтрофилов при перекрестном связывании нескольких рецепторов [17]. После фагоцитоза нейтрофилами микроорганизмы захватываются фагосомами, которые сливаются с азурофильными и специфическими гранулами, образуя фаголизосомы, предназначенные для запуска окислительных реакций, необходимых для уничтожения патогенных микроорганизмов. Образование фаголизосом связано с 10–20-кратным увеличением потребления клеткой кислорода, получившим название «кислородный (или респираторный) взрыв» [18].

Семейство Fcγ-рецепторов объединяет различные классы – Fcγ-RI (CD64), Fcγ-RII (CD32) и Fcγ-RIII (CD16), причем каждый из них способен модулировать иммунный ответ посредством взаимодействия с клетками иммунной системы и высвобождения цитокинов [19]. Таким образом, дисрегуляция экспрессии вышеуказанных рецепторов у недоношенных новорожденных может приводить к нарушению внутриклеточ-

точной передачи сигналов и дисфункции нейтрофилов и, как следствие, к повышенной восприимчивости к инфекциям и развитию неонатального сепсиса.

Цель исследования – изучить диагностическое значение функциональных и фенотипических характеристик нейтрофилов недоношенных новорожденных в патогенезе инфекционных заболеваний раннего неонатального периода.

Материал и методы

Участники исследования. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России (протокол № 119 от 28.09.2015). Под наблюдением находились 102 недоношенных ребенка различного гестационного возраста с осложненным течением неонатального периода, потребовавших проведения интенсивной терапии по совокупности клинико-anamnestических, лабораторных и инструментальных данных. В качестве *критериев включения* в исследование были определены преждевременные роды через естественные родовые пути (гестационный возраст – 25–36 нед). *Критерии исключения:* наличие генетических заболеваний и врожденные пороки развития у детей, а также аутоиммунные заболевания у матерей.

По факту наличия либо отсутствия инфекционной патологии в раннем неонатальном периоде (до 7 сут жизни) недоношенные новорожденные были дополнительно распределены в 3 группы: 1-я группа ($n = 63$) – дети с локализованной формой бактериальной инфекции (пневмония, некротизирующий энтероколит, омфалит); 2-я группа ($n = 24$) – дети без инфекционного диагноза в раннем неонатальном периоде; 3-я группа ($n = 15$) – дети с ранним неонатальным сепсисом. Вывод о наличии у ребенка инфекционного заболевания делали на основании двух или более клинических симптомов и одного или более лабораторных признаков воспалительной реакции.

Экспериментальные исследования. Уровни экспрессии поверхностных рецепторов нейтрофилов, а также параметры их функциональной активности (фагоцитоз, «кислородный взрыв») оценивали в образцах пуповинной крови, собранных до отделения последа пункционным методом в стерильные вакуумные пробирки, содержащие гепарин в качестве антикоагулянта. Объем образцов пуповинной крови для исследований составлял не менее 6 мл. Оценку фенотипа и функциональных характеристик нейтрофилов выполняли не позднее 8 ч после взятия биоматериала.

Анализ экспрессии поверхностных рецепторов нейтрофилов выполняли с помощью метода многоцветной проточной цитофлуориметрии (Navios, Beckman Coulter, США) в соответствии с протоколами производителя. В качестве красителей использовали конъюгированные с флуоресцентными метками антитела в составе следующей панели: анти-CD45, меченные PacificBlue; анти-CD14, меченные APC; анти-CD64 (FcγRI), меченные PE; анти-CD16 (FcγRIII), меченные PC7; анти-CD32

(FcγRII) меченные PC5; соответствующие им изотипические контрольные образцы для исключения аутофлуоресценции образцов (IgG1 или IgG2). Для каждого исследуемого образца регистрировали не менее 30 тыс. событий. Данные анализировали с помощью программного обеспечения Kaluza (Beckman Coulter, США).

Количественную оценку «кислородного взрыва» производили после стимуляции нейтрофилов *in vitro* с использованием набора реагентов FagoFlowEx Kit (EXBIO Praha, Чешская Республика). Для этого осуществляли стимуляцию нейтрофилов в образцах цельной пуповинной крови объемом 50 мкл путем добавления 10 мкл суспензии *E. coli*, после чего образцы инкубировали с 5 мМ дигидрорадамина 123 (DHR123) в течение 20 мин при 37 °C на водяной бане. В процессе окисления DHR123 образуется флуоресцентный родамин 123, который регистрируется проточным цитометром Navios (Beckman Coulter, США). Результаты оценивали путем расчета индекса стимуляции (ИС): отношение средней интенсивности флуоресценции активированных гранулоцитов в стимулированных образцах и отрицательных контрольных образцах (образцы без стимуляции *E. coli*). Хранение и транспортировку образцов осуществляли при комнатной температуре (18–25 °C) с сохранением холодовой цепи.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 9.1 (StatSoft Inc., США). Для количественных признаков сравнение несвязанных групп проводили с использованием непараметрических тестов Манна–Уитни (*U*-test). Различия считались статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика пациентов

В исследование были включены 102 недоношенных новорожденных. Все дети, вошедшие в исследование, родились в тяжелом состоянии и нуждались в проведении интенсивной терапии и респираторной поддержки в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных с рождения. Ведущими патологическими симптомами после рождения у всех детей были клинические признаки дыхательной недостаточ-

ности, нарушения кровообращения и неврологические нарушения в виде синдрома угнетения безусловно-рефлекторной деятельности. Комплексная интенсивная посиндромная терапия включала инфузионную, антибактериальную, кардиотоническую, седативную, а также противосудорожную терапию по показаниям. Общая характеристика новорожденных представлена в таблице.

С помощью проточной цитометрии была проанализирована экспрессия поверхностных рецепторов семейства FcγR (CD64, CD32, CD16). Было выявлено, что экспрессия FcγRI (CD64) значимо не отличалась у недоношенных детей из 1-й и 2-й групп (5,02 MFI [4,31–5,29] и 4,87 MFI [4,31–5,85] соответственно). Однако у недоношенных детей с развившимся ранним неонатальным сепсисом (3-я группа) при рождении наблюдалось значительное увеличение экспрессии CD64 на поверхности полиморфноядерных нейтрофилов в сравнении с недоношенными из 1-й и 2-й групп (8,53 MFI [6,07–9,59], $p < 0,001$) (рис. 1А).

Были исследованы диагностические характеристики CD64-рецептора в качестве дополнительного маркера неонатального сепсиса у недоношенных новорожденных. ROC-анализ в отношении интенсивности флуоресцентного сигнала CD64 продемонстрировал AUC = 0,83 [95% доверительный интервал (ДИ) 0,71–0,94]. Так как CD64 конститутивно экспрессируется на поверхности моноцитов, с целью минимизации возможной погрешности межсерийных аналитических определений было принято решение использовать показатель CD64-индекса: отношение величины экспрессии рецептора на поверхности нейтрофилов к аналогичному показателю моноцитов. CD64-индекс продемонстрировал AUC = 0,89 (95% ДИ 0,82–0,96). Проведенный анализ выявил, что CD64-индекс является достоверным ранним маркером неонатального сепсиса у недоношенных с высокой чувствительностью (0,94) и специфичностью (0,82) при cut-off 1,86 (рис. 2А).

Определение экспрессии FcγRII (CD32) нейтрофилами показало снижение данного показателя в группе недоношенных новорожденных с сепсисом в сравнении с группами новорожденных с локализованным инфекционным процессом и без инфекционного диагноза (6,03 MFI [4,75–9,17] против 10,06 MFI [6,35–13,54]; $p = 0,025$ и 10,11 FMI [7,42–13,48]; $p = 0,005$ соответственно) (рис. 1Б). ROC-анализ показал, что уровень

Характеристики включенных в исследование групп недоношенных детей

Показатель	1-я группа (n = 63)	2-я группа (n = 24)	3-я группа (n = 15)
Гестационный возраст, нед min–max	31 (28; 33) 26–36	32 (30; 34) 28–36	30 (28; 32) 25–35
Масса тела, г min–max	6 (5; 6) 5–7	6 (6; 7) 5–7	6 (5; 6) 3–7
APGAR на 1-й мин жизни, баллы min–max	7 (7; 7) 6–8	7 (7; 7) 6–8	6 (6; 7) 5–8
APGAR на 5-й мин жизни, баллы min–max	1380 (1155; 1750) 750–2670	1790 (1430; 2125) 930–2570	1395 (1102; 1640) 690–2330

Рис. 1. Экспрессия CD64 (А) и CD32 (Б) на поверхности нейтрофилов недоношенных детей исследуемых групп
MFI – значение интенсивности флуоресценции.

экспрессии CD32 является ранним маркером сепсиса с чувствительностью 0,76 (95% ДИ 0,67–0,85), специфичностью 0,87 (95% ДИ 0,65–0,98) и положительной прогностической значимостью 0,92 (95% ДИ 0,74–0,96), AUC = 0,811 при cut-off 7,26 (рис. 2Б).

Анализ уровня экспрессии FcγRIII (CD16) не показал значимых различий в сравниваемых группах: значения флуоресценции составили 90,76 MFI [73,27–114,88] в 1-й группе, 93,75 MFI [76,28–104,28] во 2-й группе и 96,03 MFI [74,08–125,98] в 3-й группе соответственно.

Изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в ответ на стимуляцию *E. coli* показало, что недоношенные новорожденные с локализованным инфекционным процессом характеризуются повышением показателей «кислородного взрыва» в сравнении с группой недоношенных без инфекцион-

ного диагноза (17,7 SI [13,9–23,4] и 14,6 SI [13,2–19,07] соответственно, $p = 0,017$). В то же время продукция активных форм кислорода нейтрофилами в ответ на *E. coli* была значительно выше у недоношенных новорожденных с сепсисом по сравнению с другими группами (47,5 MFI [32,8–54,67]) (рис. 3).

Обсуждение

Известно, что новорожденные характеризуются сниженной функциональной активностью нейтрофилов, причем чем меньше гестационный возраст, тем сильнее недостаточность этих процессов [12]. Данный факт может отражать, по крайней мере частично, причину повышенной восприимчивости недоношенных новорожденных к инфекциям. Однако все больше данных свидетельствует о том, что нейтрофилы но-

Рис. 2. ROC-кривая для исследуемых лабораторных показателей: А – CD64-MFI и CD64-индекса; Б – CD32-MFI

ворожденных в норме не испытывают функциональный дефицит вследствие своей незрелости, а скорее «запрограммированы» на снижение активности для обеспечения нормальной адаптации к внеутробной жизни [15]. Показано, что иммунная система даже глубоко недоношенных новорожденных способна к развитию всех основных механизмов иммунного ответа на чужеродные антигены [19]. Таким образом, в возникновении неонатальных инфекций определенную роль может играть дисрегуляция иммуноопосредованных реакций.

В настоящей работе продемонстрировано, что сепсис в раннем неонатальном периоде ассоциирован с повышением экспрессии активирующего FcγRI (CD64) и снижением экспрессии регуляторного FcγRII (CD32). Баланс между активирующим и ингибирующим FcγR может быть принципиальным в регуляции иммунного ответа.

Интересен тот факт, что у недоношенных новорожденных FcγRIII (CD16) отвечает за опсонофагоцитарные реакции (а не CD64, как у взрослых), так как повышение экспрессии CD16 на поверхности гранулоцитов приводит к стимуляции фагоцитоза [20]. Эти различия могут быть частью баланса системы иммунной регуляции новорожденного между предотвращением чрезмерных воспалительных реакций и защитой от патогенов. В то же время в нашем исследовании определение экспрессии CD16 в исследуемых группах не показало статистически значимых различий.

Увеличенная продукция активных форм кислорода нейтрофилами у недоношенных с сепсисом позволяет предположить, что генерализованная инфекция первоначально запускает «кислородный взрыв» и функционирует в качестве праймера, в конечном итоге приводя к увеличению продукции активных форм кислорода после повторной стимуляции клеток *in vitro*. Ввиду весьма значительного различия в интенсивности «кислородного взрыва» между группами недоношенных и доношенных новорожденных [21] данный факт может указывать на то, что основное различие между нейтрофилами данных групп заключается в эффективности внутриклеточных бактерицидных реакций после фагоцитоза, а не в процентном количестве активных фагоцитирующих клеток.

■ Литература

1. Щеголев А.И., Мишин О.Д., Туманова У.Н., Шувалова М.П. Неонатальный сепсис как причина перинатальной смертности в Российской Федерации. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016; 5 (4): 589–94.
2. Kallman J., Schollin J., Schalen C., Erlandsson A., Kihlstrom E. Impaired phagocytosis and opsonisation towards group B streptococci in preterm neonates. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 1998; 78 (1): F46–50. DOI: <https://doi.org/10.1136/fn.78.1.f46>
3. Wolach B., Dolfin T., Regev R., Gilboa S., Schlesinger M. The development of the complement system after 28 weeks' gestation. Acta Paediatr. 1997; 86 (5): 523–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1997.tb08924.x>
4. Cuenca A.G., Joiner D.N., Gentile L.F., Cuenca A.L., Wynn J.L. TRIF-dependent innate immune activation is critical for survival to

Рис. 3. Интенсивность «кислородного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов в ответ на стимуляцию *E. coli* в исследуемых группах недоношенных

SI – индекс стимуляции: сравнительная характеристика интенсивности «кислородного взрыва», рассчитывается как отношение MFI нейтрофилов, стимулированных *E. coli*, к MFI нейтрофилов отрицательного контроля (без стимуляции *E. coli*).

Заключение

Функциональное состояние системы иммунного надзора организма, а именно ее возрастные особенности, может быть основным фактором, определяющим неэффективность подходов к профилактике и терапии неонатальных инфекций. Дальнейшее изучение точных механизмов становления иммунной системы у плода и у недоношенного новорожденного может послужить базой для более глубокого понимания патогенетических основ заболеваний перинатального периода и позволит разработать дифференцированный подход к профилактике тяжелых осложнений заболеваний перинатального периода, что позволит улучшить прогноз жизни и здоровья и снизить частоту инвалидизации детей с ОНМТ и ЭНМТ.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Мухин В.Е., Ярцев М.Н.; сбор и обработка материала – Мухин В.Е., Милева О.И.; написание текста, редактирование – Мухин В.Е., Панкратьева Л.Л.; окончательный вариант и целостность текста – Володин Н.Н.

- neonatal gram-negative sepsis. J. Immunol. 2015; 194 (3): 1169–77. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302676>
5. Хаитов Р.М. Иммунология. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016: 496 с. ISBN 978-5-9704-3842-8
6. Quinn M.T., Gauss K.A. Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase: comparison with nonphagocyte oxidases. J. Leukoc. Biol. 2004; 76 (4): 760–81. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0404216>
7. Воробьева Н.В., Кондратенко И.В., Вахлярская С.С., Черняк Б.В., Пинегин Б.В. Роль митохондриальной поры в эффекторных функциях нейтрофилов человека. Иммунология. 2020; 41 (1): 42–53. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-42-53>
8. Christensen R.D., Yoder B.A., Baer V.L., Snow G.L., Butler A. Early-onset neutropenia in small-for-gestational-age infants.

Pediatrics. 2015; 136 (5): e1259–67. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1638>

9. Manzoni P., Farina D., Monetti C., Priolo C., Leonessa M., Giovannozzi C., Gomirato G. Early-onset neutropenia is a risk factor for *Candida* colonization in very low-birth-weight neonates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 57 (1): 77–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.10.018>

10. Teng R.J., Wu T.J., Garrison R.D., Sharma R., Hudak M.L. Early neutropenia is not associated with an increased rate of nosocomial infection in very low-birth-weight infants. *J. Perinatol.* 2009; 29 (3): 219–24. DOI: <https://doi.org/10.1038/jp.2008.202>

11. Carr R., Brocklehurst P., Doré C.J., Modi N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neonates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2009; 373 (9659): 226–33. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60071-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60071-4)

12. Lawrence S.M., Corriden R., Nizet V. Age-appropriate functions and dysfunctions of the neonatal neutrophil. *Front. Pediatr.* 2017; 5: 23. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00023>

13. Ge Y., Gong M., Colliou N. et al. Neonatal intestinal immune regulation by the commensal bacterium, *P. UF1*. *Mucosal Immunol.* 2019; 12 (2): 434–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0125-1>

14. Ohlsson A., Lacy J.B. Intravenous immunoglobulin for suspected or proven infection in neonates (review). *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 3. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001239.pub4>

15. Kobayashi S.D., Voyich J.M., Whitney A.R., DeLeo F.R. Spontaneous neutrophil apoptosis and regulation of cell survival by granulocyte macrophage-colony stimulating factor. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78 (6): 1408–18. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0605289>

16. Потапнев М.П., Гушина Л.М., Мороз Л.А. Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии. *Иммунология.* 2019; 40 (5): 84–96. DOI: <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-15009>

17. Wang Y., Jönsson F. Expression, role, and regulation of neutrophil $\text{Fc}\gamma$ receptors. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1958. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01958>

18. Allen R.C. Neutrophil leukocyte: combustive microbicidal action and chemiluminescence. *J. Immunol. Res.* 2015; 2015: 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/794072>

19. Makoni M., Eckert J., Pereira H.A., Nizet V., Lawrence S.M. Alterations in neonatal neutrophil function attributable to increased immature forms. *Early Hum. Dev.* 2016; 103: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2016.05.016>

20. Filias A., Theodorou G.L., Mouzopoulou S., Varvarigou A.A., Mantagos S., Karakantza M. Phagocytic ability of neutrophils and monocytes in neonates. *BMC Pediatr.* 2011; 11 (1): 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2431-11-29>

21. Björkqvist M., Jurstrand M., Bodin L., Fredlund H., Schollin J. Defective neutrophil oxidative burst in preterm newborns on exposure to coagulase-negative staphylococci. *Pediatr. Res.* 2004; 55 (6): 966–71. DOI: <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000127018.44938.89>

■ References

1. Shchegolev A.I., Mishnev O.D., Tumanova U.N., Shuvalova M.P. Neonatal sepsis as a cause of perinatal mortality in the Russian Federation. *Mezhdunarodniy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2016; 5 (4): 589–94. (in Russian)

2. Kallman J., Schollin J., Schalen C., Erlandsson A., Kihlstrom E. Impaired phagocytosis and opsonisation towards group B streptococci in preterm neonates. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 1998; 78 (1): F46–50. DOI: <https://doi.org/10.1136/fn.78.1.f46>

3. Wolach B., Dolfin T., Regev R., Gilboa S., Schlesinger M. The development of the complement system after 28 weeks' gestation. *Acta Paediatr.* 1997; 86 (5): 523–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1997.tb08924.x>

4. Cuenca A.G., Joiner D.N., Gentile L.F., Cuenca A.L., Wynn J.L. TRIF-dependent innate immune activation is critical for survival to neonatal gram-negative sepsis. *J. Immunol.* 2015; 194 (3): 1169–77. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302676>

5. Khaitov R.M. *Immunology.* Moscow: GEOTAR-Media, 2016: 496 p. ISBN 978-5-9704-3842-8 (in Russian).

6. Quinn M.T., Gauss K.A. Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase: comparison with nonphagocyte oxidases. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 76 (4): 760–81. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0404216>

7. Vorobyeva N.V., Kondratenko I.V., Vakhlyarskaya S.S., Chernyak B.V., Pinegin B.V. The role of the mitochondrial pore in the effector functions of human neutrophils. *Immunologiya.* 2019; 41 (1): 42–53. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-42-53> (in Russian)

8. Christensen R.D., Yoder B.A., Baer V.L., Snow G.L., Butler A. Early-onset neutropenia in small-for-gestational-age infants. *Pediatrics.* 2015; 136 (5): e1259–67. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1638>

9. Manzoni P., Farina D., Monetti C., Priolo C., Leonessa M., Giovannozzi C., Gomirato G. Early-onset neutropenia is a risk factor for *Candida* colonization in very low-birth-weight neonates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 57 (1): 77–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.10.018>

10. Teng R.J., Wu T.J., Garrison R.D., Sharma R., Hudak M.L. Early neutropenia is not associated with an increased rate of nosocomial infection in very low-birth-weight infants. *J. Perinatol.* 2009; 29 (3): 219–24. DOI: <https://doi.org/10.1038/jp.2008.202>

11. Carr R., Brocklehurst P., Doré C.J., Modi N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neo-

nates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2009; 373 (9659): 226–33. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60071-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60071-4)

12. Lawrence S.M., Corriden R., Nizet V. Age-appropriate functions and dysfunctions of the neonatal neutrophil. *Front. Pediatr.* 2017; 5: 23. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00023>

13. Ge Y., Gong M., Colliou N., et al. Neonatal intestinal immune regulation by the commensal bacterium, *P. UF1*. *Mucosal Immunol.* 2019; 12 (2): 434–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0125-1>

14. Ohlsson A., Lacy J.B. Intravenous immunoglobulin for suspected or proven infection in neonates (review). *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 3. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001239.pub4>

15. Kobayashi S.D., Voyich J.M., Whitney A.R., DeLeo F.R. Spontaneous neutrophil apoptosis and regulation of cell survival by granulocyte macrophage-colony stimulating factor. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78 (6): 1408–18. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0605289>

16. Potapnev M.P., Gushchyna L.M., Moroz L.A. Human neutrophils subpopulations and functions heterogeneity in norm and pathology. *Immunologiya.* 2019; 40 (5): 84–96. DOI: <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-15009> (in Russian)

17. Wang Y., Jönsson F. Expression, role, and regulation of neutrophil $\text{Fc}\gamma$ receptors. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1958. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01958>

18. Allen R.C. Neutrophil leukocyte: combustive microbicidal action and chemiluminescence. *J. Immunol. Res.* 2015; 2015: 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/794072>

19. Makoni M., Eckert J., Pereira H.A., Nizet V., Lawrence S.M. Alterations in neonatal neutrophil function attributable to increased immature forms. *Early Hum. Dev.* 2016; 103: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2016.05.016>

20. Filias A., Theodorou G.L., Mouzopoulou S., Varvarigou A.A., Mantagos S., Karakantza M. Phagocytic ability of neutrophils and monocytes in neonates. *BMC Pediatr.* 2011; 11 (1): 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2431-11-29>

21. Björkqvist M., Jurstrand M., Bodin L., Fredlund H., Schollin J. Defective neutrophil oxidative burst in preterm newborns on exposure to coagulase-negative staphylococci. *Pediatr. Res.* 2004; 55 (6): 966–71. DOI: <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000127018.44938.89>

Сведения об авторах

Владимир Евгеньевич Мухин – вед. аналитик отдела анализа и прогнозирования медико-биологических рисков здоровью ФГБУ ЦСП ФМБА России, Москва, Российская Федерация
E-mail: muhinvldmr@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-8973-7890>

Панкратьева Людмила Леонидовна – д-р мед. наук, проф. кафедры педиатрии и организации здравоохранения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: liudmila.pankratyeva@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-1339-4155>

Милева Ольга Ивановна – зав. отделением реанимации и интенсивной терапии новорожденных № 1 ГКБ № 24 (Филиал № 2), Москва, Российская Федерация
E-mail: gkb24@zdrav.mos.ru
SCOPUS Id: 56175448800

Ярцев Михаил Николаевич – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. отделения иммунопатологии детей ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Российская Федерация
E-mail: m_yartsev@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-0952-2801>

Володин Николай Николаевич – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., проф. кафедры педиатрии и организации здравоохранения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: 0209nnv@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-2667-8229>

Authors' information

Vladimir E. Mukhin – Leader Analyst of Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: muhinvldmr@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-8973-7890>

Lyudmila L. Pankratyeva – MD, PhD, Prof. of the Chair of Pediatrics and Health Organization, Dmitry Rogachev NMRC PHOI of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: liudmila.pankratyeva@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-1339-4155>

Olga I. Mileva – Head of ORITN No. 1, Municipal Clinical Hospital No. 24 (Branch No. 2), Moscow, Russian Federation
E-mail: gkb24@zdrav.mos.ru
SCOPUS Id: 56175448800

Mikhail N. Yartsev – MD, PhD, Leader Researcher of the Department of Immunopathology of Children, NRC – Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: m_yartsev@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-0952-2801>

Nikolay N. Volodin – Acad. of RAS, MD, PhD, Prof., Prof. of the Chair of Pediatrics and Health Organization, Dmitry Rogachev NMRC PHOI of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: 0209nnv@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-2667-8229>