

Дискуссионные вопросы и новые стратегии применения препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения в неонатологической практике

Л.Л. Панкратьева^{1,2}, В.Е. Мухин¹, О.И. Милева², А.Г. Румянцев¹, Н.Н. Володин¹

¹ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²Филиал ГБУЗ «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения города Москвы» – «Перинатальный центр»; Россия, 127287, Москва, 4-й Вятский переулок, 39

Контактные данные: Людмила Леонидовна Панкратьева fdoc@yandex.ru

Риск развития генерализованных бактериальных инфекций у глубоко недоношенных детей значительно выше по сравнению с более зрелыми по сроку гестации новорожденными. В неонатологической практике препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения (ИГВВ) применяются как в качестве стратегии профилактики, так и адъювантной терапии при реализации раннего и позднего неонатального сепсиса. В то же время незрелость иммунной системы у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела является основной причиной, определяющей неэффективность применения препаратов ИГВВ у недоношенных детей. Чрезвычайную актуальность приобретают выявление факторов, ограничивающих терапевтическую эффективность препаратов ИГВВ у недоношенных детей, и определение стратегии оптимизации эффективности ИГВВ у недоношенных новорожденных с внутриутробной и нозокомиальной инфекциями.

Ключевые слова: недоношенность, иммуноглобулины для внутривенного введения, фагоцитоз, неонатальный сепсис, иммуномодулирующая терапия

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-2-25-31

Discussion issues and new strategies of intravenous immunoglobulins treatment in neonatal practice

L.L. Pankratieva^{1,2}, V.E. Mukhin¹, O.I. Mileva², A.G. Rumyantsev¹, N.N. Volodin¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia;

²City Clinical Hospital № 24 of the Moscow City Health Department – Perinatal Center; 39 4th Vyatsky pereulok, Moscow, 127287, Russia

The risk of developing generalized bacterial infections in deeply premature infants is significantly higher than compared with the more mature newborns in terms of gestational age. In the neonatological practice, immunoglobulin preparations for intravenous administration (IVIg) are used both as a strategy for prevention and adjuvant therapy for the implementation of early and late neonatal sepsis. At the same time, the immaturity of the immune system in children with underweight and extremely low body weight is the main cause determining the ineffectiveness of IVIg medications in premature infants. Extremely actuality is the identification of factors limiting the therapeutic effectiveness of IVIg medications in premature infants, and the definition of a strategy for optimizing the effectiveness of IVIg in preterm infants with intrauterine and nosocomial infections.

Key words: prematurity, immunoglobulins for intravenous administration, phagocytosis, neonatal sepsis, immunomodulatory therapy

Обоснование

История клинических исследований, направленных на установление предполагаемой терапевтической эффективности препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения (ИГВВ), насчитывает более 15 лет [1–4]. Мнение, что применение ИГВВ позволяет повысить характерные для недоношенных детей низкие уровни иммуноглобулинов сыворотки крови и оптимизировать функцию иммунной защиты организма являлось определяющим в глобальной стратегии повышения выживаемости и улучше-

ния клинических исходов пациентов с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой (ЭНМТ) массой тела. Риск развития тяжелых бактериальных инфекций у глубоко недоношенных детей значительно выше по сравнению с более зрелыми по сроку гестации новорожденными [5], а значит, именно эта группа пациентов может иметь максимальный эффект от проведения превентивных мероприятий и адъювантной терапии при реализации неонатального сепсиса. Снижение частоты развития септических осложнений у детей с ОНМТ и ЭНМТ приобретает особую

важность, учитывая высокую вероятность развития инвалидизирующих состояний, ассоциированных с неонатальной инфекцией [6, 7].

В неонатологической практике препараты ИГВВ применяются в качестве адьювантной терапии при реализации раннего и позднего неонатального сепсиса. В первых метаанализах базы данных Cochrane продемонстрировано снижение показателя летальности в группе новорожденных с подтвержденной тяжелой бактериальной инфекцией, получивших терапию препаратом ИГВВ (RR 0,55 (95 % ДИ 0,31–0,98)) [8]. Однако детальное изучение исследований, использованных для систематического анализа, показало, что дети с ОНМТ и ЭНМТ составляют наименьшую долю от общего числа клинических наблюдений (дети с гестационным возрастом менее 30 недель – 15 %, менее 28 недель – 7 %). В связи с этим было проведено крупное мультицентровое плацебоконтролируемое, двойное слепое, рандомизированное исследование INIS (International neonatal immunotherapy study), в которое вошли новорожденные дети всех гестационных и постнатальных возрастов с предполагаемой или подтвержденной инфекционной патологией [9–11]. Однако, несмотря на проведенную рандомизацию пациентов по полу, гестационному возрасту и массе тела при рождении, вопрос о клинической эффективности препаратов ИГВВ у недоношенных детей различного гестационного возраста с ранним и поздним неонатальным сепсисом остается открытым.

Отсутствие доказанной эффективности ИГВВ в лечении и профилактике неонатальных инфекций привело к тому, что препараты данной группы стали крайне редко применять в комплексном лечении генерализованных инфекций и сепсиса у недоношенных новорожденных, тем самым полностью исключив единственный биологически целесообразный патогенетический компонент терапии из существующих на сегодняшний день.

Безусловно, причинами низкой эффективности применения препаратов ИГВВ для профилактики и лечения неонатального сепсиса могут быть ограничения в дизайне исследования, неадекватная доза препарата, вариации этиологически значимых агентов, низкие уровни патогенспецифичных антител. Однако, с нашей точки зрения, именно незрелость иммунной системы у детей с ОНМТ и ЭНМТ и является основным фактором, определяющим неэффективность применения препаратов ИГВВ у недоношенных новорожденных.

Иммуноглобулины являются ключевыми молекулами, обеспечивающими защиту организма от микробной инфекции [12]. В то же время состояние иммунокомпетентности организма предполагает согласованную работу огромного числа компонентов иммунной системы, включая иммуноглобулины, си-

стему комплемента и функциональные цитотоксические фагоциты. Результаты ограниченного числа исследований свидетельствуют о том, что большая часть составляющих вышеуказанного комплекса не активна у детей с ОНМТ и ЭНМТ в той же степени, что и у доношенных новорожденных, детей младшего и старшего возраста и взрослых [13–17].

Применение препаратов ИГВВ у новорожденных может способствовать улучшению иммунного ответа путем взаимодействия с поверхностными клеточными рецепторами, обеспечения опсонофагоцитарных реакций, включая активацию комплемента, стимуляцию антителозависимой клеточной цитотоксичности и праймирование респираторного взрыва гранулоцитов [8, 18]. К дополнительным эффектам препаратов ИГВВ можно отнести ограничение синдрома системной воспалительной реакции, развивающегося вследствие тяжелой инфекции [19].

Связывание иммуноглобулинов с поверхностными клеточными рецепторами улучшает элиминацию бактерий функционально активными полиморфноядерными лейкоцитами [20]. Участок антитела Fc взаимодействует с различными Fc-рецепторами и лигандами, которые сообщают ему множество важных функциональных возможностей, так называемые эффекторные функции. В иммуноглобулинах класса G (IgG) Fc-участок включает иммуноглобулиновые домены C γ 2 и C γ 3 и N-концевой шарнир, ведущий в C γ 2. Важное семейство Fc-рецепторов IgG включает гамма-рецепторы Fc (Fc γ Rs). Эти рецепторы осуществляют связь между антителами и клеточными механизмами иммунной системы. Это семейство белков включает Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) и Fc γ RIII (CD16) [21]. Fc γ RI- и Fc γ RIII-рецепторы относятся к активирующим рецепторам, а Fc γ RII – к ингибирующим рецепторам [22].

Эти рецепторы экспрессируются в различных иммунных клетках, включающих моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, В-клетки, большие зернистые лимфоциты, клетки Лангерганса, натуральные киллеры и Т-клетки. Образование комплекса Fc/Fc γ R направляет эти эффекторные клетки к местам связывания антигенов, что обычно приводит к проведению сигнала в клетках и важным последующим иммунным реакциям. Способность опосредовать фаготоксическую эффекторную функцию является потенциальным механизмом, с помощью которого антитела реализуют противoinфекционную защиту [21].

Целью исследования явилось прицельное выявление факторов, ограничивающих профилактическую и терапевтическую эффективность препаратов ИГВВ у недоношенных детей и определение патогенетически обоснованной стратегии оптимизации эффективности ИГВВ у недоношенных новорожденных.

Пациенты и методы

Участники исследования

Исследование было выполнено в отделе неонатологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева на базе филиала ГБУЗ «Городская больница № 24 Департамента здравоохранения г. Москвы» – «Перинатальный центр». Роженицам, поступившим с началом родовой деятельности либо после стимуляции, было предложено принять участие в исследовании. В качестве критериев включения были определены следующие: преждевременные роды через естественные родовые пути (гестационный возраст – 25–37 недель), отсутствие системных заболеваний у матери, отсутствие аномалий плода. Критерии включения в контрольную группу: одноплодная доношенная беременность, роды через естественные родовые пути, оценка по шкале Апгар 8 баллов и более на 1-й и 5-й минутах жизни, отсутствие системных заболеваний у матери, которые могли бы однозначно влиять на состояние новорожденного, отсутствие аномалий плода. Объектом исследования являлась пуповинная кровь (ПК), а также периферическая венозная кровь новорожденных, собранная на 14–16-е и 28–30-е сутки жизни.

Взятие образцов

Сразу после родов осуществляли забор ПК в стерильные вакуумные пробирки, содержащие гепарин в качестве антикоагулянта. Минимальный объем ПК для исследования составлял 6 мл. Забор периферической крови для исследования выполнялся у недоношенных новорожденных, находящихся в отделении реанимации 1-го и 2-го этапов выхаживания, из венозного катетера одновременно с образцами для клинических анализов крови. Биоматериал собирали в микропробирки с антикоагулянтом. Объем периферической крови составлял не более 500 мкл. Все исследования выполнялись не позднее 8 ч после взятия биоматериала.

Оценка фагоцитарной активности и кислородного взрыва

Фагоцитарную активность и кислородный взрыв оценивали только в образцах ПК. Количественную оценку фагоцитарной активности гранулоцитов в образцах гепаринизированной крови выполняли методом проточной цитофлуориметрии с использованием флуоресцентно меченных *E. coli*. Бактерии, используемые в тесте, были преопсонизированы антителами человеческой плазмы. Таким образом, наличие опсонин в исследуемом образце крови не оказывало решающего влияния на результаты. Результаты представлены как процент фагоцитирующих гранулоцитов (поглощение одной или более флуоресцентно меченных бактерий одной клеткой).

Окислительный взрыв оценивали методом проточной цитометрии с помощью набора FagoFlowEx Kit. Этот тест основан на оценке окислительного взрыва в гранулоцитах после стимуляции *E. coli*. После поглощения бактерии в фагоците активируется NADPH-оксидаза, которая опосредует продукцию активных форм кислорода. Продукты кислорода внутри фагоцита окисляют дигидрорадамин 123 и превращают его во флуоресцентный родамин 123, который детектируется на проточном цитофлуориметре. В качестве положительного контроля использовали форбол-12-мирикат-13-ацетат, который инициирует кислородный взрыв без адгезии и поглощения патогена. Результаты оценивали путем расчета индекса стимуляции: отношение средней интенсивности флуоресценции активированных гранулоцитов стимулированных образцов и отрицательных контролей.

Оценка поверхностной экспрессии рецепторов Fcγ

Для определения уровня экспрессии клеточных рецепторов в работе использовали метод многоцветной проточной цитометрии. Оценка экспрессии маркеров проводилась в соответствии с протоколом, разработанным производителем набора антител. В состав набора входили следующие антитела: анти-CD45, меченные PacificBlue; анти-CD14, меченные APC; анти-CD64 (FcγRI), меченные PE; анти-CD16 (FcγRIII), меченные PC7; анти-CD32 (FcγRII), меченные PC5; анти-CD11b (C3b), меченные PE; анти-CD11c (ITGAX), меченные FITC, и соответствующие им изотипические контроли для исключения аутофлуоресценции образцов (IgG₁ или IgG₂). Для сбора данных использовали проточный цитофлуориметр Navios. Анализ данных производили с помощью программного обеспечения Kaluza®.

Культуральные исследования

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из образцов ПК методом центрифугирования в двойном градиенте плотности фикола (1,077 и 1,093 г/л). Выделенную фракцию нейтрофильных гранулоцитов переносили в стерильные центрифужные пробирки и трижды отмывали от градиента фосфатным солевым буфером путем центрифугирования. После отмывки клетки ресуспендировали в культуральной среде RPMI-1640, содержащей 10 % инактивированной фетальной телячьей сыворотки, 2мМ L-глутамин, 50 Ед/мл пенициллина. Клетки переносили в 96-луночные планшеты, культивировали в присутствии гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в CO₂-инкубаторе в течение 24 ч, после чего отмывали от среды и выполняли цитометрический анализ уровня экспрессии клеточных рецепторов.

Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 12.6. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Достоверность отличий оценивали при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Были исследованы 48 образцов ПК, из них 10 получены во время физиологических родов (средний гестационный возраст – 38,4 недели, масса при рождении – 2440–4100 г, средняя масса – 3371 г) и 38 образцов ПК, собранных в результате преждевременных родов. Из них 18 образцов ПК недоношенных новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ (25–31-я неделя гестации, средний гестационный возраст – 27,5 недели, масса при рождении – 820–1700 г, средняя масса тела – 1095 г) и 20 образцов ПК недоношенных новорожденных с низкой массой тела (НМТ) (32–36-я неделя гестации, средний гестационный возраст – 33,7 недели, масса при рождении – 1470–2440 г, средняя масса тела – 2055 г).

Пациенты в зависимости от клинического состояния были разбиты на подгруппы:

- недоношенные новорожденные с локализованным инфекционным процессом (9 детей с ЭНМТ и ОНМТ и 14 – с НМТ);
- недоношенные новорожденные с генерализованной инфекцией (2 и более очагов инфекции, синдром системного воспалительного ответа, органная недостаточность – 9 детей с ОНМТ и ЭНМТ и 6 – с НМТ)

По результатам иммунофенотипического исследования поверхностных рецепторов нейтрофильных гранулоцитов было выявлено, что экспрессия FcγRI (CD64) значимо повышена у недоношенных детей при рождении по сравнению с доношенными новорожденными. В группе недоношенных новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ медиана средних значений интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI) маркера CD64 составила 7,09 MFI (5,13–11,46). В группе недоношенных новорожденных с НМТ данный показатель составил 6,01 MFI (5,32–9,77). В группе доношенных новорожденных она была равна 4,27 MFI (2,39–5,78). Также продемонстрировано, что к концу первого месяца жизни экспрессия CD64 у недоношенных детей приближается к показателям экспрессии у доношенных детей при отсутствии факта генерализации инфекционного процесса (4,85 MFI (3,24–6,27)) (рис. 1). Было показано, что течение инфекционного процесса у недоношенных детей с генерализацией инфекции сопровождается

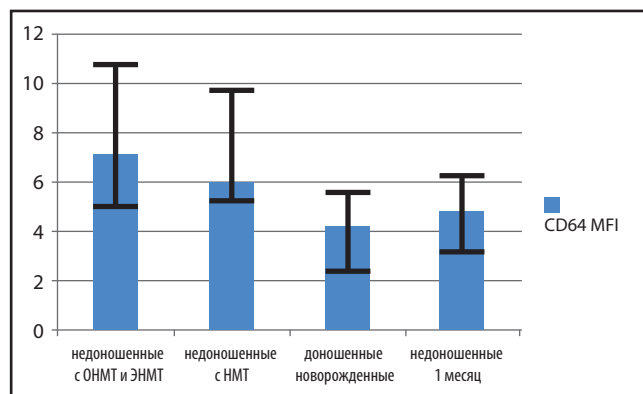


Рис. 1. Экспрессия FcγRI (CD64) у недоношенных детей при рождении и к концу первого месяца жизни в сравнении с доношенными новорожденными

Fig. 1. Expression of FcγRI (CD64) in premature infants at birth and at the end of the first month of life in comparison with full-term newborns

увеличением экспрессии CD64 на поверхности полиморфноядерных нейтрофилов, что позволило предложить CD64-рецептор в качестве дополнительного маркера для диагностики сепсиса. При этом наибольшей диагностической чувствительностью обладает CD64-индекс: отношение величины экспрессии рецептора на поверхности нейтрофилов к аналогичному показателю моноцитов. Проведенный анализ выявил, что CD64-индекс является достоверным ранним маркером сепсиса с высокой чувствительностью (79 %) и специфичностью (87 %), AUC 0,856 при cut-off 0,381 (рис. 2).

Что интересно, в отличие от взрослых увеличение экспрессии данного рецептора на клетках недоношенных детей не обеспечивает лучшую опсонофагocитарную активность полиморфноядерным лейкоцитам.

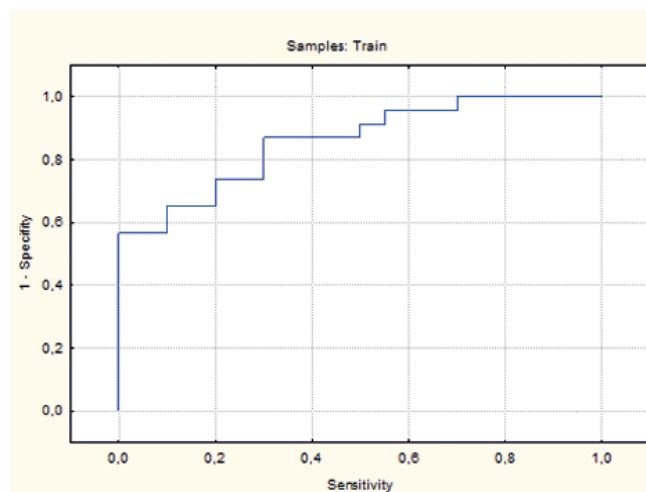


Рис. 2. ROC-кривая для исследуемого лабораторного показателя – CD64-индекса (AUC 0,856; cut-off 0,381)

Fig. 2. ROC-curve for the laboratory rates – CD64-index (AUC 0,856; cut-off 0,381)

Более того, нами продемонстрировано, что данный рецептор экспрессируется постоянно на поверхности полиморфноядерных лейкоцитов как доношенных, так и недоношенных новорожденных, в то время как его экспрессия на поверхности гранулоцитов у взрослых крайне низкая и увеличивается только при наличии синдрома системной воспалительной реакции [17].

Определение экспрессии $Fc\gamma RII$ (CD32) в исследуемых группах показало, что данный показатель не зависит от гестационного возраста и степени зрелости новорожденного. Для группы недоношенных новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ экспрессия была на уровне 13,1 MFI (8,12–17,53), в группе недоношенных новорожденных с НМТ – 15,61 MFI (8,0–18,13), а в группе доношенных новорожденных – 11,1 MFI (8,46–15,44). Исключение составили дети с генерализацией инфекционного процесса, сопровождающегося абсолютной нейтропенией: для этих пациентов медиана экспрессии CD32 составила 6,0 MFI (3,71–7,03). Учитывая регуляторную функциональную активность данного рецептора, можно предположить его роль в контроле за апоптозом нейтрофилов при лиганд-рецепторном взаимодействии с молекулой иммуноглобулина. Экспрессия данного рецептора на поверхности полиморфноядерных лейкоцитов также является отличительной особенностью новорожденных различного гестационного возраста (в норме у взрослых данный рецептор на поверхности нейтрофилов отсутствует) [12].

Анализ экспрессии $Fc\gamma RIII$ (CD16) продемонстрировал снижение экспрессии данного маркера на поверхности гранулоцитов недоношенных детей по сравнению с доношенными новорожденными: для недоношенных новорожденных с ОНМТ/ЭНМТ и НМТ этот показатель составил 80,86 MFI (58,7–114,76) и 99,73 MFI (71,32–125,98) соответственно, в то время как у доношенных детей экспрессия данного рецептора находилась на уровне 125,3 MFI (95,45–144,12). Для обеих групп недоношенных новорожденных наблюдалось увеличение экспрессии CD16 к концу первого месяца жизни (118,45 MFI (99,45–132,19)) (рис. 3). Интересен тот факт, что у недоношенных новорожденных функциональная активность именно данного рецептора отвечает за опсонофагоцитарные реакции (а не $Fc\gamma RI$ (CD64), как у взрослых), так как повышение экспрессии $Fc\gamma RIII$ (CD16) на поверхности гранулоцитов приводит к стимуляции фагоцитоза.

Изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в образцах ПК показало, что недоношенные новорожденные характеризуются сниженной способностью полиморфноядерных лейкоцитов к фагоцитозу и респираторному взрыву в сравнении с доношенными новорожденными, и чем меньше гестационный возраст ребенка, тем более выражена функциональная недостаточность указанных процессов (рис. 4, 5).

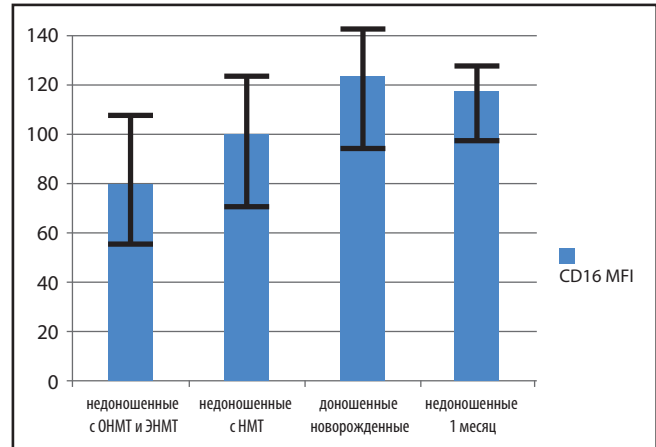


Рис. 3. Экспрессия $Fc\gamma RIII$ (CD16) у недоношенных детей при рождении и к концу первого месяца жизни в сравнении с доношенными новорожденными

Fig. 3. Expression of $Fc\gamma RIII$ (CD16) in premature infants at birth and by the end of the first month of life in comparison with full-term newborns

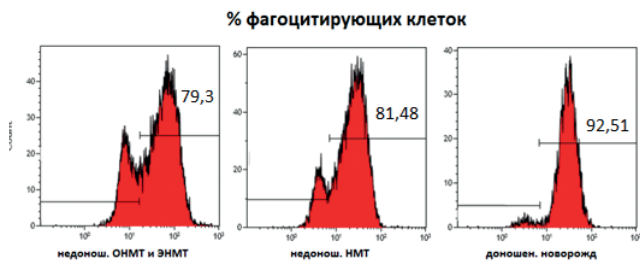


Рис. 4. Доля фагоцитирующих клеток в группах недоношенных и доношенных новорожденных

Fig. 4. The share of phagocytic cells in groups of premature and full-term newborns

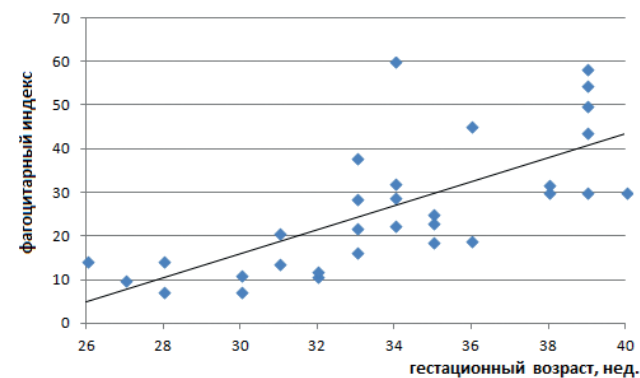


Рис. 5. Корреляционный анализ интенсивности респираторного взрыва полиморфноядерных лейкоцитов гестационного возраста новорожденных ($R_s = 0,67$; $p = 0,0005$)

Fig. 5. Correlation analysis of the respiratory burst of polymorphonuclear leukocytes of the gestational age of newborns ($R_s = 0,67$; $p = 0,0005$)

Таким образом, оптимизация эффективности препаратов ИГВВ возможна при условии повышения экспрессии $Fc\gamma RIII$ (CD16) на поверхности гранулоцитов

в целях стимуляции опсонофагоцитарных реакций, а также FcγRII (CD32) лиганд-специфичного связывания для предупреждения преждевременного интенсивного апоптоза полиморфноядерных лейкоцитов.

В качестве ко-стимулятора иммуноглобулин-опосредованной опсонизации и фагоцитоза нами предложен Г-КСФ, который в основном продуцируется моноцитами-макрофагами, а также фибробластами, эндотелиальными клетками и клетками стромы костного мозга, влияет на гранулоцитарный росток кроветворения, стимулирует деление и дифференцировку стволовых клеток, регулирует образование функционально активных нейтрофилов и их выход в кровь из костного мозга. Г-КСФ также способен усиливать активность нейтрофилов. Как правило, в плазме крови присутствует около 10 пкг/мл эндогенного Г-КСФ, в некоторых случаях (инфекционные процессы, апластическая анемия, нейтропения и др.) его концентрация может быть выше – до 100 пкг/мл. Присутствие в плазме определенного уровня Г-КСФ объясняется его сигнальной функцией для поддержания в циркуляции стационарного уровня нейтрофилов.

Нами была выполнена оценка модулирующего эффекта Г-КСФ на нейтрофильные гранулоциты в условиях *in vitro*. В данной модели продемонстрировано, что культивирование гранулоцитов в присутствии Г-КСФ приводит к 2,4–5-кратному повышению экспрессии рецепторов FcγRIII (CD16) и FcγRII (CD32) на этих клетках. Кроме того, ко-культивированные с Г-КСФ гранулоциты проявляют значительно большую интенсивность кислородного взрыва (рис. 6).

Таким образом, Г-КСФ является крайне важным цитокином для миелопоэза и формирования клеток иммунной системы. Его воздействие на клетки-предшественники заключается не только в запуске механизма образования дифференцированных колоний, но и в активации такой специализированной функции, как фагоцитоз, у клеток с законченной дифференцировкой, в том числе путем повышения экспрессии рецептора FcγRIII (CD16) на гранулоцитах. Что инте-

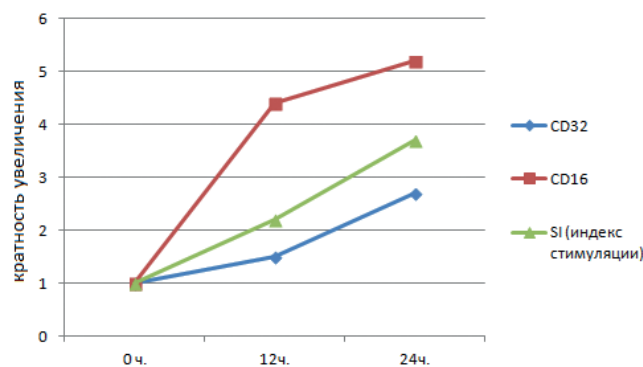


Рис. 6. Повышение экспрессии рецепторов FcγRIII (CD16) и FcγRII (CD32) на гранулоцитах и усиление интенсивности кислородного взрыва после совместного *in vitro* культивирования клеток с Г-КСФ

Fig. 6. Increasing the expression of FcγRIII (CD16) and FcγRII (CD32) receptors on granulocytes and enhancing the intensity of respiratory burst after *in vitro* co-cultivation of cells with G-CSF

ресно, добавление Г-КСФ увеличивает и экспрессию FcγRII (CD32), тем самым препятствуя чрезмерному преждевременному апоптозу гранулоцитов и развитию абсолютной нейтропении. Экспрессия рецепторов к Г-КСФ на нейтрофилах новорожденных детей одинакова с таковой у взрослых. В то же время, продукция Г-КСФ и экспрессия мРНК к Г-КСФ достоверно снижены у новорожденных детей по сравнению со взрослыми [23]. Принимая во внимание все вышесказанное, комбинация ИГВВ с Г-КСФ может обеспечить высокую эффективность первых в терапии тяжелых инфекций у новорожденных различного гестационного возраста.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Дегтярева М.В., Бирюкова Т.В., Володин Н.Н. и др. Клинико-лабораторные особенности раннего неонатального сепсиса у детей различного гестационного возраста и оценка эффективности иммунозаместительной терапии Пентаглобином. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2008;87(1):32–40. [Degtyareva M.V., Biryukova T.V., Volodin N.N. et al. Clinical and laboratory peculiarities of early neonatal sepsis in children with different gestation age and estimation of efficacy of immunosubstitutive therapy by Pentaglobin. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Peditriia. Journal named after G.N. Speransky* 2008;87(1):32–40. (In Russ.)].
2. Fanaroff A.A., Korones S.B., Wright L.L. et al. A controlled trial of intravenous immune globulin to reduce nosocomial infections in very-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health And Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med* 1994;330(16):1107–13. doi: 10.1056/NEJM199404213301602.
3. Christensen R.D., Hardman T., Thornton J., Hill H.R. A randomized, double-blind, placebo-controlled investigation of the safety of intravenous immune globulin administration to preterm neonates. *J Perinatol* 1989;9(2):126–30. PMID: 2738720.
4. Kempf C., Stucki M., Boschetti N. Pathogen inactivation and removal procedures used in the production of intravenous immunoglobulins. *Biologicals* 2007;35(1):35–42. doi: 10.1016/j.biologicals.2006.01.002.
5. Stoll B.J., Hansen N. Infections in VLBW infants: studies from the NICHD Neonatal Research Network. *Semin Perinatol* 2003;27(4):293–301. PMID: 14510320.
6. Adams-Chapman I., Stoll B.J. Neonatal infection and long-term neurodevelopmental outcome in the preterm infant. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19(3):290–7. doi: 10.1097/01.qco.0000224825.57976.87.
7. Wilson-Costello D., Friedman H., Minich N. et al. Improved neurodevelopmental outcome for extremely low birth weight infants in 2000–2002. *Pediatrics* 2007;119(1):37–45. doi: 10.1542/peds.2006-1416
8. Ohlsson A., Lacy J.B. Intravenous immunoglobulin for suspected or subsequently proven infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2004. Issue no. 1. Article no. CD001239.
9. Ohlsson A., Lacy J.B. Intravenous immunoglobulin for suspected or subsequently proven infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2013. Issue no. 7. Article no. CD001239.
10. INIS Study Collaborative Group. The INIS Study. International neonatal immunotherapy study: non-specific intravenous immunoglobulin therapy for suspected or proven neonatal sepsis – an international, placebo controlled, multicentre randomised trial. *BMC Pregnancy Childbirth* 2008;8:52. doi: 10.1186/1471-2393-8-52.
11. Ohlsson A., Lacy J.B. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2004. Issue no. 1. Article no. CD000361.
12. Negi V.S., Elluru S., Sibéris S. et al. Intravenous immunoglobulin: an update on the clinical use and mechanisms of action. *J Clin Immunol* 2007;27(3):233–45. doi: 10.1007/s10875-007-9088-9.
13. Mussi-Pinhata M.M., Rego M.A. Immunological peculiarities of extremely preterm infants: a challenge for the prevention of nosocomial sepsis. *J Pediatr (Rio J)* 2005; 81(1 Suppl):S59–68. PMID: 15809699.
14. Källman J., Schollin J., Schalén C., Erlandsson A., Kihlström E. Impaired phagocytosis and opsonisation towards group B streptococci in preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;78(1):F46–50. PMID: 9536841.
15. 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. PMID: 9183493.
16. Cates K.L., Goetz C., Rosenberg N. et al. Longitudinal development of specific and functional antibody in very low birth weight premature infants. *Pediatr Res* 1988;23(1):14–22. doi: 10.1203/00006450-198801000-00005.
17. Lewis D., Wilson C. Developmental immunology and role of host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection. In: Remington, Klein, Wilson and Baker (eds.) *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 6th ed. Elsevier Saunders: Philadelphia, 2006.
18. Baley J.E. Neonatal sepsis: the potential for immunotherapy. *Clin Perinatol* 1988;15(4):755–71. PMID: 3061698.
19. Shaw C.K., Thapalial A., Shaw P., Malia K. Intravenous immunoglobulins and haematopoietic growth factors in the prevention and treatment of neonatal sepsis: ground reality or glorified myths? *Int J Clin Pract* 2007;61(3):482–7. doi: 10.1111/j.1742-1241.2006.01162.x.
20. Maeda M., van Schie R.C., Yüksel B. et al. Differential expression of Fc receptors for IgG by monocytes and granulocytes from neonates and adults. *Clin Exp Immunol* 1996;103(2):343–7. PMID: 8565322.
21. Nagelkerke S., Kuijpers T. Immunomodulation by IVIg and the Role of Fc-Gamma Receptors: Classic Mechanisms of Action after all? *Front Immunol* 2015;5:674. doi: 10.3389/fimmu.2014.00674.
22. Haridan U., Mokhtar U., Machado L. A comparison of assays for accurate copy number measurement of the low-affinity Fc gamma receptor genes FCGR3A and FCGR3B. *PLoS One* 2015;10(1):e0116791. doi: 10.1371/journal.pone.0116791.
23. Calhoun D., Lunøe M., Du Y. et al. Granulocyte colony-stimulating factor serum and urine concentrations in neutropenic neonates before and after intravenous administration of recombinant granulocyte colony-stimulating factor. *Pediatrics* 2000;105(2):392–7. PMID: 10654961.

Статья поступила в редакцию: 15.01.2018. Принята в печать: 10.02.2018.
Article was received by the editorial staff: 15.01.2018. Accepted for publication: 10.02.2018.