



## ПАРАМЕТРЫ НЕТОЗА У ПАЦИЕНТОВ С СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕФИЦИТОМ ИММУНОГЛОБУЛИНА А

С. С. Прокопович, И. А. Новикова

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

*Цель.* Изучить параметры нетоза у пациентов с селективным дефицитом иммуноглобулина А.

*Материал и методы.* Исследованы особенности нетозообразования лейкоцитов периферической крови у 46 пациентов (21 мужчина и 25 женщин, средний возраст  $37 \pm 12,7$  года) с верифицированным диагнозом селективный дефицит иммуноглобулина А.

*Результаты.* У пациентов с селективным дефицитом IgA обнаружена активация нетоза (NET30<sub>сп</sub>, NET30<sub>ст</sub>, NET150<sub>сп</sub> и NET150<sub>ст</sub>  $p < 0,001$ ) относительно группы сравнения. Максимальная степень повышения нетоза лейкоцитов пациентов отмечалась при краткосрочной инкубации клеток (NET30<sub>сп</sub>, NET30<sub>ст</sub>). Выявлена взаимосвязь между уровнем нетоза и апоптотической активностью нейтрофилов. У пациентов с одновременной активацией нетоза и продукцией супероксид-аниона нейтрофилами установлена более частая встречаемость сочетанных клинических проявлений относительно пациентов с изолированным повышением нетоза ( $\chi^2 = 9,19$ ;  $p = 0,002$ ).

*Выводы.* Проведенное исследование продемонстрировало, что у пациентов с селективным дефицитом иммуноглобулина А в период ремиссии инфекционно-воспалительных заболеваний повышена способность нейтрофилов крови к образованию экстраклеточных сетей в сочетании с активацией других проявлений реактивности нейтрофилов – супероксид-анион-продуцирующей функцией и апоптозом.

**Ключевые слова:** селективный дефицит иммуноглобулина А, нейтрофилы, нетоз.

*Для цитирования:* Прокопович, С. С. Параметры нетоза у пациентов с селективным дефицитом иммуноглобулина А / С. С. Прокопович, И. А. Новикова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2022. Т. 20, № 4. С. 419-423. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-419-423>

### Введение

Селективный дефицит иммуноглобулина А (Selective IgA Deficiency, SIgAD) – самый распространенный первичный иммунодефицит. Ведущие клинические проявления SIgAD – рецидивирующая синусно-пульмональная инфекция, вызванные чаще всего внеклеточными инкапсулированными бактериями (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и др.), желудочно-кишечные расстройства; характерна также повышенная частота развития аутоиммунных процессов и злокачественных новообразований [1, 2, 3].

В основе патогенеза заболевания лежит нарушение процессов переключения изотипа В-клеток и терминальной дифференцировки плазмобластов в продуцирующие IgA плазматические клетки [1, 3]. Причиной таких нарушений могут быть генетические мутации (JAK3, RAG1, RAG2, TAC1, CXCR4, STAT1), дисфункции иммунокомпетентных клеток, дисбаланс цитокинов (IL-4, IL-6, IL-7, IL-10 и IL-21, TGF- $\beta$ ) [1, 4]. Известно, что в процессах дифференцировки антиген-стимулированных В-клеток важную роль играют нейтрофильные гранулоциты (Нф). Так, через продукцию растворимых факторов (BAFF, APRIL, IL-21) Нф способны влиять на созревание и пролиферацию В-лимфоцитов [1, 5, 6]. При этом Нф с повышенной экспрессией молекул IL-10, аргиназы, програнулина усиливают В-клеточный ответ на Т-независимые антигены и подавляют ответ на Т-зависимые антигены [6]. Нф, экспрессирующие эластазу, CD15 и молекулы адгезии SEACAM-1, способны формировать ДНК-содержащие сетеподобные структуры (NETs), которые могут вступать в тесный контакт с IgD<sup>+</sup>- В-клетками [7, 8]. Компоненты

NETs через TLR9 генерируют экспансию аутореактивных В-клеток памяти и таким образом участвуют в запуске процессов аутоиммунизации [9, 10, 11]. Вышесказанное позволяет рассматривать параметры нетотической активности Нф в качестве потенциальных биомаркеров прогрессирования и развития осложнений при SIgAD, что перспективно с точки зрения разработки индивидуализированных терапевтических подходов.

**Цель исследования** – изучить параметры нетоза у пациентов с селективным дефицитом иммуноглобулина А.

### Материал и методы

Обследованы 46 пациентов (21 мужчина и 25 женщин, средний возраст  $37 \pm 12,7$  года) с диагнозом SIgAD. Все пациенты наблюдались в отделении иммунопатологии и аллергологии ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», г. Гомель, Республика Беларусь). Диагноз SIgAD верифицирован в соответствии с рабочими рекомендациями Панамериканской группы по иммунодефициту (Pan American Group for Immune deficiency, PAGID) и Европейского общества по иммунодефицитам (European Society for Immunodeficiencies, ESID) 2019 г. Критериями постановки диагноза признаны клиничко-анамнестические данные и результаты лабораторных исследований: стойкое снижение уровня IgA менее 7 мг/дл (0,07 г/л) при нормальном уровне IgG и IgM в сыворотке крови, результаты иммунофенотипирования, исключение причин вторичной гипогаммаглобулинемии. Обследование пациентов проводилось в день обращения

в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» для плановой ежегодной госпитализации до проведения лечебно-диагностических процедур. Одним из условий госпитализации было отсутствие инфекционно-воспалительных заболеваний и обострения хронической патологии.

Группу сравнения составили 60 практически здоровых лиц, сопоставимых с группой пациентов по полу и возрасту (34 мужчины и 26 женщин, средний возраст  $39 \pm 11,2$  года), не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности. Клиническое исследование выполнено в соответствии этическими принципами Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October, 2013).

Кроме общепринятого клинико-лабораторного обследования оценивали нетоз лейкоцитов крови, а также другие проявления реактивности Нф – супероксид-анион-продуцирующую функцию и апоптотическую активность.

Материалом для исследования служила взвесь лейкоцитов, полученная из гепаринизированной венозной крови (10 Ед/мл) путем отстаивания при  $37^\circ\text{C}$  в течение 45 минут и разведенных фосфатно-солевым буфером ( $\text{pH}=7,4$ ) до содержания Нф  $5 \times 10^6$  клеток/мл. В качестве стимулятора в тестах использовали убитый нагреванием преопсонированный музейный штамм *S. aureus* ATCC 25923 (концентрация микробных тел  $10^8$  КОЕ/мл).

Оценку интенсивности формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETosis – нетоз) проводили по методу И. И. Долгушина и соавт. (2010) в нашей модификации [12]. Оценивали спонтанный (NET<sub>сп</sub>) и индуцированный (NET<sub>ст</sub>) нетоз при краткосрочной (30 минут) и длительной (150 минут) инкубации клеток в среде при  $37^\circ\text{C}$ . Микроскопически подсчитывали количество нетотически-трансформированных Нф (тонкие свободнолежащие внеклеточно расположенные фибриллярные структуры сине-фиолетового цвета) на 200 гранулоцитов в препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Результаты исследования выражали в процентах.

Апоптотическую активность Нф оценивали по методике А. Gorman, (1996). Суспензию окрашивали смесью акридинового оранжевого с этидиумом бромидом (Sigma, США), клетки инкубировали в течение 150 минут при  $37^\circ\text{C}$  в среде (или в среде со стимулятором). С помощью люминесцентной микроскопии (AxioStar plus HBO 50/AC; ZEISS, Германия) определяли долю апоптотических клеток в спонтанном и стимулированном тестах (АСП; АСТ). Идентификация апоптотически-измененных клеток была основана на их морфологических характеристиках: ядра округлой формы, плотные с конденсированным хроматином, однородно окрашенные в зеленый цвет с ярким свечением.

Супероксид-анион-продуцирующую функцию Нф оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия в спонтанном (НСТ<sub>сп</sub>) и стимулированном (НСТ<sub>ст</sub>) вариантах. Учи-

тывали процентное содержание формазан-положительных клеток на 200 сосчитанных гранулоцитов.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакетов программ StatSoft «Statistica» 13.0 (Trial-версия). Проверка нормальности распределения количественных признаков проводилась с использованием критерия Shapiro-Wilk test. Учитывая, что распределение числовых значений отличалось от закона нормального распределения, результаты исследования были представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Для сравнительного анализа между независимыми группами исследуемых признаков использовался критерий Mann-Whitney (U-test). Наличие связи между изучаемыми показателями оценивали с использованием корреляционного анализа по методу Спирмена ( $r_s$ : коэффициент корреляции). Различия частот встречаемости признаков оценивались с помощью критерия  $\chi^2$  в таблицах сопряженности  $2 \times 2$ . Критический уровень нулевой гипотезы принимался при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования показателей нетотической активности у пациентов с SIgAD представлены в таблице. Как видно из таблицы, отмечались выраженные изменения параметров нетоза несмотря на то, что на момент обследования пациенты не имели клинико-лабораторных признаков активного воспалительного процесса.

**Таблица** – Параметры нетоза у пациентов SIgAD, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

**Table** – Parameters of NETosis in SIgAD patients, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

| Показатель, единица измерения | Группа сравнения, n=60 | Основная группа, n=46 |
|-------------------------------|------------------------|-----------------------|
| NET30 <sub>сп</sub> , %       | 2,0 (2,0; 3,0)         | 5,0 (3,0; 7,0)*       |
| NET30 <sub>ст</sub> , %       | 4,0 (3,0; 5,0)         | 7,0 (5,0; 9,0)*       |
| NET150 <sub>сп</sub> , %      | 5,0 (4,0; 6,0)         | 8,0 (6,0; 10,0)*      |
| NET150 <sub>ст</sub> , %      | 9,0 (8,5; 10,0)        | 12,0 (9,0; 15,0)*     |

\* – различия значимы в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ; U-критерий Манна-Уитни)

Способность Нф к формированию экстрацеллюлярных сетей была повышена относительно контрольной группы как при 30-минутном (NET30<sub>сп</sub>, NET30<sub>ст</sub>  $p < 0,001$ ), так и при 150-минутном (NET150<sub>сп</sub> и NET150<sub>ст</sub>  $p < 0,001$ ) культивировании клеток. Оценка результатов в культурах с разной длительностью инкубации лейкоцитов позволила нам получить представление о функционировании программы как классического (суицидального), так и витального образования нейтрофильных сетей. Известно, что суицидальный нетоз непосредственно зависит от активности NADPH, представляет собой медленный процесс (2-4 часа) деградации ядерной оболочки и ремоделирования хроматина в сетчатую структуру, с последующим высвобождением NETs во внеклеточное пространство и гибелью Нф. Напротив, витальный, NADPH-не-

зависимый нетоз происходит в течение нескольких минут с формированием из ядерной оболочки ДНК-содержащих везикул, выделяемых наружу путем экзоцитоза без повреждения клеточной мембраны. При этом жизнеспособность и функциональная активность Нф некоторое время остается сохранной. Суицидальный нетоз играет большую роль в противоинфекционном ответе организма, тогда как вклад витального нетоза в защиту от патогенов значительно ниже, но возможно его участие в механизмах аутоиммунизации [9, 10]. Наши данные свидетельствуют об активации как программы витального, так и суицидального нетоза у пациентов с SIgAD. Частотный анализ продемонстрировал повышение NETs у 78,3% пациентов ( $n=36$ ,  $\chi^2=63,9$ ;  $p<0,001$ ), причем только в 5 случаях изменялся один из показателей. При этом частота встречаемости повышенных параметров витального нетоза была сопоставима с частотой случаев повышения суицидального нетоза (67,4 и 50,0%; 58,7 и 50,0%, соответственно). В то же время степень увеличения количества NETs оказалась значительно выше в тестах витального нетоза (в 10 раз для спонтанного теста, в 5 раз для стимулированного), тогда как в 150-минутных культурах (суицидальный нетоз) – не превышала 1,5 раза. Максимальные значения витального NETosis составили в спонтанном тесте 35,0%, в стимулированном – 30,0%. У этого же пациента интенсивность суицидального нетоза была менее выраженной – 29,0 и 13,0%, соответственно. Диагноз SIgAD был установлен лишь в возрасте 60 лет. В то же время склонность к частым респираторным инфекциям отмечалась у данного пациента, начиная с детского возраста. В зрелом возрасте из инфекционно-воспалительных заболеваний его беспокоил лишь фолликулит волосяной части головы. Аутоиммунных заболеваний у данного пациента не наблюдалось.

В последние годы накоплены данные о возможной роли нетоза в развитии широкого спектра заболеваний. С одной стороны, NETs могут рассматриваться как фактор защиты от инфекций, дополняя бактерицидные свойства активных форм кислорода (АФК), продуцируемых Нф. При этом активация образования внеклеточных сетей происходит параллельно с повышением АФК-продуцирующих свойств Нф. С другой стороны, описана активация нетоза без увеличения АФК-продукции, которая может носить деструктивный характер в связи с отсутствием биологической целесообразности. При этом внеклеточно расположенные ферменты способны вызывать деструкцию клеточных мембран, а свободно лежащие нити ДНК – индуцировать аутоиммунные расстройства [9, 11, 13, 14].

Как описано выше, увеличение параметров витального нетоза наблюдалось нами более чем у половины обследованных пациентов. При этом у пациентов с активацией нетоза одновременное повышение АФК-продукции отмечалось в 41,9% случаев для NET30<sub>сп</sub> и 47,8% – для NET30<sub>ст</sub>, а у 58,1 и 52,2% пациентов, соответственно, имело место только повышение нетозообразования без

активации синтеза супероксид-радикала. Характерно, что в подгруппе пациентов с активацией Нф по принципу «витальный нетоз+АФК-продукция» показатели суицидального нетоза оказались значимо ниже по сравнению с пациентами подгруппы с активацией Нф по принципу «только нетоз» (NET150<sub>ст</sub>,  $p=0,03$ ). У них же достоверно чаще встречались сочетанные клинические проявления (рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей + синдром раздраженного кишечника, артрит, аутоиммунный тиреоидит, аллергические заболевания) в отличие от пациентов с изолированным повышением нетоза («только нетоз») ( $\chi^2=9,19$ ;  $p=0,002$ ).

Известно, что важным фактором, индуцирующим формирование NETs, являются контактные взаимодействия активированных Нф с клетками, находящимися в состоянии апоптоза. При этом Нф, содержащие остатки апоптотических клеток, не формируют экстраклеточные ловушки [11, 14, 15]. Параметры апоптотической активности Нф нами проанализированы у 30 из 46 обследованных пациентов. В целом уровень спонтанного апоптоза (АСП) у пациентов SIgAD был повышен по сравнению со здоровыми лицами ( $p<0,001$ ), а способность к развитию апоптотической реакции в ответ на стимуляцию (АСТ) не изменялась. При этом следует отметить, что у пациентов с активацией NET30<sub>сп</sub> ( $n=23$ ) показатели АСП были значимо выше относительно пациентов с нормальными значениями нетозообразования (26,0% (16,0-34,0) vs 12,5% (7,0-17,0),  $p=0,02$ ), а при повышении NET30<sub>ст</sub> (стимулированный тест,  $n=22$ ) – 24,0% (20,0-32,0) vs 13,0% (10,0-17,0), соответственно (АСП,  $p=0,03$ ). Аналогичная взаимосвязь наблюдалась и по показателям суицидального нетоза (NET150<sub>сп</sub> ↔ АСП  $r_s=0,507$ ;  $p=0,01$ ; NET150<sub>ст</sub> ↔ АСП  $r_s=0,420$ ;  $p=0,04$ ). Параметры АСТ в сравниваемых подгруппах не различались.

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что у пациентов с SIgAD в период ремиссии инфекционно-воспалительных заболеваний повышена способность Нф крови к образованию экстраклеточных сетей в сочетании с активацией других проявлений реактивности Нф, а именно супероксид-анион-продуцирующей функцией и апоптозом. Чрезмерная активация Нф может быть патогенетической основой развития коморбидных заболеваний при дефиците IgA.

### Выводы

1. У пациентов с селективным дефицитом IgA повышена способность Нф крови к образованию экстраклеточных сетей относительно здоровых лиц (NET30<sub>сп</sub>, NET30<sub>ст</sub>, NET150<sub>сп</sub> и NET150<sub>ст</sub>  $p<0,001$ ), которая выявлялась в 78,3% случаев.

2. Максимальная степень повышения нетоза лейкоцитов пациентов (в 5-10 раз относительно группы сравнения) отмечалась при краткосрочной инкубации клеток (NET30<sub>сп</sub>, NET30<sub>ст</sub>), тогда как при 150-минутной инкубации нетоз повышался только в 1,5 раза.



3. У пациентов с одновременной активацией нетозообразования и продукции супероксид-аниона лейкоцитами обнаружена более частая встречаемость сочетанных клинических проявлений (рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей + синдром раздраженного кишечника, артрит, аутоиммунный тиреоидит, аллергические заболевания) относительно па-

циентов с изолированным повышением нетоза ( $\chi^2=9,19$ ;  $p=0,002$ ).

4. У пациентов с селективным дефицитом IgA выявлена взаимосвязь между уровнем нетоза и интенсивностью спонтанного апоптоза Нф ( $NET150_{сп} \leftrightarrow A_{сп} r_s=0,507$ ;  $p=0,01$ ;  $NET150_{ст} \leftrightarrow A_{сп} r_s=0,420$ ;  $p=0,04$ ).

### Литература

1. The clinical implications of selective IgA deficiency / S. Swainab [et al.] // *J. Transl. Autoimmun.* – 2019. – Vol. 2. – Art. 100025. – doi: 10.1016/j.jtauto.2019.100025.
2. Clinical phenotype classification for selective immunoglobulin A deficiency / R. Yazdani [et al.] // *Expert Rev. Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 11, № 11. – P. 1245-1254. – doi: 10.1586/1744666X.2015.1081565.
3. Singh, K. IgA deficiency and autoimmunity / K. Singh, C. Chang, M. E. Gershwin // *Autoimmun. Rev.* – 2014. – Vol. 13, № 2. – P. 163-177. – doi: 10.1016/j.autrev.2013.10.005.
4. Abolhassani, H. Monogenic mutations associated with IgA deficiency / H. Abolhassani, A. Aghamohammadi, L. Hammarström // *Expert Rev. Clin. Immunol.* – 2016. – Vol. 12, № 12. – P. 1321-1335. – doi: 10.1080/1744666X.2016.1198696.
5. BAFF-secreting neutrophils drive plasma cell responses during emergency granulopoiesis / R. Parsa [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2016. – Vol. 213, № 8. – P. 1537-1553. – doi: 10.1084/jem.20150577.
6. Cerutti, A. New helping friends for B cells / A. Cerutti, I. Puga, M. Cols // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42, № 8. – P. 1956-1968. – doi: 10.1002/eji.201242594.
7. Neutrophil Extracellular Trap – associated CEACAM1 as a putative therapeutic target to prevent metastatic progression of colon carcinoma / R. F. Rayes [et al.] // *J. Immunol.* – 2020. – Vol. 204, № 8. – P. 2285-2294. – doi: 10.4049/jimmunol.1900240.
8. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases / A. M. Hosseini [et al.] // *Adv. Pharm. Bull.* – 2015. – Vol. 5, suppl. 1. – P. 605-614. – doi: 10.15171/apb.2015.082.
9. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin / V. Brinkmann, A. Zychlinsky // *J. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 198, № 5. – P. 773-783. – doi: 10.1083/jcb.201203170.
10. Yipp, B. G. NETosis: how vital is it / B. G. Yipp, P. Kubes // *Blood.* – 2013. – Vol. 122, № 16. – P. 2784-2794. – doi: 10.1182/blood-2013-04-457671.
11. Rosazza, T. NET formation – mechanisms and how they relate to other cell death pathways / T. Rosazza, J. Warner, G. Sollberger // *FEBS J.* – 2021. – Vol. 288, № 11. – P. 3334-3350. – doi: 10.1111/febs.15589.
12. Железко, В. В. Функциональные свойства нейтрофилов крови у пациентов с ревматоидным артритом / В. В. Железко, И. А. Новикова // *Проблемы здоровья и экологии.* – 2015. – № 3 (45). – С. 50-54. – edn: VCHOHD.
13. Функциональный статус нейтрофилов у пациентов с дефицитом иммуноглобулина А / К. С. Макеева [и др.] // *Проблемы здоровья и экологии.* – 2018. – № 2 (56). – С. 47-51. – edn: XTVZET.
14. Geering, B. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils / B. Geering, H.-U. Simon // *Cell Death Differ.* – 2011. – Vol. 18, № 9. – P. 1457-1469. – doi: 10.1038/cdd.2011.75.
15. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity / L. E. Muñoz [et al.] // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2010. – Vol. 6, № 5. – P. 280-289. – doi: 10.1038/nrrheum.2010.46.

### References

1. Swainab S, Selmi C, Gershwin ME, Teuber SS. The clinical implications of selective IgA deficiency. *J Transl Autoimmun*, 2019;2:100025. doi: 10.1016/j.jtauto.2019.100025.
2. Yazdani R, Latif AH, Tabassomi F, Abolhassani H, Azizi G, Rezaei N, Aghamohammadi A. Clinical phenotype classification for selective immunoglobulin A deficiency. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015;11(11):1245-1254. doi: 10.1586/1744666X.2015.1081565.
3. Singh K, Chang C, Gershwin ME. IgA deficiency and autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2014;13(2):163-177. doi: 10.1016/j.autrev.2013.10.005.
4. Abolhassani H, Aghamohammadi A, Hammarström L. Monogenic mutations associated with IgA deficiency. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(12):1321-1335. doi: 10.1080/1744666X.2016.1198696.
5. Parsa R, Lund H, Georgoudaki A-M, Zhang XM, Guerreiro-Cacais AO, Grommisch D, Warnecke A, Croxford AL, Jagodic M, Becher B, Karlsson MC, Harris RA. BAFF-secreting neutrophils drive plasma cell responses during emergency granulopoiesis. *J Exp Med*. 2016;213(8):1537-1553. doi: 10.1084/jem.20150577.
6. Cerutti A, Puga I, Cols M. New helping friends for B cells. *Eur J Immunol*. 2012;42(8):1956-1968. doi: 10.1002/eji.201242594.
7. Rayes RF, Vourtzoumis P, Rjeily MB, Seth R, Bourdeau F, Giannias B, Berube J, Huang Y-H, Rousseau S, Camilleri-Broet S, Blumberg RS, Beauchemin N, Najmeh S, Cools-Lartigue J, Spicer JD, Ferri LE. Neutrophil Extracellular Trap – associated CEACAM1 as a putative therapeutic target to prevent metastatic progression of colon carcinoma. *J Immunol*. 2020;204(8):2285-2294. doi: 10.4049/jimmunol.1900240.
8. Hosseini AM, Majidi J, Baradaran B, Yousefi M. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Adv Pharm Bull*. 2015;5(Suppl 1):605-614. doi: 10.15171/apb.2015.082.
9. Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012;198(5):773-783. doi: 10.1083/jcb.201203170.
10. Yipp BG, Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*. 2013;122(16):2784-2794. doi: 10.1182/blood-2013-04-457671.
11. Rosazza T, Warner J, Sollberger G. NET formation – mechanisms and how they relate to other cell death pathways. *FEBS J*. 2021;288(11):3334-3350. doi: 10.1111/febs.15589.
12. Zhelezko VV, Novikova IA. Funkcionalnye svojstva ne-

- jtrofilov krvi u pacientov s revmatoidnym artritom [The functional properties of neutrophils in patients with rheumatoid arthritis]. *Problemy zdorovja i jekologii* [Health and ecology issues]. 2015;3(45):50-54. edn: VCHOHD. (Russian).
13. Makeyeva KS, Novikova IA, Salivonchik AP, Plotnikova NM. Funkcionalnyj status nejtrofilov u pacientov s deficitom immunoglobulina A [The functional state of neutrophils in patients with immunoglobulin A deficiency]. *Problemy zdorovja i jekologii* [Health and ecology issue]. 2018;2(56):47-51. edn: XTVZET. (Russian).
14. Geering B, Simon H-U. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils. *Cell Death Differ*. 2011;18(9):1457-1469. doi: 10.1038/cdd.2011.75.
15. Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(5):280-289. doi: 10.1038/nrrheum.2010.46.

## NETOSIS PARAMETERS IN PATIENTS WITH SELECTIVE IGA DEFICIENCY

S. S. Prokopovich, I. A. Novikova

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

**Objective.** To study NETosis parameters in patients with selective immunoglobulin A deficiency.

**Material and methods.** We studied the features of NETosis in peripheral blood of 46 patients (21 males and 25 females, mean age 37±12.7 years) with a confirmed diagnosis of selective immunoglobulin A deficiency.

**Results.** Activation of NETosis (NET30<sub>SP</sub>, NET30<sub>ST</sub>, NET150<sub>SP</sub> and NET150<sub>ST</sub>,  $p < 0.001$ ) was found in patients with selective IgA deficiency relative to the comparison group. The maximum degree of increase in leukocyte NETosis in patients was observed during short-term incubation of cells (NET30<sub>SP</sub>, NET30<sub>ST</sub>). The relationship between the level of NETosis and apoptosis of neutrophils has been revealed. The patients with a simultaneous activation of NETosis and superoxide anion production by neutrophils showed a higher incidence of combined clinical manifestations compared to patients with an isolated increase of NETosis ( $\chi^2 = 9.19$ ;  $p = 0.002$ ).

**Conclusion.** This study demonstrated that in patients with selective immunoglobulin A deficiency during remission of infectious inflammatory diseases, the ability of blood neutrophils to form extracellular networks in combination with the activation of other manifestations of neutrophils reactivity – superoxide anion-producing function and apoptosis – is increased.

**Keywords:** selective immunoglobulin A deficiency, neutrophils, NETosis.

**For citation:** Prokopovich SS, Novikova IA. NETosis parameters in patients with selective IgA deficiency. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2022;20(4):419-423. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-419-423>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.  
**Financing.** The study was performed without external funding.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.  
**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

**Об авторах / About the authors**

\*Прокопович Светлана Сергеевна / Prokopovich Svetlana, e-mail: prokopovich.s1983@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3329-911X  
Новикова Ирина Александровна / Novikova Irina, e-mail: ir-nov@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2250-8318

\* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 16.05.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 01.07.2022