

**ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА И
ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НОРМАЛЬНЫХ
ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ
ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В ДИНАМИКЕ
ИММУНОХИМИОТЕРАПИИ**

Селютина О. Н. ¹,
Гуськова Н. К. ¹,
Златник Е. Ю. ¹,
Лысенко И. Б. ¹,
Дженкова Е. А. ¹,
Владимирова Л. Ю. ¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»
Минздрава России, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону

CHANGES IN THE SUBPOPULATION COMPOSITION AND IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF NORMAL LYMPHOCYTES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA IN THE DYNAMICS OF IMMUNOCHEMOTHERAPY

Selyutina O. N. ^a,
Guskova N. K. ^a,
Zlatnik E. Y. ^a,
Lysenko I. B. ^a,
Jenkova E. A. ^a,
Vladimirova L. Y. ^a

^a National Medical Research Centre for Oncology, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Резюме

При хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) прогрессирующее нарушение иммунной системы приводит к состоянию клинически выраженной иммунной супрессии и отсутствию контроля над заболеванием. Как следствие, иммунологические изменения в субпопуляциях нормальных лимфоцитов в крови больных хроническим лимфоцитарным лейкозом могут играть негативную роль в прогрессировании заболевания. Целью исследования было изучение влияния иммунохимиотерапии на субпопуляционный состав и иммунофенотипические характеристики нормальных лимфоцитов в крови больных ХЛЛ. В исследование включены 37 мужчин и 25 женщин с впервые диагностированным ХЛЛ в стадии В и С по Binet, медиана возраста 64 [50; 71] года, получивших по 6 циклов иммунохимиотерапии в двух режимах: RB (Ритуксимаб+Бендамустин) или FCR (Ритуксимаб+Флударабин+Циклофосфамид). В крови больных до- и после лечения исследован субпопуляционный состав поликлональных В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов (Т-хелперы, Т-регуляторные клетки, Т-цитотоксические клетки), NK-клетки, а также экспрессия на них рецепторов иммунных контрольных точек PD1, PD-L1, LAG3. Исследования выполняли с применением метода 10-цветной проточной цитометрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США). Статистический анализ выполнен в программе Statistica 13.0. Проведенное исследование показало, что у всех больных ХЛЛ до- и после иммунохимиотерапии отмечаются значимые количественные и функциональные изменения субпопуляционного состава В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и NK клеток. Доля нормальных поликлональных В-клеток среди всех лимфоцитов до лечения снижена и характеризуется экспрессией PD1. Проведение терапии приводит к частичному восстановлению популяции нормальных В-лимфоцитов, на которых не выявляется экспрессия PD1, PD-L1, LAG3. Изменение иммунофенотипических характеристик субпопуляций Т-лимфоцитов носит однонаправленный характер. До лечения и после его завершения, на CD4+ и CD8+ Т-клетках наблюдается наиболее высокая экспрессия PD1, что свидетельствует о нарушении их противоопухолевых функций. После лечения, Т-лимфоцитарное микроокружение приобретает тенденцию к восстановлению за счет увеличения их количества. Однако сохранение на Т-клетках экспрессии молекулы PD1, по-видимому, препятствует полному восстановлению их функциональной активности, что, наряду с повышением содержания Т-регуляторных клеток и сохранением на NK-лимфоцитах ингибирующих молекул PD1 и LAG3, в совокупности, способствует подавлению противоопухолевого иммунного ответа и снижению возможности обеспечения длительной ремиссии. В этой связи, мониторинг иммунологических показателей в процессе проведения иммунохимиотерапии полезен для выявления степени дисрегуляции иммунного ответа и, тем самым, для своевременного оказания наряду с противоопухолевой терапией и корригирующей иммунотерапии.

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, субпопуляции лимфоцитов, иммунные контрольные точки, PD1, PD-L1, LAG3, иммунохимиотерапия.

Abstract

Immunological changes in subpopulations of normal lymphocytes in the blood of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) may play a negative role in the progression of the disease. The aim - to study the effect of immunochemotherapy on the subpopulation composition and immunophenotypic characteristics of normal lymphocytes in the blood of patients with CLL. The study included 37 men, 25 women with CLL in stages B, C according to Binet, median age 64 [50; 71] years old, who received 6 cycles of immunochemotherapy: RB (Rituximab+Bendamustine) or FCR (Rituximab+Fludarabine+ Cyclophosphamide). The subpopulation composition of polyclonal B-, T- (T helper cells, T regulatory cells, T cytotoxic cells), NK-lymphocytes, as well as the expression of PD1, PD-L1, LAG3 were studied in the blood of patients before and after treatment. The studies were performed using the method of flow cytometry (Navios 10/3, Beckman Coulter, USA). The statistical analysis is performed in Statistica 13.0. The study showed that all patients with CLL had significant quantitative and functional changes in the subpopulation composition of B-, T-, and NK-lymphocytes before and after therapy. The proportion of normal polyclonal B cells among all lymphocytes before treatment is reduced and is characterized by PD1 expression. The therapy leads to a partial restoration of the population of normal B-lymphocytes, which do not show expression of PD1, PD-L1, LAG3. Before and after treatment, CD4+ and CD8+ T cells show the highest expression of PD1, which indicates a violation of their antitumor functions. After treatment, the T-lymphocyte microenvironment tends to recover due to an increase in their number. However, the preservation of PD1 expression on T-cells apparently prevents the complete restoration of their functional activity, which, along with an increase in the content of T-regulatory cells and the preservation of PD1 and LAG3 expression on NK-lymphocytes, helps to suppress the antitumor immune response and reduce the possibility of long-term remission. In this regard, monitoring of immunological parameters during therapy is useful for detecting the degree of dysregulation of the immune response and, thus, for timely provision along with antitumor therapy and corrective immunotherapy.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, lymphocyte subpopulations, immune checkpoints, PD1, PD-L1, LAG3, immunochemotherapy.

1 Введение

Взаимодействие опухолевых клеток и иммунологического микроокружения имеет важное значение для прогноза различных злокачественных заболеваний [2, 24]. Известно, что на успешный рост опухолей влияют не только элементы микросреды, такие как внеклеточный матрикс и сосудистая сеть опухоли, но и иммунные клетки [7, 20]. При хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) одной из основных причин роста опухолевых В-клеток является неэффективность противоопухолевых иммунологических механизмов. Взаимодействие клеток ХЛЛ с окружающей средой, изменение собственных свойств и микроокружения способствует их выживанию, повышенной пролиферации и, в конечном итоге, устойчивости к терапии [4]. При ХЛЛ опухолевые клетки и клеточные компоненты микроокружения взаимосвязаны и сосуществуют, формируя особенности друг друга на протяжении всего заболевания [15, 32]. По данным Griggio V. et al., взаимодействия между aberrантными В-лимфоцитами и клеточными элементами иммунной системы при ХЛЛ способствуют созданию поддерживающего микроокружения, приводящего к нарушению регуляции иммунного ответа, а также включает фенотипические изменения и функциональные нарушения, которые присутствуют с ранних стадий и усугубляются на протяжении всего заболевания, способствуя в итоге развитию иммунной толерантности и прогрессированию опухолевого процесса [18]. То есть, основными причинами прогрессирования ХЛЛ, помимо биологических особенностей злокачественного клона В-лимфоцитов, являются глубокие дефекты иммунной системы. Некоторые иммунологические изменения, например, такие как экспансия Т- и НК-клеток, уменьшение циркулирующих нормальных В-клеток связаны с моноклональным В-клеточным лимфоцитозом, состоянием, которое предшествует ХЛЛ [11, 23]. В период же клинического течения клетки ХЛЛ индуцируют прогрессирующее нарушение иммунной системы, приводящее к состоянию клинически выраженной иммунной супрессии, которая частично ответственна за отсутствие контроля над заболеванием [32, 40]. ХЛЛ «манипулирует» Т-клетками для получения преимущества в выживаемости, отключая цитотоксические функции Т-клеток и повышая экспрессию контрольных точек иммунитета [29].

Открытие иммунных контрольных точек (ИКТ) – семейства рецепторов и лигандов, способствующих усилению или угнетению активности иммунокомпетентных клеток, дает дополнительное представление о развитии злокачественных опухолей и предлагает новый подход к их лечению. Наиболее изученные представители семейства ИКТ - это рецептор программируемой клеточной гибели PD1 с лигандом PD-L1 и белок активационного гена 3 лимфоцитов LAG3. ИКТ в норме регулируют активацию иммунного ответа, препятствуя запуску аутоиммунных процессов, а также модулируют его, уменьшая вызванные иммунными клетками повреждения в органах и тканях [1, 13, 34]. Возможности использования

45 белков-рецепторов иммунных контрольных точек в качестве прогностических
46 маркеров и их роль в патогенезе ХЛЛ активно изучаются [25, 38]. Известно,
47 что при ХЛЛ aberrантные В-лимфоциты обладают слабой функцией
48 презентации антигена, что связывают с неспособностью Т-клеток
49 формировать активирующие иммунные синапсы, и это, наряду с присутствием
50 иммуносупрессивных молекул, приводит к нарушению функции Т-клеток [16,
51 22, 28, 33].

52 В этой связи обосновано изучение изменений субпопуляционного
53 состава и иммунофенотипических характеристик нормальных лимфоцитов в
54 крови больных ХЛЛ.

55 **Цель исследования.** Изучить влияние иммунохимиотерапии на
56 субпопуляционный состав и иммунофенотипические характеристики
57 нормальных лимфоцитов в крови больных ХЛЛ.

58 **2 Материалы и методы**

59 В исследование включены 62 пациента с впервые диагностированным
60 ХЛЛ в стадии В и С по Vinet, мужчин 37, женщин 25, медиана возраста 64 [50;
61 71] лет, получивших по 6 циклов иммунохимиотерапии (ИХТ) в двух
62 режимах: по схеме RB (Ритуксимаб+Бендамустин) или по схеме FCR
63 (Ритуксимаб+Флударабин+ Циклофосфамид). В крови больных до- и после
64 ИХТ исследован субпопуляционный состав нормальных поликлональных В-
65 лимфоцитов (CD19+CD5-CD23-), Т-лимфоцитов (CD3+) – Т-хелперы (CD4+),
66 Т-регуляторные клетки (Tregs) (CD3+CD4+CD25^{high}+), Т-цитотоксические
67 (CD3+CD8+), NK-клетки, а также экспрессию на них рецепторов ИКТ PD1,
68 PD-L1, LAG3. Результаты оценивали путем сопоставления данных до- и после
69 6 циклов ИХТ. Исследования выполняли с применением метода 10-цветной
70 проточной цитофлюориметрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США).
71 Результаты иммунофенотипирования анализировали с использованием
72 программного обеспечения Kaluza v2.1 (Beckman Coulter, США).
73 Используемая панель моноклональных антител включала CD45 PB, CD19
74 ECD/PC7, CD5 PE/PC7/APC, CD81APC, CD43 APC-A700, CD22 PE, CD38
75 FITC/PB, легкие цепи иммуноглобулинов Kappa FITC и Lambda PE (Beckman
76 Coulter, BD Biosciences, США). Статистический анализ выполнен в программе
77 Statistica 13.0.

78 **3 Результаты исследования**

79 В крови больных ХЛЛ до лечения отмечаются изменения
80 относительного содержания всех основных субпопуляций нормальных
81 лимфоцитов в сторону снижения, что может быть обусловлено повышенным
82 уровнем моноклональных опухолевых В-клеток, вытесняющих нормальные
83 клеточные элементы. Согласно полученным нами данным, субпопуляция
84 поликлональных В-клеток (CD19+CD5-CD23-) до лечения снижена в
85 сравнении с референтными значениями и составила в среднем $1,4 \pm 0,1\%$ от
86 всех лимфоцитов (таблица 1). Интервалы распределения основных популяций
87 лимфоцитов в периферической крови практически здоровых лиц
88 (референтные значения) представлены в таблице 2 [3].

89 При изучении экспрессии рецепторов ИКТ на всей субпопуляции
90 В-клеток выявлена экспрессия рецептора PD1 и отсутствие экспрессии его
91 лиганда PD-L1 и рецептора LAG3 (таблица 1).

92 После завершения 6 циклов иммунохимиотерапии установлено
93 частичное восстановление относительного содержания нормальных В-клеток
94 со статистически значимым увеличением их доли среди всей популяции
95 лимфоцитов до $4,6 \pm 0,7\%$, в 3,3 раза превышающей исходный уровень ($p < 0,05$).
96 При этом характерным было отсутствие на В-клетках без аберрантного
97 фенотипа экспрессии маркеров PD1, PD-L1 и LAG3 (таблица 1).

98 Доля Т-лимфоцитов (CD3+) до лечения среди всей популяции
99 лимфоцитов также была снижена в сравнении с референтными значениями и
100 составила $20,7 \pm 2,8\%$. Обращало внимание наличие среди них значительного
101 числа клеток – $17,2 \pm 2,2\%$, экспрессирующих PD-1, но экспрессия PD-L1 и
102 LAG3 была снижена и определялась только на $0,3 \pm 0,1\%$ и $0,6 \pm 0,1\%$ клеток,
103 соответственно, то есть менее, чем на 1% Т-клеток (таблица 3).

104 По-видимому, активация Т-лимфоцитов может быть частично
105 подавлена через ось PD-1/PD-L1, но при этом имеется низкий потенциал для
106 блокировки другими иммуносупрессорными путями, например, LAG-3, что
107 может иметь значение при планировании иммунотерапии.

108 После лечения относительное содержание Т-лимфоцитов увеличилось
109 до $78,8 \pm 1,3\%$, что в 3,8 раз превосходило исходные значения ($p < 0,05$). При
110 этом увеличилась доля Т-клеток, экспрессирующих PD1 (субпопуляция
111 CD3+PD1+) до $50,9 \pm 4,1\%$, превышая в 3,0 раза данные до начала терапии
112 ($p < 0,05$), что свидетельствует об истощении и функциональной
113 несостоятельности Т-клеточного звена. Доля Т-клеток, экспрессирующих
114 LAG-3, составила $0,1 \pm 0,02\%$, что в 6 раз меньше в сравнении с показателем до
115 лечения ($p < 0,05$). Экспрессия PD-L1 не определялась (таблица 3).

116 При анализе иммунофенотипических характеристик субпопуляции
117 CD4+ лимфоцитов, включая Т-хелперы (CD3+CD4+) и Т-регуляторные клетки
118 (CD3+CD4+CD25high+), установлено, что до начала терапии их доля среди
119 нормальных лимфоцитов была низкой и составила $12,3 \pm 1,5\%$ и $1,1 \pm 0,3\%$,
120 соответственно (таблица 4).

121 При этом, на мембране клеток CD3+CD4+ выявлена экспрессия
122 рецепторов ИКТ разной степени выраженности: доля Т-хелперов,
123 экспрессирующих PD1, составила $9,2 \pm 1,1\%$, PD-L1 – $0,3 \pm 0,04\%$, LAG3 –
124 $0,4 \pm 0,1\%$. Уровень экспрессии лиганда PD-L1 на Т-хелперах был аналогичен
125 таковому в общей популяции Т-лимфоцитов – $0,3 \pm 0,04\%$. Примечательно, что
126 Т-регуляторные клетки экспрессировали только PD1, причем экспрессия этого
127 рецептора отмечена на всей популяции Tregs.

128 После 6 циклов ИХТ доля Т-хелперов среди всех лимфоцитов
129 увеличилась в 3,0 раза в сравнении с исходными данными ($p < 0,05$) и составила
130 $37,6 \pm 1,2\%$. Изменения уровня экспрессии PD1 и LAG3 на них носили
131 разнонаправленный характер: в 3,5 раза увеличилось число клеток
132 CD3+CD4+, экспрессирующих PD1 (до $32,4 \pm 1,1\%$), и в 4,0 раза снизилась доля

133 клеток, экспрессирующих LAG3 (до $0,1\pm 0,02\%$). Экспрессия PD-L1 не
134 определялась. Наряду с этим после лечения отмечено статистически значимое
135 нарастание доли всех Tregs в 8 раз до $8,9\pm 0,8\%$ ($p<0,05$) и среди них клеток,
136 экспрессирующих PD1 – в 7 раз до $8,1\pm 0,8\%$ ($p<0,05$). Экспрессия
137 ингибирующих рецепторов LAG3 и PD-L1 на мембране Tregs не определялась
138 ни до-, ни после ИХТ (таблица 4).

139 Результаты нашего исследования показали, до начала терапии у больных
140 ХЛЛ вся субпопуляция CD4+ Т-лимфоцитов, включая Т-хелперы и Т-
141 регуляторные клетки, обладает признаками иммунного истощения,
142 обусловленного экспрессией ингибирующих рецепторов: PD1 и LAG3 на
143 клетках CD3+CD4+, PD1 – на Tregs.

144 После лечения отмечается нарастание относительного содержания всех
145 CD4+ Т-клеток, что, очевидно, связано с восстановлением Т-клеточной
146 популяции и, как следствие, увеличением их доли среди всех лимфоцитов.
147 Однако рецепторы PD1 и LAG3 и после лечения продолжают
148 экспрессироваться на клетках CD3+CD4+. Данное явление характерно и для
149 субпопуляции Т-регуляторных клеток, продолжающих экспрессировать PD1
150 после лечения. Известно также, что по мере прогрессирования ХЛЛ у больных
151 значительно увеличивается количество Tregs, участвующих в
152 прогрессировании заболевания за счет подавления противоопухолевого
153 иммунного ответа, что вносит свой негативный вклад в течение ХЛЛ.

154 При исследовании иммунологических характеристик субпопуляции Т-
155 цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) до начала терапии установлено
156 снижение их доли среди всех лимфоцитов, большая часть которых
157 представлена клетками, экспрессирующими рецептор PD1 (таблица 5).

158 Так, относительное содержание всех клеток CD3+CD8+ составило
159 $8,7\pm 1,5\%$, клеток с экспрессией PD1 – $8,1\pm 1,5\%$, с экспрессией LAG3 –
160 $0,2\pm 0,02\%$. Экспрессия PD-L1 не установлена.

161 После лечения содержание Т-цитотоксических клеток повысилось в
162 сравнении с исходными данными в 4,8 раз и составило $41,4\pm 1,5\%$ ($p<0,05$).
163 Кратно увеличилась и доля клеток, экспрессирующих PD1 – до $38,5\pm 1,7\%$.
164 Экспрессия LAG3 и PD-L1 не выявлялась.

165 Данные свидетельствуют, что большая часть Т-цитотоксических
166 лимфоцитов характеризуется «истощенным» иммунофенотипом еще до
167 начала специализированной терапии и после ее завершения.

168 У пациентов с хроническим лимфолейкозом отмечено угнетение не
169 только адаптивного, но и врожденного противоопухолевого иммунитета,
170 опосредованного натуральными киллерами (NK клетки). Результаты нашего
171 исследования иммунофенотипических характеристик субпопуляции NK-
172 клеток (CD3-CD16+CD56+) представлены в таблице 6. Данные
173 свидетельствуют, что у всех больных ХЛЛ до лечения относительное
174 содержание NK-клеток в крови снижено и составляет $1,4\pm 0,1\%$ среди всех
175 лимфоцитов. При этом число NK-клеток, экспрессирующих PD1 и LAG3 было

176 невелико, менее 1,0% клеток ($0,7\pm 0,1\%$ и $0,6\pm 0,2\%$, соответственно), а
177 экспрессия PD-L1 не определялась.

178 После лечения число NK-клеток увеличилось в сравнении с
179 показателями до начала терапии в 9,6 раз и составило $13,5\pm 0,7\%$ ($p<0,05$), при
180 этом доля субпопуляции клеток CD3-CD16+CD56+PD1+ возросла в 14,9 раз
181 до $10,4\pm 0,2\%$ ($p<0,05$), клеток CD3-CD16+CD56+LAG3+ – в 2,2 раза до
182 $1,3\pm 0,1\%$ ($p<0,05$). Экспрессия PD-L1 после лечения также не установлена.
183 Полагаем, что экспрессия на NK-лимфоцитах ингибирующих молекул PD1 и
184 LAG3 до лечения и после может свидетельствовать о недостаточно
185 эффективной активации врожденного иммунитета.

186 **4 Обсуждение**

187 В процессе исследования у больных ХЛЛ до лечения наблюдаются
188 общие для всех изменения баланса между различными субпопуляциями
189 нормальных лимфоцитов крови, которые можно рассматривать как
190 микроокружение злокачественного клона. Эти изменения включают дефицит
191 функционально нормальных В-лимфоцитов, существенное снижение
192 относительного содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций – Т-хелперов,
193 Т-регуляторных клеток и Т-цитотоксических клеток, снижение числа NK-
194 клеток, изменение баланса между различными субпопуляциями В- и Т-
195 лимфоцитов, что отражает иммуносупрессию. Особый интерес вызывают
196 результаты исследования фенотипических характеристик клеток
197 лимфоидного микроокружения, оценка экспрессии на них рецепторов ИКТ –
198 PD1, PD-L1, LAG3, изменение соотношения между различными
199 субпопуляциями В- и Т- лимфоцитов до- и после лечения.

200 Согласно результатам нашего исследования, на нормальных В-клетках
201 экспрессируется только PD1. Наряду с этим, клетки CD3+CD4+, включая Т-
202 регуляторные также экспрессируют PD1 как до, так и после лечения, что
203 является признаком фенотипа «истощения». Полагают, что присутствие CD4+
204 Т-клеток важно для развития ХЛЛ, так как они усиливают передачу сигналов
205 В-клеточного рецептора BCR, управляемых STAT6, посредством
206 высвобождения IL4 [19, 36, 39]. Показано также, что у больных ХЛЛ Т-
207 регуляторные клетки играют определенную негативную роль, подавляя
208 противоопухолевый иммунный ответ, и их количество значительно
209 увеличивается по мере прогрессирования заболевания [10, 30, 42]. Свой вклад
210 в микроокружение при ХЛЛ вносят CD4+ хелперные Т-клетки, являющиеся
211 ключевым компонентом адаптивной иммунной системы [35].

212 После проведенной терапии, несмотря на то, что злокачественные
213 клетки не элиминируются полностью, их Т-лимфоцитарное и NK-клеточное
214 микроокружение демонстрирует тенденцию к восстановлению, о чем
215 свидетельствует повышение их относительного содержания. При этом, если
216 такая динамика сопровождается восстановлением функциональной
217 активности, то можно ожидать длительную ремиссию. О функциональной
218 активности Т-клеток косвенно можно судить по экспрессии на них молекул,
219 характеризующих «истощение» – PD1 и LAG3. PD1 после лечения

220 экспрессируется на большей части Т- и NK-клеток крови, экспрессия LAG3
221 менее выражена. Известно, что LAG3 экспрессируется на многих типах
222 клеток, включая CD4+, CD8+ Т-клетки и Tregs. Подобно CD4, с которым он
223 имеет некоторые общие черты строения, LAG3 связывается с главным
224 комплексом гистосовместимости II (МНС II), но с более высокой
225 аффинностью [26, 43]. Экспрессия LAG3 необходима для нормального
226 гомеостаза Т-лимфоцитов. Однако постоянная антигенная стимуляция,
227 наблюдающаяся, в частности, при многих злокачественных
228 новообразованиях, вызывает хроническую экспрессию LAG3, приводя к
229 функциональному истощению Т-клеток, следствием чего является подавление
230 иммунного ответа. Экспрессия LAG3 на Т-клетках приводит к снижению
231 продукции ими цитокинов и гранзимов, угнетению их пролиферации и
232 усилению дифференцировки в направлении Tregs, в которых он вызывает
233 продукцию иммуносупрессивных цитокинов IL-10 и TGF- β 1 [17]. В нашем
234 наблюдении, после лечения, несмотря на увеличение количества Т-клеток,
235 они, по-видимому, остаются функционально несостоятельными, так как
236 большая часть их имеет «истощенный» фенотип, характеризующийся
237 экспрессией PD1. Известно, что Т-лимфоциты должны выполнять задачу
238 надлежащей регуляции иммунного ответа в постоянном присутствии
239 антигенного стимула. Длительная антигенная стимуляция инициирует
240 процесс, известный как «истощение» Т-клеток, приводящий к потере
241 эффекторных функций, измененной регуляции экспрессии генов и
242 метаболическим нарушениям, что, как принято считать, препятствует
243 нормальному функционированию иммунной системы [9]. Согласно
244 полученным нами результатам, у больных ХЛЛ как до начала терапии, так и
245 после ее завершения, на основных субпопуляциях Т-клеток – CD4+ и CD8+
246 регистрируется наиболее высокая экспрессия PD1. Это приводит, исходя из
247 данных литературы, к нарушению их противоопухолевых функций, потере
248 иммунологического контроля и более агрессивному клиническому течению
249 заболевания [6, 27, 31].

250 У пациентов с хроническим лимфолейкозом отмечено угнетение не
251 только адаптивного, но и врожденного противоопухолевого иммунитета,
252 опосредованного натуральными киллерами. При ХЛЛ описано снижение
253 количества естественных киллерных клеток как в периферической крови, так
254 и в лимфатических узлах [12, 14].

255 По результатам нашего исследования до лечения у всех пациентов с
256 ХЛЛ выявлен низкий уровень NK-лимфоцитов в крови. При этом на NK-
257 клетках отмечается экспрессия PD1 и LAG3, а экспрессия PD-L1 отсутствует,
258 что не противоречит данным литературы [8, 21, 37, 38]. Обращает внимание
259 статистически значимое повышение уровня NK-лимфоцитов с увеличением
260 среди них доли клеток, экспрессирующих PD1 и LAG3 после 6 курсов ИХТ в
261 сравнении с показателями до начала терапии у всех больных ХЛЛ.

262 Известно, что повышенная экспрессия LAG3 на NK-клетках связана с
263 иммуносупрессией и коррелирует с неблагоприятным течением заболевания

264 [37]. Экспрессия PD-L1 на НК-клетках крови больных ХЛЛ не обнаружена ни
265 до лечения, ни после.

266 Полученные данные свидетельствуют об «истощенном»
267 состоянии Т- и НК-клеток больных ХЛЛ. Обычно LAG3 рассматривают в
268 контексте экспрессии PD1, подчеркивая способность этих молекул
269 потенцировать иммуносупрессивное действие [5, 41]. Однако до сих пор не
270 установлено, какие сигнальные пути могут быть задействованы для
271 обеспечения синергизма действия LAG3 и PD1 и всегда ли этот синергизм
272 наблюдается.

273 Таким образом, у всех больных ХЛЛ исходно и после проведения ИХТ
274 отмечаются значимые изменения количественных, иммунофенотипических и,
275 как следствие, функциональных характеристик субпопуляционного состава В-
276 , Т- и НК лимфоцитов, что в совокупности, способствует подавлению
277 противоопухолевого иммунного ответа и снижению возможности
278 обеспечения длительной ремиссии.

279 **5 Заключение**

280 У всех больных ХЛЛ до- и после завершения иммунохимиотерапии
281 отмечаются значимые изменения иммунологических свойств клеток
282 лимфоидного микроокружения, характеризующихся способностью к
283 экспрессии иммунных контрольных точек PD1 и LAG3, что имеет
284 отрицательное прогностическое значение. Несмотря на благоприятную
285 динамику после лечения в виде возрастания исходно низкого уровня
286 нормальных В-, Т-лимфоцитов и НК-клеток, функция ряда субпопуляций
287 остается неполноценной, о чем свидетельствует наличие иммунофенотипа
288 «истощенных» клеток и что обуславливает сохраняющиеся
289 иммунологические нарушения после завершения терапии.

290 В этой связи, мониторинг иммунологических показателей в
291 процессе ИХТ полезен для выявления степени дисрегуляции иммунного
292 ответа и, тем самым, для своевременного оказания наряду с
293 противоопухолевой терапией и корригирующей иммунотерапии.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Динамика иммунофенотипического профиля нормальных В-лимфоцитов в крови больных ХЛЛ

Table 1. Dynamics of the immunophenotypic profile of normal B-lymphocytes in the blood of patients with CLL

CD-маркеры CD markers	Доля позитивных клеток, % от лимфоцитов (M ± m) Percentage of positive cells, % of lymphocytes (M ± m)	
	до лечения before treatment	после лечения after treatment
CD19+CD5-CD23-	1,4±0,1	4,6±0,7*
CD19+CD5-CD23-PD1+	1,4±0,1	0
CD19+CD5-CD23-PD-L1+	0	0
CD19+CD5-CD23-LAG3+	0	0

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя до начала лечения (p<0,05).
Note: * – statistically significant differences compared to the value before treatment (p<0.05).

Таблица 2. Интервалы распределения основных популяций лимфоцитов в периферической крови практически здоровых лиц

Table 2. Distribution intervals of the main lymphocyte populations in the peripheral blood of practically healthy individuals

Популяции Populations	Содержание, относительно лимфоцитов (%) Content, relative to lymphocytes (%)
В-клетки (CD3- CD19+CD45+)	7,0-17,0
Т-клетки (CD3+CD19- CD45+)	61,0-85,0
Т-хелперы (CD3+CD4+CD8- CD45+)	35,0-55,0
Т-цитотоксические (CD3+CD8+CD4-45+)	19,0-35,0

Регуляторные Т-клетки (CD4+CD25 ^{bright} CD127 ⁻ CD45 ⁺)	1,6-5,8
НК-клетки (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺)	8,0-18,0

Таблица 3. Динамика иммунофенотипического профиля общей популяции Т-лимфоцитов (CD3⁺)

Table 3. Dynamics of the immunophenotypic profile of the T-lymphocyte population (CD3⁺)

CD-маркеры CD markers	Доля позитивных клеток, % от лимфоцитов (M ± m) Percentage of positive cells, % of lymphocytes (M ± m)	
	до лечения before treatment	после лечения after treatment
CD3 ⁺	20,7±2,8	78,8±1,3*
CD3 ⁺ PD1 ⁺	17,2±2,2	50,9±4,1*
CD3 ⁺ PD-L1 ⁺	0,3±0,1	0
CD3 ⁺ LAG3 ⁺	0,6±0,1	0,1±0,02*

Примечание: * – достоверные отличия по сравнению со значением показателя до начала лечения (p<0,05)
Note: * – significant differences compared to the value before treatment (p<0.05)

Таблица 4. Динамика иммунофенотипического профиля субпопуляции CD4⁺клеток

Table 4. Dynamics of the immunophenotypic profile of the CD4⁺ cell subpopulation

CD-маркеры CD markers	Доля позитивных клеток, % от лимфоцитов (M ± m) Percentage of positive cells, % of lymphocytes (M ± m)	
	до лечения before treatment	после лечения after treatment
CD3 ⁺ CD4 ⁺	12,3±1,5	37,6±1,2*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ PD1 ⁺	9,2±1,1	32,4±1,1*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ PD-L1 ⁺	0,3±0,04	0
CD3 ⁺ CD4 ⁺ LAG3 ⁺	0,4±0,1	0,1±0,02*

CD3+CD4+CD25high+ (Tregs)	1,1±0,3	8,9±0,8*
CD3+CD4+CD25high+PD1+	1,1±0,3	8,1±0,8*
CD3+CD4+CD25high+PD-L1+	0	0
CD3+CD4+CD25high+LAG3+	0	0

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя до начала лечения (p<0,05).

Note: * – statistically significant differences compared to the value before treatment (p<0.05).

Таблица 5. Динамика иммунофенотипического профиля субпопуляции CD3+CD8+ клеток

Table 5. Dynamics of the immunophenotypic profile of the CD3+CD8+ cell subpopulation

CD-маркеры CD markers	Доля позитивных клеток, % от лимфоцитов (M ± m) Percentage of positive cells, % of lymphocytes (M ± m)	
	до лечения before treatment	после лечения after treatment
CD3+CD8+	8,7±1,5	41,4±1,5*
CD3+CD8+PD1+	8,1±1,5	38,5±1,7*
CD3+CD8+PD-L1+	0	0
CD3+CD8+LAG3+	0,2±0,02	0

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя до начала лечения (p<0,05).

Note: * – statistically significant differences compared to the value before treatment (p<0.05).

Таблица 6. Динамика иммунофенотипического профиля субпопуляции НК-клеток (CD3-CD16+CD56+)

Table 6. Dynamics of the immunophenotypic profile of the NK cell subpopulation (CD3-CD16+CD56+)

CD-маркеры CD markers	Доля позитивных клеток, % от лимфоцитов (M ± m) Percentage of positive cells, % of lymphocytes (M ± m)	
	до лечения before treatment	после лечения after treatment
CD3-CD16+CD56+	1,4±0,1	13,5±0,7*

CD3-CD16+CD56+/PD1+	0,7±0,1	10,4±0,2*
CD3-CD16+CD56+PD-L1+	0	0
CD3-CD16+CD56+LAG3+	0,6±0,2	1,3±0,1*

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя до начала лечения (p<0,05).

Note: * – statistically significant differences compared to the value before treatment (p<0.05).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Селютина Олеся Николаевна — кандидат биологических наук, биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: [0000-0001-6762-0835](https://orcid.org/0000-0001-6762-0835)

SPIN: 4347-0302

Author ID: 759134

Scopus Author ID: 57194276434

E-mail: selyutinalesya@yandex.ru.

Olesya N. Selyutina – Cand. Sci. (Biol.), biologist, Clinical and Diagnostic Laboratory, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Address: 63 liniya 14, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation;

ORCID: [0000-0001-6762-0835](https://orcid.org/0000-0001-6762-0835)

SPIN: 4347-0302

Author ID: 759134

Scopus Author ID: 57194276434

E-mail: selyutinalesya@yandex.ru.

Блок 2. Информация об авторах

Гуськова Наиля Катифовна — кандидат биологических наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>, SPIN: 5407-6285. E-mail: guskova.nailya@mail.ru.

Nailya K. Guskova – Cand. Sci. (Biol.), Head of Clinical and Diagnostic Laboratory, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>, SPIN: 5407-6285. E-mail: guskova.nailya@mail.ru.

Златник Елена Юрьевна — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; email: elena-zlatnik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, Author ID (Scopus): 6603160432, SPIN: 4137-7410.

Elena Yu. Zlatnik — Dr. of Sci. (Med.), Professor, chief researcher of Laboratory of immunophenotyping of tumors at National Medical Research Centre for Oncology; 344019, Rostov-on-Don, 14 Liniya, 63; <https://orcid.org/0000-0002->

1410-122X, Author ID (Scopus): 6603160432, SPIN: 4137-7410. email: elena-zlatnik@mail.ru.

Лысенко Ирина Борисовна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением онкогематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>; SPIN: 9510-3504. E-mail: iralyss@rambler.ru.

Irina B. Lysenko — Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Oncohematology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>; SPIN code: 9510-3504, E-mail: iralyss@rambler.ru.

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., профессор, ученый секретарь, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745.

Elena A. Dzhenkova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, scientific Secretary, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745.

Владимирова Любовь Юрьевна – д.м.н., профессор, заведующая отделом лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4822-5044>, SPIN: 4857-6202, Scopus Author ID: 7004401163.

Lyubov Yu. Vladimirova – Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Drug Treatment of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4822-5044>, SPIN: 4857-6202, Scopus Author ID: 7004401163.

Блок 3. Метаданные статьи

ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА И
ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НОРМАЛЬНЫХ
ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ
ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В ДИНАМИКЕ
ИММУНОХИМИОТЕРАПИИ

CHANGES IN THE SUBPOPULATION COMPOSITION AND
IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF NORMAL LYMPHOCYTES
IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC
LEUKEMIA IN THE DYNAMICS OF IMMUNOCHEMOTHERAPY

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ХЛЛ. ФЕНОТИП НОРМАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ
NORMAL LYMPHOCYTES IN CLL

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, субпопуляции лимфоцитов, иммунные контрольные точки, PD1, PD-L1, LAG3, иммунохимиотерапия.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, lymphocyte subpopulations, immune checkpoints, PD1, PD-L1, LAG3, immunochemotherapy.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 7,

Количество таблиц – 6,

Количество рисунков – 0.

20.11.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Ключагина, Ю.И., Соколова З.А., Барышникова М.А. Роль рецептора PD1 и его лигандов PD-L1 и PDL-2 в иммунотерапии опухолей// Онкопедиатрия. – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 49-55	Klyuchagina Yu.I., Sokolova Z.A., Baryshnikova M.A. The role of the PD1 receptor and its ligands PD-L1 and PDL-2 in tumor immuno-therapy. Oncopediatrics, 2017, Vol. 4, no. 1, pp. 49-55 (In Russ.)	https://doi.org/10.15690/onco.v4il.1684
2	Олейник Е.К., Шibaев М.И., Игнатьев К.С., Олейник В.М., Жулай Г.А. Микроокружение опухоли: формирование иммунного профиля// Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 2. – С. 207-220	Oleinik E.K., Shibaev M.I., Ignatiev K.S., Oleinik V.M., Zhulai G.A. Tumor microenvironment: the formation of the immune profile. Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no.2, p.p. 207-220. (In Russ.)	https://doi.org/10.15789/1563-0625-TMT-1909
3	Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции	Khaidukov S.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A., Chereshev V.A. Basic and small populations of human	https://doi.org/10.15789/1563-0625-2009-2-3-227-238

	лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа)// Медицинская иммунология. – 2014. – Т.11. – С. 227–238	peripheral blood lymphocytes and their normative values (by multicolored cytometric analysis), Medical immunology, 2014, Vol.11, pp. 227-238 (In Russ.)	
4	Ali A., Mahla S.B., Reza V., Hossein A., Bahareh K., Mohammad H., Fatemeh S., Mostafa A.B., Leili R. MicroRNAs: Potential prognostic and thernostic biomarkers in chronic lymphocytic leukemia. EJHaem., 2024, Vol. 5, no. 1, p.p. 191-205.	–	https://doi.org/ 10.1002/jha2.849
5	Andrews L.P., Marciscano A.E., Drake C.G., Vignali D.A. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. Immunological reviews, 2017, Vol. 276, no. 1, p.p. 80-96.	–	https://doi.org/ 10.1111/imr.12519
6	Augé H., Notarantonio A.B., Morizot R., Quinquenel A., Fornecker L.M., Hergalant S., Feugier P., Broséus J. Microenvironment Remodeling and Subsequent Clinical Implications in Diffuse Large B-Cell Histologic	–	https://doi.org/ 10.3389/fimmu.2020.594841

	Variant of Richter Syndrome. Front Immunol., 2020, Vol. 11, p. 594841.		
7	Bandini S., Ulivi P., Rossi T. Extracellular Vesicles, Circulating Tumor Cells, and Immune Checkpoint Inhibitors: Hints and Promises, 2024, Vol. 13, no.4, p. 337.	–	https://doi.org/10/3390/cells13040337
8	Buechele C., Baessler T., Wirths S., Schmohl J.U., Schmiedel B.J., Salih H.R. Glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR) ligand modulates cytokine release and NK cell reactivity in chronic lymphocytic leukemia (CLL). Leukemia, 2012, Vol. 26, no. 5, p.p. 991–1000.	–	https://doi.org/10.1038/leu.2011.313
9	Catakovic K., Klieser E., Neureiter D., Geisberger R. T cell exhaustion: from pathophysiological basics to tumor immunotherapy. Cell Commun. Signal., 2017, Vol. 15, no. 1, p. 1.	–	https://doi.org/10.1186/s12964-016-0160-z
10	Chihara N., Madi A., Kondo T., Zhang H., Acharya N., Singer M., Nyman J., Marjanovic N.D., Kowalczyk M.S., Wang C., Kurtulus S., Law T., Etminan Y., Nevin J., Buckley C.D., Burkett	–	https://doi.org/10.1038/s41586-018-0206-z

	P.R., Buenrostro J.D., Rozenblatt-Rosen O., Anderson A.C., Regev A., Kuchroo V.K. Induction and transcriptional regulation of the co-inhibitory gene module in T cells. Nature, 2018, Vol. 558, no. 7710, p.p. 454-459.		
11	Criado I., Rodríguez-Caballero A., Gutiérrez M.L., Pedreira C.E., Alcoceba M., Nieto W., Teodosio C., Bárcena P., Romero A., Fernández-Navarro P., González M., Almeida J., Orfao A. Primary Health Care Group of Salamanca for the Study of MBL. Low-count monoclonal B-cell lymphocytosis persists after seven years of follow up and is associated with a poorer outcome. Haematologica, 2018, Vol. 103, no. 7, p.p. 1198-1208.	–	https://doi.org/ 10.3324/haematol.2017.183954
12	de Weerd I., Hofland T., de Boer R., Dobber J.A., Dubois J., van Nieuwenhuize D., Mobasher M., de Boer F., Hoogendoorn M., Velders G.A., van der Klift M., Remmerswaal E.B.M., Bemelman F.J., Niemann C.U., Kersting S., Levin M.D.,	–	https://doi.org/ 10.1182/bloodadvances.2019000360

	Eldering E., Tonino S.H., Kater A.P. Distinct immune composition in lymph node and peripheral blood of CLL patients is reshaped during venetoclax treatment. <i>Blood Adv.</i> , 2019, Vol. 3, no. 17, p.p. 2642-2652.		
13	Elston L., Fegan C., Hills R., Hashimdeen S.S., Walsby E., Henley P., Pepper C., Man S. Increased frequency of CD4+ PD-1+ HLA-DR+ T cells is associated with disease progression in CLL. <i>Br J Haematol.</i> , 2020, Vol. 188, no. 6, p.p. 872–880.	–	https://doi.org/ 10.1111/bjh.16260
14	Fisher J.G., Doyle A.D.P., Graham L.V., Sonar S., Sale B., Henderson I., Del Rio L., Johnson P.W.M., Landesman Y., Cragg M.S., Forconi F., Walker C.J., Khakoo S.I., Blunt M.D. XPO1 inhibition sensitises CLL cells to NK cell mediated cytotoxicity and overcomes HLA-E expression. <i>Leukemia</i> , 2023, Vol. 37, no. 10, p.p. 2036-2049.	–	https://doi.org/ 10.1038/s41375-023-01984-z
15	Forconi F., Moss P. Perturbation of the normal immune system in patients with	–	https://doi.org/ 10.1182/blood-2015-03-567388

	CLL. Blood, 2015, Vol. 126, no. 5, p.p. 573–581.		
16	Görgün G., Holderried T.A., Zahrieh D., Neuberg D., Gribben J.G. Chronic lymphocytic leukemia cells induce changes in gene expression of CD4 and CD8 T cells. J. Clin. Invest., 2005, Vol. 115, no. 7, p.p. 1797-1805.	–	https://doi.org/ 10.1172/JCI24196
17	Graydon C.G., Mohideen S., Fowke K.R. LAG3's Enigmatic Mechanism of Action. Frontiers in immunology, 2021, Vol. 11, p. 615317.	–	https://doi.org/ 10.3389/fimmu.2020.615317
18	Griggio V., Perutelli F., Salvetti C., Boccellato E., Boccadoro M., Vitale C., Coscia M. Immune Dysfunctions and Immune-Based Therapeutic Interventions in Chronic Lymphocytic Leukemia. Front Immunol., 2020, Vol. 11, p. 594556.	–	https://doi.org/ 10.3389/fimmu.2020.594556
19	Grioni M., Brevi A., Cattaneo E., Rovida A., Bordini J., Bertilaccio M.T.S., Ponzoni M., Casorati G., Dellabona P., Ghia P., Bellone M., Calcinotto A. CD4+ T cells sustain aggressive chronic lymphocytic	–	https://doi.org/ 10.1182/bloodadvances.2020003795

	leukemia in E μ -TCL1 mice through a CD40L-independent mechanism. Blood Adv., 2021, Vol. 5, no. 14, p.p. 2817–2828.		
20	Guo Y., Ji X., Liu J., Fan D., Zhou Q., Chen C., Wang W., Wang G., Wang H., Yuan W., Ji Z., Sun Z. Effects of exosomes on pre-metastatic niche formation in tumors, Mol. Cancer, 2019, Vol. 18, no. 1, p. 39.	–	https://doi.org/ 10.1186/s12943-019-0995-1
21	Hadadi L., Hafezi M., Amirzargar A.A., Sharifian R.A., Abediankenari S., Asgarian-Omran H. Dysregulated Expression of Tim-3 and NKp30 Receptors on NK Cells of Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Oncol. Res. Treat., 2019, Vol. 42, no. 4, p.p. 197-203.	–	https://doi.org/ 10.1159/000497208
22	Kretz-Rommel A., Qin F., Dakappagari N., Ravey E.P., McWhirter J., Oltean D., Frederickson S., Maruyama T., Wild M.A., Nolan M.J., Wu D., Springhorn J., Bowdish K.S. CD200 expression on tumor cells suppresses antitumor immunity: new approaches	–	https://doi.org/ 10.4049/jimmunol.178.9.5595

	to cancer immunotherapy. J. Immunol., 2007, Vol. 178, no. 9, p.p. 5595-5605.		
23	Lanasa M.C., Allgood S.D., Bond K.M., Gockerman J.P., Levesque M.C., Weinberg JB. Oligoclonal TRBV gene usage among CD8(+) T cells in monoclonal B lymphocytosis and CLL. Br J Haematol., 2009, Vol. 145, no. 4, p.p. 535-537.	–	https://doi.org/ 10.1111/j.1365-2141.2009.07635.x
24	Laumont C. M., Brad H. N. B cells in the tumor microenvironment: Multifaceted organizers, regulators, and effectors of anti-tumor immunity. Cancer cell, 2023, Vol. 41, no. 3, p.p. 466-489.	–	https://doi.org/ 10.1016/j.ccell.2023.02.017
25	Marin-Acevedo J.A., Dholaria B., Soyano A.E., Knutson K.L., Chumsri S., Lou Y. Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. J. Hematol. Oncol., 2018, Vol. 11, no.1, p. 39.	–	https://doi.org/ 10.1186/S13045-018-0582-8
26	Maruhashi T., Okazaki I.M., Sugiura D., Takahashi S., Maeda T.K., Shimizu K., Okazaki T. LAG-3 inhibits the	–	https://doi.org/ 10.1038/S41590-018-0217-9

	activation of CD4+ T cells that recognize stable pMHCII through its conformation-dependent recognition of pMHCII. Nat. Immunol., 2018, Vol. 19, no.12, p.p. 1415-1426.		
27	Nunes C., Wong R., Mason M., Fegan C., Man S., Pepper C. Expansion of a CD8(+)PD-1(+) replicative senescence phenotype in early stage CLL patients is associated with inverted CD4:CD8 ratios and disease progression. Clin. Cancer Res., 2012, Vol. 18, no. 3, p.p. 678-687.	–	https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-2630
28	Pallasch C.P., Ulbrich S., Brinker R., Hallek M., Uger R.A., Wendtner C.M. Disruption of T cell suppression in chronic lymphocytic leukemia by CD200 blockade. Leuk Res., 2009, Vol. 33, no. 3, p.p. 460-464.	–	https://doi.org/10.1016/j.leukres.200808.021
29	Palma M., Gentilcore G., Heimersson K., Mozaffari F., Näsman-Glaser B., Young E., Rosenquist R., Hansson L., Österborg A., Mellstedt H. T cells in chronic lymphocytic leukemia display dysregulated expression of immune	–	https://doi.org/10.3324/haematol.2016.151100

	checkpoints and activation markers. <i>Haematologica</i> , 2017, Vol. 102, no. 3, p.p. 562-572.		
30	Pang N., Alimu X., Chen R., Muhashi M., Ma J., Chen G., Zhao F., Wang L., Qu J., Ding J. Activated Galectin-9/Tim3 promotes Treg and suppresses Th1 effector function in chronic lymphocytic leukemia. <i>FASEB J.</i> , 2021, Vol. 35, no. 7, Art. e21556.	–	https://doi.org/ 10.1096/fj.202100013R
31	Perutelli F., Jones R., Griggio V., Vitale C., Coscia M. Immunotherapeutic Strategies in Chronic Lymphocytic Leukemia: Advances and Challenges. <i>Front Oncol.</i> , 2022, Vol. 12, p. 837531.	–	https://doi.org/ 10.3389/fonc.2022.837531
32	Purroy N., Wu C.J. Coevolution of Leukemia and Host Immune Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia. <i>Cold Spring Harbor perspectives in medicine</i> , 2017, Vol. 7, no. 4, p.p. 1-19.	–	https://doi.org/ 10.1101/cshperspect.a026740
33	Ramsay A.G., Gribben J.G. Vaccine therapy and chronic lymphocytic leukaemia. <i>Best practice and research.</i>	–	https://doi.org/ 10.1016/j.beha.2008.07.005

	Clinical haematology, 2008, Vol. 21, no. 3, p.p. 421-436.		
34	Roessner P.M., Llaó Cid L., Lupar E., Roider T., Bordas M., Schiffers C., Arseni L., Gaupel A.C., Kilpert F., Krötschel M., Arnold S.J., Sellner L., Colomer D., Stilgenbauer S., Dietrich S., Lichter P., Izcue A., Seiffert M. EOMES and IL-10 regulate antitumor activity of T regulatory type 1 CD4+ T cells in chronic lymphocytic leukemia. <i>Leukemia</i> , 2021, Vol. 35, no. 8, p.p. 2311-2324.	–	https://doi.org/ 10.1038/s41375-021-01136-1
35	Roessner P.M., Seiffert M. T-cells in chronic lymphocytic leukemia: Guardians or drivers of disease? <i>Leukemia</i> , 2020, Vol. 34, no. 8, p.p. 2012-2024.	–	https://doi.org/ 10.1038/s41375-020-0873-2
36	Sandova V., Pavlasova G.M., Seda V., Cerna K.A., Sharma S., Palusova V., Brychtova Y., Pospisilova S., Fernandes S.M., Panovska A., Doubek M., Davids M.S., Brown J.R., Mayer J., Mraz M. IL4-STAT6 signaling induces CD20 in chronic lymphocytic leukemia	–	https://doi.org/ 10.3324/haematol.2021.278644

	and this axis is repressed by PI3K δ inhibitor idelalisib. <i>Haematologica</i> , 2021, Vol. 106, no. 11, p.p. 2995-2999.		
37	Sordo-Bahamonde C., Lorenzo-Herrero S., Gonzalez-Rodriguez A.P., R Payer Á., González-García E., López-Soto A., Gonzalez S. BTLA/HVEM Axis Induces NK Cell Immunosuppression and Poor Outcome in Chronic Lymphocytic Leukemia. <i>Cancers (Basel)</i> , 2021, Vol. 13, no. 8, p. 1766.	–	https://doi.org/10.3390/cancers13081766
38	Sordo-Bahamonde C., Lorenzo-Herrero S., González-Rodríguez A.P., Payer Á.R., González-García E., López-Soto A., Gonzalez S. LAG-3 Blockade with Relatlimab (BMS-986016) Restores Anti-Leukemic Responses in Chronic Lymphocytic Leukemia. <i>Cancers (Basel)</i> , 2021, Vol. 13, no. 9, p. 2112.	–	https://doi.org/10.3390/cancers13092112
39	Thieu V.T., Nguyen E.T., McCarthy B.P., Bruns H.A., Kapur R., Chang C.H., Kaplan M.H. IL-4-stimulated NF-kappaB activity is required for	–	https://doi.org/ 10.1189/jlb.1106707

	Stat6 DNA binding. J. Leukoc. Biol., 2007, Vol. 82, no. 2, p.p. 370-379.		
40	Van Attekum M.H., Eldering E., Kater A.P. Chronic lymphocytic leukemia cells are active participants in microenvironmental cross-talk. Haematologica, 2017, Vol. 102, no. 9, p.p. 1469-1476.	–	https://doi.org/ 10.3324/haematol.2016.142679
41	Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. Nature reviews. Immunology, 2015, Vol. 15, no. 8, p.p. 486-499.	–	https://doi.org/ 10.1038/nri3862
42	Yousefi M., Movassaghpour A.A., Shamsasenjan K., Ghalamfarsa G., Sadreddini S., Jadidi-Niaragh F., Hojjat-Farsangi M. The skewed balance between Tregs and Th17 in chronic lymphocytic leukemia. Future Oncol., 2015, Vol. 11, no.10, p.p. 1567-1582.	–	https://doi.org/ 10.2217/fon.14.298
43	Zheng Z., Liu J., Ma J., Kang R., Liu Z., Yu J. Advances in new targets for immunotherapy of small cell lung cancer. Thorac. Cancer, 2024, Vol. 15, no. 1, p.p. 3-14.	–	https://doi.org/ 10.1111/1759- 7714.15178

ХЛЛ. ФЕНОТИП НОРМАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ
NORMAL LYMPHOCYTES IN CLL

10.15789/1563-0625-CIT-3344

Medical Immunology (Russia)

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)