

## **ХАРАКТЕРИСТИКИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ НА ЭТАПЕ ДИАГНОСТИКИ**

**Исаева Н.В., Зайцева Г.А., Докшина И.А.**

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства, г. Киров, Россия*

**Резюме.** Исследованы параметры иммунного статуса у 140 больных хроническим лимфолейкозом. Показано, что уже на этапе диагностики группа больных хроническим лимфолейкозом является разнородной по состоянию иммунологической защиты, а именно по численности иммунокомпетентных клеток в периферической крови. Трактовка их количественных характеристик по общепринятым правилам в большинстве случаев достаточно затруднительна. Приведены обоснования того, что наиболее информативным параметром клеточного иммунитета может быть число активированных Т-лимфоцитов и NK-клеток. Продвинутость опухолевого процесса имеет тесную ассоциативную связь только с одним из исследованных параметров — с соотношением клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>.

*Ключевые слова:* хронический лимфолейкоз, Т-лимфоциты, NK-клетки, соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>

## **FEATURES OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN THE PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA AT PRIMARY DIAGNOSIS**

**Isaeva N.V., Zaitseva G.A., Dokshina I.A.**

*Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical-Biological Agency, Kirov, Russian Federation*

**Abstract.** Some basic parameters of immune profile have been investigated in 140 patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). There was shown that the cohort of CLL patients is heterogeneous for their immune profile as early as at primary diagnosis stage, showing sufficient differences in the numbers of immunocompetent cells in peripheral blood. In most cases, the interpretation of appropriate quantitative characteristics is quite difficult, if based on the conventional criteria. The numbers of activated T-lymphocytes and NK-cells were proven to be the most informative parameters of cellular immunity in this cohort. Progression of leukemic events shows a close association with only a single parameter under study, i.e., CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> cell ratio.

*Keywords:* chronic lymphocytic leukemia, T-lymphocytes, NK-cells, proportion CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>

### **Адрес для переписки:**

*Исаева Наталья Васильевна  
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский  
институт гематологии и переливания крови»  
Федерального медико-биологического агентства  
610027, Россия, Киров, Красноармейская ул., 72.  
Тел.: 8 (8332) 54-51-83.  
Факс: 8 (8332) 54-97-31.  
E-mail: isaevanatalia@yandex.ru*

### **Address for correspondence:**

*Isaeva Natalia V.  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion,  
Federal Medical-Biological Agency  
610027, Russian Federation, Kirov, Krasnoarmeiskaya str., 72.  
Phone: 7 (8332) 54-51-83.  
Fax: 7 (8332) 54-97-31.  
E-mail: isaevanatalia@yandex.ru*

### **Образец цитирования:**

*Н.В. Исаева, Г.А. Зайцева, И.А. Докшина,  
«Характеристики иммунокомпетентных клеток у больных  
хроническим лимфолейкозом на этапе диагностики»  
// Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 6. С. 573-578.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-573-578*

© Исаева Н.В. и соавт., 2015

### **For citation:**

*N.V. Isaeva, G.A. Zaitseva, I.A. Dokshina, "Features of  
immunocompetent cells in the patients with chronic lymphocytic  
leukemia at primary diagnosis", Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya, 2015, Vol. 17, no. 6, pp. 573-578.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-573-578*

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-6-573-578>

## Введение

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) является неоднородным заболеванием, что подтверждено клиническими, морфологическими и цитогенетическими исследованиями. Больным ХЛЛ уже на донозологических этапах заболевания свойственна повышенная подверженность инфекционно-воспалительным процессам, присоединение аутоиммунных осложнений и недостаточность противоопухолевого иммунитета [1]. Патогенез ХЛЛ до конца не раскрыт. В настоящее время интенсивно изучаются аспекты взаимодействия лейкемических клеток с микроокружением, что обеспечивает их выживание, пролиферацию, резистентность к действию проапоптотических стимулов [2]. Не исключено влияние клеток иммунной системы на разнообразие проявлений лейкозного процесса [3]. Это послужило поводом для проведения настоящего исследования.

**Цель работы** состояла в изучении информативности принятых характеристик иммунокомпетентных клеток для оценки состояния иммунной защиты больных ХЛЛ на этапе диагностики заболевания, а также в исследовании взаимосвязей этих параметров с некоторыми клинико-лабораторными показателями пациентов.

## Материалы и методы

### Объект наблюдения

Под наблюдением находилось 140 больных ХЛЛ, их возраст варьировал от 50 до 79 лет. Исследование выполнено в период первичного обращения пациентов, то есть на момент диагностики. Определение стадии заболевания проводилось соответственно классификации J. Vinet. Распределение больных по стадиям было следующим: со стадией А – 72 человека, с В – 60, с С – 8.

В качестве контрольной группы взята когорта из 25 практически здоровых лиц, сопоставимых с наблюдаемыми по возрасту и полу.

### Клеточные факторы иммунитета

Материалом для исследования являлись образцы периферической крови, стабилизированные К<sub>3</sub>ЭДТА. Иммунологические реакции проводили с трехпараметрическими и двухпараметрическими моноклональными антителами (производство: Франция, «IMMUNOTECH»). Идентифицировали и подсчитывали процент иммунокомпетентных клеток: Т-лимфоцитов (по фенотипу CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>), В-лимфоцитов (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>), Т-цитотоксических (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), Т-лимфоцитов с функцией натуральных киллеров, или Т-НК-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD(16<sup>+</sup>56)<sup>+</sup>), поздних активированных Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>); цитотоксических лимфоцитов, не относящихся к Т-линии и имеющих функции «серийных убийц» (CD3<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>); натуральных киллеров (CD3<sup>-</sup>

CD(16<sup>+</sup>56)<sup>+</sup>). Абсолютное число названных клеток определяли методом пересчета. Вычисляли соотношения клеток: Т-лимфоциты/В-лимфоциты (Т/В) и Т-хелперы/Т-цитотоксические (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>). Следует отметить, что метод оценки, используемый нами для определения этих показателей в 2010–2014 годах, проходил внешний контроль качества в Федеральной системе внешней оценки качества.

### Общий анализ крови, миелограмма

При анализе результатов исследований учитывались некоторые данные, входящие в план стандартного обследования каждого больного ХЛЛ: параметры общего анализа крови (число лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина) и миелограммы (клеточность костного мозга и содержание лимфоидных элементов в пунктате).

**Статистический анализ.** При анализе индивидуальных отклонений изучаемых иммунологических параметров принимали во внимание сдвиги в пределах 1,5 σ от среднего значения, поскольку именно этот диапазон считается наиболее информативным для диагностики иммунодефицитных состояний [4]. Для межгруппового сравнения использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, показатель достоверности р, коэффициент корреляции Спирмена r; оценку различий производили по общепринятому порогу значимости –  $p \leq 0,05$ .

Описательная статистика представлена медианой (Me), 25 и 75 квартилями (Q<sub>25</sub>, Q<sub>75</sub>).

## Результаты

### Количественные характеристики иммунокомпетентных клеток при ХЛЛ на этапе диагностики

При анализе образцов крови больных ХЛЛ методом проточной цитометрии был локализован лимфоцитарный полигон. Он содержал клетки с низкими значениями гранулярности. В подавляющем большинстве образцов показатели размера клеток были малыми или средними и в очень редких случаях (в 2%) – крупными. Определение их линейной принадлежности показало, что относительное содержание Т- и НК-лимфоцитов значительно варьировало, например, для Т-лимфоцитов диапазон значений составил 0,5–43,0%, а для натуральных киллеров – 0,6–19,3%. На долю В-лимфоцитов (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>) приходилось 45,1–97% клеток. В отношении результатов исследования всех образцов был применен аналитический внутрилабораторный контроль качества путем подсчета контрольной суммы «Т + В + НК». Для всех без исключения образцов эта контрольная сумма соответствовала рекомендуемому критерию 100±5%.

Соотношение Т/В в наблюдаемой группе больных варьировало от 0,5 до 2,3 и значительно

отклонялось в сторону понижения от такового в группе сравнения: 1,5 (1,1; 1,9) против 4,9 (3,6; 5,6),  $p = 0,001$ . Детальное изучение В-лимфоцитов показало, что основная их масса имела абберантный фенотип: на поверхности клеток значительно преобладала экспрессия одной из цепей иммуноглобулинов (каппа или лямбда) и наблюдалась выраженная коэкспрессия маркеров CD5, CD23.

В таблице 1 представлены среднестатистические значения процентного и абсолютного числа изученных типов лимфоцитов в общей группе больных ХЛЛ и в группе сравнения.

У больных наблюдается значимое снижение относительного содержания в крови Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций (Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов), Т-НК-клеток и поздних активированных Т-лимфоцитов, натуральных киллеров и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов с многократным цитотоксическим действием. Что касается среднестатистических значений абсолютного содержания в крови изученных видов лимфоцитов, то все они, кроме CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов, были существенно выше нормы.

В группе сравнения для каждого абсолютно значения исследуемого показателя мы рассчитали диапазоны значений, соответствующие  $M \pm 1,5 SD$ . Представляло интерес проанализировать число лимфоидных популяций на индивидуальном уровне в наблюдаемой группе пациентов. Как видно из таблицы 2, среди больных ХЛЛ присутствовали лица как со снижением абсолютной численности Т- и НК-лимфоцитов, так и с нормальным и повышенным числом этих клеток.

Проведен анализ числа лиц с понижением количества лимфоидных иммунокомпетентных клеток. Относительно редко у больных регистри-

ровалось понижение содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток с многократным цитотоксическим эффектом. Наиболее часто выявлялось понижение количества НК, Т-НК-клеток и поздних активированных Т-клеток (ниже 192, 65 и 10 клеток на мкл соответственно).

Только у 15,9% больных соотношение клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> укладывалось в принятые нормы. Как видно из таблицы 1, его среднестатистическое значение в наблюдаемой группе больных не отличалось от нормы. Следует добавить, что варьирование этого параметра у больных ХЛЛ было достаточно широким (0,6-3,5).

Выраженное большинство среди больных ХЛЛ на этапе диагностики составляли лица с нормальным или повышенным абсолютным числом иммунокомпетентных клеток. Следует отметить, что у части больных увеличение числа этих клеток было многократным.

#### Взаимозависимость количественных характеристик Т-лимфоцитов, их субпопуляций и НК-клеток с некоторыми клинико-лабораторными параметрами у больных ХЛЛ

Были проведены расчеты по выявлению закономерностей содержания в крови изучавшихся видов лимфоцитов с клинико-лабораторными данными у больных.

Не установлено значимой связи между названными параметрами и возрастом больных.

Большинство этих показателей, выраженных в процентах, находилось в обратной корреляционной связи с абсолютным содержанием в периферической крови лимфоидных элементов, исключение составило число одной малой популяции Т-лимфоцитов – Т-НК-клеток.

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ Т-ЛИМФОЦИТОВ И НК-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХЛЛ НА ЭТАПЕ ДИАГНОСТИКИ

Показатели	Группа сравнения Me (Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> )	Больные ХЛЛ Me (Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> )	p
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , %	78,5 (71,6; 83,5)	12,8 (8,5; 18,2)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , клеток в мкл	1460 (1215; 1601)	2626 (1816; 3742)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , %	39,5 (36,9; 48,0)	6,1 (3,3; 9,7)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , клеток в мкл	803 (661; 941)	1598 (1135; 2141)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , %	26,3 (23,3; 32,7)	5,1 (3,3; 7,9)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , клеток в мкл	513 (358; 689)	944 (583; 1440)	0,002
Т-НК CD3 <sup>+</sup> (16 <sup>+</sup> 56) <sup>+</sup> , %	3,7 (1,8; 7,1)	0,7 (0,3; 1,8)	0,002
Т-НК CD3 <sup>+</sup> (16 <sup>+</sup> 56) <sup>+</sup> , клеток в мкл	71 (29; 151)	208 (73; 347)	0,013
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	1,0 (0,5; 1,4)	0,3 (0,01; 0,8)	0,003
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , клеток в мкл	18 (10,27)	37 (3; 176)	0,198
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , %	3,6 (3,2; 6,8)	1,0 (0,6; 1,4)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , клеток в мкл	86 (58; 142)	169 (112; 322)	0,009
CD3 <sup>+</sup> CD(16 <sup>+</sup> 56) <sup>+</sup> , %	11,5 (9,3; 18,0)	2,6 (1,3; 4,5)	0,000
CD3 <sup>+</sup> CD(16 <sup>+</sup> 56) <sup>+</sup> , клеток в мкл	181 (127; 383)	500 (201; 811)	0,015
Соотношение CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,77 (1,27; 1,94)	1,34 (0,82; 2,25)	0,601

**ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ОТКЛОНЕНИЙ КОЛИЧЕСТВА ПОДВИДОВ Т-ЛИМФОЦИТОВ И НК-КЛЕТОК ОТ ДИАПАЗОНА НОРМЫ**

Показатель	Диапазон нормы (клеток в мкл)	Частота, %		
		снижение	соответствует норме	повышение
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup>	1260-1620	6,7	8,9	84,4
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	720-897	6,7	15,6	77,7
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	460-690	15,6	17,8	66,6
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,42-1,83	47,7	15,9	36,4
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	77-13	15,4	23,1	61,5
CD3 <sup>+</sup> CD(16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> ) <sup>+</sup>	192-340	22,2	17,8	60,0
CD3 <sup>+</sup> (16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> ) <sup>+</sup>	65-123	22,2	11,2	66,6
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	10-36	40,8	6,8	52,4

Найдена статистически значимая прямая корреляционная связь между абсолютным содержанием клеток с фенотипами CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD(16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>)<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> с одной стороны и общим и В-клеточным лимфоцитозом крови с другой. Только абсолютные значения поздних активированных Т-лимфоцитов (фенотип: CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) и НК-клеток (фенотип: CD3<sup>+</sup>CD(16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>)<sup>+</sup>) оказались не связанными с абсолютным лимфоцитозом.

Было обнаружено, что у больных с большей выраженностью общего и В-клеточного лимфоцитоза крови регистрируются более низкие значения соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (существенная отрицательная корреляционная связь:  $r = -0,38$ ,  $p < 0,01$ ).

Абсолютные значения CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов находились в прямой корреляционной связи с уровнем лимфоцитарной инфильтрации костного мозга. Для других подвидов изученных нами Т-лимфоцитов и НК-клеток такой связи не было установлено.

Проанализировали корреляционную связь между числом изучаемых видов лимфоцитов в крови у больных ХЛЛ и содержанием тромбоцитов и эритроцитов. Из всех показателей зна-

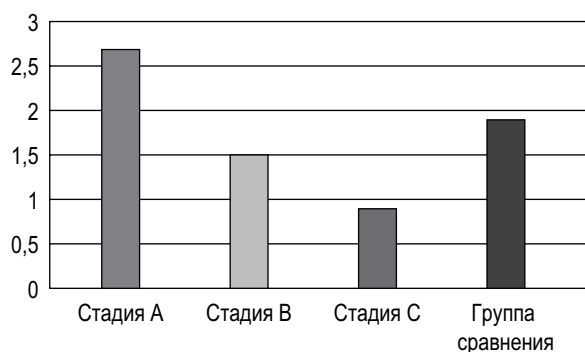
чимая прямая корреляционная зависимость была выявлена для соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> как с содержанием тромбоцитов в крови ( $r = 0,35$ ,  $p < 0,05$ ), так и с количеством эритроцитов ( $r = 0,32$ ,  $p < 0,05$ ).

Интегральным показателем состояния опухолевого процесса является его стадия. В основе стадирования лежит оценка уровня лейкоцитоза, лимфоцитоза, размеров лимфатических узлов, наличия цитопений [5]. Исследование изучаемых параметров у больных в зависимости от стадии заболевания показало, что значимое отличие в группах больных в сравнении с нормой было выявлено только по соотношению CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. У больных со стадией А оно было выше нормы, на стадии В совпадало с нормативным значением, а на стадии С оказалось существенно более низким (рис. 1).

## Обсуждение

Получены удовлетворительные результаты по аналитическому внутрилабораторному контролю качества лабораторного исследования основных популяций лимфоцитов в крови больных ХЛЛ [6]. Следовательно, при работе с образцами крови этих больных стандартная методика идентификации и подсчета процента Т-, В- и НК-лимфоцитов в проточной цитофлуориметрии является точной и вполне применимой (адекватны методы лизирования эритроцитов, гейтирования лимфоидной популяции, выбора моноклональных антител).

Поскольку CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> лимфоциты при ХЛЛ имеют абберантный фенотип, то количество этих клеток у больных не может расцениваться как характеристика гуморального звена иммунитета. По этой же причине расчетный параметр «соотношение Т/В» не рекомендуется рассматривать как показатель преобладания клеточных или гуморальных иммунных реакций организма больного. Возможный подход к оценке неопухолевых



**Рисунок 1. Соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> при разных стадиях ХЛЛ**

В-лимфоцитов при ХЛЛ был ранее сообщен в литературе [7]. При этом обращено внимание на то, что при его применении результаты имеют весьма приблизительный характер. Следовательно, метод оценки гуморального звена иммунитета при ХЛЛ требует дальнейшей разработки.

Преобладающие в периферической крови опухолевые В-лимфоциты не отличаются от не-трансформированных лимфоцитов ни по морфологическим, ни по цитометрическим характеристикам. Поэтому существенное снижение в крови процентного содержания Т-лимфоцитов, их субпопуляций, НК-клеток при ХЛЛ является вполне ожидаемым результатом. Представленные данные убеждают в том, что для избежания ложных интерпретаций иммунограммы у больных ХЛЛ на этапе диагностики целесообразно опираться на процентные значения содержания Т-лимфоцитов, их субпопуляций, подвидов и НК-клеток. Такой же подход может применяться при оценке иммунокомпетентных клеток у больных ХЛЛ в рецидиве заболевания, а также у больных В-клеточными хроническими лимфопролиферативными заболеваниями в стадии лейкемизации. Требуется дальнейшее совершенствование лабораторных методов прицельного анализа состояния иммунокомпетентных клеток у больных ХЛЛ. Примером такого подхода может служить метод оценки интерферон-гамма-секретирующих Т-лимфоцитов непосредственно в крови этих больных [8].

Число больных ХЛЛ с пониженным абсолютным содержанием Т- и НК-лимфоидных популяций составляет выраженное меньшинство. Учитывая функциональную значимость названных клеток, именно эти лица в первую очередь могут рассматриваться как группа риска по присоединению инфекционных осложнений, снижению противоопухолевой защиты и прогрессированию заболевания.

Увеличение числа Т-лимфоцитов, их субпопуляций и подвидов, НК-клеток при рассматриваемом заболевании может быть связано с угнетением в этих клетках механизмов апоптоза. Другая возможная причина наблюдаемого яв-

ления состоит в усилении сигналов пролиферации, поступающих от опухолевых клеток. Известно, что опухолевые клетки способны дополнительно синтезировать цитокины, усиливающие пролиферацию Т-лимфоцитов и НК-клеток, в первую очередь – IL-6, IL-7, IL-10, IFN $\gamma$  [9]. Кроме того, нарастание числа Т- и НК-клеток возможно за счет паракринных регулирующих реакций. Согласно полученным данным, сигналы усиления пролиферации в меньшей степени затрагивают НК-клетки. Численность поздних активированных Т-лимфоцитов в периферической крови тоже не связана с опухолевой массой.

Интерпретация результатов исследования у лиц с нормальным и повышенным числом указанных видов лимфоцитов не эффективна, поэтому необходим поиск информативных тестов оценки функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Работы экспериментального характера показали, что клеткам ХЛЛ присущи признаки иммуногенности [10]. В то же время имеются сообщения о том, что иммунная недостаточность базируется на функциональной неполноценности названных клеток [11-14]. Следовательно, нельзя исключать присутствие лиц с иммунной недостаточностью и среди больных ХЛЛ с нормальным и повышенным числом иммунокомпетентных клеток.

Наличие корреляционных взаимосвязей количественных характеристик Т- и НК-лимфоцитов, а также соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> с клинико-лабораторными параметрами больных ХЛЛ уже в дебюте заболевания говорит о значимости иммунологических механизмов для характера течения ХЛЛ. Несмотря на отсутствие выраженных взаимосвязей изученных показателей непосредственно с уровнем лимфоцитарной инфильтрации костного мозга, вполне очевидно, что развитие эритроцитопении и тромбоцитопении у больных ХЛЛ сопряжено с нарушением иммунорегуляции, а именно выраженность цитопений сопровождается понижением соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. Только для этого показателя была подтверждена тесная ассоциативная связь с факторами продвинутости опухолевого процесса.

## Список литературы / References

1. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2001. 576 с. [Volkova M.A. Clinical oncohematology]. Moscow: Medicine, 2001. 576 p.
2. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. М.: Ньюдиамед, 2002. 280 с. [Vorobiev A.I. Manual of Hematology]. Moscow: Newdiamed, 2002. 280 p.
3. Исаева Н.В., Зайцева Г.А., Загоскина Т.П., Йовдий А.В. Способ определения интерферон-гамма-продуцирующих Т-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. Патент 2526797. – Российская Федерация, 20.08.14. – бюллетень. № 24. [Isaeva N.V., Zaitseva G.A., Zagoskina T.P., Yovdy A.V. Method for determination of interferon-gamma producing T-lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia]. Patent 2526797, Russian Federation, bull. № 24.

4. Караулов А.В. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Медицинское информационное агентство, 2002. 651 с. [Karaulov A.V. Clinical immunology and allergology]. Moscow: Medical News Agency, 2002. 651 p.

5. Селиванова Е.И., Виноградова Ю.Е., Замулаева И.А., Саенко А.С. Индивидуальная вариабельность и клиническое значение плотности иммунофенотипических маркеров В-клеточного хронического лимфолейкоза // Гематология и трансфузиология, 2005. Т. 50, № 3. С. 25-28. [Selivanova E.L., Vinogradova Yu.E., Zamulaeva I.A., Saenko A.S. Individual variability and clinical significance of the count of immunophenotypical markers on the cells of B-cell chronic lymphoid leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*, 2005, Vol. 50, no. 3, pp. 25-28. (In Russ.)]

6. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 974-992. [Khaydukov S.V., Baydun L.V., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. The standardised technigie: «Study subpopulations of peripheral blood lymphocytes by using flow cytometry. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2012, Vol. 8, no. 4, pp. 974-992. (In Russ.)]

7. Burger J. A., Gandhi V. The lymphatic tissue microenvironments in chronic lymphocytic leukemia: in vitro models and the significance of CD40-CD154 interactions. *Blood*, 2009, Vol. 114, no. 12, pp. 2549-2561.

8. Christopoulos P., Pfeifer D., Bartholomé K., Follo M., Timmer J., Fisch P., Veelken H. – aff-5 Definition and characterization of the systemic T-cell dysregulation in untreated indolent B-cell lymphoma and very early CLL. *Blood*, 2011, Vol. 117, no. 14, pp. 3836-3846.

9. Dianzani U., Omede P., Marmont F., DiFranco D., Fusaro A., Bragardo M., Redoglia V., Giarretta F., Mairone L., Boccadoro M. Expansion of T cells expressing low CD4 or CD8 levels in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease status and neoplastic phenotype. *Blood*, 1994, Vol. 83, no. 8, pp. 2198-2205.

10. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Dohner H., Hillmen P., Keating M.J., Montserrat E., Rai K.R., Kipps T.J. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 2008, Vol. 111, no. 12, pp. 5446-5456.

11. Mayr C., Bund D., Schlee M., Moosmann A., Kofler D.M., Hallek M., Wendtner C.-M. Fibromodulin as a novel tumor-associated antigen (TAA) in chronic lymphocytic leukemia (CLL), which allows expansion of specific CD8+ autologous T lymphocytes. *Blood*, 2005, Vol. 105, no. 4, pp. 1566-1573.

12. Riches J.C., Davies J.K., McClanahan F., Fatah R., Iqbal S., Agrawal S., Ramsay A.G., Gribben J.G. T cells from CLL patients exhibit features of T-cell exhaustion but retain capacity for cytokine production. *Blood*, 2013, Vol. 121, no. 9, pp. 1612-1621.

13. Terstappen L.W. M. M., Grooth B. G. De, van Berkel W., Napel C. H. H. Ten, Greve J. Abnormal distribution of CD8 subpopulation in B-chronic lymphocytic leukemia identified by flow cytometry. *Leukemia Research*, 1988, Vol. 12, no. 7, pp. 551-557.

14. Totterman T.H., Carlsson M., Simonsson B., Bengtsson M., Nilsson K. T-cell activation and subset patterns are altered in B-CLL and correlate with the stage of the disease. *Blood*, 1989, Vol. 74, no. 2, pp. 786-792.

---

**Авторы:**

**Исаева Н.В.** – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства, г. Киров, Россия

**Зайцева Г.А.** – д.м.н., профессор, руководитель научного направления ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства, г. Киров, Россия

**Докишина И.А.** – к.м.н., старший научный сотрудник гематологической клиники института ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства, г. Киров, Россия

---

**Authors:**

**Isaeva N.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunohematology, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical Biological Agency, Kirov, Russian Federation

**Zaitseva G.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical Biological Agency, Kirov, Russian Federation

**Dokshina I.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, The Hematology Clinics, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical Biological Agency, Kirov, Russian Federation

---

Поступила 27.03.2015  
Принята к печати 04.04.2015

---

Received 27.03.2015  
Accepted 04.04.2015