

© Коллектив авторов, 2021

Жигарев Д.И.¹, Хорева М.В.¹, Кэмпбэлл К.С.², Ганковская Л.В.¹

Анализ субпопуляций лимфоцитов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом: иммунологические эффекты химиотерапии

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

² Институт исследования рака, Фокс-Чейзовский онкологический центр, 19111, г. Филадельфия, шт. Пенсильвания, США

Резюме

Введение. Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – один из самых распространенных видов опухолей кроветворной системы с низким показателем 5-летней выживаемости. «Золотым стандартом» лечения этого заболевания, особенно для молодых пациентов, является химиотерапевтический курс «7+3» – комбинация цитарабина и антрациклинового антибиотика, обычно даунорубина. Лимфоциты играют ключевую роль в иммунологическом надзоре над опухолями различной локализации. В этом исследовании мы провели детальный анализ эффектов воздействия химиотерапевтической схемы «7+3» на лимфоциты костного мозга, а также изучили некоторые параметры лимфоцитов, характерные для пациентов с ОМЛ.

Цель исследования – изучение клеточного состава и фенотипических особенностей лимфоцитов костного мозга больных ОМЛ на разных стадиях терапии по схеме «7+3».

Материал и методы. Были получены образцы аспирата костного мозга от 61 пациента с ОМЛ. Среди них было отобрано 16 пациентов, которые проходили лечение по классической схеме «7+3». У них были получены образцы костного мозга до и после терапии в одинаковые временные промежутки в течение первых 3 нед посттерапевтического периода. Для получения лейкоцитов из аспиратов костного мозга в образцы добавляли буфер для лизирования эритроцитов, затем лейкоциты окрашивали набором антител, который включал анти-CD3-, CD4-, CD8-, CD16-, CD19-, CD45-, CD56- и CD57-антитела. Анализ клеточного состава и экспрессии указанных молекул проводили на проточном цитометре «BD Aria II» с использованием программного пакета FlowJo.

Результаты. В группе обследованных пациентов с ОМЛ ($n = 16$) выявлены изменения в соотношении популяций лимфоцитов в ходе проведения терапии. В-клетки оказались крайне чувствительными к терапии по схеме «7+3» – они практически полностью элиминировались в раннем посттерапевтическом периоде. Количество НК-клеток восстанавливалось спустя 2–3 нед после окончания курса химиотерапии. Среди общей популяции больных ОМЛ ($n = 61$) отношение $CD4^+/-CD8^+$ -Т-лимфоцитов было несколько повышено, однако лежало в пределах нормальных значений. Выявлены 3 пациента, НК-клетки которых не экспрессировали CD16, тем не менее эта фенотипическая особенность не влияла на эффективность химиотерапии.

Заключение. Настоящее исследование выявило закономерности изменения соотношения популяций лимфоцитов и их поверхностного фенотипа под воздействием химиотерапевтической схемы «7+3». Кроме того, впервые было описано отсутствие экспрессии функционально важной поверхностной молекулы CD16 на НК-клетках некоторых пациентов, что может иметь большое значение, особенно при потенциальном внедрении терапии ОМЛ моноклональными антителами.

Ключевые слова: лимфоциты; противоопухолевый иммунитет; острый миелоидный лейкоз; иммунофармакология; Т-клетки; НК-клетки; В-клетки

Статья получена 19.05.2021. Принята в печать 16.07.2021.

Для цитирования: Жигарев Д.И., Хорева М.В., Кэмпбэлл К.С., Ганковская Л.В. Анализ субпопуляций лимфоцитов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом: иммунологические эффекты химиотерапии. Иммунология. 2021; 42 (4): 364–375. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-364-375>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Жигарев Дмитрий Игоревич –
аспирант кафедры иммунологии
МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ
им. Н.И. Пирогова
Минздрава России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: zhigarev.di@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8227-3875>

Zhigarev D.I.¹, Khoreva M.V.¹, Campbell K.S.², Gankovskaya L.V.¹

Analysis of subpopulations of bone marrow lymphocytes in patients with acute myeloid leukemia: immunological effects of chemotherapy

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 117997, Moscow, Russian Federation

² Institute for Cancer Research, Fox Chase Cancer Center, 19111, Philadelphia, PA, USA

Abstract

Introduction. Acute myeloid leukemia is one of the most common types of blood cancers with low five-year survival rate and poor prognosis. The gold standard of treatment for this disease is a chemotherapy scheme called «7+3» which stands for a combination of cytarabine and an anthracycline antibiotic, usually daunorubicin. Lymphocytes play a pivotal role in cancer immunosurveillance. In this study, we conducted a detailed analysis of the effects of the «7+3» chemotherapy regimen on bone marrow lymphocytes and examined several parameters of lymphocytes from patients with acute myeloid leukemia.

Aim of the study is to investigate the percentage and phenotypic characteristics of bone marrow lymphocytes in AML patients at different stages of «7+3» chemotherapy course.

Material and methods. Bone marrow aspirate samples were obtained from 61 AML patients. Among them, 16 patients were treated according to the classical «7+3» scheme and had at least two samples before and after therapy. Erythrocyte lysis buffer was used to isolate leukocytes from bone marrow aspirates, then cells were stained with a panel of antibodies, which included anti-CD3-, CD4-, CD8-, CD16-, CD19-, CD45-, CD56- and CD57-antibodies. FACS analysis was performed on a BD Aria II flow cytometer and data were analyzed using FlowJo software.

Results. The ratio of lymphocyte populations changed during the therapy in the group of 16 AML patients. We found out that B cells were extremely sensitive to «7+3» therapy; they were eliminated by the early post-therapeutic period. NK cells began to recover 2–3 weeks after the end of the course of chemotherapy. Within the total group of 61 AML patients the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T cells was slightly increased, although this parameter stayed within the normal range. 3 patients whose NK cells did not express CD16 were identified, however, this phenotype did not affect the effectiveness of chemotherapy and patient outcomes.

Conclusion. The present study revealed patterns of changes in the ratio of lymphocyte populations and their surface phenotype under the influence of the «7+3» chemotherapy regimen. In addition, the lack of expression of the surface molecule CD16 on the NK cells of some patients was demonstrated.

Key words: lymphocytes; antitumor immunity; acute myeloid leukemia; immunopharmacology; T cells; NK cells; B cells

Received 19.05.2021. Accepted 16.07.2021.

For citation: Zhigarev D.I., Khoreva M.V., Campbell K.S., Gankovskaya L.V. Analysis of subpopulations of bone marrow lymphocytes in patients with acute myeloid leukemia: immunological effects of chemotherapy. *Immunologiya*. 2021; 42 (4): 364–75. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-364-375> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

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

For correspondence

Dmitry I. Zhigarev –
Postgraduate Student
of the Immunology Chair,
N.I. Pirogov RNRMU,
MOH of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: zhigarev.di@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8227-3875>

Введение

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – группа онкологических заболеваний костного мозга (КМ), характеризующаяся неблагоприятным прогнозом, высокой частотой рецидивов и манифестацией в пожилом возрасте [1]. Важнейшую роль в иммунопатогенезе онкологических заболеваний играют лимфоциты [2–4]. Химиотерапия, которая применяется для лечения ОМЛ, может

существенно влиять как на клеточный состав лимфоцитов, так и на их фенотипические особенности [5, 6]. Подобные воздействия неизбежно влекут за собой изменение активности лимфоцитов и, в итоге, выраженность противоопухолевого иммунного ответа.

Наиболее частой химиотерапевтической схемой, используемой в качестве индукционной терапии ОМЛ первой линии, является так называемый режим «7+3»,

что расшифровывается как «7 дней стандартных доз цитарабина с последующими 3 днями даунорубицина или другого антрациклинового антибиотика» [7]. Цитарабин представляет собой модифицированный аналог цитидина и по механизму действия относится к группе антиметаболических цитостатических средств. Антрациклиновые антибиотики также принадлежат к группе антиметаболических средств, механизм действия которых заключается в ингибировании синтеза нуклеиновых кислот [8]. Режим «7+3» является весьма агрессивным способом терапии ОМЛ и наиболее часто применяется для лечения относительно молодых пациентов [7]. Большая часть побочных эффектов этого химиотерапевтического режима связана с неспецифичностью цитостатического действия входящих в него препаратов, которые элиминируют не только опухолевые, но и другие быстроделющиеся клетки, в том числе предшественники лимфоцитов [7, 9]. Также было показано, что интенсивный курс химиотерапии способен приводить к лимфоцитопении за счет разрушения зрелых лимфоцитов, особенно В-клеток [10, 11]. Помимо лимфоцитарных популяций в значительной степени страдает гранулоцитарный росток – как от самого заболевания, так и в результате цитотоксической химиотерапии. Для пациентов с ОМЛ характерна стойкая ярко выраженная нейтропения [12].

Однако результаты ряда исследований демонстрируют, что эффекты цитостатических препаратов на иммунную систему человека не ограничиваются простой элиминацией иммунных клеток [5, 6, 13]. Так, например, было показано, что несмотря на выраженную лимфоцитопению, химиотерапевтические препараты провоцируют экспансию особой субпопуляции $CD4^+NKG2D^+$ -Т-клеток, количество которых прямо пропорционально благоприятным исходам у больных меланомой [14]. 5-фторурацил увеличивает продукцию интерферона γ (ИФН- γ) $CD8^+$ -Т-лимфоцитами, инфильтрирующими опухоль [15]. Мыши, вакцинированные опухолевыми клетками, которые подвергались воздействию доксирубицина *in vitro*, развивают значительно более выраженный противоопухолевый $CD4^+$ -Т-клеточный иммунный ответ и в целом показывают увеличенную продолжительность жизни по сравнению с мышами, вакцинированными опухолевыми клетками, которые не подвергались воздействию доксирубицина [16].

Помимо Т-лимфоцитов, химиотерапия может влиять на жизнеспособность и функциональную активность НК-клеток, причем 2 разными способами: напрямую, изменяя поверхностную экспрессию ряда функционально активных рецепторов НК-клеток, и косвенно, влияя на опухолевые клетки и, как следствие, изменяя цитотоксическую способность НК-клеток [17, 18]. Так, малые дозы циклофосфида значительно усиливают противоопухолевую активность НК-клеток и селективно угнетают популяцию иммуносупрессивных Трег-лимфоцитов [19]. Примером благоприятного для элиминации НК-клетками изменения фенотипа клеток опухоли является увеличение экспрессии B7-H6,

лиганда к активирующему НК-клеточному рецептору NKp30, под воздействием ряда химиотерапевтических средств [17, 20].

Вышеописанные примеры воздействия химиотерапии на лимфоциты демонстрируют сложность и неоднозначность иммунологических эффектов химиотерапевтических средств. Понимание того, что происходит с иммунными клетками под воздействием химиотерапевтических препаратов, является необходимым условием для разработки новых комбинаций химиотерапии с иммунотерапевтическими средствами. Кроме того, представление об изменениях фенотипа лимфоцитов под действием химиотерапии позволяет судить о роли иммунных клеток на разных стадиях течения ОМЛ.

Настоящее исследование фокусируется на изучении количественных соотношений основных популяций лимфоцитов и оценке экспрессии 2 важных маркеров НК-клеток – поверхностных молекул CD16 и CD57.

Материал и методы

Характеристика пациентов. В исследуемую группу был включен 61 пациент с диагнозом «острый миелоидный лейкоз». На момент постановки диагноза ни один из пациентов не проходил противоопухолевое лечение в течение, как минимум, 3 лет. Последующие терапевтические мероприятия были проведены на базе госпиталя Фокс-Чейзовского онкологического центра (Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, USA) или Больницы Джинс (Jeanes Hospital, Philadelphia, PA, USA). Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого». Этические и методологические аспекты исследования были одобрены комиссией специалистов IRB (англ. Institutional review board) Фокс-Чейзовского онкологического центра (протокол № 17-9023). Объектом исследования служили образцы аспирата красного КМ пациентов, полученные до терапевтических мероприятий и на разных этапах посттерапевтического периода. Забор аспирата КМ осуществлялся из заднего гребня подвздошной кости таза в количестве 0,5–3,0 мл в пробирки с натриевой солью гепарина.

В общей группе пациентов ($n = 61$) были применены смешанные терапевтические схемы, в том числе терапия гипометилирующими препаратами и модернизированными схемами «7+3», поэтому образцы из этой группы использовали только для анализа экспрессии CD16 на НК-клетках пациентов и определения отношения $CD4^+/CD8^+$ в популяции больных ОМЛ. Из общей группы отобраны 16 пациентов, которые проходили лечение по схеме «7+3» в классическом виде, без применения дополнительных лекарственных средств. Образцы, полученные от этой группы пациентов, были разделены на 3 подгруппы. 1-я подгруппа включала образцы КМ, полученные до лечения, и представляла базовый уровень клеточного состава и экспрессии маркеров ($n = 16$). Во 2-ю подгруппу вошли образцы, полу-

ченные в период 1–7 дней (1-я неделя) с момента окончания курса химиотерапии. Изменения, обнаруженные в этих образцах, были интерпретированы как ранние посттерапевтические изменения ($n = 7$). 3-я подгруппа включала образцы КМ, полученные в период 8–21 день (2–3-я неделя) после окончания терапии, эта группа характеризовала поздние посттерапевтические изменения ($n = 15$).

Проточная цитометрия. Для лизирования эритроцитов в образцах КМ использовали лизирующий буфер (BD FACS Lysing Solution, Becton Dickinson, США). Полученные клетки окрашивали моноклональными антителами (МкАт), конъюгированными с флуорохромами. В настоящем исследовании была использована панель антител (Ат), подразумевающая наличие 3 отдельных пробирок – для исследования В-клеток (CD3, CD19, CD45), Т-клеток (CD3, CD4, CD8, CD45) и НК-клеток (CD3, CD8, CD16, CD45, CD56, CD57). Анализ клеточного состава и фенотипа лимфоцитов КМ исследовали методом проточной цитометрии на цитометре «ARIA II» (Becton Dickinson, США).

Анализ данных проточной цитометрии. Стратегия определения клеточных популяций включала несколько этапов. На первом этапе из общей массы клеток КМ исключали клеточные конгломераты путем выделения событий, находящихся в прямой линейной зависимости в координатах прямого светорассеяния FSC-A (forward scatter – area) и FSC-H (forward scatter – height). В полученном массиве клеток определяли лимфоциты как CD45⁺SSC^{low}-клетки. Внутри популяции лимфоцитов разделяли Т-клетки (CD3⁺-лимфоциты), НК-клетки (CD3-CD56⁺-лимфоциты) и В-клетки (CD3-CD56⁻CD19⁺-лимфоциты).

Статистическую обработку полученных данных проводили в компьютерных программах Graph Pad Prism 7.03 (GraphPad Software Inc., США), MatLab (MathWorks Inc., США) и Microsoft Office Excel (Microsoft, США). Для установления статистической значимости между параметрами в разных временных точках (до лечения, в течение 1-й недели после окончания терапии и в течение 2–3-й недели после окончания тера-

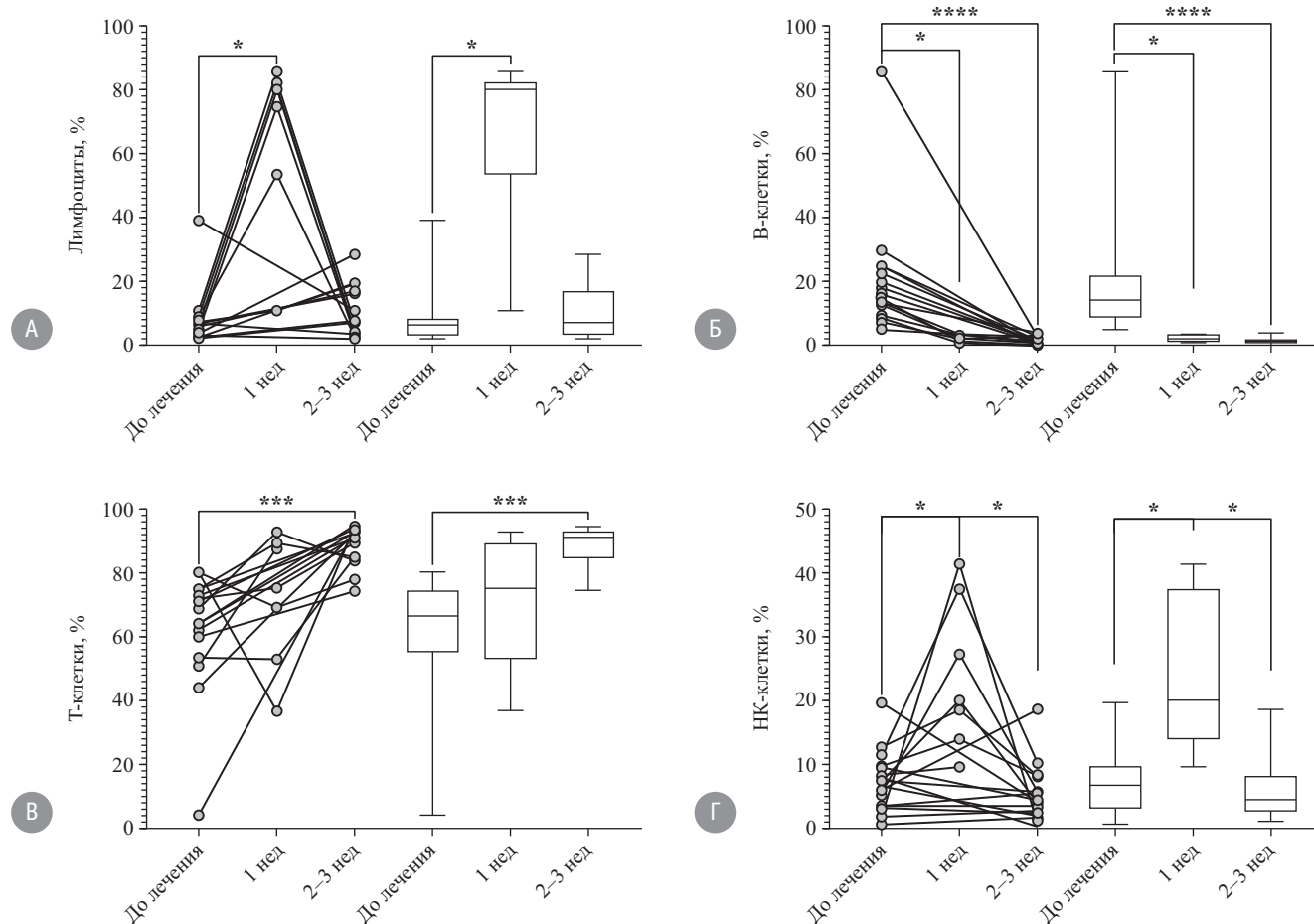


Рис. 1. Анализ соотношения клеточных популяций костного мозга (КМ) пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)

А – изменение доли лимфоцитов от общего числа лейкоцитов пациентов ОМЛ до и после проведения терапии по схеме «7+3»; Б – динамика изменения доли В-клеток от общего числа лимфоцитов до и после проведения терапии по схеме «7+3»; В – динамика изменения доли Т-клеток от общего числа лимфоцитов до и после проведения терапии по схеме «7+3»; Г – динамика изменения доли НК-клеток от общего числа лимфоцитов до и после проведения терапии по схеме «7+3»; слева – значения параметров для каждого пациента, справа – данные представлены в виде медианы.

Здесь на рис. 2–5: * – $0,01 < p < 0,05$; ** – $0,001 < p < 0,01$; *** – $0,0001 < p < 0,001$; **** – $0,0001 < p$.

пии) использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Результаты

При анализе соотношений клеточных популяций обнаружено значительное повышение доли лимфоцитов среди лейкоцитов КМ в течение 1-й недели после окончания терапии (рис. 1А). В дальнейшем, в период поздних изменений, процентное содержание лимфоцитов возвращается на базовый уровень.

Среди популяций лимфоцитов особенно явно выражено снижение доли В-клеток (рис. 1Б). Массовая гибель В-клеток начинается на ранних посттерапевтических этапах, а их доля от общего числа лимфоцитов не восстанавливается, как минимум, в течение первых 3 нед после окончания химиотерапии.

Содержание Т-клеток, напротив, повышается в течение этого промежутка времени (рис. 1В). Медиана доли Т-клеток изменяется с 76,15 % в стадии «до лечения» до 94,13 % в позднем посттерапевтическом периоде ($p = 0,0001$).

Изменение доли НК-клеток от общего числа лимфоцитов носит нелинейный характер (рис. 1Г). Доля НК-клеток увеличивается в раннем посттерапевтическом периоде и возвращается на исходный уровень к 3-й неделе после окончания курса терапии.

Из общей группы пациентов несколько выбивается 1 индивид, характеризующийся большим количеством В-клеток среди лимфоцитов КМ в дотерапевтическом периоде. Подобные случаи наблюдаются нечасто, однако такие проявления заболевания описаны в литературе и классифицируются как острая лейкемия со смешанным фенотипом [21]. При этом терапевтические схемы, применяющиеся у таких пациентов, аналогичны схемам для лечения классического ОМЛ.

Проанализировав данные, полученные из образцов КМ до начала терапии в общей группе пациентов

($n = 61$), мы обнаружили, что отношение $CD4^+/CD8^+$ -Т-клеток несколько повышено в популяции больных ОМЛ. Медиана этого параметра смещена в область границы высоких значений и составляет 1,31 (рис. 2А), при этом нормальный диапазон в КМ лежит в пределах 0,5–1,5 [22]. Интересно, что анализ этого параметра в посттерапевтическом периоде среди 16 пациентов, проходящих лечение по схеме «7+3», не выявил никаких статистически значимых изменений (рис. 2Б).

Проведен анализ изменения числа $CD56^+CD3^+$ -Т-клеток в КМ пациентов. Статистически значимых изменений количества этой клеточной субпопуляции в течение посттерапевтического периода не обнаружено (рис. 3А). Однако интересен тот факт, что среди популяции $CD56^+CD3^+$ -Т-клеток с течением времени становится больше $CD8^+$ -Т-киллеров, а не других субпопуляций Т-клеток (рис. 3Б).

При анализе характеристик НК-клеток было обнаружено, что доля незрелых $CD56^{bright}CD16^-$ -НК-клеток увеличивается к 2–3-й неделе посттерапевтического периода (рис. 4А).

Кроме того, нами проанализирована экспрессия CD16 на НК-клетках всех образцов КМ, полученных от 61 пациента, до и после проведения химиотерапии. Всего изучено 153 образца. Значения средней интенсивности флуоресценции (MFI – англ. Mean fluorescence intensity) CD16 представлены на рис. 5А. Распределение уровня экспрессии оказалось широким (значения MFI варьировали от 50 до 38 000 единиц) и носило хаотичный характер. Однако нами было замечено, что клетки 3 пациентов не экспрессировали CD16 ни в одной из временных точек. Эти пациенты представляли интерес и их клинические особенности были тщательно проанализированы по архивным данным больницы и консультациям с их лечащими врачами.

Выборка из 16 пациентов, проходящих лечение по схеме «7+3», не включала ни одного пациента с от-

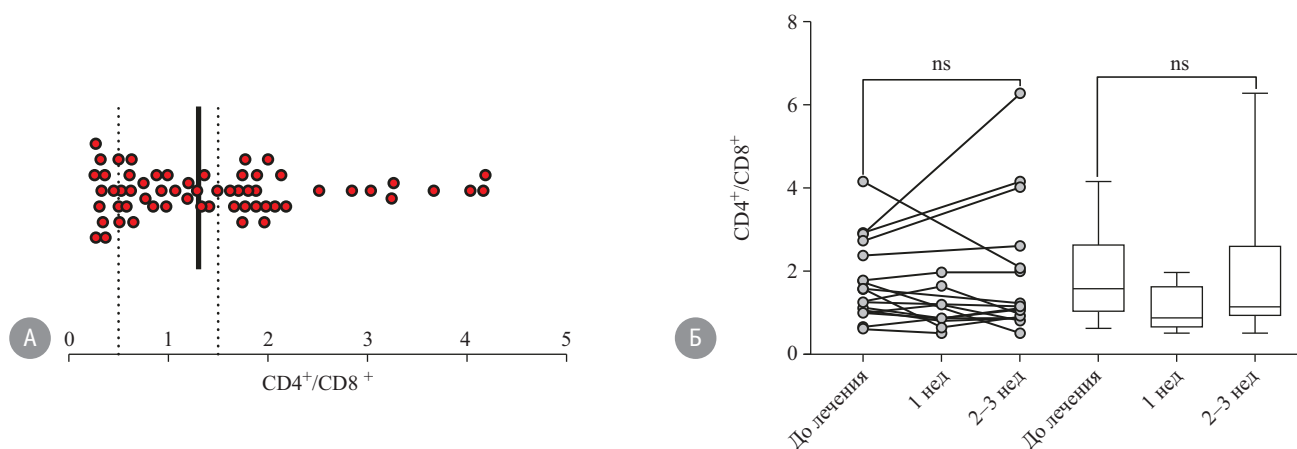


Рис. 2. Соотношение $CD4^+/CD8^+$ в костном мозге (КМ) пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)

А – распределение значений соотношения $CD4^+/CD8^+$ в КМ пациентов с ОМЛ ($n = 61$) до начала химиотерапии; пунктирными линиями отмечены границы распределения значений $CD4^+/CD8^+$ в КМ в норме; вертикальная черная линия отображает медиану значений у пациентов с ОМЛ; Б – динамика изменения значения $CD4^+/CD8^+$ в КМ пациентов с ОМЛ ($n = 16$) до и после проведения терапии; слева – значения параметров для каждого пациента, справа данные представлены в виде медианы.

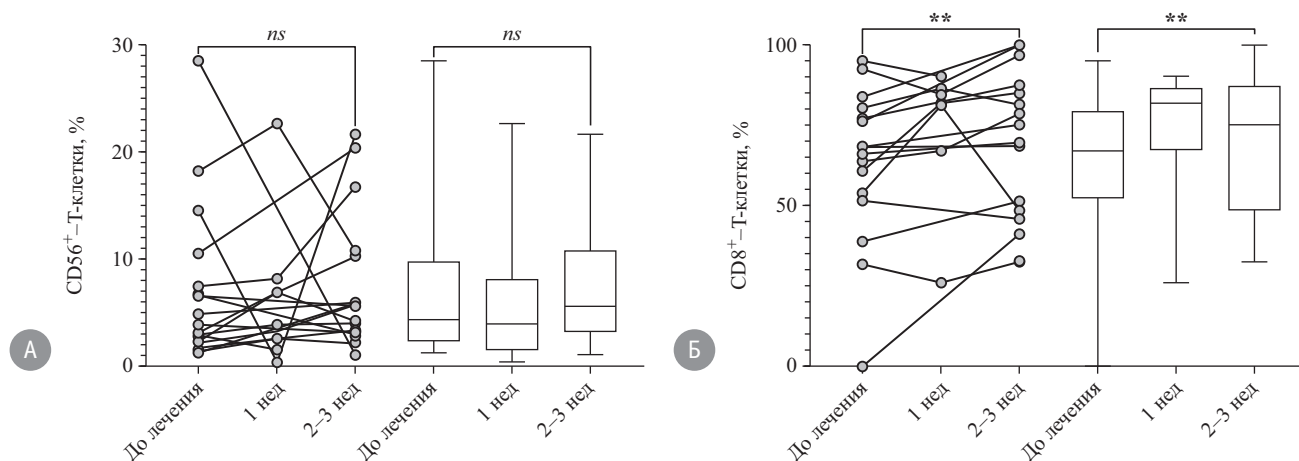


Рис. 3. Анализ популяции CD56⁺-Т-клеток в костном мозге (КМ) пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)

А – изменение доли CD56⁺-Т-клеток от общего числа Т-лимфоцитов в КМ пациентов с ОМЛ до и после проведения химиотерапии; слева – значения параметров для каждого пациента, справа данные представлены в виде медианы; *Б* – изменение доли CD8⁺-Т-клеток среди CD56⁺-Т-лимфоцитов в КМ пациентов с ОМЛ до и после проведения химиотерапии.

сутствием экспрессии поверхностного CD16. Внутри этой группы пациентов мы изучили уровень экспрессии CD16 до и после прохождения химиотерапии и не обнаружили статистически значимого изменения ни в процентном содержании CD16⁺-НК-клеток (рис. 5Б), ни в значении MFI (рис. 5В).

Результаты анализа изменения доли CD57⁺-клеток среди CD56^{dim}-НК-лимфоцитов приведены на рис. 4Б. Как видно из графика, статистически значимых изменений этого параметра не обнаружено.

Обсуждение

В проведенном исследовании выявлено повышение доли лимфоцитов среди лейкоцитов в ранний посттерапевтический период. По-видимому, это объясняется элиминацией бластных опухолевых клеток и нейтрофилов. В позднем посттерапевтическом периоде лейко-

циты начинают восстанавливаться, и доля лимфоцитов снижается практически до исходного уровня. Подобная тенденция была описана в других исследованиях, опубликованных ранее [23, 24].

В литературе также имеются сведения о высокой чувствительности В-клеток периферической крови к химиотерапии, поэтому мы ожидали увидеть подобный результат и в КМ [11]. Мы показали, что резкая элиминация В-клеток происходит в раннем посттерапевтическом периоде, при этом содержание клеток не восстанавливается, как минимум, в течение первых 3 нед после окончания терапии, что может свидетельствовать о значительном ослаблении гуморального иммунного ответа у пациентов после прохождения лечения по схеме «7+3».

Выявленное нами в исследовании повышение доли Т-клеток среди лимфоцитов КМ может быть связано с

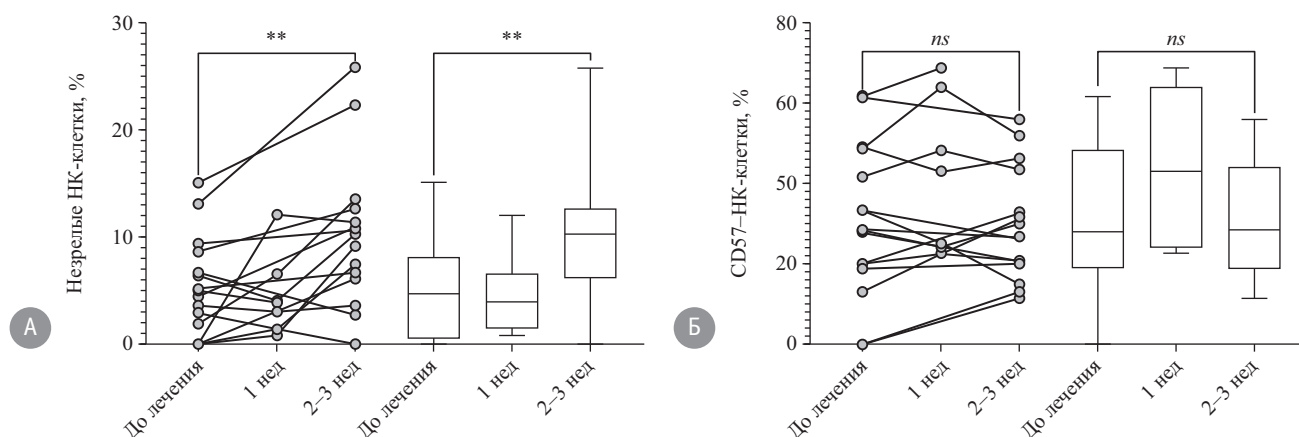


Рис. 4. Изменение характеристик НК-клеток в костном мозге (КМ) пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)

А – изменение доли незрелых CD56^{bright}-НК-клеток от общей популяции НК-клеток в КМ пациентов с ОМЛ до и после проведения химиотерапии; слева – значения параметров для каждого пациента, справа данные представлены в виде медианы; *Б* – доля CD57⁺-клеток среди зрелых CD56^{dim}-НК-клеток до и после проведения химиотерапии.

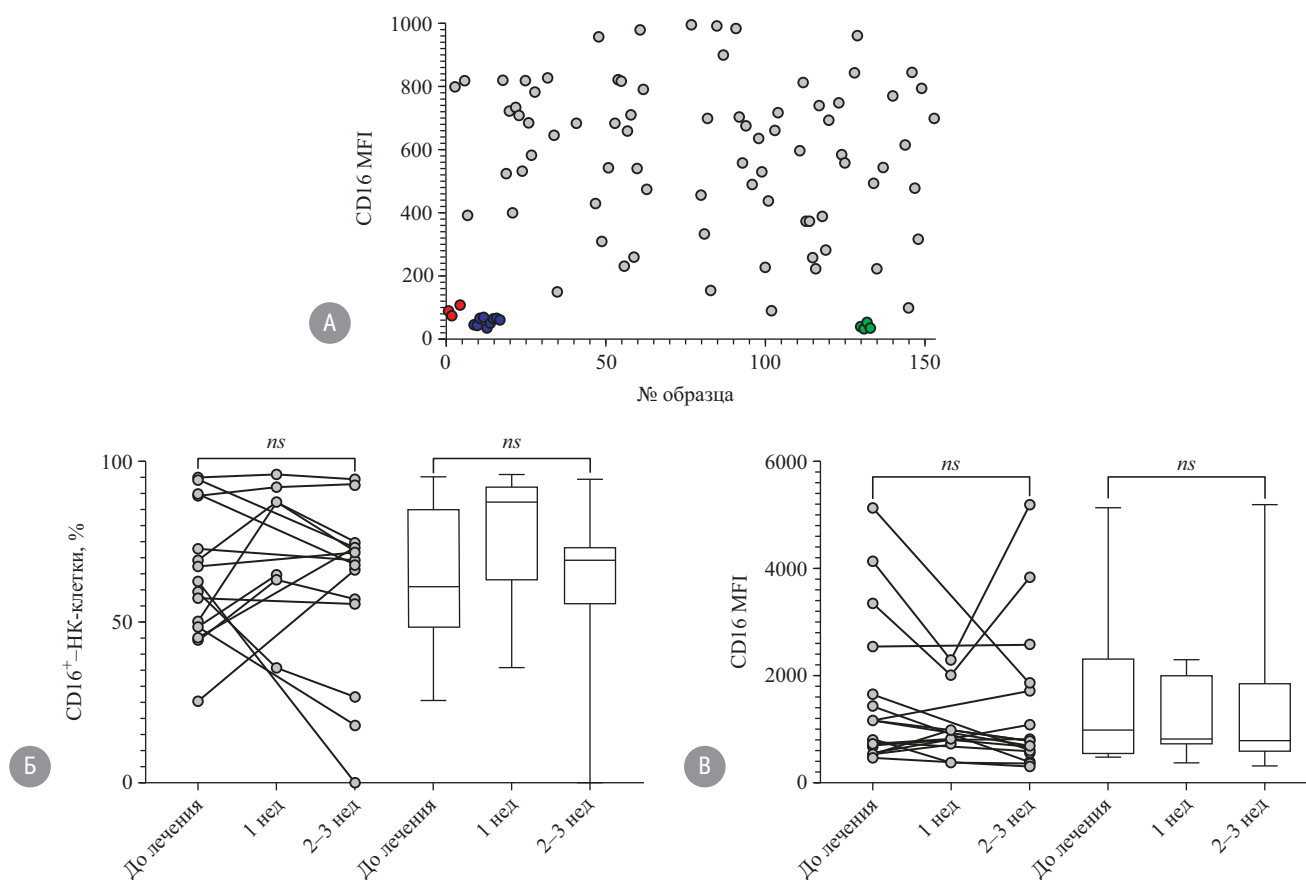


Рис. 5. Анализ экспрессии поверхностного маркера CD16 на НК-клетках костного мозга (КМ) пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)

А – экспрессия CD16 на НК-клетках КМ пациентов с ОМЛ ($n = 153$), полученные от 61 пациента до и после проведения химиотерапии; на оси X – номера образцов, сгруппированные по пациентам и отсортированные в порядке увеличения номера образца; по оси Y – значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD16. Для увеличения разрешения в нижней части графика показаны только точки со значением CD16 MFI < 1000 единиц (93 значения из 153). Красным, синим и зеленым цветом выделены точки, соответствующие образцам, полученным от 3 пациентов, не экспрессирующих CD16 на поверхности НК-клеток. *Б* – доля CD16⁺ зрелых CD56^{dim}-НК-клеток до и после проведения химиотерапии; слева – значения параметров для каждого пациента, справа данные представлены в виде медианы; *В* – интенсивность флуоресценции (MFI) CD16 на поверхности CD56^{dim}-НК-клеток до и после проведения химиотерапии; слева – значения параметров для каждого пациента, справа данные представлены в виде медианы.

резкой элиминацией В-клеток, однако в то же время оно иллюстрирует резистентность Т-клеток к химиотерапии. Продолжительность жизни Т-клеток превышает 100 сут, так что, несмотря на гибель клеток-предшественников, их количество в КМ остается относительно стабильным.

Интересный нелинейный характер изменения доли НК-клеток связан с небольшой продолжительностью их жизни, которая в среднем составляет 7–14 дней. Таким образом, доля НК-клеток повышается на ранних стадиях после терапии из-за элиминации В-клеток, однако вскоре после этого НК-клетки начинают погибать по естественным причинам, при этом восстановление их количества до исходного уровня невозможно из-за недостатка клеток-предшественников.

Соотношение CD4⁺/CD8⁺ применяется в диагностике многих заболеваний – от ВИЧ-инфекции до опухолей различной этиологии [25]. Нормальные значения CD4⁺/CD8⁺ в КМ лежат в диапазоне от 0,5 до 1,5. Смещение этого показателя может говорить о наличии

заболевания и быть основанием к проведению дополнительных исследований [22]. Например, было продемонстрировано, что сниженные значения соотношения CD4⁺/CD8⁺ наблюдаются при некоторых видах рака, а также коррелируют с распространением метастазов у больных раком легких [26, 27]. Напротив, повышенные соотношения CD4⁺/CD8⁺ обнаружено у пациентов с фолликулярной лимфомой [28].

Исследуя КМ пациентов с ОМЛ, мы обнаружили, что соотношение CD4⁺/CD8⁺ смещено к верхней границе нормы. При этом почти у половины пациентов (26 из 61) обнаружено значение CD4⁺/CD8⁺ выше границ нормального диапазона. Поскольку изменения значения CD4⁺/CD8⁺ с течением времени после проведения химиотерапии не обнаружено, можно говорить о том, что некоторое повышение этого параметра в популяции больных ОМЛ специфично для этого заболевания и не связано с видом назначенной терапии.

Было показано, что популяция $CD3^+CD56^+$ -Т-лимфоцитов в большей степени включает активированные эффекторные Т-клетки [29, 30]. Такие клетки обладают повышенной экспрессией цитотоксических молекул (например, перфорины) и усиленной способностью к секреции ИФН- γ [30]. Мы проанализировали процентное содержание $CD3^+CD56^+$ -Т-лимфоцитов в КМ пациентов с ОМЛ до и после проведения химиотерапии. В результате было обнаружено, что доля $CD3^+CD56^+$ -Т-клеток не изменяется после проведения химиотерапии. Однако было выявлено, что в позднем посттерапевтическом периоде доля $CD8^+$ -Т-киллеров среди $CD56^+CD3^+$ -Т-лимфоцитов больше, чем до лечения. Обнаруженный факт позволяет предположить, что под действием курса химиотерапии происходит активация цитотоксических Т-клеток. Известно, что у больных ОМЛ в целом наблюдается хроническая активация $CD8^+$ -Т-клеток по сравнению со здоровыми донорами, однако влияние химиотерапии на этот параметр ранее изучено не было [31].

Среди НК-клеток принято выделять 2 субпопуляции на основе уровня экспрессии поверхностных маркеров $CD16$ и $CD56$ [32]. $CD16^+CD56^{dim}$ -клетки являются зрелыми терминально дифференцированными НК-клетками, которые проявляют выраженные цитотоксические свойства. В то же время $CD16^-CD56^{bright}$ -НК-клетки – это популяция незрелых НК-клеток с очень слабым цитотоксическим потенциалом и значительной способностью к выработке ИФН- γ [33]. Повышение доли незрелых $CD16^-CD56^{bright}$ -НК-клеток говорит о восстановлении популяции НК-клеток и часто является следствием стрессорных воздействий, в том числе курса химиотерапии [34]. Результаты, полученные в нашем исследовании, подтверждают данную тенденцию.

Как было описано выше, в период поздних посттерапевтических изменений клетки, на момент начала терапии бывшие зрелыми, погибают по естественным причинам. Полученные данные демонстрируют: несмотря на то что химиотерапия в значительной степени угнетает пролиферацию клеток-предшественников, к 2–3-й неделе после окончания терапии начинается восстановление НК-клеточной популяции.

$CD16$ (Fc γ RIII – low affinity IgG Fc receptor type III) – рецептор, обладающий аффинностью к консервативному Fc-домену IgG. Поверхностная экспрессия этого рецептора обеспечивает связывание НК-клетки с клетками-мишенями, опсонизированными Ат, она необходима для развития антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) [35]. Этот механизм частично лежит в основе терапевтического действия МкАт [36].

Обнаружение пациентов с ОМЛ, НК-клетки которых не экспрессируют $CD16$, представляет особый научный и прикладной интерес. На первый взгляд наиболее вероятное объяснение полученных результатов заключается в особенностях дизайна эксперимента – в исследовании использовали определенный клон анти- $CD16$ -Ат (B73.1), специфичный к конкретному эпитопу молекулы $CD16$. Потенциальное наличие мутации в гене

$CD16$ упомянутых пациентов было бы способно изменить конфигурацию молекулы и сделать связывание Ат и эпитопа невозможным. Для проверки этой гипотезы при изучении некоторых образцов был использован дополнительный клон анти- $CD16$ -Ат (3G8). Однако нами не выявлено отличий в экспрессии молекулы $CD16$, измеренной с помощью Ат к разным эпитопам $CD16$ (рис. 6). Таким образом, с высокой долей вероятности можно говорить о том, что у некоторых пациентов с ОМЛ отсутствует поверхностная экспрессия молекулы $CD16$ на НК-клетках.

С учетом неординарности фенотипа НК-клеток этих пациентов был проведен анализ их клинических данных: продолжительности жизни и терапевтического ответа на курс химиотерапии. Однако никакой закономерности в терапевтическом ответе этих пациентов по сравнению с общей выборкой не выявлено.

Одновременно с этим мы исследовали изменение экспрессии $CD16$ НК-клетками в течение посттерапевтического периода у больных ОМЛ. Наши данные говорят о том, что поверхностная экспрессия этой молекулы остается стабильной, то есть химиотерапевтическая схема «7+3», по-видимому, не влияет на способность НК-клеток участвовать в АЗКЦ.

Другая изученная в рамках данного исследования молекула – $CD57$ (B3GAT1 – Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-glucuronosyltransferase 1) представляет собой поверхностную молекулу, ассоциированную с межклеточным взаимодействием. $CD57$ является лигандом к ламинину, L- и P-селектинам и нейрональной адгезионной молекуле – амфотерину [37]. В иммунологическом плане $CD57$ представляет особый интерес из-за своей селективной экспрессии на активированных Т- и НК-клетках. $CD57$ является маркером терминальной дифференцировки лимфоцитов, не способных к пролиферации, однако обладающих повышенной функциональной активностью [37].

Ранее было показано, что терминально дифференцированные зрелые НК-клетки пациентов с хроническим лимфолейкозом избирательно погибают в процессе осуществления своих цитотоксических функций [38]. Однако в нашем исследовании подобных изменений не обнаружено. Стабильность доли терминально дифференцированных НК-клеток говорит об отсутствии избирательности гибели НК-клеток по принципу зрелости под действием химиотерапии.

Заключение

Полученные результаты позволяют судить о качественных и количественных изменениях лимфоцитов КМ пациентов с ОМЛ, проходящих лечение по схеме «7+3». Было продемонстрировано изменение соотношения лимфоцитов в течение первых 3 нед после окончания курса химиотерапии. Мы обнаружили, что В-лимфоциты КМ крайне чувствительны к химиотерапевтической схеме, они практически полностью элиминируются на первых посттерапевтических этапах и не восстанавливаются, как минимум, в течение 3 нед.

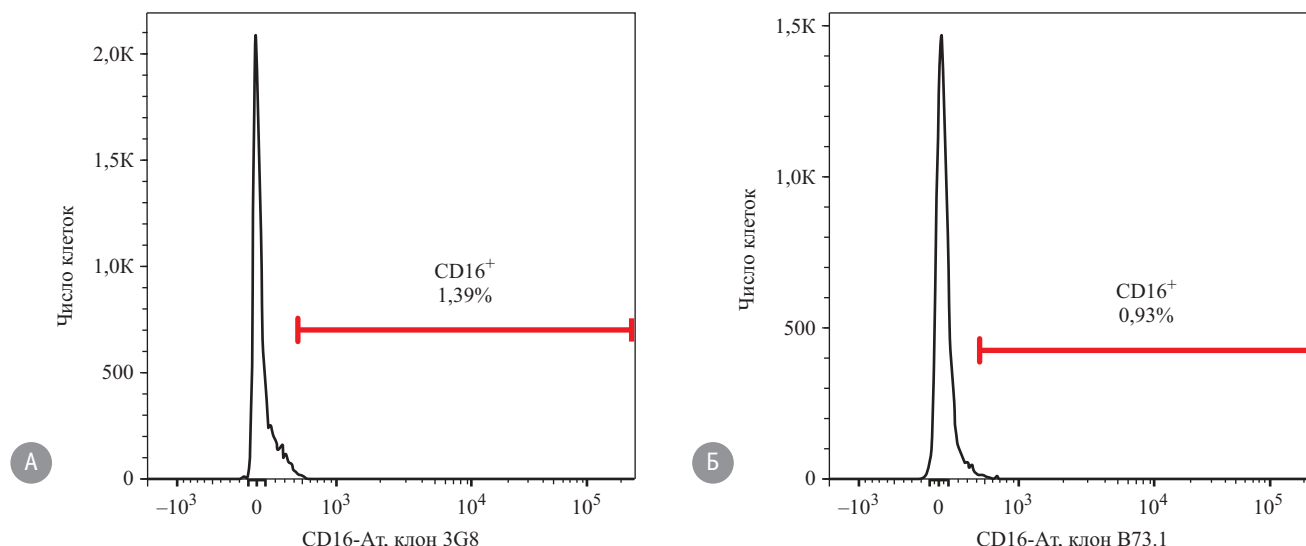


Рис. 6. Сравнение экспрессии CD16 на поверхности НК-клеток пациента, измеренной с помощью окрашивания двумя разными клонами анти-CD16-антител методом проточной цитометрии

А – клон 3G8, конъюгированный с флуорофором Cy5.5/PerCP; Б – клон B73.1, конъюгированный с PE.

Т-лимфоциты КМ пациентов оказались самыми невосприимчивыми к терапии. Мы считаем, что это может быть связано с длительным периодом жизни этих лимфоцитов. При анализе образцов КМ от пациентов, не получавших терапию на момент забора аспирата КМ, было выявлено, что соотношение $CD4^+/CD8^+$ несколько повышено у больных ОМЛ, однако лежит в пределах нормальных значений показателя. Кроме того, оказалось, что количественно $CD4^+/CD8^+$ не изменяется в течение посттерапевтического периода, что подтверждает наше наблюдение о стабильности популяции Т-клеток и их резистентности к цитотоксическому действию химиотерапевтических препаратов. Интересно обнаружение увеличения доли $CD8^+$ -Т-киллеров среди $CD3^+CD56^+$ -Т-клеток. Точно не известно, происходит это за счет селективной активации $CD8^+$ -Т-киллеров или из-за избирательной гибели $CD4^+$ -Т-хелперов.

Снижение содержания НК-клеток в КМ пациентов может быть обусловлено малой продолжительностью жизни НК-клеток, которая в среднем составляет 7–14 дней. Ко 2-й неделе посттерапевтического периода популяция зрелых НК-клеток истощается, при этом их число не восстанавливается до базового уровня из-за недостатка клеток-предшественников. В то же время нами был обнаружен сдвиг в область превалирования незрелых НК-клеток, а это говорит о том, что восстановление НК-клеточной популяции, хоть и недостаточно эффективно, все-таки происходит в позднем посттерапевтическом периоде. Нами также был проанализирован уровень поверхностной экспрессии молекул CD16 и CD57 зрелыми НК-клетками. Оказалось, что химиотерапия не изменяет уровень экспрессии CD16, а это косвенно говорит о том, что НК-клетки стабильны в своей способности к АЗКЦ после терапии цитостатическими средствами. Поверхностный уровень молекулы CD57,

характеризующей терминально дифференцированные НК-клетки, также остается на базовом уровне среди популяции зрелых НК-клеток.

Особый интерес для дальнейшего исследования представляет факт обнаружения пациентов, на поверхности НК-клеток которых отсутствуют рецепторы CD16. По-видимому, НК-клетки таких пациентов не способны участвовать в АЗКЦ, в таком случае терапия с применением МкАт может показывать скудные результаты и вести к ранним рецидивам у этих пациентов. Это необходимо учитывать при выборе стратегии лечения. Однако в нашем исследовании экспрессия CD16 на НК-клетках не являлась признаком, по которому можно было предсказать характер терапевтического ответа у пациентов с ОМЛ, проходящих химиотерапию по схеме «7+3».

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста – Жигарев Д.И.; редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – Хорева М.В.; организация экспериментальной части работы – Кэмпбэлл К.С.; утверждение окончательного варианта статьи – Ганковская Л.В.

Благодарности. Авторы выражают особую благодарность Мовафаку Джиллабу (Mowafaq Jillab, MD) за предоставление образцов КМ пациентов и помощь в работе на проточном цитометре, Александру Макфарлейну (Alexander W. MacFarlane, PhD) за консультацию в области обработки данных, Эссель Аль-Салейм (Essel Dulaimi Al-Saleem, MD) и Филиппу Панкари (Philip Pancari, MD) за экспертную оценку клинических данных пациентов, а также всем сотрудникам лаборатории проточной цитометрии и отдела трансплантации КМ Фокс-Чейзовского онкологического центра (США).

■ Литература

1. Ngai L.L., Kelder A., Janssen J., Ossenkoppele G.J., Cloos J. MRD Tailored Therapy in AML: What We Have Learned So Far. *Front Oncol.* 2020; 10: 603636. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.603636>
2. Demaria O., Cornen S., Daeron M., Morel Y., Medzhitov R., Vivier E. Harnessing innate immunity in cancer therapy. *Nature.* 2019; 574 (7776): 45–56. DOI: [10.1038/s41586-019-1593-5](https://doi.org/10.1038/s41586-019-1593-5).
3. Chiossone L., Dumas P.Y., Vienne M., Vivier E. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18 (11): 671–88. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0061-z>
4. Заботина Т.Н., Черткова А.И., Кадагидзе З.Г., Борунова А.А., Шоуа Э.К., Гордеева О.О. Мещеряков А.А. Популяция CD8⁺-лимфоцитов периферической крови и ее значение для непосредственных и отдаленных результатов лечения больных трижды негативным раком молочной железы. *Иммунология.* 2020; 41 (4): 326–36. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-326-336>
5. Galluzzi L., Buque A., Kepp O., Zitvogel L., Kroemer G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell.* 2015; 28 (6): 690–714. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.10.012>
6. Aldarouish M., Su X., Qiao J., Gao C., Chen Y., Dai A. et al. Immunomodulatory effects of chemotherapy on blood lymphocytes and survival of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2019; 33: 2058738419839592. DOI: <https://doi.org/10.1177/2058738419839592>
7. Estey E.H. Acute myeloid leukemia: 2021 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020; 95 (11): 1368–98. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.25975>
8. Murabito A., Hirsch E., Ghigo A. Mechanisms of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: Is Mitochondrial Dysfunction the Answer? *Front Cardiovasc Med.* 2020; 7: 35. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00035>
9. Гринько Е.К., Донецкова А.Д., Мухина Е.А., Андреева О.С., Шарова Н.И., Комогорова В.В., Литвина М.М., Марзанова С.Н., Митин А.Н. Динамика восстановления Т-лимфоцитов после индукции лимфопении циклофосфаном. *Иммунология.* 2020; 41 (4): 285–94. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-4-285-294>
10. Wijayahadi N., Haron M.R., Stanslas J., Yusuf Z. Changes in cellular immunity during chemotherapy for primary breast cancer with anthracycline regimens. *J Chemother.* 2007; 19 (6): 716–23. DOI: <https://doi.org/10.1179/joc.2007.19.6.716>
11. Waidhauser J., Schuh A., Trepel M., Schmalter A.K., Rank A. Chemotherapy markedly reduces B cells but not T cells and NK cells in patients with cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2020; 69 (1): 147–57. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02449-y>
12. Hansen B.A., Wendelbo O., Bruserud O., Hemsing A.L., Mosevoll K.A., Reikvam H. Febrile Neutropenia in Acute Leukemia. *Epidemiology, Etiology, Pathophysiology and Treatment. Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2020; 12 (1): e2020009. DOI: <https://doi.org/10.4084/MJHID.2020.009>
13. Opzomer J.W., Sosnowska D., Anstee J.E., Spicer J.F., Arnold J.N. Cytotoxic Chemotherapy as an Immune Stimulus: A Molecular Perspective on Turning Up the Immunological Heat on Cancer. *Front Immunol.* 2019; 10: 1654. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01654>
14. Romero A.I., Chaput N., Poirier-Colame V., Rusakiewicz S., Jacquelot N., Chaba K., et al. Regulation of CD4(+)NKG2D(+) Th1 cells in patients with metastatic melanoma treated with sorafenib: role of IL-15/alpha and NKG2D triggering. *Cancer Res.* 2014; 74 (1): 68–80. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1186>
15. Vincent J., Mignot G., Chalmin F., Ladoire S., Bruchard M., Chevriaux A. et al. 5-Fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity. *Cancer Res.* 2010; 70 (8): 3052–61. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3690>
16. Kim J.E., Jang M.J., Lee J.I., Chung Y.H., Jeong J.H., Hung C.F. et al. Cancer cells containing nanoscale chemotherapeutic drugs generate antiovarian cancer-specific CD4⁺ T cells in peritoneal space. *J Immunother.* 2012; 35 (1): 1–13. DOI: <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3182328569>
17. Cao G., Wang J., Zheng X., Wei H., Tian Z., Sun R. Tumor Therapeutics Work as Stress Inducers to Enhance Tumor Sensitivity to Natural Killer (NK) Cell Cytotoxicity by Up-regulating NKp30 Ligand B7-H6. *J Biol Chem.* 2015; 290 (50): 29964–73. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.674010>
18. Toffoli E.C., Sheikhi A., Hoppner Y.D., de Kok P., Yazdanpanah-Samani M., Spanholtz J., et al. Natural Killer Cells and Anti-Cancer Therapies: Reciprocal Effects on Immune Function and Therapeutic Response. *Cancers (Basel).* 2021; 13 (4). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13040711>
19. Ghiringhelli F., Menard C., Puig P.E., Ladoire S., Roux S., Martin F. et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother.* 2007; 56 (5): 641–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0225-8>
20. Obiedat A., Charkap-Amikam Y., Tai-Schmiedel J., Seidel E., Mahameed M., Avril T. et al. The integrated stress response promotes B7H6 expression. *J Mol Med (Berl).* 2020; 98 (1): 135–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00109-019-01859-w>
21. Lee H.G., Baek H.J., Kim H.S., Park S.M., Hwang T.J., Kook H. Biphenotypic acute leukemia or acute leukemia of ambiguous lineage in childhood: clinical characteristics and outcome. *Blood Res.* 2019; 54 (1): 63–73. DOI: <https://doi.org/10.5045/br.2019.54.1.63>
22. Clark P., Normansell D.E., Innes D.J., Hess C.E. Lymphocyte subsets in normal bone marrow. *Blood.* 1986; 67 (6): 1600–6. PMID: 3486683.
23. Buckley S.A., Othus M., Vainstein V., Abkowitz J.L., Estey E.H., Walter R.B. Prediction of adverse events during intensive induction chemotherapy for acute myeloid leukemia or high-grade myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol.* 2014; 89 (4): 423–8. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.23661>
24. Dohner H., Estey E., Grimwade D., Amadori S., Appelbaum F.R., Buchner T. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017; 129 (4): 424–47. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-08-733196>
25. McBride J.A., Striker R. Imbalance in the game of T cells: What can the CD4/CD8 T-cell ratio tell us about HIV and health? *PLoS Pathog.* 2017; 13 (11): e1006624. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006624>
26. Sigel K., Wisnivesky J., Crothers K., Gordon K., Brown S.T., Rimland D. et al. Immunological and infectious risk factors for lung cancer in US veterans with HIV: a longitudinal cohort study. *Lancet HIV.* 2017; 4 (2): e67–e73. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(16\)30215-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(16)30215-6)
27. Tancini G., Barni S., Rescaldani R., Fiorelli G., Vivani S., Lissoni P. Analysis of T helper and suppressor lymphocyte subsets in relation to the clinical stage of solid neoplasms. *Oncology.* 1990; 47 (5): 381–4. DOI: <https://doi.org/10.1159/000226852>
28. Wahlin B.E., Sander B., Christensson B., Ostenstad B., Holte H., Brown P.D. et al. Entourage: the immune microenvironment following follicular lymphoma. *Blood Cancer J.* 2012; 2 (1): e52. DOI: <https://doi.org/10.1038/bcj.2011.53>
29. Kelly-Rogers J., Madrigal-Estebas L., O'Connor T., Doherty D.G. Activation-induced expression of CD56 by T cells is associated with a reprogramming of cytolytic activity and cytokine secretion profile in vitro. *Hum Immunol.* 2006; 67 (11): 863–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2006.08.292>
30. Van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L., Van Tendeloo V.F. CD56 in the Immune System: More Than a Marker for Cytotoxicity? *Front Immunol.* 2017; 8: 892. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00892>
31. Knaus H.A., Berglund S., Hackl H., Blackford A.L., Zeidner J.F., Montiel-Esparza R. et al. Signatures of CD8⁺ T cell dysfunction in AML patients and their reversibility with response to chemotherapy. *JCI Insight.* 2018; 3 (21). DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.120974>
32. Poli A., Michel T., Theresine M., Andres E., Hentges F., Zimmer J. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology.* 2009; 126 (4): 458–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x>
33. Campbell K.S., Hasegawa J. Natural killer cell biology: an update and future directions. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132 (3): 536–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.07.006>
34. Rey J., Fauriat C., Kochbati E., Orlanducci F., Charbonnier A., D'Incan E. et al. Kinetics of Cytotoxic Lymphocytes Reconstitution after Induction Chemotherapy in Elderly AML Patients Reveals

Progressive Recovery of Normal Phenotypic and Functional Features in NK Cells. *Front Immunol.* 2017; 8: 64. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00064>

35. Hatjiharissi E., Xu L., Santos D.D., Hunter Z.R., Ciccarelli B.T., Verselis S. et al. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the Fc γ RIIIa-158 V/V and V/V polymorphism. *Blood.* 2007; 110 (7): 2561–4. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2007-01-070656>

36. Wang W., Erbe A.K., Hank J.A., Morris Z.S., Sondel P.M. NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer

Immunotherapy. *Front Immunol.* 2015; 6: 368. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00368>

37. Kared H., Martelli S., Ng T.P., Pender S.L., Larbi A. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother.* 2016; 65 (4): 441–52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1803-z>

38. MacFarlane A.W.t., Jillab M., Smith M.R., Alpaugh R.K., Cole M.E., Litwin S. et al. NK cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia is associated with loss of the mature cells expressing inhibitory killer cell Ig-like receptors. *Oncoimmunology.* 2017; 6 (7): e1330235. DOI: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1330235>

■ References

1. Ngai L.L., Kelder A., Janssen J., Ossenkoppele G.J., Cloos J. MRD Tailored Therapy in AML: What We Have Learned So Far. *Front Oncol.* 2020; 10: 603636. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.603636>

2. Demaria O., Cornen S., Daeron M., Morel Y., Medzhitov R., Vivier E. Harnessing innate immunity in cancer therapy. *Nature.* 2019; 574 (7776): 45–56. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1593-5>

3. Chiossone L., Dumas P.Y., Vienne M., Vivier E. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18 (11): 671–88. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0061-z>

4. Zabolina T.N., Chertkova A.I., Kadagidze Z.G., Borunova A.A., Shoua E.K., Gordeeva O.O., Meshcheryakov A.A. Peripheral blood CD8⁺-lymphocytes populations and its value for direct and outlying treatment results in triple negative breast cancer patients. *Immunologiya.* 2021; 41 (4): 326–36. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-326-336>

5. Galluzzi L., Buque A., Kepp O., Zitvogel L., Kroemer G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell.* 2015; 28 (6): 690–714. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.10.012>

6. Aldarouish M., Su X., Qiao J., Gao C., Chen Y., Dai A., et al. Immunomodulatory effects of chemotherapy on blood lymphocytes and survival of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2019; 33: 2058738419839592. DOI: <https://doi.org/10.1177/2058738419839592>

7. Estey E.H. Acute myeloid leukemia: 2021 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020; 95 (11): 1368–98. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.25975>

8. Murabito A., Hirsch E., Ghigo A. Mechanisms of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: Is Mitochondrial Dysfunction the Answer? *Front Cardiovasc Med.* 2020; 7: 35. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00035>

9. Grinko E.K., Donetskova A.D., Mukhina, E.A., Andreeva, O.S., Sharova, N.I., Komogorova, V.V., Litvina, M.M., Marzanova, S.N., Mitin, A.N. Dynamics of T-lymphocytes regeneration after lymphopenia induction by cyclophosphane. *Immunologiya.* 2021; 41 (4): 285–94. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-4-285-294>

10. Wijayahadi N., Haron M.R., Stanslas J., Yusuf Z. Changes in cellular immunity during chemotherapy for primary breast cancer with anthracycline regimens. *J Chemother.* 2007; 19 (6): 716–23. DOI: <https://doi.org/10.1179/joc.2007.19.6.716>

11. Waidhauser J., Schuh A., Trepel M., Schmalter A.K., Rank A. Chemotherapy markedly reduces B cells but not T cells and NK cells in patients with cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2020; 69 (1): 147–57. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02449-y>

12. Hansen B.A., Wendelbo O., Bruserud O., Hemsing A.L., Mosevoll K.A., Reikvam H. Febrile Neutropenia in Acute Leukemia. *Epidemiology, Etiology, Pathophysiology and Treatment. Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2020; 12 (1): e2020009. DOI: <https://doi.org/10.4084/MJHID.2020.009>

13. Opzomer J.W., Sosnowska D., Anstee J.E., Spicer J.F., Arnold J.N. Cytotoxic Chemotherapy as an Immune Stimulus: A Molecular Perspective on Turning Up the Immunological Heat on Cancer. *Front Immunol.* 2019; 10: 1654. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01654>

14. Romero A.I., Chaput N., Poirier-Colame V., Rusakiewicz S., Jacquelot N., Chaba K., et al. Regulation of CD4(+)NKG2D(+) Th1 cells in patients with metastatic melanoma treated with sorafenib: role of IL-15 α and NKG2D triggering. *Cancer Res.* 2014; 74 (1): 68–80. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1186>

15. Vincent J., Mignot G., Chalmin F., Ladoire S., Bruchard M., Chevriaux A., et al. 5-Fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity. *Cancer Res.* 2010; 70 (8): 3052–61. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3690>

16. Kim J.E., Jang M.J., Lee J.I., Chung Y.H., Jeong J.H., Hung C.F., et al. Cancer cells containing nanoscale chemotherapeutic drugs generate antiovarian cancer-specific CD4⁺ T cells in peritoneal space. *J Immunother.* 2012; 35 (1): 1–13. DOI: <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3182328569>

17. Cao G., Wang J., Zheng X., Wei H., Tian Z., Sun R. Tumor Therapeutics Work as Stress Inducers to Enhance Tumor Sensitivity to Natural Killer (NK) Cell Cytotoxicity by Up-regulating NKp30 Ligand B7-H6. *J Biol Chem.* 2015; 290 (50): 29964–73. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.674010>

18. Toffoli E.C., Sheikh A., Hoppner Y.D., de Kok P., Yazdanpanah-Samani M., Spanholtz J., et al. Natural Killer Cells and Anti-Cancer Therapies: Reciprocal Effects on Immune Function and Therapeutic Response. *Cancers (Basel).* 2021; 13 (4). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13040711>

19. Ghiringhelli F., Menard C., Puig P.E., Ladoire S., Roux S., Martin F., et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother.* 2007; 56 (5): 641–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0225-8>

20. Obiedat A., Charpak-Amikam Y., Tai-Schmiedel J., Seidel E., Mahameed M., Avril T., et al. The integrated stress response promotes B7H6 expression. *J Mol Med (Berl).* 2020; 98 (1): 135–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00109-019-01859-w>

21. Lee H.G., Baek H.J., Kim H.S., Park S.M., Hwang T.J., Kook H. Biphenotypic acute leukemia or acute leukemia of ambiguous lineage in childhood: clinical characteristics and outcome. *Blood Res.* 2019; 54 (1): 63–73. DOI: <https://doi.org/10.5045/br.2019.54.1.63>

22. Clark P., Normansell D.E., Innes D.J., Hess C.E. Lymphocyte subsets in normal bone marrow. *Blood.* 1986; 67 (6): 1600–6.

23. Buckley S.A., Othus M., Vainstein V., Abkowitz J.L., Estey E.H., Walter R.B. Prediction of adverse events during intensive induction chemotherapy for acute myeloid leukemia or high-grade myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol.* 2014; 89 (4): 423–8. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.23661>

24. Dohner H., Estey E., Grimwade D., Amadori S., Appelbaum F.R., Buchner T., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017; 129 (4): 424–47. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-08-733196>

25. McBride J.A., Striker R. Imbalance in the game of T cells: What can the CD4/CD8 T-cell ratio tell us about HIV and health? *PLoS Pathog.* 2017; 13 (11): e1006624. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006624>

26. Sigel K., Wisnivesky J., Crothers K., Gordon K., Brown S.T., Rimland D., et al. Immunological and infectious risk factors for lung cancer in US veterans with HIV: a longitudinal cohort study. *Lancet HIV.* 2017; 4 (2): e67–e73. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(16\)30215-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(16)30215-6)

27. Tancini G., Barni S., Rescaldani R., Fiorelli G., Viviani S., Lissoni P. Analysis of T helper and suppressor lymphocyte subsets in relation to the clinical stage of solid neoplasms. *Oncology.* 1990; 47 (5): 381–4. DOI: <https://doi.org/10.1159/000226852>

28. Wahlin B.E., Sander B., Christensson B., Ostensson B., Holte H., Brown P.D., et al. Entourage: the immune microenvironment following follicular lymphoma. *Blood Cancer J.* 2012; 2 (1): e52. DOI: <https://doi.org/10.1038/bcj.2011.53>

29. Kelly-Rogers J., Madrigal-Estebas L., O'Connor T., Doherty D.G. Activation-induced expression of CD56 by T cells is associated with a reprogramming of cytolytic activity and cytokine secretion profile in vitro. *Hum Immunol.* 2006; 67 (11): 863–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2006.08.292>

30. Van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L., Van Tendeloo V.F. CD56 in the Immune System: More Than a Marker for Cytotoxicity? *Front Immunol.* 2017; 8: 892. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00892>

31. Knaus H.A., Berglund S., Hackl H., Blackford A.L., Zeidner J.F., Montiel-Esparza R., et al. Signatures of CD8+ T cell dysfunction in AML patients and their reversibility with response to chemotherapy. *JCI Insight.* 2018; 3 (21). DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.120974>

32. Poli A., Michel T., Theresine M., Andres E., Hentges F., Zimmer J. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology.* 2009; 126 (4): 458–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x>

33. Campbell K.S., Hasegawa J. Natural killer cell biology: an update and future directions. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132 (3): 536–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.07.006>

34. Rey J., Fauriat C., Kochbati E., Orlanducci F., Charbonnier A., D'Incan E., et al. Kinetics of Cytotoxic Lymphocytes Reconstitution

after Induction Chemotherapy in Elderly AML Patients Reveals Progressive Recovery of Normal Phenotypic and Functional Features in NK Cells. *Front Immunol.* 2017; 8: 64. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00064>

35. Hatjiharissi E., Xu L., Santos D.D., Hunter Z.R., Ciccarelli B.T., Verselis S., et al. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the Fc{gamma}RIIIa-158 V/V and V/F polymorphism. *Blood.* 2007; 110 (7): 2561–4. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2007-01-070656>

36. Wang W., Erbe A.K., Hank J.A., Morris Z.S., Sondel P.M. NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2015; 6: 368. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00368>

37. Kared H., Martelli S., Ng T.P., Pender S.L., Larbi A. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother.* 2016; 65 (4): 441–52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1803-z>

38. MacFarlane A.W.t., Jillab M., Smith M.R., Alpaugh R.K., Cole M.E., Litwin S., et al. NK cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia is associated with loss of the mature cells expressing inhibitory killer cell Ig-like receptors. *Oncoimmunology.* 2017; 6 (7): e1330235. DOI: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1330235>

Сведения об авторах

Жигарев Дмитрий Игоревич – аспирант каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: zhigarev.di@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8227-3875>

Хорева Марина Викторовна – д-р мед. наук, доцент, проф. каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: mv@rsmu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6224-2510>

Кэмпбэлл Кэрри С. – PhD, проф. отд. исследования развития и функций клеток крови, Фокс-Чейзовский онкологический центр, Филадельфия, Пенсильвания, США
E-mail: kerry.campbell@fccc.edu

Ганковская Людмила Викторовна – д-р мед. наук, проф., зав. каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: lvgan@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1271-3078>

Authors' information

Dmitry I. Zhigarev – Postgraduate Student of Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNIMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: zhigarev.di@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8227-3875>

Marina V. Khoreva – MD, PhD, Associate Prof., Prof. of Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNIMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: mv@rsmu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6224-2510>

Kerry S. Campbell – PhD, Prof., Blood Cell Development and Function Program, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, USA
E-mail: kerry.campbell@fccc.edu

Lyudmila V. Gankovskaya – MD, PhD, Prof., Head of Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNIMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: lvgan@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1271-3078>