

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-156-162>

# PD-1 и LAG-3 как ранние маркеры прогноза при терапии больных хроническим лимфолейкозом

О.Н. Селютина, И.Б. Лысенко, Н.К. Гуськова, И.А. Новикова, Е.Ю. Златник, Т.Ф. Пушкарёва, Н.В. Николаева, И.А. Камаева, Е.А. Капуза, Я.С. Гайсултанова, Л.Я. Розенко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

**Контакты:** Олеся Николаевна Селютина [selyutinalesya@yandex.ru](mailto:selyutinalesya@yandex.ru)

**Введение.** В последнее время во всем мире проводятся исследования по изучению роли иммунных контрольных точек в патогенезе хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) и возможности их использования в качестве прогностических маркеров. Наибольший интерес с этой точки зрения представляют PD-1 (programmed cell death-1) и белок LAG-3 (lymphocyte-activation gene 3).

**Цель исследования** – изучить особенности экспрессии PD-1 (CD279) и LAG-3 (CD223) на В-клетках крови больных ХЛЛ и возможность их применения в качестве ранних маркеров прогноза гематологического ответа на терапию.

**Материалы и методы.** Исследована кровь 30 больных ХЛЛ стадии С по классификации Binet и 20 здоровых лиц методом 10-цветной проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** У больных ХЛЛ выявлены существенные различия в исходном уровне лимфоцитов, экспрессии PD-1 и LAG-3 на В-лимфоцитах в сравнении как с лицами контрольной группы, так и между собой при разном гематологическом ответе на терапию с ритуксимабом по результатам мониторинга минимальной остаточной болезни.

**Заключение.** PD-1 и LAG-3 могут быть использованы как ранние маркеры прогноза ответа больных ХЛЛ на терапию. Большой прогностической ценностью обладает сочетанное использование показателей исходного уровня лимфоцитов и экспрессии PD-1 и LAG-3 на CD19<sup>+</sup>-клетках крови больных. Новые данные, полученные при изучении иммунных контрольных точек PD-1 и LAG-3, могут быть полезны при разработке целевых терапевтических агентов.

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, LAG-3, PD-1, уровень лимфоцитов, минимальная остаточная болезнь

**Для цитирования:** Селютина О.Н., Лысенко И.Б., Гуськова Н.К. и др. PD-1 и LAG-3 как ранние маркеры прогноза при терапии больных хроническим лимфолейкозом. Онкогематология 2023;18(4):156–62. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-156-162>

## PD-1 and LAG-3 as early prognostic markers in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia

O.N. Selyutina, I.B. Lysenko, N.K. Guskova, I.A. Novikova, E. Yu. Zlatnik, T.F. Pushkareva, N.V. Nikolaeva, I.A. Kamaeva, E.A. Kapuza, Ya.S. Gaysultanova, L. Ya. Rozenko

National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63 14<sup>th</sup> Liniya, Rostov-on-Don 344037, Russia

**Contacts:** Olesya Nikolaevna Selyutina [selyutinalesya@yandex.ru](mailto:selyutinalesya@yandex.ru)

**Background.** Recently, studies have been conducted all over the world to study the role of immune checkpoints in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and the possibility of their use as prognostic markers. Of greatest interest are PD-1 (programmed cell death-1) and LAG-3 protein (lymphocyte-activation gene 3).

**Aim.** To study the features of PD-1 (CD279) and LAG-3 (CD223) expression on blood B-cells of CLL patients and the possibility of their use as early markers for predicting the hematological response to therapy.

**Materials and methods.** The blood of 30 patients with CLL in stage C according to Binet and 20 healthy individuals was studied by 10-color flow cytometry.

**Results.** In patients with CLL, there were significant differences in the initial lymphocytes level, PD-1 and LAG-3 expression on B-lymphocytes, both with persons in the control group and among themselves with different hematological responses to therapy with rituximab according to the results of minimal residual disease monitoring.

**Conclusion.** PD-1 and LAG-3 can be used as early markers for predicting the response of CLL patients to therapy. The combined use of initial lymphocytes level and PD-1 and LAG-3 expression on CD19<sup>+</sup> blood cells has a greater prognostic value. New data obtained from the study of immune checkpoints PD-1 and LAG-3 may be useful in the development of targeted therapeutic agents.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia, LAG-3, PD-1, lymphocyte count, minimal residual disease

**For citation:** Selyutina O.N., Lysenko I.B., Guskova N.K. et al. PD-1 and LAG-3 as early prognostic markers in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(4):156–62. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-156-162>

## Введение

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — В-клеточная опухоль из малых В-лимфоцитов, для которых характерны яркая экспрессия CD19, CD5, CD23, CD43, слабая экспрессия CD20 и CD22 и отсутствие экспрессии FMC7 [1, 2]. ХЛЛ демонстрирует клиническую гетерогенность, начиная от вялотекущего заболевания, не требующего лечения у одних пациентов, до быстрого прогрессирования процесса с развитием последующей рефрактерности к лечению у других [3]. Таким образом, важнейшим этапом при первичной диагностике ХЛЛ является оценка риска развития прогрессирования заболевания, что позволит своевременно начать специфическую терапию, при необходимости — осуществлять коррекцию лечения [4].

При оценке эффективности лечения ХЛЛ необходимо проводить количественное определение показателя минимальной остаточной болезни (МОБ) наряду с традиционными клиническими, инструментальными и лабораторными данными. Технология выявления остаточных клональных злокачественных клеток эволюционировала наряду со своей номенклатурой — от «остаточной болезни» к «минимальной остаточной болезни» до термина «измеримая остаточная болезнь», установленного Международным руководящим комитетом (ISC) по МОБ ХЛЛ [5]. Величина остаточной болезни при ХЛЛ, оцениваемая во время и после лечения, измеряема и используется в рутинной практике в качестве прогностического инструмента, терапевтической цели и потенциального триггера для раннего вмешательства [6]. Остаточная популяция опухолевого клона ХЛЛ в крови в количестве  $<0,01\%$  является предиктором высокой вероятности длительной ремиссии более 5 лет. МОБ от 0,01 до 0,90 % наблюдается у больных ХЛЛ с медианой выживаемости без прогрессирования около 3 лет, что дает возможность проводить поддерживающую терапию. МОБ  $>1\%$  может свидетельствовать о возможности развития раннего рецидива, а также служить основанием для изменения терапевтической тактики [7]. Для повышения прогностической ценности МОБ в оценке течения опухолевого процесса и ответа больных на терапию проводится активный поиск новых маркеров, используемых для стратификации больных на группы риска еще до начала лечения.

Самыми изучаемыми в этом аспекте являются иммунные контрольные точки, которые исследуются во всем мире при различных опухолевых процессах. Наибольший интерес представляют рецепторы программируемой клеточной гибели PD-1 (programmed cell death-1; CD279) и LAG-3 (lymphocyte-activation

gene 3; CD223). J. H. Li и соавт. выявлена высокая экспрессия PD-1 на В-клетках (CD19<sup>+</sup>) периферической крови пациентов с ХЛЛ в сравнении со здоровыми донорами. Отмечена роль экспрессии PD-1 в прогнозировании течения ХЛЛ [8]. В исследованиях M. Rusak и соавт. показано, что у пациентов с высоким уровнем экспрессии PD-1 проходит меньше времени до начала 1-й линии терапии, чем у пациентов с низким уровнем рецептора [9]. Согласно данным M. Shapiro и соавт., высокие уровни экспрессии LAG-3 также связаны с более короткой медианой времени от постановки диагноза до начала терапии, вместе с тем, по мнению авторов, LAG-3 может служить терапевтической мишенью при таргетной терапии [10]. Ранее нами установлена экспрессия LAG-3 на поверхности В-лимфоцитов у больных ХЛЛ в отличие от здоровых лиц, при этом более высокий уровень экспрессии отмечен у пациентов с неблагоприятным течением заболевания [11].

В связи с этим изучение особенностей экспрессии PD-1 и LAG-3 на В-клетках в зависимости от ответа больных ХЛЛ на терапию и в ассоциации указанных показателей с уровнем МОБ является перспективным.

**Цель исследования** — изучить особенности экспрессии PD-1 (CD279) и LAG-3 (CD223) на В-клетках крови больных ХЛЛ и возможность их применения в качестве ранних маркеров прогноза гематологического ответа на терапию.

## Материалы и методы

В исследование включены 30 больных (18 мужчин, 12 женщин) с впервые установленным диагнозом ХЛЛ стадии С по классификации Binet (основная группа), получавшие лечение в отделении онкогематологии НМИЦ онкологии (Ростов-на-Дону) в период с 2020 по 2022 г. Средний возраст больных составил  $66,8 \pm 2,3$  года. В контрольную группу вошли 20 здоровых лиц соответствующего возраста и пола без злокачественных заболеваний на момент включения в исследование.

В крови больных до лечения и лиц контрольной группы исследовали уровень лимфоцитов, иммунотип В-клеток (CD19<sup>+</sup>), экспрессию PD-1 и LAG-3 (подсчет производили в процентах от всех лимфоцитов). В группе больных после 6 курсов противоопухолевой терапии с ритуксимабом оценивали эффект лечения по количеству оставшихся aberrantных CD19<sup>+</sup>-клеток, т.е. по величине МОБ (в процентах от всех ядродержащих клеток).

Исследования проводили в венозной крови в растворе антикоагулянта К<sub>2</sub>ЭДТА (дикал этилендиаминтетрауксусная кислота) с применением метода 10-цветной

проточной цитофлуориметрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США). Используемая комбинация моноклональных антител, меченных флуорохромами, включала: CD45 PB, CD19 ECD/PC7/APC, CD5 PC7/APC, CD10 PC5, CD20 PC5.5/PC7, CD22 PE, CD23 FITC/PE, CD38 FITC/PB, CD43 APC-A700, FMC7 FITC, CD3 PC7/APC, CD223 PE, CD279 (PC7), kappa FITC, lambda PE (Beckman Coulter, BD Biosciences, США). Данные иммунофенотипирования анализировали с использованием программного обеспечения Kaluza v2.1 (Beckman Coulter, США). Стратегию гейтирования строили в соответствии с международным стандартизованным протоколом [12].

Выделены 2 группы больных: 1-я — с хорошим гематологическим ответом на терапию (МОБ 0–0,9 %), 2-я — с неудовлетворительным ответом (МОБ  $\geq 1$  %).

Статистическую обработку результатов исследования выполняли в программе Statistica 13.0 с применением критерия Шапиро–Уилка для малых выборок. Выборки соответствовали нормальному распределению. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое значение;  $m$  — стандартная ошибка среднего. Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) выполняли с использованием параметрического  $t$ -критерия Стьюдента. За уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ .

Сбор клинической информации, биологического материала, соблюдение правовых норм и правил выполняли согласно разработанным алгоритмам действий подразделений исследовательских и клинических групп НМИЦ онкологии [13].

## Результаты

Результаты иммунофенотипирования больных ХЛЛ, проведенного до начала терапии, свидетельст-

вуют об экспрессии на В-лимфоцитах (CD19<sup>+</sup>) PD-1 и LAG-3 разной степени выраженности. В среднем уровень экспрессии PD-1 составил  $40,81 \pm 3,81$  %, LAG-3 —  $24,62 \pm 2,50$  % от всех лимфоцитов (табл. 1). В контрольной группе экспрессия исследуемых молекул на В-лимфоцитах не установлена.

При оценке значений МОБ выявлены статистически значимые различия среди больных ХЛЛ с разным ответом на терапию. В связи с этим выделены 2 группы: 1-я ( $n = 19$ ) — с хорошим ответом на терапию, МОБ составила  $0,15 \pm 0,03$  %; 2-я ( $n = 11$ ) — с неудовлетворительным ответом, МОБ —  $12,25 \pm 3,23$  %, что в 81,2 раза больше по сравнению с 1-й группой ( $p < 0,001$ ) (табл. 2, рис. 1).

Результаты мониторинга значений МОБ в выделенных группах больных оценивали в сопоставлении с исходным уровнем экспрессии PD-1, LAG-3 и уровнем лимфоцитов.

Согласно полученным данным, более низкие исходные уровни экспрессии PD-1 и LAG-3 отмечены у больных 1-й группы с наименьшим остаточным опухолевым клоном (МОБ) (рис. 2). Так, уровень экспрессии PD-1 и LAG-3 в 1-й группе ниже, чем во 2-й, в 2,6 ( $p < 0,001$ ) и 2,9 ( $p < 0,001$ ) раза соответственно.

Отмечены различия и в уровне лимфоцитов: в 1-й группе показатель в 1,8 раза ниже, чем во 2-й ( $p < 0,001$ ). Обращало внимание, что при исходном высоком уровне всех показателей — лимфоцитов, экспрессии PD-1 и LAG-3 на В-лимфоцитах — у ряда больных 2-й группы после лечения отмечалась МОБ-позитивность со значительным содержанием клеток ХЛЛ — до 36,2 %.

Неудовлетворительный гематологический ответ на терапию установлен при уровне лимфоцитов  $\geq 67,11$  %, экспрессии PD-1 (CD279)  $\geq 40,81$  % и LAG-3

**Таблица 1.** Уровень лимфоцитов, экспрессии PD-1 (CD279) и LAG-3 (CD223) на CD19<sup>+</sup>-клетках у больных хроническим лимфолейкозом,  $M \pm m$

**Table 1.** The lymphocytes level, PD-1 (CD279) and LAG-3 (CD223) expression on CD19<sup>+</sup> cells in patients with chronic lymphocytic leukemia,  $M \pm m$

Группа Group	Объем выборки, $n$ Sample size, $n$	Лимфоциты, % от лейкоцитов Lymphocytes, % from leukocytes	CD19 <sup>+</sup> /CD279 <sup>+</sup> , % от лимфоцитов CD19 <sup>+</sup> /CD279 <sup>+</sup> , % from lymphocytes	CD19 <sup>+</sup> /CD223 <sup>+</sup> , % от лимфоцитов CD19 <sup>+</sup> /CD223 <sup>+</sup> , % from lymphocytes
Контрольная Control	20	$30,87 \pm 0,57$	0	0
Все больные хроническим лимфолейкозом All patients with chronic lymphocytic leukemia	30	$67,11 \pm 4,01^*$	$40,81 \pm 3,81^*$	$24,62 \pm 2,50^*$
1-я 1 <sup>st</sup>	19	$52,59 \pm 3,26^*$	$25,51 \pm 1,31^*$	$14,57 \pm 0,66^*$
2-я 2 <sup>nd</sup>	11	$92,19 \pm 1,21^{*,**}$	$67,25 \pm 1,88^{*,**}$	$41,95 \pm 1,62^{*,**}$

\*Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). \*\*Статистически значимые различия по сравнению с 1-й группой ( $p < 0,001$ ).

\*Statistically significant differences compared to the control group ( $p < 0.001$ ). \*\*Statistically significant differences compared to the 1<sup>st</sup> group ( $p < 0.001$ ).

Таблица 2. Количественная характеристика минимальной остаточной болезни на этапах обследования

Table 2. Quantitative characteristics of minimal residual disease at different stages

Группа Group	Популяция клеток хронического лимфолейкоза CD19 <sup>+</sup> /CD5 <sup>+</sup> /CD23 <sup>+</sup> , % от ядродержащих клеток Chronic lymphocytic leukemia cell population CD19 <sup>+</sup> /CD5 <sup>+</sup> /CD23 <sup>+</sup> , % from nucleated cells	
	МОБ «день 0» MRD "day 0"	МОБ после 6-го курса иммунохимиотерапии MRD after the 6 <sup>th</sup> course of immunochemotherapy
1-я (n = 19) 1 <sup>st</sup> (n = 19)	88,2 ± 1,13	0,15 ± 0,03*
2-я (n = 11) 2 <sup>nd</sup> (n = 11)	92,1 ± 1,26	12,25 ± 3,23*, **

\*Статистически значимые различия в уровне МОБ в сравнении с днем 0 ( $p < 0,001$ ). \*\*Статистически значимые различия в уровне МОБ в сравнении с 1-й группой ( $p < 0,001$ ).

Примечание. МОБ — минимальная остаточная болезнь.

\*Statistically significant differences in MRD compared to day 0 ( $p < 0.001$ ). \*\*Statistically significant differences in MRD compared to 1<sup>st</sup> group ( $p < 0.001$ ).

Note. MRD — minimal residual disease.

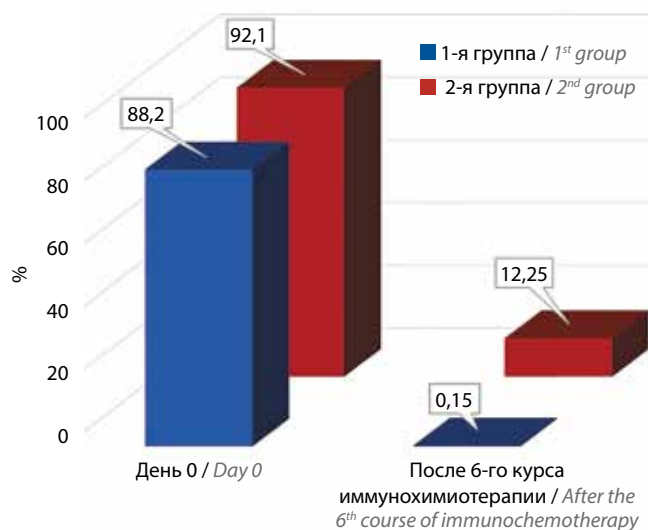


Рис. 1. Количественная характеристика минимальной остаточной болезни на этапах обследования, уровень CD19<sup>+</sup>/CD5<sup>+</sup>/CD23<sup>+</sup>, % от ядродержащих клеток

Fig. 1. Quantitative characteristics of minimal residual disease at different stages, level CD19<sup>+</sup>/CD5<sup>+</sup>/CD23<sup>+</sup>, % from nucleated cells

(CD223)  $\geq 24,62$  % на CD19<sup>+</sup>-клетках, хороший ответ — при значениях показателей ниже приведенных.

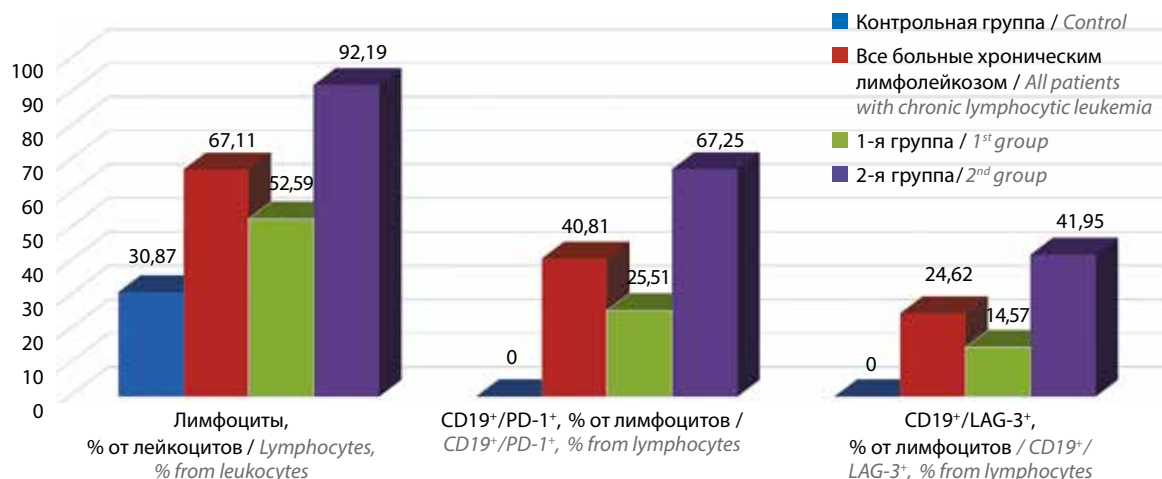
Также установлено, что до начала терапии у больных 1-й группы максимальные значения уровня лимфоцитов достигали 66,2 %, экспрессии на В-лимфоцитах PD-1 — 36,2 %, LAG-3 — 19,6 %, в то время как во 2-й группе минимальные значения тех же показателей составили 88,3; 56,2 и 34,3 % соответственно, что свидетельствует о явных межгрупповых различиях (рис. 3). Полученные результаты демонстрируют четкое разграничение больных на группы с высоким и низким уровнем лимфоцитов, экспрессии PD-1 и LAG-3 на опухолевых В-лимфоцитах, что позволяет рассматривать данные показатели в качестве маркеров прогноза гематологического ответа больных ХЛЛ на терапию еще до ее начала.

В связи с этим нами разработан способ прогнозирования течения ХЛЛ, который применим для стратификации больных ХЛЛ на группы риска с учетом данных маркеров [14].

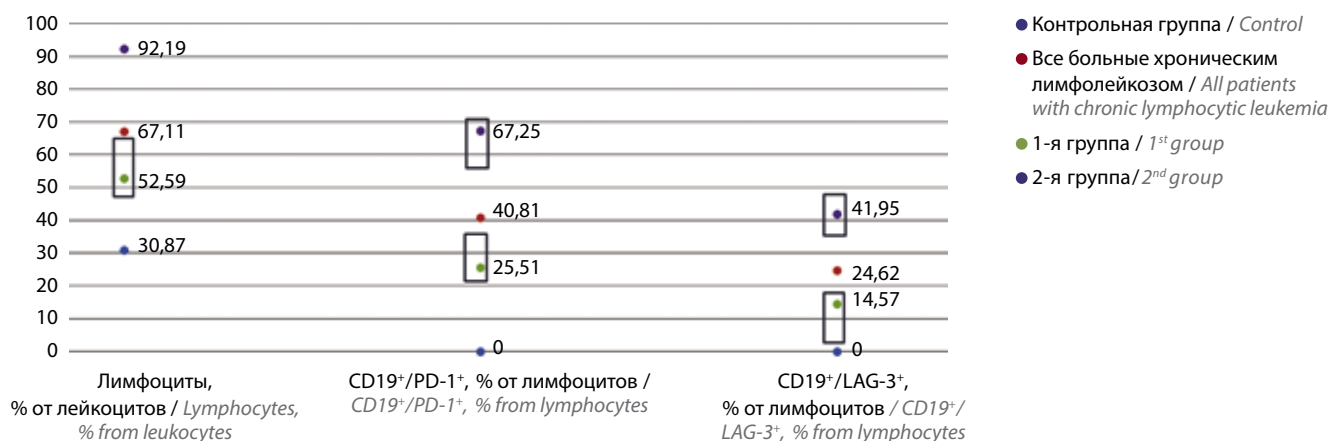
### Обсуждение

Установленные в процессе проведенного исследования высокие уровни экспрессии LAG-3 и PD-1, на наш взгляд, обусловлены биологическими свойствами этих молекул. Так, LAG-3 обладает антиапоптотическими свойствами, что способствует повышению выживаемости опухолевых В-клеток у больных ХЛЛ [10, 15, 16]. Это объясняет эффект сохранения значительной доли МОБ после терапии у пациентов с гиперэкспрессией LAG-3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов до начала лечения. По-видимому, отмеченное нами отрицательное прогностическое значение экспрессии LAG-3 носит универсальный характер, поскольку оно описано и при других злокачественных процессах: меланоме [16], немелкоклеточном раке легкого [17], раке молочной железы [18], светлоклеточном раке почки [19] и др.

Вместе с тем описана связь LAG-3 с гиперэкспрессией PD-1. Выявлено взаимодействие PD-1 и LAG-3, которое усиливает ингибирующее действие Т-клеток либо влияет на терапевтический эффект путем блокирования одной из этих молекул. В частности, активация LAG-3 может препятствовать эффективности анти-PD-1/B7-H1-терапии при раке печени [20]. Также известно, что PD-1 экспрессируется на В-клетках памяти, наивных и активированных, при этом регулируя их неконтролируемую активацию [21, 22]. У пациентов с ХЛЛ в стадии прогрессии после иммунохимиотерапии отмечена более высокая доля PD-1<sup>+</sup>-В-клеток по сравнению с больными, не получающими лечение [23]. На наш взгляд, при совместной гиперэкспрессии PD-1 и LAG-3 опухолевые В-лимфоциты приобретают особые свойства, что делает их более устойчивыми к воздействию терапии за счет



**Рис. 2.** Уровень лимфоцитов, экспрессии PD-1 и LAG-3 на CD19<sup>+</sup>-клетках у больных хроническим лимфолейкозом  
**Fig. 2.** Lymphocytes level, PD-1 and LAG-3 expression on CD19<sup>+</sup> cells in patients with chronic lymphocytic leukemia



**Рис. 3.** Разброс значений предиктивных маркеров течения хронического лимфолейкоза  
**Fig. 3.** Value range of predictive markers of chronic lymphocytic leukemia course

неконтролируемой активации, усиленной пролиферации и повышенной выживаемости, что способствует персистенции МОБ.

При прогнозировании ответа на терапию необходимо также учитывать исходный уровень лимфоцитов. Так, у больных с неудовлетворительным ответом на терапию отмечен исходно более высокий уровень лимфоцитов, что может быть обусловлено большей опухолевой нагрузкой за счет избыточного количества опухолевых В-лимфоцитов, что совместно с гиперэкспрессией LAG-3 и PD-1 оказывает влияние на сохранение остаточной популяции опухолевого клона В-лимфоцитов после лечения. Полученные результа-

ты указывают на необходимость продолжения исследований.

### Заключение

PD-1 и LAG-3 могут быть использованы как ранние маркеры прогноза ответа больных ХЛЛ на терапию. Большей прогностической ценностью обладает сочетанное использование показателей исходного уровня лимфоцитов и экспрессии PD-1 и LAG-3 на CD19<sup>+</sup>-клетках крови больных. Новые данные, полученные при изучении иммунных контрольных точек PD-1 и LAG-3, могут быть полезны при разработке целевых терапевтических агентов.



## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Никитин Е.А., Бялик Т.Е., Зарицкий А.Ю. и др. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Клинические рекомендации. Современная онкология 2020;22(3):24–44. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385  
Nikitin E.A., Bialik T.E., Zaritskii A.Yu. et al. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. Clinical recommendations. Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology 2020;22(3):24–44. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385
2. Гуськова Н.К., Селютин О.Н., Новикова И.А. и др. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. Южно-российский онкологический журнал 2020;1(3):27–35. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-3  
Guskova N.K., Selyutina O.N., Novikova I.A. et al. Morphological and immunophenotypic features of the monoclonal population of B-lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Yuzhno-rossiyskiy onkologicheskii zhurnal = South-Russian Journal of Oncology 2020;1(3):27–35. (In Russ.). DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-3
3. Rodríguez-Vicente A.E., Díaz M.G., Hernández-Rivas J.M. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. Cancer Genet 2013;206(3):49–62. DOI: 10.1016/j.cancergen.2013.01.003
4. Eichhorst B., Robak T., Montserrat E. et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2021;32(1):23–33. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.09.019
5. Wierda W.G., Rawstron A., Cymbalista F. et al. Measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia: expert review and consensus recommendations. Leukemia 2021;35(11):3059–72. DOI: 10.1038/s41375-021-01241-1
6. Fisher A., Goradia H., Martinez-Calle N. et al. The evolving use of measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia clinical trials. Front Oncol 2023;13:1130617. DOI: 10.3389/fonc.2023.1130617
7. Molica S., Giannarelli D., Montserrat E. Minimal residual disease and survival outcomes in patients with chronic lymphocytic leukemia: a systematic review and meta-analysis. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2019;19(7):423–30. DOI: 10.1016/j.clml.2019.03.014
8. Li J.H., Pang N.N., Zhang Z.H. et al. PD-1/PD-L1 expression and its implications in patients with chronic lymphocytic leukemia. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 2017;38(3):198–203. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.005
9. Rusak M., Eljaszewicz A., Bolkun L. et al. Prognostic significance of PD-1 expression on peripheral blood CD4+ T cells in patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. Pol Arch Med Wewn 2015;125(7–8):553–9. DOI: 10.20452/pamw.2967
10. Shapiro M., Herishanu Y., Katz B.Z. et al. Lymphocyte activation gene 3: a novel therapeutic target in chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 2017;102(5):874–82. DOI: 10.3324/haematol.2016.148965
11. Селютин О.Н., Лысенко И.Б., Гуськова Н.К. и др. Экспрессия LAG-3 на В-лимфоцитах как маркер прогноза ответа на терапию у больных хроническим лимфолейкозом. Сибирский онкологический журнал 2023;22(2):34–42. DOI: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-34-42  
Selyutina O.N., Lysenko I.B., Guskova N.K. et al. Expression of LAG-3 on B-lymphocytes as a marker for prediction of response to therapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology 2023;22(2):34–42. (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-34-42
12. Rawstron A.C., Villamor N., Ritgen M. et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. Leukemia 2007;21(5):956–64. DOI: 10.1038/sj.leu.2404584
13. Кит О.И., Тимофеева С.В., Ситковская А.О. и др. Биобанк ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России как ресурс для проведения исследований в области персонализированной медицины. Современная онкология 2022;24(1):6–11. DOI: 10.26442/18151434.2022.1.201384  
Kit O.I., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O. et al. Biobank of the National Medical Research Centre for Oncology as a resource for research in the field of personalized medicine. Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology 2022;24(1):6–11. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2022.1.201384
14. Кит О.И., Селютин О.Н., Лысенко И.Б. и др. Способ прогнозирования течения хронического лимфолейкоза. Патент на изобретение 2788816 С1, 24.01.2023. Заявка № 2022129922 от 18.11.2022  
Kit O.I., Selyutina O.N., Lysenko I.B. et al. A method for predicting the course of chronic lymphocytic leukemia. Patent for invention 2788816 C1, 01.24.2023. Application No. 2022129922 dated 11.18.2022 (In Russ.).
15. Woo S.R., Turnis M.E., Goldberg M.V. et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. Cancer Res 2012;72(4):917–27. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1620
16. Grosso J.F., Kelleher C.C., Harris T.J. et al. LAG-3 regulates CD8+ T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems. J Clin Invest 2007;117(11):3383–92. DOI: 10.1172/JCI31184
17. He Y., Wang Y., Zhao S. et al. sLAG-3 in non-small-cell lung cancer patients' serum. Onco Targets Ther 2018;11:4781–4. DOI: 10.2147/OT.TS164178
18. Табаков Д.В., Заботина Т.Н., Чантурия Н.В. и др. Взаимосвязь экспрессии GITR, Lag-3 и PD-1 с основными показателями системного и локального иммунитета у больных раком молочной железы. Современная онкология 2021;23(3):457–65. DOI: 10.26442/18151434.2021.3.200809  
Tabakov D.V., Zabolotina T.N., Chanturia N.V. et al. Relationship of GITR, Lag-3 and PD-1 expression with the main indicators of systemic and local immunity in patients with breast cancer. Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology 2021;23(3):457–65. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2021.3.200809
19. Wang Q., Zhang J., Tu H. et al. Soluble immune checkpoint-related proteins as predictors of tumor recurrence, survival, and T cell phenotypes in clear cell renal cell carcinoma patients. J Immunother Cancer 2019;7(1):334. DOI: 10.1186/s40425-019-0810-y
20. Wang J., Sanmamed M.F., Datar I. et al. Fibrinogen-like protein 1 is a major immune inhibitory ligand of LAG-3. Cell 2019;176(1–2):334–47.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.010
21. Chang T.T., Kuchroo V.K., Sharpe A.H. Role of the B7-CD28/CTLA-4 pathway. Curr Dir Autoimmun 2002;5:113–30. DOI: 10.1159/000060550
22. Thibault M.L., Mamessier E., Gertner Dardenne J. et al. PD-1 is a novel regulator of human B-cell activation. Int Immunol 2013;25(2):129–37. DOI: 10.1093/intimm/dxs098
23. Бадмажапова Д.С., Гальцева И.В., Звонков Е.Е. и др. Особенности экспрессии антигенов, участвующих в формировании иммунологического синапса, при хроническом лимфолейкозе. Онкогематология 2018;13(1):103–14. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-103-114  
Badmazhapova D.S., Galtseva I.V., Zvonkov E.E. et al. Expression features of antigens involved in the formation of immunological synapse in chronic lymphocytic leukemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(1):103–14. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-103-114

**Вклад авторов**

О.Н. Селютин: разработка дизайна исследования, выполнение лабораторных исследований, систематизация и анализ полученных данных, написание текста статьи, утверждение итогового варианта текста рукописи, перевод на английский язык;  
И.Б. Лысенко: разработка дизайна исследования, интерпретация и анализ данных, консультация по клиническим случаям, утверждение итогового варианта текста рукописи;  
Н.К. Гуськова: выполнение лабораторных исследований, систематизация и анализ полученных данных, редактирование статьи;  
И.А. Новикова: систематизация и анализ полученных данных, редактирование статьи;  
Е.Ю. Златник: интерпретация и анализ полученных данных, редактирование статьи;  
Т.Ф. Пушкарева: анализ данных, редактирование статьи;  
Н.В. Николаева, И.А. Камаева: ведение пациентов в клинике, интерпретация данных;  
Е.А. Капуза: ведение пациентов в клинике, редактирование статьи;  
Я.С. Гайсултанова: ведение пациентов в клинике, анализ данных;  
Л.Я. Розенко: анализ данных, редактирование статьи.

**Authors' contributions**

O.N. Selyutina: research design development, laboratory research, systematization and analysis of the data obtained, article writing, final article approval, translation into English;  
I.B. Lysenko: research design development, data interpretation and analysis, consultation on clinical cases, final article approval;  
N.K. Guskova: laboratory research, systematization and analysis of the data obtained, article editing;  
I.A. Novikova: systematization and analysis of the data obtained, article editing;  
E.Yu. Zlatnik: interpretation and analysis of the data obtained, article editing;  
T.F. Pushkareva: data analysis, article editing;  
N.V. Nikolaeva, I.A. Kamaeva: patient management, data interpretation;  
E.A. Kapuza: patient management, article editing;  
Ya.S. Gaysultanova: patient management, data analysis;  
L.Ya. Rozenko: data analysis, article editing.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

О.Н. Селютин / O.N. Selyutina: <https://orcid.org/0000-0001-6762-0835>  
И.Б. Лысенко / I.B. Lysenko: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>  
Н.К. Гуськова / N.K. Guskova: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>  
И.А. Новикова / I.A. Novikova: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>  
Н.В. Николаева / N.V. Nikolaeva: <https://orcid.org/0000-0001-7224-3106>  
И.А. Камаева / I.A. Kamaeva: <https://orcid.org/0000-0003-3001-0675>  
Е.А. Капуза / E.A. Kapuza: <https://orcid.org/0000-0002-0761-2486>  
Я.С. Гайсултанова / Ya.S. Gaysultanova: <https://orcid.org/0000-0003-2785-1721>  
Л.Я. Розенко / L.Ya. Rozenko: <https://orcid.org/0000-0001-7032-8595>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики**

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics**

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.