

ISSN 1028-7221

Том 9 (18), Номер 2 (2)

Август 2015

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

RUSSIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

<http://www.naukaran.ru>



НАУКА

PECULIARITIES OF CHILDREN'S HORMONAL PROFILE WITH ALLERGOPATHOLOGY IN DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS

Semenova I. N., Rafikova Yu. S., Tlyauberdina A. Z., Drovosekova I. V.

The thyreotropin's and hydrocortisone's concentration was researched from the children who had different content of IgE from 1 to 17 years old living in South Ural of Republic Bashkortostan. The areas include both the pollution bubbles (Sibay city) and countryside (favorable living zones). Findings of investigation showed that children with high IgE concentration living around pollution bubbles had increased activity of pituitary-adrenal axis and thyreotropin's and hydrocortisone's concentration. The children with high IgE concentration living in countryside had decreased thyreotropin's and hydrocortisone's concentration because of reduction pituitary-adrenal axis and it's accompanied by adaptation's abnormality in response to forming of allergic process.

Keywords: immunoglobulin E, hormonal profile, industrial pollution

ЭФФЕКТОРНЫЕ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ Т-ХЕЛПЕРОВ РАЗЛИЧНОГО УРОВНЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Серебрякова М. К.¹, Борисов А. Г.², Кробинец И. И.³, Прозоровская Е. А.¹, Савченко А. А.², Кудрявцев И. В.^{1,4}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; ²ФГБНУ «Институт медицинских проблем Севера», Красноярск; ³ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург; ⁴Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

В рамках данного исследования проводится анализ уровня экспрессии CD27, CD28, CD56, CD57, CD161 и CD279 (PD-1) CD3⁺CD4⁺ лимфоцитами периферической крови. С использованием проточной цитофлуориметрии были выделены популяции «наивных» клеток (CD45RA⁺CD62L⁺), клеток центральной (CD45RA⁻CD62L⁺) и эффекторной (CD45RA⁻CD62L⁻) памяти, а также «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные клетки (CD45RA⁺CD62L⁻). Показано, CD27 и CD28 представлены на поверхности практических всех «наивных» клеток и клеток центральной памяти. Уровень экспрессии CD56 и CD57 возрастал от клеток с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ к CD45RA⁺CD62L⁻ клеткам. CD161 и CD279 (PD-1) лучше всего были представлены на клетках эффекторной памяти.

Ключевые слова: проточная цитофлуориметрия, Т-хелперы, эффекторные клетки, CD27, CD28, CD161, CD57

Введение. В настоящее время существует множество подходов для анализа Т-хелперов периферической крови [3]. Одни основаны на исследовании функциональных особенностей Т-клеток и предполагают определение спектра синтезируемых клетками цитокинов, в основе других находится оценка уровня экс-

прессии ключевых транскрипционных факторов или спектра рецепторов, определяющих пути миграции или «хоуминг» клеток [4]. Вместе с тем, эти методические приемы позволяют оценить только эффекторные свойства, которыми, например, вовсе не обладают незрелые или «наивные» Т-хелперы, только что покинув-

шие тимус и не прошедшие антиген-зависимой дифференцировки, или которые слабо выражены у клеток центральной памяти [8]. Поэтому весьма перспективным представляется анализ CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов с точки зрения их уровня дифференцировки, что позволяет оценить экспрессию эффекторных молекул на Т-хелперах, находящихся на различных стадиях созревания. В проточной цитофлуориметрии для этого применяют моноклональные антитела против различных изоформ CD45 и таких молекул «хоуминга» как CD62L или CCR7 [1,2]. Самыми незрелыми клетками с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ являются «наивные» Т-хелперы. CD3⁺CD4⁺ лимфоциты, прошедшие антиген-зависимую дифференцировку в периферических лимфоидных органах и, как следствие активации, утратившие способность к экспрессии CD45RA, но все еще несущие на своей поверхности адгезионную молекулу CD62L или хемокиновый рецептор CCR7, относятся к клеткам центральной памяти (СМ). Т-хелперы, негативно окрашивающиеся антителами против CD45RA и CD62L, формируют популяцию клеток эффекторной памяти (ЕМ). Отдельного внимания заслуживают CD3⁺CD4⁺ лимфоциты с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁻, получившие название «терминально-дифференцированных» CD45RA-позитивных эффекторных клеток (TEMRA), составляющие в периферической крови условно здоровых доноров менее 1-2% от общего числе Т-хелперов и, по-видимому, являющиеся финальной стадией созревания Т-хелперов, хотя в норме большая часть клеток покидает циркуляторное русло еще на стадии ЕМ.

Целью данного исследования было изучение экспрессии некоторых регуляторных и эффекторных молекул CD3⁺CD4⁺ лимфоцитами периферической крови различного уровня дифференцировки.

Материалы и методы. Объектом исследования служила венозная кровь, полученная путем пункции периферической вены и собранная в вакуумные пробирки с добавлением К₃ЭДТА. В рамках данного исследования было обследовано 52 условно здоровых донора (29 мужчин и 23 женщин) в возрасте 18-65 лет (32,32±1,56). Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследова-

ний с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Для выявления Т-хелперов использовали антитела против CD3 (клон UCNT1) и CD4 (клон 13B8.2), для разделения CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов на отдельные субпопуляции использовали антитела против CD45RA (клон 2H4LDH11LDB9 (2H4)) и CD62L (клон DREG56). На выявленных популяциях «наивных» Т-хелперов (CD45RA⁺CD62L⁺), Т-хелперах центральной (CD45RA⁻CD62L⁺) и эффекторной (CD45RA⁻CD62L⁻) памяти, а также TEMRA (CD45RA⁺CD62L⁻) определяли уровни экспрессии CD27 (клон 1A4CD27), CD28 (клон CD28.2), CD56 (клон N901 (NKH-1)), CD57 (клон NC1), CD161 (клон HP-3G10) и CD279 (клон EH12.2H7). Окраску антителами производили по методикам, рекомендованным производителями. Использовали антитела против CD161 и CD279 производства BioLegend (США), все остальные антитела – производства Beckman Coulter (США). Удаление эритроцитов из образцов проводили по безотмывочной технологии с использованием лизирующего раствора VersaLyse (кат. № A09777), к 975 мкл которого *ex tempore* добавляли 25 мкл фиксирующего раствора IOtest 3 Fixative Solution (кат. № A07800). После разрушения эритроцитов образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора при 330g в течение 7 минут. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ Navios Software v.1.2 и Kaluza™ v.1.2 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США). Результаты приводили в виде среднего и ошибки среднего. Нормальность распределения показателей в полученных выборках проверялась при помощи теста Колмогорова-Смирнова (для n≥50). Результаты приводили в виде среднего и ошибки среднего. Сравнение уровней экспрессии основных регуляторных и эффекторных молекул Т-хелперами различных стадий дифференцировки проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Одной из важнейших функций молекулы CD27, принадле-

жащей к семейству TNFR, является защита активированных «наивных» Т-клеток и Т-клеток памяти от апоптоза за счет усиления экспрессии анти-апоптотических белков в ядре клетки через сигнальные каскады, связанные с активацией NF- κ B и JNK. Поэтому данный антиген традиционно рассматривается в качестве маркера «не эффекторных» клеток, которым для активации и формирования клона антиген-специфических клеток необходим CD70 [4]. Именно поэтому подавляющее большинство «наивных» Т-хелперов и Т-хелперов центральной памяти (рис., А), единственным ответом которых на активацию Т-клеточного рецептора антигеном, презентруемым АПК, несут на своей поверхности CD27 (99,79±0,05% и 94,98±0,32%, соответственно). По мере дальнейшей дифференцировки и приобретения эффекторных свойств уровень экспрессии данной молекулы постепенно снижается до 71,41±1,39% в рамках популяции с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁻ и 72,52±3,53% среди Т-хелперов TEMRA.

Аналогичные тенденции были отмечены при анализе уровня экспрессии еще одной важнейшей стимуляционной молекулы – CD28 (рис., Б), уровень которой также снижался по мере дифференцировки Т-хелперов. В случае лимфоцитов с фенотипами CD45RA⁺CD62L⁺ и CD45RA⁻CD62L⁺ почти 100% клеток экспрессировали CD28. При переходе к клеткам эффекторной памяти содержание CD28⁺ лимфоцитов в рамках данной популяции достоверно снижалось до 92,51±1,25% ($p < 0,001$), а при переходе к CD45RA⁺CD62L⁻CD3⁺CD4⁺ падало до 75,64±3,58% ($p = 0,01$). CD28 относится к иммуноглобулиновому суперсемейству и представляет собой трансмембранный гомодимерный гликопротеин с молекулярной массой каждой цепи около 44 кДа, в составе цитоплазматического домена которых содержатся четыре остатка тирозина необходимые для фосфорилированы в случае связывания с белками семейства B7. Кроме CD28, в группу стимулирующих молекул на данный момент также входят CTLA-4 (CD152), ICOS, PD-1, BTLA. Если связывание CD28 и ICOS с лигандами преимущественно повышает активацию Т-клеток, то связывание CTLA-4, PD-1 и BTLA с лигандами оказывает ингибирующее воздействие [16].

В ходе проведенного исследования нами был оценен уровень экспрессии PD-1 (CD279),

также относящегося к семейству CD28/CTLA-4/ICOS, но, как уже было отмечено выше, обладающего ингибиторным эффектом. PD-1 на Т-клетках является антагонистом сигналов, полученных, в первую очередь, от Т-клеточного рецептора [7]. Считается, что низкое аффинное взаимодействие TcR со специфическим антигеном в комплексе с молекулами MHC-II практически полностью нивелируется эффектами от взаимодействия PD-1 со своими лигандами на поверхности антиген-презентирующей клетки. Наличие дополнительных стимулирующих сигналов от АПК посредством взаимодействия молекул семейства B7 и CD28, а также наличие в окружающей среде IL-2, снижает эффективность ингибирующего действия PD-1. Активация PD-1 сопровождается снижением эффективности фосфорилирования ζ -субъединицы рецепторного комплекса CD3, ZAP-70 и PKC θ [13]. Все эти эффекты достигались за счет наличия в составе внутриклеточного домена PD-1 последовательности ITSM. Именно PD-1 при помощи вторичных посредников снижает эффективность фосфорилирования киназы Akt, блокируя CD28-зависимую активацию фосфатидилинозитол 3-киназы. Возможно именно поэтому экспрессия PD-1 постепенно возрастает от популяции «наивных» Т-хелперов, где данный антиген обнаруживается лишь на 3,93±0,34% клеток (рис., Е), к популяции клеток эффекторной памяти, когда PD-1 представлен уже на 64,25±1,61% лимфоцитов.

Высокий уровень PD-1 характерен и для клеток центральной памяти, так как он детектируется на мембране почти половины лимфоцитов с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁺ (46,65±1,67%). Снижение экспрессии данной молекулы на поверхности клеток TEMRA может рассматриваться как переход Т-хелперов в эффекторную фазу дифференцировки. Так, фенотип Т-лимфоцитов (как CD3⁺CD4⁺, так и CD3⁺CD8⁺, причем, для последнего это будет более корректно и оправданно) центральной памяти можно описать как CCR7⁺CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻CD57⁻KLRG1⁻PD1⁻, в ходе дальнейшей дифференцировки и переходе к клетки эффекторной памяти они приобретают фенотип клеток эффекторной памяти CCR7⁻CD27^{+/+}CD28^{+/+}CD45RA⁻CD57^{+/+}KLRG1^{+/+}PD1⁺, тогда как дифференцированные эффекторные клетки популяции TEMRA описываются как CCR7⁻CD27⁻CD28⁻

CD45RA⁺CD57⁺KLRG1⁺PD1⁺ [8]. Более того, PD-1 очень часто рассматривается как молекула, наличие которой свидетельствует о слабой способности клеток отвечать пролиферацией на неспецифические стимуляторы в условиях *in vitro*. Такой подход позволяет рассматривать PD-1, равно как и CD57, анализ экспрессии которого будет приведен ниже, в качестве маркера поздней дифференцировки и клеточного «старения» Т-лимфоцитов.

Что же касается CD57, то этот углеводный эпитоп, также известный в качестве HNK1 или LEU7 или L2, представлен как на поверхности Т-клеток, так и натуральных киллеров периферической крови, где он рассматривается в качестве одного из основных маркеров клеточной зрелости [9]. Более того, в случае цитотоксических клеток уровень экспрессии этого антигена на поверхности клеточной мембраны находился в прямой зависимости от уровней перфорина и гранзимов, локализованных в составе цитолитических гранул цитоплазмы клеток [5]. В ходе собственных исследований (рис., Г) было показано, что уровень CD57 возрастал в линии «наивные» Т-хелперы (менее 1%) – клетки центральной памяти (менее 1%) – клетки эффекторной памяти (6,92±1,36%), достигая своего максимума в рамках популяции TEMRA (19,97±4,56%). Таким образом, можно сделать вывод о том, что по мере дифференцировки CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток наблюдалось увеличение числа количества

клеток, экспрессирующих CD57, от популяции «наивных» к популяции TEMRA. Параллельно с появлением CD57 уменьшается длина теломеров и снижается теломеразная активность клеток [11]. Экспрессия CD57 на Т-хелперах также сопровождается снижением пролиферативной активности и увеличением уровня спонтанного апоптоза в условиях *in vitro* [12].

Сходные с экспрессией CD57 тенденции были отмечены при анализе уровня CD56 на Т-хелперах различного уровня дифференцировки, что позволяет рассматривать CD56 в качестве одного из маркеров поздних стадий дифференцировки Т-хелперов (рис., В). Так, на «наивных» CD3⁺CD4⁺ лимфоцитах и Т-хелперах центральной памяти данный антиген практически не обнаруживался (0,32±0,09% и 0,23±0,06%, соответственно). На весьма незначительном уровне – 1,77±0,41% – он был представлен на Т-хелперах с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁻, но при переходе к популяции TEMRA относительное содержание CD56-позитивных клеток возрастало до 5,81±2,04%. Данные литературы свидетельствуют о том, что среди Т-хелперов CD56 обнаруживается на популяции, коэкспрессирующей CD8 (CD4⁺CD8^{dim}), с фенотипом CD27⁻CD45R0⁺CD62L⁻CD95⁺ [17]. Помимо CD56 часть Т-хелперов данной популяции несет на поверхности еще и CD57, а в цитоплазматических гранулах содержит перфорин, однако точные функции данной популяции остаются до сих пор мало исследованными.

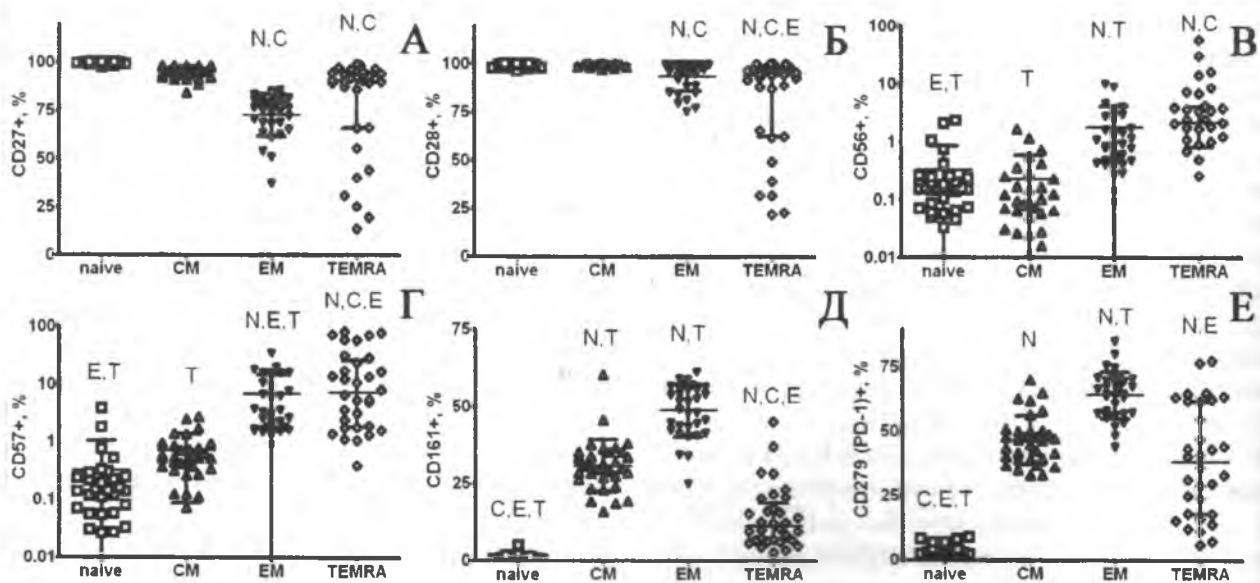


Рисунок. Экспрессия регуляторных и эффекторных молекул CD3⁺CD4⁺ лимфоцитами периферической крови различного уровня дифференцировки.

Гистограммы А-Е – относительное содержание клеток, экспрессирующих на своей поверхности CD27, CD28, CD56, CD57, CD161 и CD279 (PD-1), в пределах популяций Т-хелперов различного уровня дифференцировки, соответственно. «Наивные» Т-хелперы – N⁺CD45RA⁺CD62L⁻), Т-хелперы центральной – CM (CD45RA⁺CD62L⁻) – и эффекторной – EM (CD45RA⁺CD62L⁻) – памяти, а также «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные Т-хелперы – TEMRA (CD45RA⁺CD62L⁻). N, C, E, T – различия с популяцией «наивных» клеток, клеток центральной памяти, клеток эффекторной памяти и клетками TEMRA достоверны при $p < 0,05$ согласно *t*-критерию Стьюдента.

CD161, также известный в качестве KLRB1 (от англ. «Killer cell Lectin-like Receptor subfamily B, member 1») или NKR-P1A, относится к суперсемейству лектинов С-типа и является трансмембранным белком второго типа, на N-конце которого находится ITIM-подобная последовательность, поэтому в случае, например, НК-клеток CD161 может быть негативным регулятором их эффекторных функций [15]. Что же касается Т-лимфоцитов, то данная молекула рассматривается как «суррогатный» маркер продуцентов IL-17, так как часть популяции CD161⁺ способна к синтезу данного цитокина в ответ на стимуляцию *in vitro* [10]. При этом большая часть клеток, позитивных по CD161, относилась к клеткам памяти, уже сменивших CD45RA на CD45R0. В ходе собственных экспериментов было показано, что лишь около 1% CD161⁺ клеток обнаруживается среди «наивных» Т-хелперов (рис., Д). Более того, экспрессии CD161 возрастает до 30,77±1,49% в популяции клеток центральной памяти, тогда как среди Т-хелперов с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁻ приближается к значению в 50%. Однако в состав «терминально-дифференцированных» Т-хелперов входит уже не более 15% лимфоцитов, экспрессирующих CD161. Столь высокая экспрессия CD161 на клетках эффекторной памяти может быть связана с тем, что именно на этой стадии Т-хелперы покидают периферическую кровь и мигрируют в ткани, где и реализуются их функции. Лигандами этой молекулы могут служить различного рода условные детерминанты, например, лектин-подобный транскрипт 1 (LLT1), или белковая молекула PILAR, экспрессия которой повышается на активиро-

ванных лимфоцитах, включая В- и Т-клетках, а также моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, равно как и на различных клетках соединительной ткани [6]. Более того, CD161-позитивные Т-хелперы обычно экспрессировали CCR6 и β 7-интегрин, основным лигандом последнего является MAdCAM-1 – адгезионная молекула, отвечающая за миграцию лимфоцитов из кровяного русла в ткани кишечника. Непосредственное участие CD161 в процессах транс эндотелиальной миграции лимфоцитов периферической крови была показана в экспериментах *in vitro* с блокирующими антителами против данной молекулы [14]. Отдельного внимания заслуживает тот факт, что в уровень мРНК IL-23R и RORC, а также количество клеток, способных к продукции IL-22, были значительно выше во фракции CD161-позитивных Т-клеток, тогда как все клетки периферической крови, способные к синтезу IL-17, также входили исключительно в данную популяцию лимфоцитов [10].

Таким образом, анализ уровня эффекторных и регуляторных молекул с применением многоцветного цитофлуориметрического анализа позволяет не только расширить наши представления об основах функционирования Т-клеточного звена приобретенного иммунитета, но найти новые маркеры различных популяций Т-хелперов, внедрение которых к клиническую практику может существенно повысить информативность лабораторных исследований.

Поддержано Министерством образования и науки РФ, проект № 1326.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кудрявцев И. В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки. Росс. имм. журнал. 2014. Т. 8 (17), № 4, С. 947-964.
2. Сохоневич Н. А., Хазиахматова О. Г., Юрова К. А., Шуплетова В. В., Литвинова Л. С. Фенотипическая характеристика и функциональные особенности Т- и В-клеток иммунной памяти. Цитология. 2015. Т. 57, № 5. С. 311-318.
3. Ярилин А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.
4. Appay V., van Lier R. A., Sallusto F., Roederer M. Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. Cytometry A. 2008. 73. 975-983.
5. Chattopadhyay P. K., Betts M. R., Price D. A., Gostick et al. The cytolytic enzymes granzyme A, granzyme B, and perforin: expression patterns, cell distribution,

- and their relationship to cell maturity and bright CD57 expression. *J. Leukoc. Biol.* 2009. 85. 88-97.
6. Germain C., Meier A., Jensen T. et al. Induction of lectin-like transcript 1 (LLT1) protein cell surface expression by pathogens and interferon- γ contributes to modulate immune responses. *J. Biol. Chem.* 2011. 286. 37964-37975.
 7. Keir M. E., Butte M. J., Freeman G. J., Sharpe A. H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Ann. Rev. Immunol.* 2008. 26. 677-704.
 8. Larbi A., Fulop T. From "truly naïve" to "exhausted senescent" T cells: when markers predict functionality. *Cytometry A.* 2014. 85. 25-35.
 9. Lopez-Verges S., Milush J. M., Pandey S., et al. CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56^{dim}CD16⁺ NK-cell subset. *Blood.* 2010. 116. 3865-3874.
 10. Maggi L., Santarlasci V., Capone M., et al. CD161 is a marker of all human IL-17-producing T-cell subsets and is induced by RORC. *Eur. J. Immunol.* 2010. 40. 2174-2181.
 11. Monteiro J., Batliwalla F., Ostrer H., Gregersen P. K. Shortened telomeres in clonally expanded CD28-CD8⁺ T cells imply a replicative history that is distinct from their CD28⁺CD8⁺ counterparts. *J. Immunol.* 1996. 156. 3587-3590.
 12. Palmer B. E., Blyveis N., Fontenot A. P., Wilson C. C. Functional and phenotypic characterization of CD57⁺CD4⁺ T cells and their association with HIV-1-induced T cell dysfunction. *J. Immunol.* 2005. 175. 8415-8423.
 13. Parry R. V., Chemnitz J. M., Frauwirth K. A., et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* 2005. 25. 9543-9553.
 14. Poggi A., Costa P., Zocchi M. R., Moretta L. Phenotypic and functional analysis of CD4⁺ NKRP1A⁺ human T lymphocytes. Direct evidence that the NKRP1A molecule is involved in transendothelial migration. *Eur. J. Immunol.* 1997. 27. 2345-2350.
 15. Rosen D. B., Bettadapura J., Alsharif M., et al. Cutting edge: lectin-like transcript-1 is a ligand for the inhibitory human NKR-P1A receptor. *J. Immunol.* 2005. 175. 7796-7799.
 16. Sharpe A. H. Mechanisms of costimulation. *Immunol. Rev.* 2009. 229. 5-11.
 17. Suni M. A., Ghanekar S. A., Houck D. W., et al. CD4 (+) CD8 (dim) T lymphocytes exhibit enhanced cytokine expression, proliferation and cytotoxic activity in response to HCMV and HIV-1 antigens. *Eur. J. Immunol.* 2001. 31. 2512-2520.

EXPRESSION OF DIFFERENT EFFECTOR AND REGULATORY MOLECULES BY PERIPHERAL BLOOD T HELPER DIFFERENTIATION SUBSETS

Serebriakova M. K., Borisov F. G., Krobinets I. I., Prozorovskaya E. L.,
Savchenko A. A., Kudryavtsev I. V.

Using flow cytometry the expression of CD27, CD28, CD56, CD57, CD161 и CD279 (PD-1) was compared between "naïve" (CD45RA⁺CD62L⁺), central memory (CD45RA⁻CD62L⁺) and effector memory (CD45RA⁻CD62L⁻) as well as terminally differentiated CD45RA-positive effector cells (CD45RA⁺CD62L⁻) in the population of peripheral blood T-helpers. It was shown that almost all CD45RA⁺CD62L⁺ CD45RA⁺CD62L⁻ T-cells expressed both costimulation molecules CD27 and CD28. The expression of CD56 and CD57 increased from "naïve" Th to TEMRA Th. Expression of CD161 and PD-1 (CD279) showed maximal levels within effector memory CD3⁺CD4⁺ lymphocytes.

Keywords: flowing tsitofluorimetriya, T-helpery, effector cages, CD27, CD28, CD161, CD57