

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

2. Кладова, А. Ю. Встречаемость кожных типов вируса папилломы человека в патологиях кожи / Кладова А. Ю., Куевда Д. А., Молочков В. А., Шипулина О. Ю., Киселев В. И., Хлебникова А. Н., Козлова Е. С. // Альманах клинической медицины. – 2006. – № 9. – С. 44–50.
3. Кладова, А. Ю. Разработка и апробация количественного метода определения концентрации бета-папилломавирусов в коже / А. Ю. Кладова, Д. А. Куевда, О. Ю. Шипулина и др. // Молекулярная медицина. – 2007. – № 4. – С. 33–40.
4. Гончарова, Я. А. Папилломавирусная инфекция и иммунитет / Я. А. Гончарова // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология / ММА им. И. М. Сеченова. – 2008. – № 5. – С. 4–7.

EFFECT OF VIRAL LOAD LEVELS INTERFERON IN HPV-ASSOCIATED FORMS OF SEBORRHEIC KERATOSES

Kostenko E. I., Pisklakova T. P.

The results of the PCR studies of biopsy specimens showed seborrheic keratosis, a high percentage of cells infected with human papillomavirus (over 88.8%). There was a direct correlation viral load growth rate of the number of elements of seborrheic keratosis. A direct consequence of epithelial cells permissive infection with human papilloma virus, is two-fold increase in serum levels of interferon in the blood compared with the control group, increasing with increasing viral load indicator.

Keywords: seborrheic keratosis, human papilloma virus, the viral load, interferons

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ CD38 Т-ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Кудрявцев И. В.^{1,2}, Борисов А. Г.³, Давыдова А. Я.⁴,
Кробинец И. И.⁵, Савченко А. А.³, Серебрякова М. К.²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток; ²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; ³ФГБНУ «Институт медицинских проблем Севера», Красноярск; ⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; ⁵ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

В рамках данного исследования проводится анализ уровня экспрессии CD38 CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ 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, что около 90% «наивных» цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ экспрессируют CD38. Обнаружена выраженная корреляционная взаимосвязь ($r=0,743$ при $p<0,001$) между относительным содержанием CD3⁺CD38⁺ и CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ лимфоцитов. Поэтому CD38 может рассматриваться в качестве маркера дифференцировки «наивных» клеток, тогда как маркером клеточной активации он является только в случае Т-лимфоцитов, находящихся на более поздних стадиях созревания.

Ключевые слова: проточная цитофлуориметрия, Т-лимфоциты, CD38, наивные клетки, клетки центральной памяти, клетки эффекторной памяти

Введение. В настоящее время CD38 относят к гликопротеинам 2 типа, его молекулярная масса находится в пределах 45кДа, а сам белок состоит из 301 аминокислотного остатка.

Причем, 257 аминокислотных остатков формируют внеклеточный домен, гомологичный одному из цитоплазматических ферментов гонады брюхоногого моллюска *Aplysia*, который обладает свойствами рибозилциклазы аденозиндифосфата и гидролазы циклической АДФ-рибозы [17]. Из оставшихся 44 аминокислотных остатков 23 входят в состав трансмембранного домена, а еще 21 формирует цитоплазматический участок данной молекулы.

Первые упоминания об экспрессии CD38 датируются 1980 годом, когда с использованием прочной цитофлуориметрии эта молекула была обнаружена на поверхности тимоцитов различных стадий дифференцировки и зрелых активированных Т-клетках [14]. Но уже в 1989 году было показано, что увеличение уровня CD38 на цитотоксических Т-клетках при ВИЧ-инфекции коррелирует со снижением абсолютного содержания Т-хелперов в периферической крови и развитием синдрома приобретенного иммунодефицита, что и послужило одной из основных причин активного применения антител против CD38 в клинической практике [6].

Единственным описанным лигандом CD38 является CD31 или PECAM-1, представленный на поверхности весьма широкого спектра клеток, к которым относятся лимфоциты (Т-, В- и НК-клетки), гранулоциты, макрофаги, дендритные клетки эндотелия сосудов, а также тромбоциты [10]. Взаимодействие этих двух молекул сопровождается изменением конформации CD38, поэтому CD31 рассматривается в качестве потенциального регулятора функциональной активности CD38 по отношению к его субстратам. [8]. В случае Т-лимфоцитов CD38 принимает участие в проведении сигнала от Т-клеточного рецептора, так как обычно молекулы CD38 локализуются в составе липид-белковых микродоменов вместе с основными компонентами Т-клеточного ко-рецепторного комплекса [11]. Более того, анализ кристаллической структуры молекулы показывает, что CD38 может функционировать как димер или тетрамер, формируя центральный канал для интернализации продуктов катализа в клетку [13]. Поэтому считается, что NAD^+ и NADP^+ превращаются внеклеточной частью CD38 в cADP-рибозу и NAADP, которые могут быть доставлены в цитоплазму, где вызывают выход катионов кальция из депо, что сопровождается активи-

ваний Ca^{2+} -зависимых киназ и проведением сигнала в ядро клетки [11].

Таким образом, CD38 может одновременно выполнять несколько различных функций, которые в той или иной степени связаны с активацией Т-лимфоцитов. Поэтому целью данного исследования было определение уровня экспрессии данной молекулы на отдельных субпопуляциях цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов разного уровня дифференцировки, обладающих различными функциональными особенностями.

Материалы и методы. Для выявления основных популяций цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов применялась следующая панель моноклональных антител, конъюгированных с различными флуорохромами (все антитела производства Beckman Coulter, США): CD62L-ECD (клон DREG56, кат. № IM2713U), CD3-APC (клон UCHT1, кат. № IM2467), CD8-APC-Alexa Fluor 700 (клон B9.11, кат. № A66332), CD45RA-APC-Alexa Fluor 750 (клон 2H4LDH11LDB9 (2H4), кат. № A86050), CD4-Pacific Blue (клон 13B8.2, кат. № A82789), CD45-Krome Orange (клон J.33, кат. № A96416). Уровень экспрессии CD38 оценивали при помощи антител, конъюгированных с фикоэритрином (клон LS198-4-3, кат. № A07779), в качестве изотипического контроля использовали иммуноглобулины мыши IgG1, также конъюгированные с PE (кат. № A07796). Объектом исследования служила венозная кровь, полученная путем пункции периферической вены и собранная в вакуумные пробирки с добавлением КЗЭДТА. В рамках данного исследования было обследовано 52 условно здоровых донора (29 мужчин и 23 женщин) в возрасте 18-65 лет ($32,32 \pm 1,56$). Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все исследования проводились в день взятия крови. 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). Ана-

лиз 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 в выборках проверялась при помощи теста Колмогорова-Смирнова для выборок с числом наблюдений более 50. Корреляционный анализ проводили при помощи критерия Пирсона для выборок с нормальным распределением. Сравнение уровня экспрессии CD38 цитотоксическими Т-клетками и Т-хелперами различных стадий дифференцировки проводили при помощи t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При анализе содержания CD38-позитивных Т-лимфоцитов в периферической крови условно здоровых доноров было показано, что в среднем $35,92 \pm 1,42\%$ клеток экспрессировали данный антиген, тогда как абсолютное содержание лимфоцитов данного фенотипа составляло 681 ± 47 клеток в 1 мкл крови. Следует отметить, что уровень CD3⁺CD38⁺ лимфоцитов в периферической крови не зависел от возраста обследованных в ходе данного исследования условно здоровых доноров ($r = -0,233$ при $p = 0,099$ и $r = -0,205$ при $p = 0,147$, соответственно). Однако нами была выявлена достоверная положительная взаимосвязь между содержанием CD3⁺CD38⁺ клеток и Т-хелперами в периферической крови ($r = -0,338$ при $p = 0,015$). Среди Т-хелперов CD38 несли на своей мембране $53,95 \pm 1,89\%$ клеток (474 ± 37 кл/мкл), а среди цитотоксических Т-клеток с фенотипом CD3⁺CD8⁺ эти величины составили $39,78 \pm 1,81\%$ и 186 ± 14 кл/мкл, соответственно. Полученные результаты совпадают с данными литературы, свидетельствующими о том, что около 52% Т-хелперов и 47% цитотоксических Т-клеток экспрессируют на своей поверхности CD38 [3]. В рамках аналогичного исследования эти показатели составляли 52,6% и 35,2%, соответственно [2]. Однако, другая группа исследователей показала, что среди Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺ только $22,63 \pm 1,68\%$ клеток экспрессировали CD38 [16]. Следует отметить, что определение уровня CD38 на лимфоцитах

периферической крови для решения клинических задач имеет ряд существенных ограничений. Во-первых, как это показано на рисунке, данный поверхностный антиген имеет «переменный» уровень экспрессии – популяции цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов, находящиеся на различных стадиях дифференцировки, существенно различаются по уровню CD38. Использование изотипических контролей особенно ярко показывает, что даже в рамках более-менее гомогенных популяций, например, «наивные» цитотоксические Т-клетки или Т-хелперы аналогичной популяции, исследователь не может четко выделить негативные и позитивные зоны анализа в отсутствие негативного контроля (рисунок). Более того, литературные данные указывают на то, что получаемые результаты могут существенно зависеть от флуорохрома, с которым конъюгированы моноклональные антитела [12]. Применение антител одного и того же клона, но конъюгированных с ФИТЦ или фикозитрином, сопровождалось более чем двукратным изменением числа CD38-позитивных Т-клеток при анализе образца одного и того же ВИЧ-инфицированного пациента. Более того, результаты определения уровня CD38⁺CD8⁺CD3⁺ лимфоцитов с применением антител, меченных PE, коррелировали с такими клиническими показателями, как относительное и абсолютное содержание Т-хелперов в периферической крови и вирусной нагрузкой, определяемой при помощи молекулярно-биологических методов, тогда как при использовании ФИТЦ-конъюгированных антител таких зависимостей не наблюдалось. Столь же существенные различия в получаемых результатах могут быть обусловлены использованием антител против CD38, полученных от различных клонов, как это было показано для клонов HB7 и HIT2 [9]. Все это может оказать существенное влияние на получаемый результат, а также сопряжено с некоторыми трудностями при сравнении собственных показателей с данными литературы.

В случае Т-хелперов корреляционная взаимосвязь между относительным содержанием CD3⁺CD38⁺ и CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ клеток носила выраженный характер ($r = 0,743$ при $p < 0,001$), при этом обнаружена обратная зависимость между уровнями CD3⁺CD38⁺ и Т-хелперами эффекторной памяти ($r = -0,619$ при $p < 0,001$). Также была обнаружена прямая

корреляционная зависимость между относительным содержанием CD3⁺CD38⁺ лимфоцитов и «наивных» цитотоксических Т-клеток с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ ($r=0,440$ при $p<0,001$), тогда как взаимосвязь с содержанием CD3⁺CD8⁺ клеток эффекторной памяти была обратной ($r=-0,407$ при $p=0,003$).

При анализе уровня экспрессии CD38 Т-хелперами различного уровня дифференцировки было показано, что подавляющее большинство (90,28±0,72%) «наивных» CD45RA⁺CD62L⁺ Т-хелперов несло данный антиген на своей поверхности (рис., 9). Данные литературы также свидетельствуют о преимущественной экспрессии CD38 CD45RA-позитивными Т-хелперами, тогда как на CD4⁺CD45R0⁺ лимфоцитах данный маркер был представлен на существенно более низком уровне [5]. Сходные результаты были получены в рамках другого исследования, когда было показано, что около 70% Т-хелперов с фенотипом CD45RA⁺CD45R0⁻ экспрессировали CD38, тогда как среди популяции CD45RA⁻CD45R0⁺ данный маркер обнаружи-

вался лишь на 13% клеток [16]. Собственные результаты также указывают на то, что после прохождения антиген-зависимой дифференцировки в периферических лимфоидных органах и переходу к Т-хелперам центральной памяти уровень экспрессии CD38 снижался более чем в два с половиной раза ($p<0,001$), а процент позитивных клеток опускался до 35,36±1,39%. Минимальные уровни экспрессии CD38 были отмечены у клеток с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁻, в рамках которых только 23,24±1,13% Т-хелперов несли данный антиген на своей поверхности. Что же касается «терминально-дифференцированных» Т-хелперов с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁻, то более 70% клеток этой популяции экспрессировали CD38. Этот показатель достоверно превосходил значения, полученные для Т-хелперов центральной и эффекторной памяти, но и был достоверно ниже таковых «наивных» CD3⁺CD4⁺. Следует отметить, что данный показатель сильно варьировал в рамках популяции TEMRA (рис., 9), что может быть связано с низким содержанием этих клеток в периферической крови.

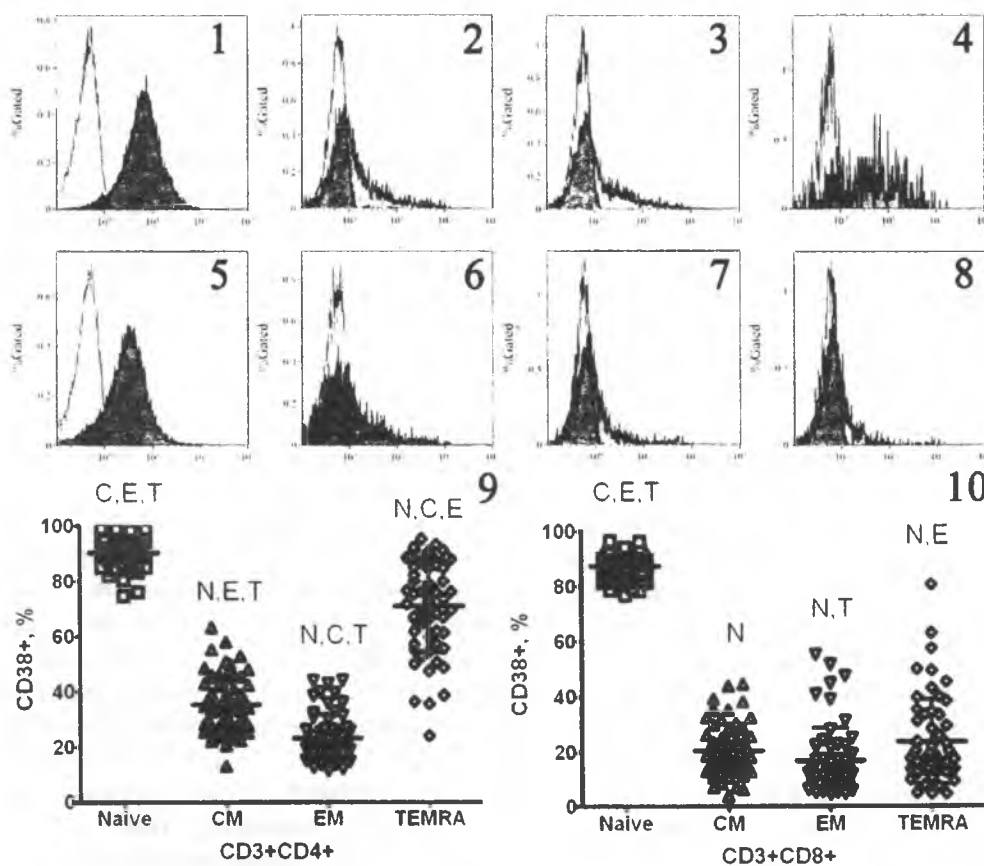


Рис. Экспрессия CD38 Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами различного уровня дифференцировки.

Что же касается экспрессии CD38 цитотоксическими Т-лимфоцитами, то исследование этого вопроса имеет, в первую очередь, чисто практическое применение, как это уже было отмечено выше [6]. Более того, обнаружена высокая корреляция между увеличением CD38⁺CD3⁺CD8⁺ клеток и вирусной нагрузкой, что также является одним из важнейших критериев для оценки состояния пациентов, инфицированных ВИЧ [7]. Исследование отдельных популяций цитотоксических Т-клеток (рис., 10), различающихся по уровню экспрессии CD45RA и CD62L, показало, что CD38 лучше всего был представлен на поверхности «наивных» Т-клеток (87,28±0,64%). Причем полученные значения достоверно ($p < 0,001$) превосходили результаты всех остальных типов клеток. Переход в стадию цитотоксических Т-лимфоцитов центральной памяти сопровождался почти четырехкратным снижением клеток, способных к экспрессии CD38, и составлял 20,49±1,26%. Дальнейшая дифференцировка цитотоксических Т-клеток в клетки эффекторной памяти сопровождалась незначительным снижением уровня CD38⁺ клеток (16,67±1,60%). Вместе с тем, в рамках популяции TEMRA было отмечено достоверное увеличение ($p = 0,008$) относительного содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD38, до 23,57±2,04% по сравнению с клетками с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁻ (рис., 10).

Гистограммы 1-4 и 5-8: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD38, по оси ординат – относительное содержание клеток, экспрессирующих CD38. Гистограммы 1 и 5 – «наивные», 2 и 6 – клетки центральной памяти (CM), 3 и 7 – клетки эффекторной памяти (EM), 4-8 – «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные клетки (TEMRA), выявленные в рамках анализа Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток, соответственно. Гистограммы 9 и 10: экспрессия CD38 Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами различного уровня дифференцировки, соответственно. 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.

Что же касается функций данной молекулы, то изучение этого вопроса нуждается в дальнейших исследованиях. Как уже отмечалось выше, основным лигандом CD38 служит CD31

клеток эндотелия сосудов. Более того, при контакте клеток эндотелия и лимфоцитов именно это взаимодействие обеспечивает регуляцию экспрессии интегринов и делает возможным дальнейшее протекание адгезии [4]. В присутствии блокирующих антител против CD38 адгезия лимфоцитов к клеткам эндотелия резко снижалась, равно как и снижался выход кальция из внутриклеточных депо. Сходные результаты были получены при блокировании поверхностных CD38 на Т-хелперах с фенотипом CD45RA⁺ и CD45R0⁺, когда было отмечено снижение адгезивной активности лимфоцитов первой из упомянутых популяций в условиях *in vitro* [5]. Поэтому столь высокая экспрессия этой молекулы на популяциях «наивных» CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ клеток представляется вполне логичной, так как основной задачей этих клеточных популяций является «патрулирование» периферических лимфоидных органов за счет миграции через вены с высоким эндотелием в Т-зависимых зонах [1]. Помимо ВИЧ-инфекции увеличение в периферической крови уровня CD8⁺CD38⁺ Т-клеток отмечается и при других инфекционных заболеваниях, например, при инфекциях, вызванных *Mycobacterium tuberculosis*, инфицировании вирусом Эпштейн-Барр и цитомегаловирусом [15]. Поэтому в контексте инфекционных заболеваний CD38 рассматривается в качестве маркера активации клеток, позволяющего не только эффективно выходить клеткам из кровяного русла, но и повышать концентрацию ионов кальция внутри цитоплазматического компартмента, например, для перестройки актинового цитоскелета.

Полученные нами результаты и приведенные выше данные литературы позволяют выдвинуть тезис о том, что CD38 может рассматриваться в качестве маркера активации только в случае зрелых – не «наивных» – Т-клеток. Это положение относится как к популяции цитотоксических Т-клеток, так и Т-хелперов. Следует отметить, что исследование общего уровня CD3⁺CD38⁺ в периферической крови, а также определение относительного или абсолютного содержания CD3⁺CD4⁺CD38⁺ и CD3⁺CD4⁺CD38⁺ лимфоцитов в периферической крови, может отражать общее содержание «наивных» Т-клеток указанных двух популяций, о чем свидетельствует корреляционная зависимость между этими показателями.

Поддержано Министерством образования и науки РФ, проект № 1326.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кудрявцев И. В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки. Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 947-964.
2. Buggert M., Frederiksen J., Noyan K., et al. Multiparametric bioinformatics distinguish the CD4/CD8 ratio as a suitable laboratory predictor of combined T cell pathogenesis in HIV infection. J. Immunol. 2014. 192. 2099-2108.
3. Camara M., Dieye T.N., Seydi M., et al. Low-level CD4⁺ T cell activation in HIV-exposed seronegative subjects: influence of gender and condom use. J. Infect. Dis. 2010. 201. 835-842.
4. Deaglio S., Morra M., Mallone R., et al. Human CD38 (ADP-ribosyl cyclase) is a counter-receptor of CD31, an Ig superfamily member. J. Immunol. 1998. 160. 395-402.
5. Dianzani U., Funaro A., DiFranco D., et al. Interaction between endothelium and CD4⁺CD45RA⁺ lymphocytes. Role of the human CD38 molecule. J. Immunol. 1994. 153. 952-959.
6. Giorgi J.V., Detels R. T-cell subset alterations in HIV-infected homosexual men: NIAID Multicenter AIDS cohort study. Clin. Immunol. Immunopathol. 1989. 52. 10-18.
7. Lieberman J., Trimble L.A., Friedman R.S., et al. Expansion of CD57 and CD62L⁻CD45RA⁺ CD8 T lymphocytes correlates with reduced viral plasma RNA after primary HIV infection. AIDS. 1999. 13. 891-899.
8. Liu Q., Kriksunov I.A., Graeff R., et al. Crystal structure of human CD38 extracellular domain. Structure. 2005. 13. 1331-1339.
9. Maecker H.T., McCoy J.P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the Human Immunology Project. Nat. Rev. Immunol. 2012. 12. 191-200.
10. Marelli-Berg F.M., Clement M., Mauro C., Caligiuri G. An immunologist's guide to CD31 function in T-cells. J. Cell Sci. 2013. 126. 2343-2352.
11. Munoz P., Mittelbrunn M., de la Fuente H., et al. Antigen-induced clustering of surface CD38 and recruitment of intracellular CD38 to the immunologic synapse. Blood. 2008. 111. 3653-3664.
12. Onlamoon N., Tabprasit S., Sukapirom K., et al. Discordant CD38 measurement of CD8⁺ T lymphocytes using fluorescein conjugates in comparison with phycoerythrin conjugates. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 2011. 29. 181-89.
13. Prasad G.S., McRee D.E., Stura E.A., et al. Crystal structure of Aplysia ADP ribosyl cyclase, a homologue of the bifunctional ectozyme CD38. Nat. Struct. Biol. 1996. 3. 957-964.
14. Reinherz E.L., Kung P.C., Goldstein G., et al. Discrete stages of human intrathymic differentiation: analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage. PNAS. 1980. 77. 1588-1592.
15. Rodrigues D.S., Medeiros E.A., Weckx L.Y., et al. Immunophenotypic characterization of peripheral T lymphocytes in Mycobacterium tuberculosis infection and disease. Clin. Exp. Immunol. 2002. 128. 149-154.
16. Scalzo-Inguanti K., Plebanski M. CD38 identifies a hypo-proliferative IL-13-secreting CD4⁺ T-cell subset that does not fit into existing naive and memory phenotype paradigms. Eur. J. Immunol. 2011. 41. 1298-1308.
17. States D.J., Walseth T.F., Lee H.C.. Similarities in amino acid sequences of Aplysia ADP-ribosyl cyclase and human lymphocyte antigen CD38. Trends Biochem. Sci. 1992. 17. 495.

CD38 EXPRESSION BY PERIPHERAL BLOOD T CELL DIFFERENTIATION SUBSETS

Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Davidova A. Ya., Krobinets I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K.

Using 8-color flow cytometry the expression of CD38 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 populations of T-helpers and cytotoxic T-cells. It was shown that about 90% of immature CD45RA⁺CD62L⁺ T-cells expressed CD38. The abundance of CD3⁺CD38⁺ in peripheral blood was associated with increase in the proportion of CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ ($r=0,743$ при $p<0,001$). So CD38 can be considered as a differentiation marker for "naïve" T-cells, but for most mature T-cells it can be used as an activation marker.