



АНАЛИЗ РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ НА ПОСТОЯННЫЙ КОНТАКТ С БОЛЬНЫМИ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

© 2019 г. И. С. Литвинов*, #, Д. А. Долгих*

*ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая 16/10

Поступила в редакцию 23.08.2018 г.

После доработки 15.10.2018 г.

Принята к публикации 25.10.2018 г.

Длительный контакт медицинских работников туберкулезных отделений с патогеном *Mycobacterium tuberculosis* вызывает изменения в их иммунной системе, направленные на адаптацию организма к постоянной антигенной нагрузке. Изменения в крови медперсонала указывают на участие тех или иных клеток в формировании протективного иммунитета. Следовательно, наблюдаемые изменения, скорее всего, являются специфичными и отражают формирование защиты организма здоровых людей от развития туберкулеза. Обсуждается вопрос о правомерности использования показателей крови медперсонала в качестве контроля за состоянием здоровья хронических больных туберкулезом. Наиболее выраженные изменения наблюдались в популяциях моноцитов и CD4⁺ Т-лимфоцитов, которые принимают непосредственное участие в защите организма человека от туберкулеза. В крови медперсонала работников было проанализировано количество CD4⁺ Т-клеток, способных в ответ на стимуляцию антигенами *M. tuberculosis* продуцировать интерферон-гамма (ИФН-γ). Число этих клеток в крови медперсонала менялось в зависимости от стажа работы в клинике. Низкий уровень CD4⁺(ИФН-γ)⁺ активированных Т-клеток в крови сотрудников на 5–7 год работы может быть прогностическим фактором низкой устойчивости к туберкулезу.

Ключевые слова: формула крови, клеточный иммунный статус, туберкулез, медперсонал, стаж работы с инфекцией

DOI: 10.1134/S0132342319020064

ВВЕДЕНИЕ

В XXI веке туберкулез остается опасной инфекцией, уносящей ежегодно миллионы жизней. Во всем мире не прекращаются исследования закономерностей развития заболевания и механизмов формирования эффективной защиты от этой инфекции. В большинстве работ по изучению инфекционного процесса и защиты человека от *Mycobacterium tuberculosis* принято сравнивать больных хронической формой туберкулеза со здоровыми людьми, которые никогда долго и постоянно не контактировали с возбудителем болезни [1–3]. Применение традиционного подхода хорошо документирует различия в показателях крови больного человека от здорового, но не позволяет сделать заключение о причинах того, почему один из них болеет, а другой — нет. Наиболее корректные результаты о развитии инфекционного процесса могли быть получены из прямого сопоставления

показателей крови, включая анализ крови и клеточный иммунный статус, для одного и того же индивидуума до, после и в ходе болезни. Но подобный идеальный подход к анализу инфекционного процесса трудно реализовать на практике.

Однако имеется группа людей, которые постоянно контактируют с возбудителем болезни — медперсонал туберкулезных клиник. Только они постоянно контактируют с больными и остаются здоровыми. В противном случае они не смогли бы выполнять свои профессиональные обязанности. Повышенный риск заболевания туберкулезом медперсонала является предметом множества работ из разных стран. В них основной акцент делается на методах ранней диагностики туберкулеза и на профилактических мерах против заражения медперсонала. Во всех исследованиях рассматривается возраст, происхождение, раса, пол и место работы человека в клинике, но не длительность его работы с больными.

Основной целью представленной работы является исследование адаптационных реакций иммунной системы в организме здоровых людей в ответ их на длительный контакт с возбудителем

Сокращения: мАт — моноклональные антитела; интерферон-гамма (ИФН-γ); КИС — клеточный иммунный статус; ОАК — общий анализ крови; ПК — периферическая кровь; ТКП — Т-клетки памяти.

Автор для связи (эл. почта: catlismar@gmail.com).

Таблица 1. Общий анализ крови медицинского персонала

Популяция клеток	Здоровые доноры	Медперсонал		
	границы нормы	средние значения параметра	минимальное и максимальное значения	частота отклонений*, %
Лейкоциты	4.0–9.0	6.94 ± 1.63	4.8–9.5	–; +5.1
Моноциты	0.09–0.6	0.48 ± 0.13	0.22–0.73	–; +20.9
Лимфоциты	1.2–3.0	2.53 ± 0.59	1.00–4.27	–2.3; +18.6
Нейтрофилы	2.0–5.5	3.5 ± 0.86	1.76–5.62	–2.3; +4.7
Эозинофилы	0.02–0.3	0.17–0.06	0.05–0.34	–; +2.3

* Прочерк – без отклонений, минус – ниже; плюс – выше нормы. Все значения параметров приводятся для 10^3 клеток в 1 мкл периферической крови.

туберкулеза через больных хроническими формами инфекции. Для этого были проанализированы изменения в общем анализе крови (ОАК) и клеточном иммунном статусе (КИС) здоровых людей из числа медперсонала в зависимости от длительности их контакта с возбудителем туберкулеза. В качестве продолжительности контакта человека с возбудителем туберкулеза был выбран его стаж работы в клинике. Кроме того, было проанализировано в крови человека число $CD4^+$ Т-клеток памяти, способных продуцировать интерферон-гамма (ИФН- γ) в ответ на стимуляцию антигенами *M. tuberculosis*. Число этих клеток в крови медперсонала было также оценено в зависимости от стажа работы с больными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ общего анализа крови здоровых людей и медперсонала туберкулезных клиник

Для оценки здоровья людей общий анализ крови является общепринятым. В табл. 1 приведены данные ОАК медперсонала и контрольной группы здоровых людей. Средние значения ОАК медперсонала всегда находятся в пределах допустимых колебаний внутри границ нормы. Из полученных данных можно лишь сделать вывод о хорошем самочувствии медперсонала, но не более. Для определения преимущественного направления реакции в организме медперсонала в ответ на постоянный и длительный контакт с живым возбудителем туберкулеза – *M. tuberculosis* проанализированы частоты отклонений ОАК от верхней и нижней границ нормы. В этом случае неодинаковые частоты отклонений ОАК от границ нормы указывают на преимущественное направление реакций организма медперсонала в ответ на условия труда. Содержание лейкоцитов,

моноцитов, лимфоцитов эозинофилов и базофилов в периферической крови медперсонала всегда было выше нижних границ нормы. Только у 2% медперсонала отмечается сниженное содержание нейтрофилов. Для медперсонала число лейкоцитов, нейтрофилов и эозинофилов превышало нижнюю границу нормы и лишь в единичных случаях (не более 5.2%) – верхнюю. Напротив, число моноцитов было повышено у каждого пятого. Почти так же часто (18.6%) наблюдался лимфоцитоз. Лимфопения отмечалась только у двух врачей старшего возраста. Столь частые отклонения в этих популяциях у медперсонала от значений нормы вряд ли являются случайными. Таким образом, в периферической крови медперсонала отмечается выраженный рост числа моноцитов и лимфоцитов. Именно эти клетки принимают непосредственное участие в защите от возбудителя туберкулеза [4, 5]. Степень обратимости этих изменений – неизвестна и будет предметом дальнейших исследований. Для больных хроническими формами туберкулеза большинство исследователей отмечают в разной степени лимфопению [5]. Полученные данные имеют и фундаментальное и прикладное значение. В качестве последнего в них определены “границы нормы” для медперсонала, которые позволяют прогнозировать состояние их здоровья.

Сравнительный анализ клеточного иммунного статуса здоровых людей и медперсонала туберкулезных клиник

Данные клеточного иммунного статуса (КИС) для медперсонала и группы контроля приведены в табл. 2. Практически все средние значения КИС медперсонала находились в пределах допустимых колебаний внутри границ нормы. Для медперсонала так же были проанализированы и частоты отклонения показателей КИС от границ нормы

Таблица 2. Параметры клеточного иммунного статуса медперсонала

Популяция клеток	Здоровые доноры	Медперсонал		
	границы нормы	средние значения параметра	минимальное и максимальное значения	частота отклонений, %
CD19 ⁺ В-клетки	100–400	268 ± 88	77–604	2.3; 14
CD3 ⁺ Т-клетки	1000–2200	1963 ± 476	1046–3363	–; 20.9
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Т-клетки	600–1000	1295 ± 332	660–2136	2.3; 18.6
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Т-клетки	400–900	637 ± 196	313–1393	9.5; 14.3
CD3 [–] (CD16 + CD56) ⁺ НК	100–400	226 ± 82	53–515	9.3; 2.3
CD3 ⁺ (CD16 + CD56) ⁺ ТНК-клетки	9–90	73 ± 41	5–237	2.5; 21
CD3 ⁺ CD25 ⁺ Т-клетки	9–90	75 ± 44	11–205	–; 30.8
CD3 ⁺ (HLA-DR) ⁺ Т-клетки	9–100	52 ± 29	6–205	2.3; 9.5

Обозначения аналогичны табл. 1.

для здоровых людей. Число В-клеток очень редко отклонялось от границ нормы для здоровых людей. Число CD3[–](CD16⁺ + CD56⁺)⁺ натуральных киллеров (НК-клеток) чаще превышало нижнюю границу нормы для здоровых людей и только в 10% случаев – верхнюю. Согласно современным представлениям, эти популяции клеток не принимают непосредственного участия в защите организма человека от туберкулеза [6, 7].

Содержание CD3⁺ Т-клеток и CD3⁺CD4⁺ Т-клеток в периферической крови медперсонала всегда превышало нижнюю границу нормы и почти для каждого пятого – верхнюю. Большинство исследователей рассматривают именно CD3⁺ Т-клетки [8–11] и CD3⁺CD4⁺ Т-клетки, продуцирующие ИФН- γ в ответ на антигены клеточной стенки *M. tuberculosis* [8–12], в качестве ключевого звена протективного иммунитета у людей к возбудителю туберкулеза [9–13]. В то же время, среднее значение числа CD3⁺CD8⁺ Т-клеток в периферической крови медперсонала было несколько ниже нормы для здоровых доноров. При этом в четверти случаев отмечалось пониженное содержание этой популяции клеток, а в 14.3% случаев этот показатель превышал верхнюю границу нормы. Вопрос о роли CD3⁺CD8⁺ Т-клеток в защите организма

от туберкулеза обсуждается уже давно, но до сих пор исследователям не удалось прийти к единому мнению по данному вопросу [12, 13]. Среднее число CD3⁺(CD16 + + CD56)⁺ ТНК-клеток (Т-клетки с функциональными свойствами НК в периферической крови медперсонала было в пределах границ нормы для здоровых людей. Для этой популяции характерно чаще превышение ею верхней границы нормы, чем – нижней. Роль этой популяции в протективном иммунитете к возбудителю туберкулеза еще только начинает изучаться и еще рано делать выводы об ее участии в патогенезе инфекции [14–16].

Как правило, CD3⁺ Т-клетки выполняют свои физиологические функции в активированном состоянии. Средняя доля CD3⁺CD25⁺ Т-клеток (ранняя стадия активации и пролиферации) не выходила за границы нормы для здоровых доноров. Содержание этих клеток в периферической крови (ПК) медперсонала всегда превышало нижнюю границу нормы для здоровых доноров, и для 30.8% испытуемых – верхнюю. Столь частое отклонение от нормы свидетельствует о физиологической значимости обнаруженного явления. Среднее значение числа CD3⁺(HLA-DR)⁺ Т-клеток (поздняя стадия активации) также не выходило за границы нормы. Для этих клеток в перифе-

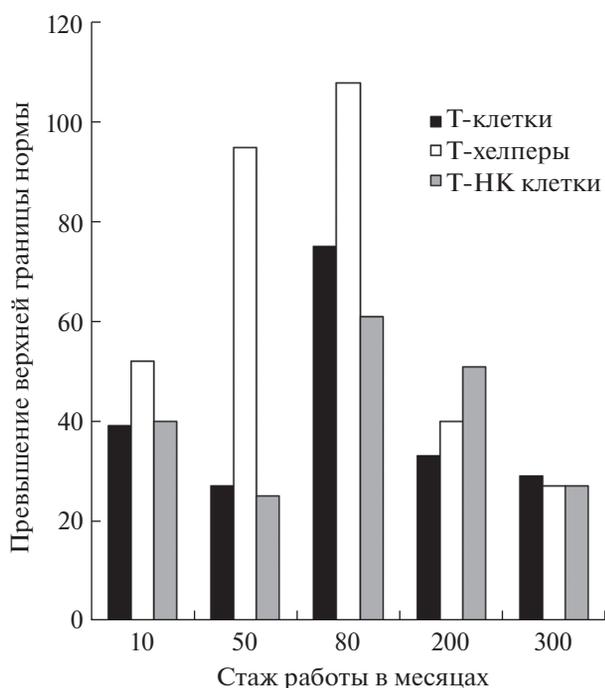


Рис. 1. Частота отклонений от верхних границ нормы для популяций клеток в крови медперсонала в зависимости от стажа работы с инфекцией. По оси абсцисс указана продолжительность работы с инфекцией в месяцах. По оси ординат указана частота отклонений от верхних границ нормы для популяций клеток в крови медперсонала в процентах. В колонках с обозначением Т-клетки показаны данные для клеток с фенотипом $CD3^+$. В колонках с обозначением Т-хелперы показаны данные для клеток с фенотипом $CD3^+CD4^+$. В колонках с обозначением Т-НК-клетки показаны данные для клеток с фенотипом $CD3^+(CD16 + CD56)^+$.

рической крови медперсонала характерно скорее превышение верхней границы нормы для здоровых доноров, чем даже единичное снижение этого показателя. Связь между долей активированных $CD3^+$ Т-клеток и защитой организма от туберкулеза интуитивно подразумевается, но специальных исследований на эту тему до сих пор не проводилось. Следовательно, для медперсонала характерно скорее повышение содержания в крови $CD4^+$ Т-клеток и активированных $CD3^+$ Т-клеток, по сравнению со здоровыми донорами. Возможно, эти изменения отражают адаптационные реакции организма в ответ на постоянный контакт с возбудителем заболевания.

Сравнительный анализ клеточного иммунного статуса медперсонала туберкулезных клиник в зависимости от стажа работы с больными

Изменения показателей КИС медперсонала в зависимости от стажа работы с инфекцией происходят во времени немонотонно и имеют особен-

ности. Наиболее заметные изменения наблюдались в популяциях $CD3^+$, $CD4^+$ Т-клеток и $CD3^+(CD16 + CD56)^+$ ТНК-клеток (рис. 1). В первый год работы с больными содержание этих популяций часто превышало верхнюю границу нормы. Скорее всего это связано с первичной адаптацией организма к постоянному контакту с возбудителем заболевания. В течение следующих пяти-шести лет отмечаются лишь колебания различной степени интенсивности в пределах границ нормы. Совершенно неожиданно в течение следующих трех лет отмечается резкое возрастание частоты превышения этими популяциями верхней границы нормы. Причины этого – непонятны. Возможно, именно в этом временном интервале (восьмой-девятый годы работы с больными) происходит неизвестная ранее серьезная перестройка в иммунной системе медперсонала. В дальнейшем отмечаются лишь колебания различной степени интенсивности в пределах границ нормы. Подобный феномен описан впервые.

*Анализ содержания специфичных к антигенам клеточной стенки *M. tuberculosis* $CD4^+CD45R0^+$ Т-клеток памяти в зависимости от стажа работы с больными*

Защита человека от туберкулеза связана со специфичными к антигенам *M. tuberculosis* $CD4^+CD45R0^+$ Т-клетками памяти (ТКП), которые продуцируют ИФН- γ в ответ на контакт со “своими” антигенами микобактерий. Оценка их числа в крови медперсонала была проведена в зависимости от стажа работы с больными. Непрерывное возрастание числа ТКП с увеличением стажа работы медперсонала, вследствие их постоянной и зависимой от антигена пролиферации, было наиболее предсказуемым результатом еще до начала выполнения работы. Однако, представленные на рис. 2 экспериментальные данные не имеют ничего общего с прогнозами клонально-селекционной теории Бернетта [17].

Наибольшие успехи в борьбе с возбудителями внутриклеточных инфекций связаны с неvirulentными штаммами тех же возбудителей, например H37Ra, BCG, STI и другими [18, 19]. Они сохраняют подавляющее большинство антигенных детерминант, характерных для virulentных штаммов, и значительно снижают риск заболевания. В многочисленных экспериментах на животных была установлена следующая закономерность – вакцинированные животным обладают повышенной защитой от соответствующих возбудителей, по сравнению с интактными контрольными животными, но эта защита всегда ниже, чем у мышей-рековалесценто. Следовательно, ТКП, возникшие в ходе иммунного ответа организма на живой и полноценный возбудитель инфекции, всегда лучше защищают организм от со-

ответствующей инфекции, чем ТКП вакцинированных животных [18].

Необходимым условием для начала работы медперсонала с больными туберкулезом является его предварительная вакцинация *bacille Calmette–Guerin (BCG)* и этим объясняется высокий уровень ТКП вакцинного типа в крови новобранцев. В отсутствие контакта этих клеток с живыми микобактериями их число вряд ли сильно меняется.

Скорость падения ТКП вакцинного типа и нарастания ТКП реконвалесцентного типа зависят от частоты контактов организма с живым возбудителем туберкулеза.

Вторичный иммунный ответ обычно состоит из нескольких последовательных стадий. Уже существующие ТКП активируются при появлении антигена и пролиферируют. Параллельно этому они дифференцируются в клетки-эффекторы, ответственные за нейтрализацию антигена. Эта стадия должна заканчиваться полным уничтожением антигена. Наименее специфичные клетки-эффекторы погибают в ходе апоптоза, а оставшиеся возвращаются в популяцию покоящихся ТКП. В этом случае предполагается почти полная идентичность исходных и вновь образовавшихся ТКП. Различия между ними только количественные. В случае новобранцев медперсонала ситуация более сложная. Постоянное, хотя и небольшое, появление в организме живого возбудителя меняет ход иммунного ответа – часть ТКП вакцинного типа элиминируется и появляются ТКП реконвалесцентного типа более эффективные в защите от туберкулеза. Этот процесс протекает во времени и этим объясняется резкое снижение общего числа ТКП, которое плавно замедляется только после первых пяти лет работы с больными. В этом случае общая популяция ТКП состоит из клеток вакцинного и реконвалесцентного типов, причем доля первых достаточно быстро падает, а вторых медленно возрастает. Поэтому на зависимости числа ТКП от стажа работы медперсонала с больными туберкулезом возникает хорошо заметный на рис. 2 локальный минимум. Этот минимум приходится на пятый–седьмой годы работы с больными туберкулезом. Подобная зависимость в ПК ТКП не укладывается ни в одну из современных теоретических схем клонально-селекционной теории Бернетта о механизмах формирования протективной иммунологической памяти. Возможной причиной этого может служить формирование пула реконвалесцентных ТКП за счет ТКП вакцинного типа. Скорее всего, именно в данный период времени (пять – семь лет стажа работы с больными туберкулезом) медперсонал наиболее уязвим к возбудителю инфекции. Среди фтизиатров со стажем бытует мнение “если кто-либо не заболел в течение первых семи лет работы в клинике, то он сможет работать и дальше”. Ни-

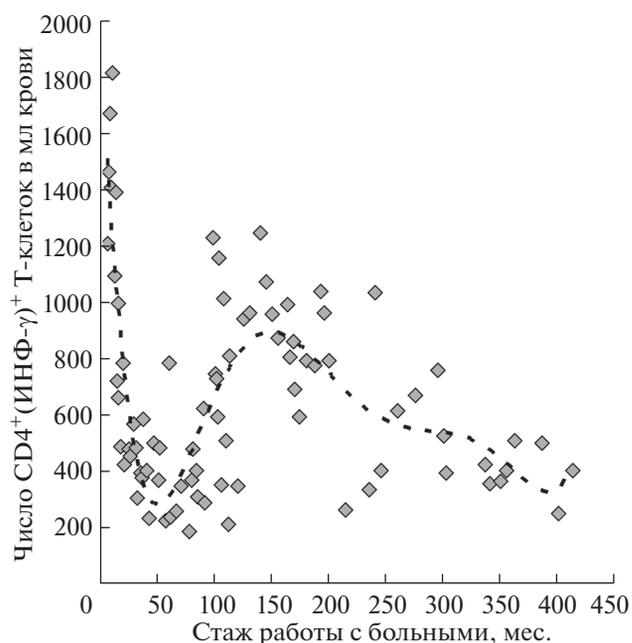


Рис. 2. Содержание $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-клеток памяти в крови медперсонала в зависимости от стажа работы с инфекцией. Каждая точка соответствует показателю для одного человека из числа медперсонала. По оси абсцисс указана продолжительность работы в клинике в месяцах; по оси ординат – число $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-клеток памяти в 1 мл крови. Черной пунктирной линией приведено усреднение параметров числа $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-клеток памяти от стажа работы в клинике с полиномом $n = 8$.

каких подтверждений этой “народной мудрости” в открытой печати найти не удалось, но к этому мнению стоит прислушаться.

В дальнейшем снова отмечается неожиданно резкий рост числа ТКП, скорее всего реконвалесцентного типа, который достигает своего локального максимума в интервале от 140 до 180 месяцев стажа. Число этих ТКП возрастает в несколько раз, по сравнению с локальным минимумом (рис. 2). Рост ТКП происходит в том же временном интервале, в котором отмечается повышенная частота и интенсивность колебаний в популяциях $CD3^+$, $CD4^+$, $CD3^+CD25^+$ Т-клеток и $CD3^+(CD16 + CD56)^+$ ТНК-клеток. После этого наблюдается только плавное снижение числа ТКП с неизбежными в любой биологической системе колебаниями различной степени интенсивности. Это снижение доли специфичных к антигенам ТКП имеет уже вполне прозаичное объяснение: накопление с возрастом $CD4^+CD45R0^+$ Т-клеток памяти как бы “разводит” уже имеющиеся ТКП. Подобное поведение ТКП медперсонала описано впервые и причины этого явления остаются непонятными, но, несомненно, будут целью последующих экспериментов. Полученная закономерность может свидетельствовать о существовании более чем од-

ного типа адаптационных реакций в организме человека в ответ на его постоянный контакт с возбудителем.

Как уже было сказано в разделе “Введение”, больные хроническими формами туберкулеза и медперсонал взаимодействуют с *M. tuberculosis* воздушно-капельным путем. Однако, у медперсонала формируется эффективная защита от инфекции, а у больных – нет. Скорее всего, причины заболевания связаны с неодинаковой реакцией организма человека на возбудитель инфекции. Если у больного изменения в крови происходят в сторону соответствующих показателей медперсонала, это может свидетельствовать о положительной динамике протекания болезни. Если нет, то это может служить тревожным знаком. Во всех случаях это утверждение верно покажут последующие исследования и медицинская практика в специализированных клиниках.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Используемые в работе мАт получены от фирмы “Immunotech ®” (Франция). В работе использовали брэфелдин А и культуральный пластик фирмы “ICN ®” (США). В качестве антигена использовался принятый в мире препарат компонентов бактериальной стенки *M. tuberculosis* – PPD (Purified Protein Derivative).

Доноры. В группу медперсонала были отобраны 97 работающих сотрудников туберкулезной больницы № 7 г. Москвы в возрасте от 22 до 85 лет, которые постоянно и длительно контактировали с больными хроническими формами туберкулеза. По результатам ежегодного обследования: рентгенография легких, высеv микрофлоры и реакция Манту – среди них не было больных туберкулезом. Тесты на беременность, ВИЧ и гепатит В были отрицательными. Положительная реакция в любом из тестов являлась причиной на исключение человека из экспериментальной группы. В контрольную группу (в дальнейшем – здоровые доноры) были отобраны 27 человек в возрасте от 23 до 75 лет обоего пола, в семье которых отсутствуют больные туберкулезом. Для этой группы доноров показатели анализа крови и иммунного статуса были близки к значениям нормы для здоровых людей.

Определение форменных элементов крови. Абсолютные значения числа форменных элементов крови определяли на гематологическом анализаторе АСТ 5 DIFF Beckman-Coulter (США).

Проточная цитометрия. Фенотипический анализ клеток проводили на проточном цитофлуориметре EPICS XL MCL Beckman-Coulter, США. Для корректного исключения из зоны анализа всех частиц, которые не соответствовали по размеру и гранулярности живым лимфоцитам, вво-

дили необходимые логические ограничения в гистограммы распределения частиц по малоугловому и 90-градусному светорассеянию. Границы “лимфоцитарного окна” дополнительно контролировали окрашиванием клеток мАт к CD45. Математическую обработку полученных данных проводили в программе WinMDI Beckman-Coulter, США. В каждой пробе анализировали не менее 10^4 клеток. Во всех экспериментах использовали мАт для изотипического контроля. Все мАт были предварительно проверены на стандартной донорской крови человека Immunotroll, Beckman-Coulter, США. Окрашивание клеток проводили согласно методике фирмы производителя.

Специфический иммунный ответ на добавление антигенов PPD оценивался по способности $CD4^+$ Т-клеток анализированного образца крови продуцировать ИФН- γ . Для этого 0.5 мл цельной гепаринизированной крови с 10 мкг PPD каждого донора помещались во влажную атмосферу с 5% CO_2 при 37°C на 18 ч. После первых 12 ч инкубации для предотвращения выхода из клеток синтезированных белков в культуру был добавлен брэфелдин А. По окончании культивации все реакции в клетках останавливали охлаждением в ледяной бане. Лизис эритроцитов и фиксацию клеток осуществляли в растворе “OptiLyse C™” согласно рекомендациям фирмы-производителя Beckman-Coulter. Пермеабиллизацию клеток и их окрашивание мАт к CD4 и к ИФН- γ проводилось и согласно рекомендациям фирмы-производителя “Beckman-Coulter ®”, США с использованием набора “IntraPrep™”. Число $CD4^+$ Т-клеток, продуцирующих ИФН- γ в ответ на PPD, оценивали методом проточной цитофлуориметрии. В каждой пробе анализировали не менее 10^5 $CD4^+$ Т-клеток.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы искренне благодарят всех сотрудников туберкулезной больницы № 7 г. Москвы, чья кровь помогла осуществить данную работу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ibrahim M.K., Zambruni M., Melby C.L., Melby P.C. // Clin. Microbiol. Rev. 2017. V. 30. P. 919–971.
2. Cadena A.M., Fortune S.M., Flynn J.L. // Nat. Rev. Immunol. 2017. V. 17. P. 691–702.
3. van Crevel R., Ottenhoff T.H.M., van der Meer J.W.M. // Clin. Microbiol. Rev. 2002. V. 15. P. 294–315.
4. Flynn J.L., Chan J. // Ann. Rev. Immunol. 2001. V. 19. P. 93–135.
5. Hadjadj J., Dechartres A., Chapron T., Salah S., Dunogué B., Musset L., Baudin B., Groh M., Blanche P., Mouthon L., Monnet D., Le Jeunne C., Brézin A., Terrier B. // Autoimmun. Rev. 2017. V. 16. P. 504–511.
6. Boras Z., Juretic A., Rudolf M., Uzarević B., Trescec A. // Croat. Med. J. 2002. V. 43. P. 301–318.

7. *Raja A., Uma Devi K.R., Ramalingam B., Brennan P.J.* // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002. V. 9. P. 308–321.
8. *Muller I., Cobbold S.P., Waldmann H., Kaufmann S.H.* // Infect. Immun. 1987. V. 55. P. 2037–2036.
9. *Feng C.G., Blanchard T.J., Smith G.L., Hill A.V., Britton W.J.* // Immunol. Cell Biol. 2001. V. 79. P. 569–575.
10. *Boom W.H., Canaday D.H., Fulton S.A., Gehring A.J., Rojas R.E., Torres M.* // Tuberculosis (Edinb.). 2003. V. 83. P. 98–111.
11. *Flynn J.L., Chan J., Triebold K.J., Stewart T.A., Bloom B.R.* // J. Exp. Med. 1993. V. 178. P. 2249–2256.
12. *Grotzke J.E., Lewinsohn D.M.* // Microb. Infect. 2005. V. 7. P. 776–783.
13. *Lazarevic V., Flynn J.* // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2002. V. 166. P. 1116–1121.
14. *Kaufmann S.H.* // PNAS 1996. V. 93. P. 2272–2277.
15. *Gumperz J.E., Brenner M.B.* // Curr. Opin. Immunol. 2001. V. 13. P. 471–476.
16. *Ordway D.J., Pinto L., Costa L., Martins M., Leandro C., Viveiros M., Amaral L., Arroz M.J., Ventura F.A., Dockrell H.M.* // Immunol. Med. Microbiol. 2005. V. 43. P. 339–350.
17. *Kaufmann S.H.* // Tuberculosis (Edinb.). 2003. V. 83. P. 107–111.
18. *Burnet F.M.* The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity. Cambridge: The University Press, 1959.
19. *Zhan Y., Kelso A., Cheers C.* // Infect. Immunity. 1995. V. 63. P. 969–975.

An Analysis of Adaptive Reactions in Healthy Subjects Who Have Persisted and Prolonged Contact with Tuberculosis Patients

I. S. Litvinov*,# and D. A. Dolgich*

*E-mail: catlismar5@gmail.com

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Protein Bioengineering, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

Prolonged and persisted contact of health workers (HCWs) of the tuberculosis departments with the live pathogen *Mycobacterium tuberculosis* causes changes in their immune system, aimed at adapting the organism to a constant antigenic load. Changes in the blood of medical staff indicate the participation of certain cells in the formation of protective immunity. The most pronounced changes were observed in populations of monocytes and CD4⁺ T cells, which are directly involved in the protection of the human body against tuberculosis. Therefore, changes in the blood of HCWs are likely to be specific and reflect the formation of the body's protection of healthy people from the development of tuberculosis. The question of the possibility of using data of HCWs as a control for chronic tuberculosis patients is discussed. To protect any healthy person against *M. tuberculosis* infection the presence of CD4⁺ memory T cells in blood, which are capable of producing IFN- γ in response to pathogen cell wall antigens, is necessary. The number of these cells in the blood of the HCWs was estimated in depending on his work experience with patients. The lowest level of CD4⁺ (IFN- γ)⁺ activated T-cells in the blood of employees for 5–7 years of work can be a prognostic factor of low resistance to tuberculosis.

Keywords: human peripheral blood, health care workers, CD4⁺ T memory cell, prolonged and persisted contact with mycobacterium tuberculosis