

УДК 576.31

АНАЛИЗ РЕАКЦИИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ НА ДЛИТЕЛЬНЫЙ КОНТАКТ С БОЛЬНЫМИ ТУБЕРКУЛЁЗОМ

И. С. Литвинов, Д. А. Долгих*

Представлено академиком РАН М.П. Кирпичниковым 19.10.2018 г.

Поступило 19.10.2018 г.

Длительный контакт здорового человека с *Mycobacterium tuberculosis* меняет его формулу крови и клеточный иммунный статус, что отражает реакцию организма на воздействие постоянной антигенной нагрузки. Анализ изменений в крови медперсонала туберкулёзных клиник указывает на участие тех популяций клеток, которые предотвращают развитие болезни, в частности, CD4⁺ Т-клеток и активированных CD3⁺ Т-клеток, прямо связанных с защитой организма от туберкулёза. Проведена оценка зависимости количества специфичных к антигенам *M. tuberculosis* CD4⁺ Т-клеток памяти, продуцирующих интерферон-гамма, от стажа работы с больными. Обсуждается использование показателей крови медперсонала в качестве контроля для хронических больных туберкулёзом.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, медперсонал, туберкулёзные клиники, иммунный статус, Т-клетки.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524883342-344>

В изучении защиты человека от *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) принято сравнивать больных со здоровыми людьми, которые никогда долго не контактировали с возбудителем болезни [1]. Такое сравнение показывает отличие больного человека от здорового, но не позволяет понять, почему один из них болеет, а другой — нет. (Опыты по заражению людей *M. tuberculosis* в цивилизованных странах невозможны по этическим соображениям.) Целью данной работы является изучение реакций организма здоровых людей на длительный контакт с возбудителем туберкулёза через больных этой инфекцией. Изучены изменения в крови медперсонала в зависимости от стажа их работы с возбудителем туберкулёза. В крови медперсонала было также проанализировано число специфичных к антигенам *M. tuberculosis* CD4⁺ Т-клеток памяти, продуцирующих интерферон-гамма (CD4⁺(IFN-γ)⁺ Т-КП), которые являются ключевым звеном в защите человека от болезни, в зависимости от их стажа работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были выбраны 97 человек медперсонала в возрасте от 22 до 85 лет и среди них не было больных туберкулёзом. В контрольной группе были 27 человек в возрасте от 23 до 75 лет обоего пола, в семье которых нет больных туберкулёзом. Клеточный иммунный статус (КИС) и оценку числа CD4⁺(IFN-γ)⁺ Т-КП проводили на проточном цитофлуориметре

EPICS XL MCL (“Beckman-Coulter”, США). Обработку данных проводили в программе “WinMDI®”. Общий анализ крови (ОАК) определяли на анализаторе ACT 5 DIFF “Beckman-Coulter” (США). В качестве антигена использовался препарат PPD компонентов бактериальной стенки *M. tuberculosis*. Ответ на PPD оценивали по числу CD4⁺(IFN-γ)⁺ Т-КП после их культивации 18 часов с 10 мкг PPD во влажной атмосфере с 5% CO₂ при 37°С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения ОАК и КИС медперсонала (табл. 1, 2) были в границах нормы даже после его контактов с *M. tuberculosis*. О направлении реакции в организме медперсонала в ответ на условия труда судили по частотам отклонения показателей ОАК и КИС от верхней и нижней границ нормы. Наибольшие частоты отклонений от верхней границы нормы были для лимфоцитов, моноцитов, CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ Т-клеток и активированных Т-клеток. Многие считают именно эти клетки ключевым звеном защиты людей от туберкулёза [2, 3]. (Для больных туберкулёзом чаще отмечается лимфопения.) Обратимость этих изменений медперсонала неизвестна и будет предметом дальнейших исследований. Эти данные имеют и прикладное значение — определены “границы нормы” для медперсонала. Отклонения от них важны при ежегодном медицинском осмотре сотрудника. Вопрос об адекватном контроле для больных с туберкулёзом был в числе задач работы. Заражение людей *M. tuberculosis* происходит in vivo воздушно-капельным путем от больных. Тем же путём

Институт биоорганической химии им. М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова Российской Академии наук, Москва

*E-mail: dolgikh@nmr.ru

Таблица 1. Общий анализ крови медперсонала

Популяция клеток	Средние значения параметра	Минимальное–максимальное значения	Частота отклонений ниже и выше нормы, %
Лейкоциты	6,94 ± 1,63	4,8–9,5	Нет; 5,1
Моноциты	0,48 ± 0,13	0,22–0,73	Нет; 20,9
Лимфоциты	2,53 ± 0,59	1,00–4,27	2,3; 18,6
Нейтрофилы	3,5 ± 0,86	1,76–5,62	2,3; 4,7
Эозинофилы	0,17–0,06	0,05–0,34	Нет; 2,3

Примечание. Для 10³ клеток в 1 мкл крови

Таблица 2. Клеточный иммунный статус медперсонала

Популяция клеток	Средние значения параметров для 10 ³ клеток в 1 мкл крови	Минимальное–максимальное значения	Частота отклонения ниже и выше нормы, %
CD19 ⁺ В-клетки	268 ± 88	77–604	2,3; 14
CD3 ⁺ Т-клетки	1963 ± 476	1046–3363	Нет; 20,9
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Т-клетки	1295 ± 332	660–2136	2,3; 18,6
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Т-клетки	637 ± 196	313–1393	9,5; 14,3
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺ НК-клетки	226 ± 82	53–515	9,3; 2,3
CD3 ⁺ (CD16 + CD56) ⁺ Т-НК	73 ± 41	5–237	2,5; 21
CD3 ⁺ CD25 ⁺ Т-клетки	75 ± 44	11–205	Нет; 30,8
CD3 ⁺ (HLA-DR) ⁺ Т-клетки	52 ± 29	6–205	2,3; 9,5

Примечание. Для 10³ клеток в 1 мкл крови

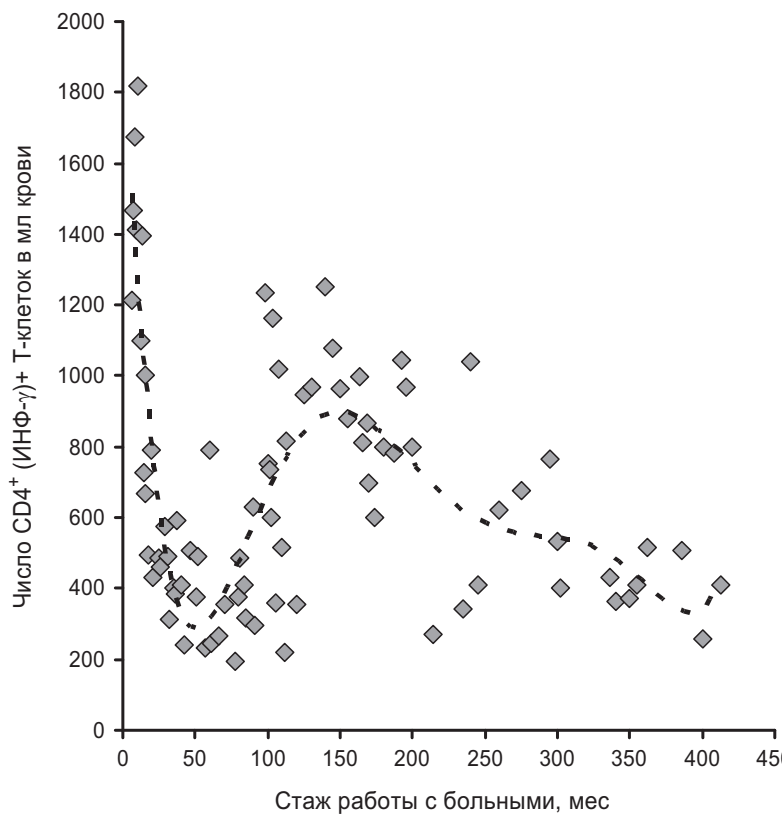


Рис. 1. Содержание CD4⁺(ИФН-γ)⁺ Т-клеток памяти в крови медперсонала в зависимости от стажа работы с инфекцией. По оси абсцисс указана продолжительность работы с инфекцией в месяцах. По оси ординат указано число CD4⁺(ИФН-γ)⁺ Т-клеток памяти в одном мл крови медперсонала. Штриховой линией приведено усреднение параметров числа CD4⁺(ИФН-γ)⁺ Т-клеток памяти от стажа работы с инфекцией полиномом $n = 8$.

возбудитель проникает и в организм медперсонала. Возможно, заболевание связано с разной реакцией организма на возбудитель инфекции. Следовательно, данные медперсонала могут служить контролем для больных туберкулёзом. Насколько это верно, покажут последующие исследования.

Защита людей от туберкулёза связана с $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП [4]. Оценка их числа проведена в зависимости от стажа работы медперсонала (рис. 1). Рост числа $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП со стажем работы с больными был наиболее предсказуемым результатом до начала работы. Однако данные на рисунке не имеют ничего общего с прогнозами клонально-селекционной теории Бернетта (КСТБ) [5]. Резкий рост числа $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП в периферической крови медперсонала был только в самом начале работы с больными и объясняется интенсивной пролиферацией этих клеток. Этот рост сменялся резким падением числа $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП и появлением минимума на рисунке, который приходится на пятый-седьмой годы работы с больными туберкулёзом. Причиной этого может быть отбор $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП к наиболее “протективным” антигенам и гибель всех остальных. После семи лет

работы неожиданно вновь отмечается очень резкий рост числа $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП до локального максимума числа этих клеток и далее наблюдается только плавное снижение их числа с неизбежными колебаниями. Причиной этого может быть ещё одна дифференцировка $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП. Подобное поведение $CD4^+(IFN-\gamma)^+$ Т-КП никогда ранее не было описано и представляет интерес для дальнейшего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *van Crevel R., Ottenhoff T.H.M., van der Meer J.W.M.* // Clin. Microbiol. Rev. 2002. V. 15. № 2. P. 294–315.
2. *Muller I., Cobbold S.P., Waldmann H., Kaufmann S.H.* // Infect. Imm. 1987. V. 55. P. 2037–2041.
3. *Grotzke J.E., Lewinson D.M.* // Microb. Infect. 2005. V. 7. № 4. P. 776–788.
4. *Lazarevic V., Flynn J.* // Amer. J. Respir. Crit. Care Med. 2002. V. 166. № 8. P. 1116–1121.
5. *Kaufmann S.H.* // Pros. Nat. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 2272–2277.
6. *Burnet F.M.* The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1959. IX + 209 p.

AN ANALYSIS OF ADAPTIVE REACTIONS IN HEALTHY SUBJECTS WHO HAVE PROLONGED CONTACT WITH TUBERCULOSIS PATIENTS

I. S. Litvinov, D. A. Dolgikh

*Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Presented by Academician of the RAS M.P. Kirpichnikov October 19, 2018

Received October 19, 2018

Prolonged contact of healthy subjects with *Mycobacterium tuberculosis* can change their blood formula and immune status, thus reflecting adaptive reactions to constant antigenic load. The peripheral blood analysis of health care workers (HCWs) in a tuberculosis hospital demonstrates changes in cell populations which prevent development of tuberculosis, in particular, $CD4^+$ T cells and $CD3^+$ T cells. It is shown that the number of the memory $CD4^+$ T cells specific to *M.tuberculosis* antigens which produce interferon gamma depends on the duration of work contact with tuberculosis patients. The HCWs blood characteristics usage as a control for tuberculosis patients is discussed.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, health care workers, tuberculosis hospitals, immune status, T cells.