

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОТИПА И ФЕНОТИПА *HOMO SAPIENS* КАК ОДНА ИЗ ПРИЧИН ОГРАНИЧЕНИЯ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Колесников О.Л.¹, Долгушин И.И.¹, Селянина Г.А.²,
Колесникова А.А.¹

¹ НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии

² ОАО «Санаторий Урал»

Резюме. Показано наличие значительной генотипической и фенотипической изменчивости у вида *Homo sapiens*. На примере данных зарубежной литературы продемонстрированы различия в референтных значениях содержания в крови субпопуляций лимфоцитов у лиц различных рас. В результате показатели, нормальные для одной популяции, могут быть как ненормально высокими, так и ненормально низкими для другой популяции. Путем сравнения собственных данных с иммунологическими нормативами для Российской Федерации показаны различия для различных регионов. Предлагается разработка и реализация общероссийской программы по отработке нормативных показателей для различных регионов России и различных возрастных групп.

Ключевые слова: полиморфизм, нормативные показатели, субпопуляции лимфоцитов

Kolesnikov O.L.¹, Dolgushin I.I.¹, Selyanina G.A.², Kolesnikova A.A.¹

POLYMORPHISM OF *HOMO SAPIENS* GENOTYPE AND PHENOTYPE AS ONE OF THE CAUSES OF LIMITATION OF LABORATORY IMMUNOLOGICAL DIAGNOSIS

Abstract. Presence of significant genotypic and phenotypic variability in *Homo sapiens* species has been shown. According to the findings published in the world literature there were demonstrated differences in the referent meanings of blood lymphocyte content in persons of different races. As a result values considered normal for one population might be found abnormally high as well as abnormally low for another population. By means of comparing our own findings with immunological standards for the Russian Federation there were shown differences specific for various regions. It has been suggested to develop and implement a countrywide program to identify the values corresponding to the norm for different regions of Russia and different age groups. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 2-3, pp 359-362)

Вид *Homo sapiens* обладает ярко выраженным генетическим и фенотипическим полиморфизмом. Еще в 1964 году эксперты Юнеско указывали, что не существует чистой расы в смысле

Адрес для переписки:

Колесников Олег Леонидович,
зав. кафедрой медицинской биологии и генетики,
Медицинская академия,
ул. Воровского, 64, г. Челябинск, 454092, Россия.
Тел.: (351) 232-73-60.
Факс: (351) 232-73-69.
E-mail: niimmun@mail.ru

генетически однородной популяции. В каждой человеческой популяции наблюдается широкое многообразие наследственных свойств. При этом различия между особями одной и той же расы или одной и той же популяции часто бывают больше, чем различия в средних величинах между расами или популяциями [5]. Основой полиморфизма является мутационный процесс, а частота спонтанных мутаций составляет 10^{-5} - 10^{-6} на один локус в гамете [1]. Исследования обнаружили, что не менее 25% всех локусов человека являются полиморфными, и для некоторых из них опре-

делены сотни вариантов [5]. Очень высок полиморфизм системы HLA: для гена HLA A известно 60 вариантов, а HLA B – 136 вариантов [6]. Благодаря тысячам исследований в различных регионах Земли на сегодняшний день понятно, что различные расы обладают особым генофондом, что проявляется в определенной частоте встречаемости групп крови, генов системы HLA и т.д. Однако каждая популяция даже внутри одной расы обладает собственными особенностями генофонда, что обусловлено условиями формирования, степенью изоляции, источником мигрантов и множеством других причин [9].

Естественным результатом генетического полиморфизма является полиморфизм фенотипический. Фенотип есть результат реализации определенного генотипа в конкретных условиях внешней среды. Таким образом, на формирование фенотипа влияют климат, особенности питания, условия развития организма, перенесенные заболевания, характер распространенных вокруг человека инфекционных и паразитарных заболеваний, интенсивность антропогенного загрязнения, характер взаимодействия различных генов и т.д. Изучаемые клиническими иммунологами показатели отражают именно фенотипические характеристики организма человека и поэтому иммунологические параметры неизбежно должны иметь весьма широкие пределы нормы реакции, которые могут быть различными для разных популяций. Для иллюстрации этой точки зрения рассмотрим референтные пределы содержания в периферической крови людей из разных популяций лимфоцитов с различными поверхностными антигенами (табл. 1). Все авторы использовали проточную цитометрию, а референтные границы отражают 95% всех переменных. Как видно, вы-

раженная вариабельность характерна практически для всех показателей. Так, если верхняя граница содержания CD3⁺-лимфоцитов изменяется от 84 до 88%, то нижний уровень нормы более изменчив: 44-61%. Минимальный уровень CD8⁺-клеток колеблется от 11,55 до 26,2%. Размах нормальных колебаний содержания HLA-DR⁺-лимфоцитов варьирует от 8,4 до 35%. Таким образом, показатели, нормальные для одной популяции, могут быть как ненормально высокими, так и ненормально низкими для другой популяции.

Целью настоящей работы явилось изучение вариабельности иммунологических показателей для жителей различных регионов России. Нами обследовано 145 практически здоровых жителей Челябинской области (67 женщин и 78 мужчин) первого и второго зрелого возраста. Фенотипирование лимфоцитов проводили по методу [4]. Нижняя граница нормы представлена 2,5% процентилем, верхняя граница нормы представлена 97,5% процентилем. Наши данные сравнивали с нормами, которые приведены Кетлинским С.А. и соавт. [2] и Земсковым А.М. [3] (табл. 2).

Анализ приведенных в таблице данных свидетельствует, что расхождения, и часто весьма значительные, наблюдаются практически по всем показателям. Указанная ситуация может быть связана как с реальным полиморфизмом иммунологических параметров, так и с массой других факторов: различными методами диагностики, используемыми реактивами, подходом к подбору исследуемого контингента, размером выборки, расчетом минимальных и максимальных показателей.

Референтные интервалы должны быть установлены для всех новых или модифицированных клинических лабораторных тестов. Это необхо-

ТАБЛИЦА 1. РЕФЕРЕНТНЫЕ РАНГИ СОДЕРЖАНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Показатель	Швейцария [8]	Эфиопия [14]	Китай [10]	США [12]	Япония [13]
CD3 ⁺ (%)	54,90-84,03		54,8-83,0	61-85	44-88
CD3 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,536-1,787	0,854-2,556	0,672-2,368		0,968-2,218
CD4 ⁺ (%)	32,53-62,88		25,4-54,6	28-58	24-38
CD4 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,309-1,139	0,366-1,235	0,330-1,508		0,355-1,327
CD8 ⁺ (%)	11,55-38,60		26,2-56,8	19-48	22-46
CD8 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,137-0,823	0,311-1,618	0,420-1,358		0,289-1,301
CD4 ⁺ /CD8 ⁺		0,4-2,4	0,5-1,8		0,5-1,7
CD19 ⁺ (%)	4,63-21,00		5,1-20,8	7-23	4-28
CD19 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,066-0,529	0,051-0,419	0,082-0,560		0,008-0,752
NK (%)	5,35-30,93		7,1-38,0	6-29	
NK (x 10 ⁹ /л)	0,077-0,427	0,075-0,581	0,130-0,938		
HLA-DR ⁺ (%)	1,25-9,68		25,0-60,7		
HLA-DR ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,018-0,186		0,364-1,642		

Примечание: референтный интервал для японцев рассчитан как средняя ± 2 стандартных отклонения. NK определялись как CD16⁺/CD56⁺ клетки. В скобках указан литературный источник, по данным которого заполнен соответствующий столбец таблицы.

ТАБЛИЦА 2. НОРМАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ ДЛЯ ЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ

Показатель	Челябинская область	Нормы [2]	Нормы [3]
CD3 ⁺ (%)	35,0-80,0	50 -76	57-70
CD3 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,44-1,16	0,8-1,216	1,33-1,58
CD4 ⁺ (%)	18,0-56,0	31-46	35-48
CD4 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,19-1,012	0,5-0,9	0,42-0,76
CD8 ⁺ (%)	12,0-42,0	26-40	23-36
CD8 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,13-0,86	0,416-0,640	0,3-0,9
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0,59-2,4		1,1-1,5
CD10 ⁺ (%)	2,0-26,0		
CD10 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,02-0,48		
CD11 ⁺ (%)	8,0-44,0		
CD11 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,74		
CD16 ⁺ (%)	6,0-38,0	9-16	8,1-18
CD16 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,71	0,17-0,4	0,16-0,36
CD20 ⁺ (%)	6,0-35,0	11-16	6-20
CD20 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,598	0,2-0,4	0,12-0,32
CD25 ⁺ (%)	4,0-30,0	13-24	0,1-0,7
CD25 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,05-0,52	0,208-0,576	0,01-0,08
CD34 ⁺ (%)	2,0-21,0		
CD34 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,02-0,36		
CD56 ⁺ (%)	5,0-23,0		
CD56 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,44		
CD95 ⁺ (%)	7,0-28,0	5,0-7,0	8,2-17,0
CD95 ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,46	0,09-0,112	0,2-0,3
HLA-DR ⁺ (%)	6,0-36,0	19-30	?
HLA-DR ⁺ (x 10 ⁹ /л)	0,06-0,56	0,34-0,72	?

Примечание: в первом столбце приведены собственные данные авторов, второй и третий столбцы заполнены по данным литературных источников, номера которых указаны в скобках.

димо для качественной работы врачей любых специальностей, для эффективного разделения состояний «норма» и «ненорма». На первый взгляд эта задача является достаточно простой. Однако по мнению Wenson E.S. (1972), подобная работа является одной из трудно решаемых и сложных задач, что ограничивает полезность и пригодность клинических лабораторных данных [7]. К сожалению, сегодня многие иммунологи применяют нормы, полученные в рамках конкретной лаборатории (без учета размеров выборки, возраста пациентов и т.д.) либо пользуются опубликованными данными для других регионов.

В связи с вышеизложенным представляется целесообразным разработать под эгидой иммунологического сообщества и реализация общероссийской программы по отработке нормативных показателей для различных регионов России и различных возрастных групп.

В рамках подобной работы необходимо решить следующие вопросы: 1) провести отбор оптимального набора иммунологических параметров, которые максимально интересны для клиницистов; 2) оценить размер изучаемой выборки, т.к. различные авторы предлагают мини-

мальное количество обследуемых в 30, 120, 200 человек [11]; 3) дать рекомендации по отбору обследуемых, возрастному и половому составу изучаемой выборки; 4) предложить единый подход к определению минимального и максимального уровня (95% или 90% от выборки, либо $M \pm 2\delta$); 5) рассмотреть вопрос о характере используемых реактивов и т.д.

Проведение подобной работы позволит клиническим иммунологам более качественно оценивать результаты лабораторных тестов и будет способствовать адекватной диагностике, и, соответственно, адекватной терапии заболеваний, связанных с поражениями иммунной системы.

Список литературы

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика. — М.: Медицина, 1997. — 288 с.
2. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Иммунология для врача. — СПб.: Гиппократ, 1998. — 156 с.
3. Клиническая иммунология: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.М. Земскова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 320 с.

4. Сибиряк С.В., Юсупов Р.Ш., Курчатова Н.Н. Иммунофенотипирование лимфоцитов в клинической практике: Краткое методическое руководство. – Уфа, 1997. – 24 с.
5. Хрисанфова Е.Н., Перевозчиков И.В. Антропология. – М.: Издательство Московского университета: Наука, 2005. – 400 с.
6. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 606 с.
7. Benson E.S. The concept of the normal range // *Human Pathol.* – 1972. – Vol. 3. – P. 152-157.
8. Bisset L.R., Lung T.L., Kaelin M., Ludwig E., Dubs R.W. Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland // *Eur. J. Haematol.* – 2004. – Vol. 72. – P. 203-212.
9. Chen J.J., Hollenbach J.A., Trachtenberg E.A. Hardy-Weinberg testing for HLA class II (DRB1, DQA1, DQB1, and DPB1) loci in 26 human ethnic groups // *Tissue Antigens.* – 1999. – N 54. – P. 533-542.
10. Kam K.M., Leung W.L., Kwok M.Y., Hung M.Y., Lee S.S., Mak W.P. Lymphocyte Subpopulation Reference Ranges for Monitoring Human Immunodeficiency Virus-Infected Chinese Adults // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 1996. – Vol. 3, N 3. – P. 326-330.
11. Lou J.A., Mitchell L.C., Moeschberger M.L., Sutherland D.E. Estimation of Reference Ranges: How Many Subjects are Needed? // *Clinical Chemistry.* – 1992. – Vol. 38, N 5. – P. 648-650.
12. Reichert T., DeBruyere M., Deneys V., Totterman T. et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasians // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1991. – Vol. 60, N 2. – P. 190-208.
13. Senju M., Makiyama K., Hara K., Hulstaert F., Lowder J.N., Jewell D.P. Two-color Immunofluorescence and Flow Cytometric Analysis of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Caucasian and Japanese Healthy Subjects // *Jpn. J. Med.* – 1991. – Vol. 30, N 6. – P. 509-515.
14. Tsegaye A., Messele T., Tilahun T., Hailu E., Sahlu T., Doorly R., Fontanet A.L., Rinke de Wit T.F. Immunohematological Reference Ranges for Adult Ethiopians // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 1999. – Vol. 6, N 3. – P. 410-414.