

**Anna Kędzierska, Danuta Gieracka-Paźucha, Joanna Flaszka,
Gabriel Turowski**

Antygeny HLA klasy I w postaci rozpuszczalnej (s-HLA-I) w populacji osób zdrowych. I. sHLA antygenów warunkowanych przez locus A

Class I HLA antigens in soluble form (s-HLA-I) in the serum of healthy individuals. Population study. I. sHLA antigens determined by A locus

Samodzielna Pracownia Immunologii Klinicznej CM UJ w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. G. Turowski

W grupie 248 niespokrewnionych, zdrowych osób rutynowo typowano antygeny HLA klasy I. Rozpuszczalne cząsteczki HLA (sHLA) w surowicach badanych osób określano w półilościowym teście mikroabsorpcji według McLean i wsp. (1983). Poziom sHLA wyrażano jako sumę punktów w zahamowaniu reakcji cytotoksycznej oraz w przeliczeniu na 1 μ l badanej surowicy. sHLA oznaczano dla 13 antygenów warunkowanych przez locus HLA-A, tj. A1, A2, A3, A11, A23, A24, A25, A26, A29, A30, A31, A32 oraz A68 w 446 próbkach surowic. Dla 12 analizowanych swoistości stwierdzono wysoki poziom sHLA w granicach 66–100% badanych surowic, z wyjątkiem antygeny HLA- A26. W surowicach osób o fenotypach HLA - A24, A32 i A68 wykazano ~100% zahamowania reakcji cytotoksycznej. Poziom sHLA w 1 μ l surowicy dla tych swoistości wynosił odpowiednio: 29.74 ± 15.28 , 22.54 ± 11.71 i 28.49 ± 15.87 .

HLA class I antigens in 248 unrelated, healthy individuals were routinely typed. Soluble HLA molecules (sHLA) in sera of these persons were determined by semi- quantitative methods according to McLean et al. (1983). The level of sHLA was expressed by the sum of scores for inhibition of cytotoxic reactions and by calculation of sHLA concentration per 1 μ l of examined sera. 13 of HLA antigens in soluble form determined by A locus e.g. A1, A2, A3, A11, A23, A24, A25, A26, A29, A30, A31, A32 and A68 in 446 samples of sera were measured. For 12 specificities the high levels of sHLA in the range 66–100 percentage of cases were observed, except for HLA- A26. In all cases sHLA- A24, A32 and A68 in very high levels were found. For these antigens the concentration of sHLA/1 μ l serum was also

very high and the mean values were as follows: 29.74 ± 15.28 , 22.54 ± 11.71 and 28.49 ± 15.87 respectively.

Badania nad polimorficznym układem zgodności tkankowej człowieka – HLA mają swą długą historię. Na przestrzeni lat obejmowały one wiele zagadnień związanych z dziedziczeniem, z częstością występowania fenotypów, genów i haplotypów w różnych populacjach świata a także genetyczną współzależność w predyspozycji ujawniania się niektórych chorób. Niezwykle interesującymi okazały się opracowania dotyczące udziału cząstek HLA w mechanizmach regulacyjnych w układzie odpornościowym (2, 17, 18, 19, 21, 23).

Istotną rolę w procesach życiowych organizmów zdają się odgrywać również cząsteczki HLA klasy I w postaci rozpuszczalnej s-HLA-I. W prowadzonych badaniach wykazano, że polimorficzne cząsteczki sHLA stwierdzone w pełnej krwi i w osoczu są podobne do antygenów HLA związanych błonowo z komórkami tkanek i narządów. Cząsteczki sHLA posiadają tę samą podstawową strukturę oraz mają zdolność wiązania przeciwciał anty-HLA (3, 6, 12, 13).

Pomiaru sHLA dokonuje się za pomocą testu immunologicznego przy użyciu monoklonalnych przeciwciał anty HLA głównie przeciwciała oznaczonego symbolem W6/32 dla swoistości A1, A2, B5, B7. Brak jest natomiast opracowań w naszej populacji poziomu sHLA w surowicach krwi osób zdrowych dla poszczególnych antygenów HLA klasy I określonych za pomocą zahamowania reakcji cytotoksycznej (4, 8, 14, 22). Wypełnienie tej luki w naszych warunkach było możliwe, bowiem dysponowanie swoistymi, poliklonalnymi surowicami anty HLA niezbędnymi w tej procedurze a także zbiór surowic od osób z określonymi fenotypami HLA pozwalał na oznaczenie s-HLA-I w badaniach populacyjnych osób z rejonu Polski południowej.

MATERIAŁ I METODYKA

A. Populacja osób zdrowych

Badaniem objęto surowice pochodzące od 248 niespokrewnionych, „zdrowych” osób obojga płci, w przedziale wieku od 20 – 55 lat. Osoby te, w przeważającej większości pochodziły z regionu południowo-wschodniej Polski. U tych osób w Zakładzie Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie prowadzono oznaczenia serologiczne w sprawach spornego ojcostwa. Kryterium zdrowia badanych oparte było na nie zgłaszaniu dolegliwości chorobowych. Z pobranej krwi żyłnej wyosabniano limfocyty do typowania antygenów zgodności tkankowej a oddzielona surowica służyła do oznaczeń s-HLA-I dla obecnych w fenotypach swoistości. Surowice przechowywano w stanie zamrożenia w temperaturze -20°C .

B. Typowanie antygenów HLA klasy I

Fenotypy HLA-ABC określano rutynowo w dwustopniowym mikrocytotoksycznym teście według Terasaki i McClellanda (16) w modyfikacji zespołu NIH (10, 11).

Typowaniem objęto 13 swoistości HLA-A, 23 swoistości locus B oraz dwuallelicznego układu Bw4/Bw6 a także 7 swoistości locus HLA-C.

Do oznaczeń stosowano kilka różnych serii surowic anty HLA dla każdej swoistości. Pochodziły one z Banku Surowic NIAD, NIH w Bethesda, z firm handlowych oraz ze zbiorów Pracowni Immunologii Klinicznej Wydz. Lek. CM UJ (7).

C. Oznaczanie antygenów HLA klasy I w postaci rozpuszczalnej

Poziom s-HLA-I w surowicach 248 badanych osób, jako źródle rozpuszczalnego materiału antygenowego, określano w półilościowym teście mikroabsorpcji w zahamowaniu reakcji limfocytotoksycznej według Tait i wsp. (15) oraz McLean i wsp. (9) w następującej modyfikacji własnej (1). Do każdego 1 μ l surowicy anty HLA o odpowiedniej swoistości zgodnej z fenotypem osoby badanej oraz ustalonym mianie, dodawano różne ilości surowicy osoby zdrowej, tj. 0,5, 0,75 i 1 μ l. Po 3 godzinnej inkubacji w temperaturze 20–22°C dodawano zawiesinę limfocytów o odpowiednim fenotypie i dalej postępowano jak w dwustopniowym teście mikrocytotoksycznym w typowaniu tkankowym według NIH. Kontrolny układ reagujący składał się z 1 μ l odpowiedniej surowicy anty HLA i 1 μ l 3% albuminy ludzkiej (HSA), przy sile reakcji cytotoksycznej 8 punktów według skali przyjętej przez NIH.

Zahamowanie reakcji cytotoksycznej, świadczące o obecności antygeny w postaci rozpuszczalnej (sHLA), wyrażano w punktach od 1–8 z wartościami pośrednimi. Niskie wartości punktów wskazywały, że przeciwciała anty HLA zostały wyabsorbowane. Przy braku zahamowania reakcji cytotoksycznej wartości punktów były wysokie a ich suma (Σ) dla trzech rozcieńczeń badanej surowicy wynosiła ~ 24 punkty.

Przyjęto cztery zakresy zahamowania reakcji cytotoksycznej, tj.: a/ o bardzo dużym stężeniu sHLA (1–5 pkt.), b/ dużym (6–10 pkt.), c/ średnim (11–15 pkt.) oraz d/ dla bardzo niskich wartości sHLA (16–24 pkt.).

Na podstawie sumy zahamowania reakcji cytotoksycznej poszczególnych rozcieńczeń wyliczano wartość względną A według wzoru: $A = 1/\Sigma_i \dots 100$. Wartość A podzielona przez 2,25 (liczba wyrażająca ilość użytej do testu surowicy osoby badanej) umożliwiła podanie stężenia materiału antygenowego w postaci rozpuszczalnej w 1 μ l surowicy (P). Na całkowity brak sHLA wskazuje wyliczona wartość $P = 1,85$.

Wyniki zahamowania reakcji cytotoksycznej dla poszczególnych antygenów HLA klasy I wyrażano w wartościach średnich z odchyleniem standardowym dla sumy punktów i wartości względnej A oraz P. Znamienność różnic dla częstości występowania antygenów HLA – A określano w teście χ^2 .

WYNIKI I OMÓWIENIE

W niniejszym opracowaniu rozpatrywano jedynie sHLA następujących swoistości warunkowanych przez locus HLA – A: A1, A2, A3, A11, A23(9), A24(9), A25(10), A26(10), A29(19), A30(19), A31(19), A32(19) oraz A68(28). Dla cząstkowych swoistości HLA–A wchodzących w skład swoistości HLA – A9, A10 i A19 podano również wyniki łącznie.

W tabeli I zestawiono częstości fenotypów (f) dla poszczególnych antygenów HLA locus A u 248 badanych osób zdrowych. Gdy uzyskane wartości f porównano

z uprzednio opublikowanymi danymi dla 1152 osobowej populacji polskiej (20) stwierdzono, iż częstość występowania poszczególnych antygenów warunkowanych przez locus HLA – A nie różniła się istotnie. Brak różnic wskazywał, że przebadana grupa 248 osób nie była, w tym zakresie, populacją wyselekcjonowaną.

Tabela I. Częstości fenotypów (f) antygenów HLA-A badanych osób zdrowych.
Table I. HLA-A phenotype frequencies (f) in 248 examined healthy individuals.

Antygen Antigen	N	f
A1	61	24,5968
A2	131	52,8226
A3	78	31,4516
A9	53	21,3710
A23(9)	13	5,2419
A24(9)	40	16,1290
A10	48	19,3548
A25(10)	20	8,0645
A26(10)	28	11,2903
A11	25	10,0806
A19	35	14,1129
A29(19)	3	1,2097
A30(19)	6	2,4194
A31(19)	9	3,6290
A32(19)	17	6,8548
A68(28)	15	6,0484
Ax	19	

W tabelach II – IV dla wydzielonych „rodzin” antygenów HLA locus A oraz HLA – A2 podano liczbę osób, u których w fenotypie stwierdzono badany antygen oraz zakresy zahamowania reakcji cytotoksycznej z liczbą i wartościami odsetkowymi dla częstości stężeń sHLA. Poziom sHLA wyrażano jako sumę punktów zahamowania reakcji cytotoksycznej i jej odwrotności (A) a także w przeliczeniu na 1 μ l badanej surowicy.

U 3 spośród 13 przebadanych swoistości HLA–A, tj. A24, A32(19) i A68(28) obserwowano zahamowanie reakcji cytotoksycznej w zakresie 94–100 %. Suma punktów wynosiła odpowiednio 2,13 (\pm 1,36), 2,43 (\pm 1,09) i 2,27 (\pm 1,43). Pochodne tych wartości wskazywały na duże stężenia sHLA w badanych surowicach krwi (tabele II i III).

W grupie antygenów HLA – A1, A3, A11 rozkład stężeń sHLA – A1 i sHLA – A3 był zbliżony w zakresie „a” i „b” wynosił odpowiednio 81,97% i 88,46% badanych zaś względna wartość A była zbliżona i wynosiła odpowiednio 34,99 (\pm 19,31) i 31,15 (\pm 18,04).

Najliczniejsza grupa badanych surowic (n=131) dotyczyła swoistości HLA–A2. Duże stężenie sHLA–A2 (zakresy „a” i „b”) stwierdzono w 96 surowicach (73,28%) przy średniej wartości A=40,94(\pm 27,09) oraz 13,07(\pm 2,37). Średnie stężenia materiału rozpuszczalnego w zakresie „c” obserwowano u 25 osób (19,08%). U 10 osób (7,64%) wykazano bardzo niskie stężenia sHLA dla A= 5,71 (\pm 0,43).

Tabela II. Poziomy rozpuszczalnych antygenów HLA-A1, A3, A11 oraz HLA-A2, A68(28) w surowicach osób zdrowych.

Table II. The levels of soluble HLA-A1, A3, A11 and HLA-A2, A68(28) in the serum of healthy individuals

Stężenia rozpuszczalnych antygenów HLA HLA antigens concentration											
Locus A	N	reakcja cytotoksyczna cytotoxic reaction			Σ		A		P		
		zakre- sy range	n	%	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD	
A1	61	a	20	32,79	3,45	1,28	34,99	19,31	15,55	8,58	
		b	30	49,18	7,10	1,18	14,44	2,23	6,42	0,99	
		c	11	18,03	12,00	1,55	8,45	0,97	3,75	0,43	
		d	–								
A3	78	a	26	33,33	3,62	1,17	31,15	18,04	14,36	7,61	
		b	43	55,13	7,65	1,45	13,52	2,47	6,01	1,09	
		c	9	11,54	11,89	1,27	8,49	0,83	3,77	0,37	
		d	–								
A11	25	a	16	64,0	3,44	1,31	37,29	25,70	16,57	11,42	
		b	9	36,0	6,78	1,09	15,06	2,13	6,69	0,95	
		c	–								
		d	–								
A2	131	a	48	36,64	3,31	1,50	40,94	27,09	18,19	12,04	
		b	48	36,64	7,90	1,39	13,07	2,37	5,83	1,06	
		c	25	19,08	12,56	1,55	8,07	0,96	3,59	0,43	
		d	10	7,64	17,60	1,35	5,71	0,43	2,54	0,19	
A68	15	a	15	100,0	2,27	1,43	64,11	35,70	28,49	15,87	
		b	–								
		c	–								
		d	–								

Objaśnienia;

A – względna wartość Σ punktów – relative value of score Σ

P – sHLA w 1 μl surowicy – sHLA in 1 μl of sera

N – liczba osób ze swoistością HLA – number of persons of HLA specificity

n – liczba osób w zakresach zahamowania reakcji cytotoksycznej – number of persons in the range of cytotoxic reaction

Tabela III. Poziomy rozpuszczalnych antygenów HLA-A23(9), A24(9) oraz HLA-A25(10), A26(10) w surowicach osób zdrowych.

Table III. The levels of soluble HLA-A23(9), A24(9) and HLA-A25(10), A26(10) in the serum of healthy individuals

Stężenia rozpuszczalnych antygenów HLA HLA antigens concentration										
Locus A	N	reakcja cytotoksyczna cytotoxic reaction			Σ		A		P	
		zakre- sy range	n	%	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD
A23	13	a	–							
		b	11	84,62	8,55	1,04	11,89	1,77	5,29	0,79
		c	2	15,38	11,00	0,00	9,09	0,00	4,04	0,00
		d	–							
A24	40	a	38	95,0	2,13	1,36	66,93	34,39	29,74	15,28
		b	1	2,50	7,00	0,00	14,29	0,00	6,35	0,00
		c	–							
		d	1	2,50	23	0,00	4,35	0,00	1,93	0,00
A9	53	a	38	71,70	2,13	1,36	66,93	34,39	29,74	15,28
		b	12	22,64	8,42	1,08	12,09	1,82	5,38	0,81
		c	2	3,77	11,00	0,00	9,09	0,00	4,04	0,00
		d	1	1,89	23,00	0,00	4,35	0,00	1,93	0,00
A25	20	a	9	45,0	3,44	0,88	30,92	8,74	13,74	3,89
		b	10	50,0	7,90	1,52	13,09	2,52	5,82	1,12
		c	1	5,0	12,0	0,00	8,33	0,00	3,70	0,00
		d	–							
A26	28	a	9	32,14	3,89	1,54	34,26	26,63	15,23	11,83
		b	7	25,0	8,57	1,27	11,90	1,84	5,29	0,82
		c	7	25,0	14,29	1,11	7,04	0,61	3,13	0,27
		d	5	17,86	18,40	0,55	5,44	0,16	2,42	0,07
A10	48	a	18	37,50	3,67	1,24	32,59	19,30	14,48	8,58
		b	17	35,41	8,18	1,42	12,60	2,28	5,60	1,02
		c	8	16,67	14,00	1,31	7,20	0,73	3,20	0,32
		d	5	10,42	18,40	0,55	5,44	0,16	2,42	0,07

Objaśnienia;

A – względna wartość Σ punktów – relative value of score Σ

P – sHLA w 1 μl surowicy – sHLA in 1 μl of sera

N – liczba osób ze swoistością HLA – number of persons of HLA specificity

n – liczba osób w zakresach zahamowania reakcji cytotoksycznej – number of persons in the range of cytotoxic reaction

Tabela IV. Poziomy rozpuszczalnych antygenów HLA-A29(19), A30(19), A31(19), A32(19) w surowicach osób zdrowych.

Table IV. The levels of soluble HLA-A29(19), A30(19), A31(19), A32(19) in the serum of healthy individuals.

Stężenia rozpuszczalnych antygenów HLA HLA antigens concentration										
Locus A	N	reakcja cytotoxyczna cytotoxic reaction			Σ		A		P	
		zakre- sy range	n	%	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD	\bar{x}	± SD
A29	3	a	–							
		b	2	66,67	9,00	0,00	11,11	0,00	4,94	0,00
		c	1	33,33	12,0	0,00	8,33	0,00	3,70	0,00
		d	–							
A30	6	a	–							
		b	5	83,33	7,80	1,48	13,19	2,47	5,86	1,09
		c	–							
		d	1	16,67	18,0	0,00	5,56	0,00	2,47	0,00
A31	9	a	1	11,11	5,0	0,00	20,00	0,00	8,89	0,00
		b	6	66,67	8,0	1,55	12,91	2,56	5,74	1,14
		c	1	11,11	14,0	0,00	7,14	0,00	3,17	0,00
		d	1	11,11	17,0	0,00	5,88	0,00	2,61	0,00
A32	17	a	16	94,12	2,43	1,09	50,73	26,34	22,54	11,71
		b	1	5,88	6,0	0,00	16,67	0,00	7,41	0,00
		c	–							
		d	–							
A19	35	a	17	48,58	2,59	1,23	48,92	26,57	21,74	11,81
		b	14	40,0	7,93	1,44	13,02	2,45	5,79	1,09
		c	2	5,71	13,00	1,41	7,74	0,84	3,44	0,37
		d	2	5,71	17,50	0,71	5,72	0,23	2,54	0,09

Objaśnienia;

A – względna wartość Σ punktów – relative value of score Σ

P – sHLA w 1 μl surowicy – sHLA in 1 μl of sera

N – liczba osób ze swoistością HLA – number of persons of HLA specificity

n – liczba osób w zakresach zahamowania reakcji cytotoxycznej – number of persons in the range of cytotoxic reaction

W tabeli III zestawiono wyniki sHLA w rodzinach HLA – A9 oraz HLA – A10. Wśród 13 osób z fenotypem HLA – A23(9) 11 surowic było w zakresie wysokich wartości „b” a tylko w 2 przypadkach stwierdzono zahamowanie reakcji cytotoksycznej w zakresie „c” przy Σ punktów 11,00 i wartości względnej $A = 9,09$.

U osób ze swoistością HLA – A24(9) natomiast w 95,0% badanych surowic wykazano duże zahamowanie reakcji cytotoksycznej (zakres a). Średnia wartość A wynosiła $66,93 (\pm 34,39)$.

Dla dwóch cząstkowych swoistości HLA – A10, tj. A25 i A26 obserwowano różnicę między liczbą osób, których surowice w zahamowaniu reakcji cytotoksycznej były w zakresie „c” i „d”. Liczba i odsetek surowic był następujący: A25(10) – 1(5%), A26(10) – 12(42,86%). Większą liczbę surowic o średnim i bardzo niskim zahamowaniu reakcji cytotoksycznej (zakresy „c” i „d”) obserwowano także dla swoistości HLA–A2, których odsetek wyniósł 26,72%.

W tabeli III ponadto przedstawiono dane dla obu rodzin HLA – A9 i HLA – A10.

Poziomy rozpuszczalnych antygenów HLA – A19 przedstawiono w tabeli IV. Niewielka liczebnie grupa badanych (surowice 3, 6 i 9 osób) posiadała w swym fenotypie cząstkowe swoistości A29, A30 i A31 z wyjątkiem antygeny HLA – A32, dla którego przebadano 17 surowic. W surowicach zawierających rozpuszczalny antygen HLA–A29, A30 i A31 zahamowanie reakcji cytotoksycznej było głównie w zakresie „b” a średnie wartości względne A wynosiły odpowiednio $11,11(\pm 0,0)$, $13,19(\pm 2,47)$ oraz $12,91(\pm 2,56)$. Bardzo wysokie stężenia sHLA w surowicach wykazano natomiast dla HLA –A32 ($A = 50,73 \pm 26,34$).

Dla szerokiej swoistości HLA – A19 w 31 surowicach (88,58%) poziom sHLA był wysoki w zakresach „a” i „b” .

W roku 1989 Grosse–Wilde i Doxiadis w przeprowadzonej analizie segregacyjnej wykazali mendelowski sposób dziedziczenia cechy z różną allotypową ekspresją (5). Wydawało się przeto konieczne przeprowadzenie pomiarów poziomu sHLA wśród osób zdrowych w naszej populacji. W części I opracowania analizowano wyniki dla sHLA antygenów warunkowanych przez locus A. Wykazane w surowicach 248 osób zdrowych stężenia sHLA uzasadniają następujące stwierdzenia:

1/ u osób zdrowych stężenia rozpuszczalnego materiału antygenowego utrzymują się na wysokim poziomie,

2/ jedynie w pojedynczych przypadkach stwierdzano brak sHLA albo jego niski poziom. Można sądzić, iż wynikało to z defektu w syntezie sHLA względnie z jego „wiązania” w reakcjach w układzie odpornościowym, w istniejącym a nie ujawnionym procesie chorobowym.

PIŚMIENNICTWO

1. Batko-Flasza J., Turowski G.: Rozpuszczalne antygeny HLA– ABC w surowicy krwi. Uwagi metodyczne. *Postępy Derm.*, 1988, V, 277–284. –2. Bjorkman P.J., Parham P.: Structure, function and diversity of class I major histocompatibility complex molecules, *Ann. Rev. Biochem.*, 1990, 59, 253–288. –3. Buelow R., Burlingham W.J., Clayberger C.: Immunomodulation by soluble HLA class I, *Transplantation*, 1995, 59, 649–654. –4. Doxiadis J., Westhoff U., Grosse–Wilde

H.: Quantification of soluble HLA class I gene product by an enzyme linked immunosorbent assay, *Blut*, 1989, 59, 449–454. –5. Grosse-Wilde H., Doxiadis J.: Allotyping for HLA class I using plasma as antigen source, *J. Immunogenetics*, 1989, 16, 149–152. –6. Grumet F.C., Buelow R., Grosse-Wilde H., Kubens B., Garovoy M., Pouletty P.: Report of the Second International Soluble HLA (sHLA) Workshop, *Hum. Immunol.*, 1994, 40, 153–165. –7. Kędzierska A., Gieracka D., Turowski G.: Selekcja poliklonalnych limfocytotoksycznych surowic anty HLA-ABC, *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 1993, 43, 136–142. –8. McDonald J.C., Gelder F.B., Aultman D.F., Landreneau M.D., McMillay R.W., Singh I., Sorrells D., Liou W.H.: HLA in human serum – quantitation of class I by enzyme immunoassay, *Transplantation*, 1992, 53, 445–449. –9. McLean I.L., Adams D. D., Faed J. M., Milligan L. M.: The detection of human leucocyte antigens (HLA) in serum, *Proc. Univ. Otago Med. Sch., Dunedin N. Z.*, 1983, 61, 14–16. –10. Mittal K.: Standardization of the HLA typing method and reagents, *Vox Sang.*, 1978, 34, 58–63.

11. NIAID Manual of tissue typing techniques 1976–1977, DHEW publ. (NIH) 76–545, Sept. 1976, 22–24. –12. Pouletty P., Ferrone S., Amesland F., Cohen N., Westhoff U., Charron D., Shimizu R.M., Grosse-Wilde H.: Summary report from the first international workshop on soluble HLA antigens, Paris, 1992, *Tissue Antigens*, 1993, 42, 45–54. –13. Puppo F., Indiveri F., Scudeletti M., Ferrone S.: Soluble HLA antigens: New roles and uses, *Immunol. Today*, 1997, 18, 154–155. –14. Santoso S., Kiefel V., Volz H., Mueller-Eckhardt C.: Quantitation of soluble HLA class I antigen in human albumin and immunoglobulin preparations for intravenous use by solid-phase immunoassay, *Vox Sang*, 1992, 62, 29–33. –15. Tait B. D., Finlay R. J., Simons M. J.: Serum HLA typing, *Tissue Antigens*, 1981, 17, 129–135. –16. Terasaki P. I., MacClelland J. D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins, *Nature (London)*, 1964, 204, 998–999. –17. Thorsby E.: Invited Anniversary Review: HLA associated diseases, *Hum. Immunol.*, 1997, 53, 1–11. –18. Thorsby E., Lundin K. E. A., Ronningen K. S., Sollid L. M., Vartdal F.: Molecular basis and functional importance of some disease associated HLA polymorphisms, *Tissue Antigens*, 1989, 34, 39–49. –19. Turowski G.: Główny kompleks zgodności tkankowej, *Akademia Medyczna, Kraków*, 1991. –20. Turowski G.: Układ zgodności tkankowej człowieka HLA. I. Częstości fenotypowe i genowe antygenów HLA – ABC w polskiej populacji, *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 1992, 42, 221–224.

21. Urban R.G., Chicz R.M., Vignali D.A.A., Strominger J.L.: The dichotomy of peptide presentation by class I and II MHC proteins, *Chem. Immunol.*, 1993, 57, 197. –22. Zavazava N., Westphal E., Muller-Ruchholtz W.: Characterization of soluble HLA molecules in sweat and quantitative HLA differences in serum of healthy individuals, *J. Immunogenet.*, 1990, 17, 387–394. –23. Zinkernagel R.M., Doherty P.C.: Restriction in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogenic system, *Nature*, 1974, 248, 701–706.

Adres autorów:

Samodzielna Pracownia Immunologii Klinicznej CM UJ

31–531 Kraków

ul. Grzegorzewska 16