

## ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

Учебно-методическое пособие по общей иммунологии. Тверь 2008.

	HLA						
Класс МНС	II		III		I		
Гены	DP DP	DQ DO	DR DR	C2BfC4aTNF	B B	C C	A A
Продукты генов	DP DP	DQ DO	DR DR	C2BfC4aTNF	B B	C C	A A

Учебно-методическая разработка для практических занятий по общей иммунологии для студентов 5 курса лечебного и педиатрического факультетов, а также для клинических ординаторов и врачей, интересующихся вопросами иммунологии.

Составлена доцентом Ю.И.Будчановым.

Методическая рекомендация обсуждена и утверждена на методическом совещании кафедры клинической иммунологии с аллергологией.

Заведующий кафедрой, профессор А.А.Михайленко

Методическая рекомендация утверждена на цикловой методической комиссии ТГМА по преподаванию специальных дисциплин ТГМА 02 октября 2001 г., на ЦКМС ТГМА 26 октября 2001г.

© Будчанов Ю.И. 2008 гг.

### Мотивация

Иммуногенетика – новый, важный раздел иммунологии. Знание системы гистосовместимости необходимо не только в трансплантологии, но и в понимании регуляции иммунного ответа, так и взаимодействия клеток при иммунном ответе. Определение HLA-антигенов используется в судебной медицине, популяционно-генетических исследованиях и в изучении генетической предрасположенности к заболеваниям.

1. Студент должен знать:

А. Строение HLA-системы человека.

Б. HLA антигены I, II классов и их роль в межклеточных взаимодействиях.

В. Понятия генотипа, фенотипа, гаплотипа.

Г. Значение HLA- типирования в медицине.

Д. Взаимосвязь HLA-антигенов и ряда заболеваний человека.

2. Студент должен уметь:

Применить полученные знания по иммуногенетике в клинической практике.

Для усвоения темы необходимо повторить:

1. По биологии – законы наследственности, терминологию по генетике (ген, аллельность, гомозиготность и т.д.).
2. По иммунологии – клеточная кооперация, регуляция иммунного ответа.

#### Вопросы для самоподготовки по теме занятия:

1. Понятие о генах и антигенах гистосовместимости. HLA система человека. Номенклатура, генная организация (гены классов I, II, III).
2. Антигены классов I и III, их роль в межклеточных взаимодействиях, в представлении антигена Т-лимфоцитам, в феномене двойного распознавания.
3. Понятие HLA фенотипа, генотипа, гаплотипа. Особенности наследования.
4. Методы исследования и типирования HLA системы: серологические, клеточноопосредованные, генные (полимеразная цепная реакция, зонды ДНК).
5. Практические аспекты типирования HLA антигенов. HLA в популяциях, биологическое значение.
6. HLA и заболевания человека, механизмы ассоциации.

#### ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. – 3-е изд., М., Медицина, 2010. – 752 с. – [ с.241 - 263 ].
2. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2006. – 320с. – [с. 95 – 102].
3. Белозеров Е.С. Клиническая иммунология и аллергология. А-Ата., 1992, с. 31-34.
4. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М., 1983.
5. Методическая разработка. 6. Лекция.

#### Дополнительная литература

- Коненков В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика. Новосибирск, 1999 г.  
 Ярилин А.А. Основы иммунологии. М., 1999, с. 213-226.  
 Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. HLA и медицина. Сб. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. М., 2001, с. 240-260.



#### СМОЖЕТЕ ЛИ ВЫ ОТВЕТИТЬ?

(Впишите дома. Самоконтроль позволит выявить трудные вопросы для обсуждения. На занятии Вы проверите правильность ответов, дополните их. Постарайтесь самостоятельно найти ответы и покажите, что Вам это по силам.)

1. В какой паре хромосом локализуется главный комплекс гистосовместимости у человека? .....
2. На клетках каких органов и тканей содержатся трансплантационные антигены? .....
3. Что обозначает сокращение HLA? .....
4. На каких клетках не обнаруживаются антигены системы HLA? .....
5. Из каких локусов, сублокусов состоит ГКГС: I класс ..... II класс ..... III класс .....
6. Продукты генов какого класса ГКГС не экспрессируются на мембране клеток? .....
7. Какие клетки необходимо выделить для выявления HLA II класса? .....
8. Какими методами выявляют HLA антигены? .....
9. У типизируемого пациента выявлено 6 возможных антигенов HLA-A, HLA-B, HLA-C. Как называется такая ситуация? .....
10. Какой антиген гистосовместимости часто встречается у больных с анкилозирующим спондилитом? .....
11. Какие гены входят в HLA класса III? .....
12. Из каких цепей состоят антигены HLA класса I? .....
13. Из каких цепей состоят антигены HLA класса II? .....

14. Цитотоксический лимфоцит (CD8) распознает чужеродный пептид в комплексе с HLA какого класса?

15. Th (CD4+) распознает чужеродный антиген презентируемый дендритной клеткой или макрофагом в комплексе с HLA какого класса?

Задача.

Каковы возможные комбинации эритроцитарных антигенов у ребенка, если изоантигенный состав эритроцитов

Отца: **AO, NM, ss, dd, Cc, Ee**, а матери: **AB, MM, SS, DD, Cc, EE**.

Выберите правильный ответ.

- A. AO, MN, Ss, DD, CC, EE
- B. AA, MM, Ss, Dd, cc, ee
- C. OO, NN, Ss, Dd, CC, Ee
- D. AB, MN, Ss, Dd, cc, EE
- E. AO, NN, Ss, Dd, Cc, EE
- F. AB, MM, SS, Dd, cc, Ee

Напишите еще один правильный вариант ответа \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_. А больше можете? Сколько? .....

## Справочные и теоретические материалы

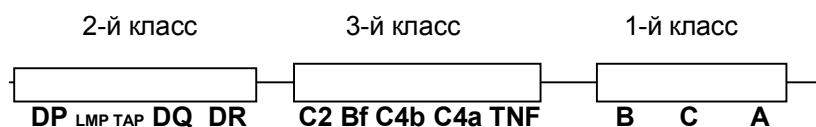
Главный комплекс гистосовместимости - **ГКГС** (англ. **MHC** – Major Histocompatibility Complex) представляет собой систему генов, контролирующую синтез антигенов, которые определяют гистосовместимость тканей при пересадках органов и индуцируют реакции, вызывающие отторжение трансплантатов. Поверхностные структуры цитомембраны клеток, индуцирующие реакции отторжения, получили название антигенов гистосовместимости, а кодирующие их гены были названы генами гистосовместимости – H-генами (Histocompatibility). Открытие антигенов гистосовместимости послужило основой развития трансплантационной иммунологии.

В последующем было доказано, что главный комплекс гистосовместимости является **основной генетической системой, определяющей функционирование иммунной системы** и, прежде всего Т-системы иммунитета. ГКГС регулирует иммунный ответ, кодирует способность распознавать «свое» и «чужое», отторгать чужеродные клетки, способность синтезировать ряд молекул иммунной системы. Он определяет предрасположенность человека к ряду болезней (диабет, злокачественные опухоли, артриты, амилоидоз, болезни сердечно-сосудистой системы, почек и др.).

Трансплантационные антигены имеются (экспрессируются) на поверхности всех ядросодержащих клеток. Но их количество в различных тканях неодинаково. У человека наибольшее их количество содержится в **лимфоидной ткани** (на лимфоцитах и макрофагах). Другие клетки органов по убывающей на них концентрации антигенов MHC располагаются в следующем порядке: печень, легкие, кишки, почки, сердце, желудок, аорта, мозг.

Совсем не обнаруживаются классические антигены системы HLA в жировой ткани и на эритроцитах, а так же на нейронах и клетках трофобласта.

### СХЕМА РАСПОЛОЖЕНИЯ ГЕНОВ СИСТЕМЫ HLA НА 6 ХРОМОСОМЕ



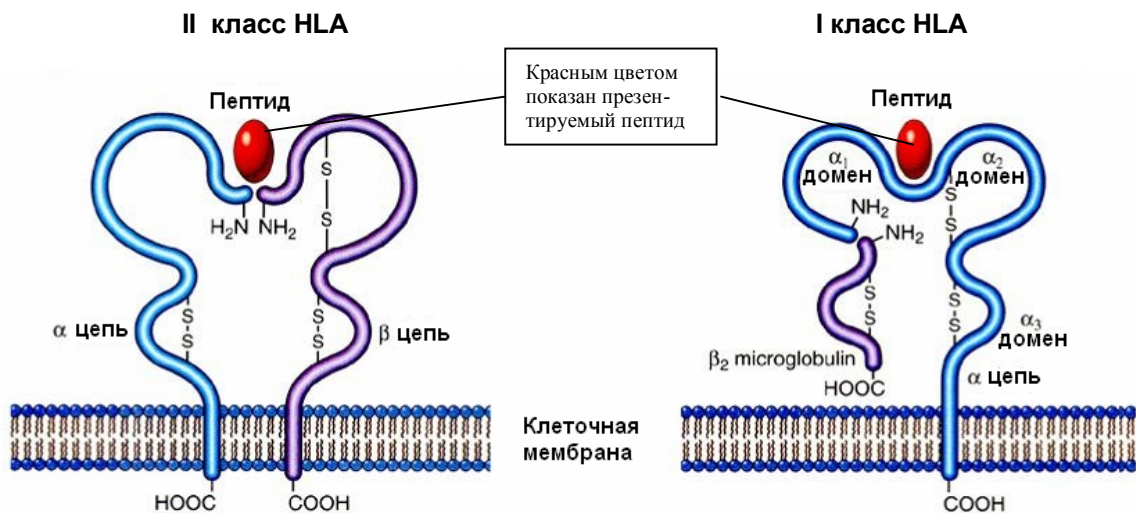
У человека главная система гистосовместимости получила название **HLA-система** (Human Leukocyte Antigens). Это система генов, контролирующая синтез антигенов гистосовместимости. Она состоит из трех регионов расположенных на коротком плече 6-й хромосомы. Эти регионы носят название: класс 1, класс 2, класс 3 (класс I, класс II, класс III). В состав региона входят гены или локусы. В названии каждого HLA-гена присутствует буквенное обозначение локуса (A, B, C) и порядковый номер, например: HLA-A3, HLA-B27, HLA-C2 и т.д. Одноименное обозначение имеют и антигены, кодируемые геном. В локусе D выявлено 3 сублокуса (DP, DQ, DR). (Смотри схему расположенную выше). В утвержденном ВОЗ списке насчитывается 138 антигенов HLA. (Однако использование ДНК-типирования, т.е. возможности изучать сами гены, привело к выявлению буквально в последние годы более 2000 аллелей).

**К I классу** относятся HLA - A, -B и -C локусы. Эти три локуса главного комплекса гистосовместимости человека контролируют синтез трансплантационных антигенов, которые можно определить серологическими методами (CD – Serological Determined). Молекулы антигенов HLA I класса состоят из 2 субъединиц:  $\alpha$ - и  $\beta$ - цепей (смотри рисунок). Тяжелая или  $\alpha$ -цепь состоит из 3 внеклеточных фрагментов – доменов  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , и  $\alpha_3$  (экстрацеллюлярные домены), небольшого участка принадлежащего клеточной мембране (трансмембранный участок) и внутриклеточный фрагмент (цитоплазматический участок). Легкая цепь –  $\beta_2$ -микроглобулин, нековалентно связана с  $\alpha$ -цепью, а с мембраной клетки не связана.

Домены  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$  образуют углубление, в котором может располагаться пептид (участок антигена) длиной 8-10 аминокислот. Это углубление называют **пептидсвязывающий клефт** (от англ cleft).

(К новым антигенам HLA класса I открытым недавно относятся антигены MIC и HLA-G. О них мало что известно в настоящее время. Необходимо отметить HLA-G, который называют неклассическими, выявлен только на поверхности клеток трофобласта и он обеспечивает иммунологическую толерантность матери к антигенам плода.)

**Регион класса 2** (D-регион) системы HLA состоит из 3 сублокусов: DR, DQ, DP, кодирующих трансплантационные антигены. Эти антигены относят к разряду антигенов выявляемых клеточно-опосредованными методами, а именно реакцией смешанной культуры лимфоцитов (англ. mixed lymphocyte culture – MLC). В последнее время выделены ещё локусы HLA-DM, -DN, а также гены TAP и LMP (не экспрессированы на клетках). Классическими являются **DP, DQ, DR**.



Недавно были получены антитела, с помощью которых удастся идентифицировать антигены DR и DQ. Поэтому антигены второго класса в настоящее время определяются не только клеточно-опосредованными методами, но и серологически, так же как и антигены HLA 1 класса.

Молекулы HLA 2-го класса представляют собой гетеродимерные гликопротеиды, состоящие из двух разных цепей  $\alpha$  и  $\beta$  (смотри рисунок). Каждая цепь содержит по 2 внеклеточных домена  $\alpha_1$  и  $\beta_1$  на N-терминальном конце,  $\alpha_2$  и  $\beta_2$  (ближе к мембране клетки). Имеются ещё трансмембранный и цитоплазматический участки.  $\alpha_1$  и  $\beta_1$ - домены формируют углубление, которое может связывать пептиды длиной до 30 аминокислотных остатков.

Белки MHC-II экспрессированы не на всех клетках. HLA молекулы II класса в большом количестве присутствуют на дендритных клетках, макрофагах и В-лимфоцитах, т.е. на тех клетках, которые взаимодействуют с Т-лимфоцитами-хелперами во время иммунной реакции, и с помощью HLA молекул II класса  $\beta_2$  исобны пре  $\alpha_3$  ровать  $\beta_2m$ . Т-лимфоциты обычно не имеют значительного количества антигенов 2-го класса, но при стимуляции митогенами, ИЛ-2 они также начинают экспрессировать молекулы HLA 2-го класса.

Необходимо отметить, что все 3 вида интерферонов значительно усиливают экспрессию молекул HLA 1-го класса на клеточной мембране различных клеток. Так  $\gamma$ -интерферон в значительной мере усиливает экспрессию молекул 1-го класса на Т- и В-лимфоцитах, но кроме того на клетках злокачественных опухолей (нейробластом и меланом).

Иногда обнаруживается врожденное нарушение экспрессии молекул HLA 1-го или 2-го классов, что приводит к развитию «синдрома голых лимфоцитов». Больные с такими нарушениями страдают недостаточностью иммунитета и зачастую погибают в детском возрасте.

**Регион III класса** содержит гены, продукты которых непосредственно вовлечены в иммунную реакцию. Он включает структурные гены для компонентов комплемента C2 и C4, Bf (пропердиновый фактор) и гены фактора некроза опухолей – ФНО (TNF). Сюда входят гены, кодирующие синтез 21-гидроксилазы. Таким образом, продукты HLA-генов 3 класса не экспрессированы на клеточной мембране, а они находятся в свободном состоянии.

HLA-антигенный состав тканей человека определяют аллельные гены, относящиеся к каждому из локусов, т.е. на одной хромосоме может быть только по одному гену каждого локуса.

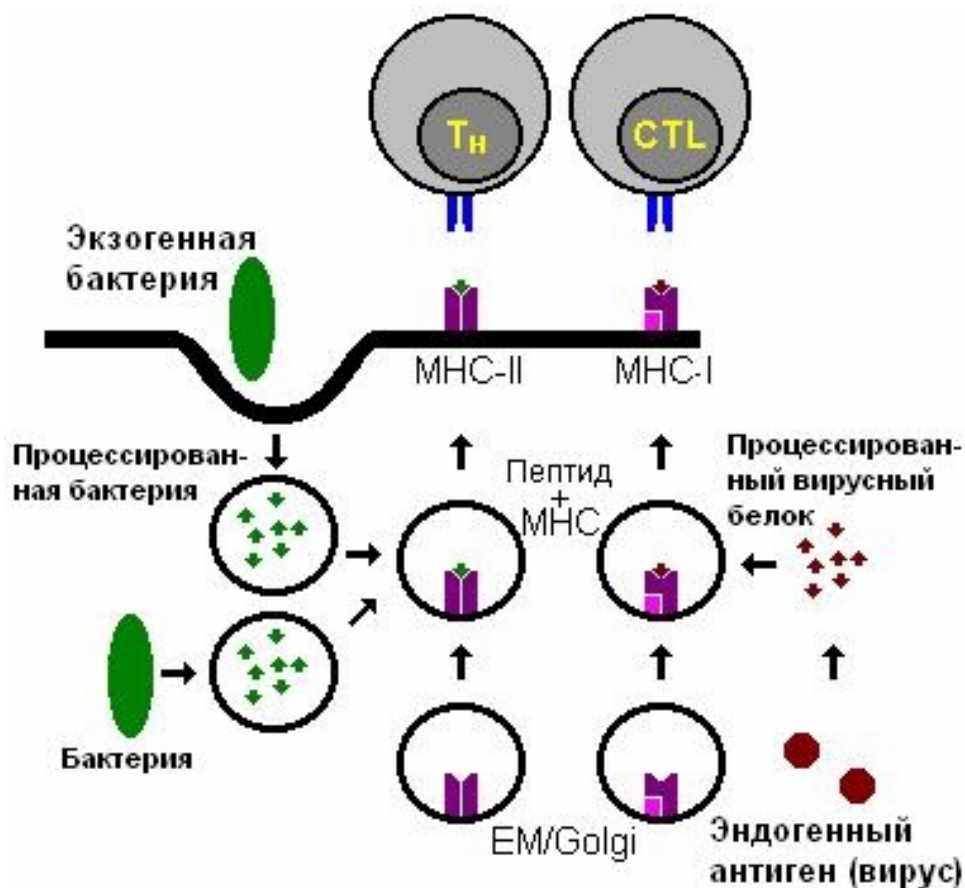
В соответствии с основными генетическими закономерностями каждый индивидуум является носителем не более двух аллелей каждого из локусов и сублокусов (по одному на каждой из парных аутосомных хромосом). В гаплотипе (набор аллелей на одной хромосоме) присутствует по одному аллелю каждого из сублокусов HLA. При этом, если индивид гетерозиготен по всем аллелям HLA-комплекса, у него при типировании (A, B, C, DR, DQ, DP – сублокусов) выявляется не более двенадцати HLA антигенов. Если индивид гомозиготен по некоторым антигенам, у него выявляется меньшее число антигенов, однако это число не может быть меньше 6.

Если у типизируемого субъекта выявлено максимально возможное количество антигенов HLA, это получило название «full house» («полный дом» антигенов).

Наследование HLA-генов происходит по кодоминантному типу, при котором у потомства в одинаковой степени экспрессируются HLA-антигены, полученные от каждого из родителей. Комбинация аллелей из разных локусов на одной хромосоме, носящая название HLA-гаплотип, наследуется единым блоком.

Наиболее богаты антигенами HLA – лимфоциты. Поэтому выявление этих антигенов проводится именно на лимфоцитах. (Вспомните, как выделить из периферической крови лимфоциты). Молекулы антигенов HLA-A, -B, -C составляют около 1% белков поверхности лимфоцитов, что примерно равно 7 тыс. молекул.

Одним из наиболее значимых достижений в иммунологии явилось обнаружение центральной роли, которую играет МНС млекопитающих и человека в регуляции иммунного ответа. В строго контролируемых экспериментах было показано, что один и тот же антиген вызывает иммунный ответ разной высоты у организмов с разным генотипом и, наоборот, один и тот же организм может быть реактивным в различной степени по отношению к разным антигенам. Гены контролирующей такой высокоспецифичный иммунный ответ, названы Ir-генами (Immune response genes). Они локализованы в области 2-класса системы HLA человека. Ir-генный контроль реализуется через T-систему лимфоцитов.



Центральным звеном клеточного взаимодействия при иммунном ответе является взаимодействие между молекулами HLA, экспрессированными на поверхности антигенпредставляющих клеток, представляющих для распознавания чужеродный антигенный пептид, и антиген-распознающим рецептором – TCR (T-cell receptor) на поверхности Т-лимфоцита хелпера. При этом одновременно с распознаванием чужеродного эпитопа происходит и распознавание собственных HLA антигенов.

**Т-лимфоцит хелпер (CD4+)** распознает чужеродный антиген лишь в комплексе с поверхностными молекулами ГКГС 2 класса антигенпредставляющих клеток.

**Цитотоксические лимфоциты (Т-эфффекторы, CD8+)** распознают антиген, например вирусной природы, в комплексе с молекулой HLA I класса клетки мишени.

**Экзогенные** антигены представляются молекулами HLA II класса,  
**эндогенные** – молекулами I класса.

(Таким образом, процесс распознавания чужеродного ограничен (рескрипирован) собственными HLA-антигенами. Это и есть концепция «двойного распознавания» или «распознавания измененного своего».)

Важная роль системы HLA состоит также в том, что она контролирует синтез факторов комплемента, вовлекаемых как в классический (C2 и C4), так и альтернативный (Bf) пути активации комплемента. Генетически обусловленный дефицит этих компонентов комплемента, может вызвать предрасположенность к инфекционным и аутоиммунным заболеваниям.

Практическое значение HLA-типирования. Высокий полиморфизм делает систему HLA великолепным маркером в популяционно-генетических исследованиях и изучении генетической предрасположенности к заболеваниям, но в то же время создает проблемы в подборе пар донор – реципиент при трансплантации органов и тканей.

Популяционные исследования, проведенные во многих странах мира, выявили характерные различия в распределении HLA- антигенов в разных популяциях. Особенности распределения HLA-

антигенов используются в генетических исследованиях для изучения структуры, происхождения и эволюции различных популяций. Например, грузинская популяция, относящаяся к южным европеоидам, имеет сходные черты HLA-генетического профиля с греческой, болгарской, испанской популяциями, указывающими на общность их происхождения.

Типирование HLA-антигенов широко используется в судебно-медицинской практике для исключения или установления отцовства, родства.

Обратите внимание на связь некоторых заболеваний с наличием в генотипе того или иного HLA-антигена. Это связано с тем, что HLA широко используется для изучения генетических основ предрасположенности к заболеваниям. Если раньше не предполагалось, например, что заболевание рассеянным склерозом имеет наследственную основу, то в настоящее время благодаря изучению связи с системой HLA факт наследственной предрасположенности твердо установлен. Используя связь с системой HLA, для некоторых заболеваний определен также и способ наследования. Например, анкилозирующий спондилит имеет аутомно-доминантный тип наследования, гемохроматоз и врожденная надпочечниковая гиперплазия – аутомно-рецессивный. Благодаря очень сильной ассоциации анкилозирующего спондилита с антигеном HLA-B27, HLA-типирование используется в диагностике ранних и неясных случаев этого заболевания. Выявлены генетические маркеры инсулинзависимого сахарного диабета.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

### Определение HLA антигенов «у доноров»

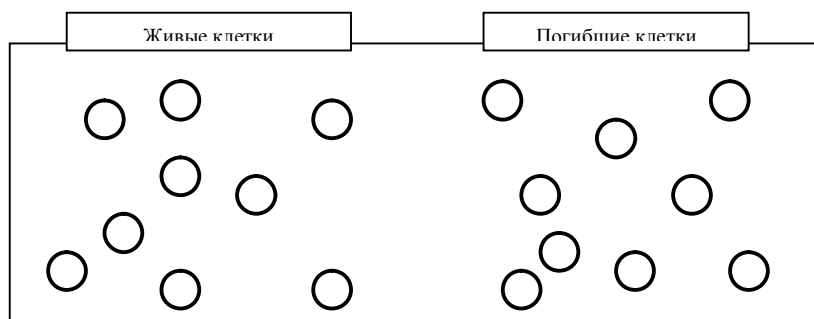
Типирование тканевых антигенов производят при помощи набора сывороток, состоящего из 50 и более антилейкоцитарных сывороток (сыворотки многорожавших женщин, дающие от 10 до 80% положительных реакций с лейкоцитами плода, или сыворотки добровольцев, иммунизированных человеческими лейкоцитами, содержащими определенные SD-антигены. Сыворотки крови многорожавших женщин, в результате естественной иммунизации HLA-антигенами мужа во время беременности, содержат в ряде случаев антитела к HLA в достаточно высоком титре.).

Серологически антигены гистосовместимости определяют с помощью лимфоцитотоксического теста (англ. lymphocytotoxicity test). Его иногда называют микрولىфоцитотоксическим из-за использования при постановке реакции микрولىфомом ингредиентов.

**Принцип** его основан на взаимодействии HLA-молекул на поверхности лимфоцитов обследуемого человека со специфическими анти-HLA-антителами и комплементом, что приводит к гибели клеток. Гибель клеток определяется при обычном световом микроскопировании после окрашивания витальными красителями.

Суспензии лимфоцитов смешивают с антисывороткой к определенному антигену (HLA-B8, HLA-B27 и т.д.), инкубируют 1 час при 25 С, добавляют комплемент и инкубируют вновь 2ч при 37 С, а затем добавляют трипановый синий или эозин. В случае присутствия в лимфоцитах антигена, соответствующего антителам, содержащимся в сыворотке, антитела в присутствии комплемента повреждают мембрану лейкоцитов, краска проникает в их цитоплазму и они окрашиваются в синий или же в красный цвет (если использовался эозин).

**Какие клетки будут окрашены при HLA-типировании?**



На основании результатов типирования устанавливают степень совместимости донора и реципиента и возможность трансплантации органа или ткани между ними. Донор и реципиент должны быть совместимы по эритроцитарным антигенам ABO и Rh, по лейкоцитарным антигенам системы HLA. Однако на практике трудно бывает подобрать полностью совместимых донора и реципиента. Селекция сводится к подбору наиболее подходящего донора. Трансплантация возможна при

несовместимости по одному из антигенов HLA, но на фоне значительной иммуносупрессии. Подбор оптимального соотношения антигенов гистосовместимости между донором и реципиентом значительно продлевает жизнь трансплантата.

На занятии будут продемонстрированы планшеты для HLA типирования лейкоцитов. Вспомните, как получить чистую суспензию лимфоцитов из клеток периферической крови. Подумайте, как защитить содержимое лунок от высыхания в процессе постановки реакции? Как получаются сыворотки для HLA типирования?

В настоящее время могут использоваться для типирования комплемент фиксирующие моноклональные антитела (МАТ). Они используются как в микролимфоцитотоксическом тесте, так и в реакции иммунофлуоресценции. Учет реакции возможен как люминисцентной микроскопией, так и с помощью проточного цитофлуориметра.

**NB!** Самый современный метод определения HLA-генов **ДНК-типирование**. Он основан на различных вариантах полимеразной цепной реакции (ПЦР) и молекулярной гибридизации. Принцип этих методов заключается в накоплении необходимого для анализа значительного количества ДНК путем её полимеризации и в использовании зондов, комплементарных анализируемому участку ДНК. Причем одним из преимуществ ДНК-типирования является то, что **не требуется наличия жизнеспособных лимфоцитов, а используется ДНК любых клеток**. А ведь ДНК может храниться годами и десятилетиями. Для реакции необходимы, правда, дорогостоящие олигонуклеотидные зонды, праймеры.

Применение молекулярно-генетического метода – ДНК-типирования, позволило значительно расширить представление о полиморфизме ранее известных генетических локусов системы HLA-A, B, C, DR, DQ, DP. Кроме того, открыты новые гены, в частности TAP, DM, LMP и другие. Открыты гены HLA класса I - E, F, G, H, но функция их продуктов пока неясна. На декабрь 1998 г. число идентифицированных аллелей генов HLA-комплекса составило 942. А на 31 декабря 2000 года было выявлено молекулярно-генетическим ДНК-типированием 1349 аллелей и их обнаружение продолжает расти.

**НОВАЯ НОМЕНКЛАТУРА HLA.** Как уже отмечалось, молекулы HLA 1 класса состоят из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей. Причем **полиморфной является только  $\alpha$ -цепь**. Аллельные варианты кодирующих генов получили в новой номенклатуре четырехзначное наименование (например, HLA-A0201 вместо ранее применяемого обозначения HLA-A2, причем методами молекулярной биологии установлено **12 (!) новых субтипов этого антигена** (новых аллельных вариантов), получивших наименование A0201, A0202, A0203, ... до A0212). У HLA-B27 установлено 9 аллельных вариантов специфичности и только часть из них ассоциирована с анкилозирующим спондилитом (это, естественно, повышает их прогностическую ценность).

Эффективность трансплантации аллогенных почек (по результатам годовой выживаемости в центрах трансплантологии, перешедших на селекцию доноров на основе молекулярно-генетического типирования) возросла на 10-15%. Эти данные, полученные на основе международного анализа, проведенного G.Opelz, совпадают с результатами совместной программы Московского координационного центра органного донорства и институтом Иммунологии.

Ещё более впечатляющие данные, полученные за последние 2-3 года в ходе проведения национальных (в первую очередь в США) и международных программ по пересадке аллогенного, «неродственного» костного мозга. Благодаря переходу селекции пар донор-реципиент на ДНК-типирование и созданию банка HLA-генотипированных доноров, включающего 1,5 млн. человек, годовую выживаемость пересаженного костного мозга удалось повысить с 10-20% до 70-80% (!). В свою очередь это привело к тому, что **число трансплантаций костного мозга от неродственных доноров в США** (где в настоящее время насчитывается наибольшее число генотипированных доноров и реципиентов) за период с 1993 по 1997 г. **возросло более чем в 8 раз**. Ошеломляющий эффект от пересадок неродственного костного мозга достигнут исключительно за счет подбора полностью HLA совместимых пар донор-реципиент ДНК-типированием.

Ниже приводится выдержка из книги академика Р.В.Петрова «Я или не я: Иммунологические мобили». М., 1983. - 272 с.

«...Получая в 1930 году Нобелевскую премию, в своей торжественной лекции по этому поводу Карл Ландштейнер говорил, что открытие всё новых антигенов в клетках человеческих тканей будет продолжаться бесконечно, пока не станет очевидным, что двух тождественных в антигенном отношении людей нет. Это его пророчество подтвердилось и имеет в наши дни не только теоретический интерес. Оно нашло в числе других практических применений судебно-медицинское применение.

Представьте себе такую ситуацию: необходимо определить принадлежность пятна крови. Чья эта кровь – человека или животного? Нет необходимости объяснять, что такая ситуация чаще всего имеет отношение к криминалистике. И решение задачи зачастую становится ответом на главные вопросы следствия. Ответить не него можно только с помощью иммунных сывороток. Ни по каким



другим показателям различить кровь человека и, например, собаки невозможно. Микроскопические или биохимические методы исследования бессильны.

Судебные медики имеют в арсенале своих средств набор иммунных сывороток различной специфичности: против белков человека, лошади, курицы, собаки, коровы, кошки и т.д. Исследуемое пятно смывают, а затем ставят реакции преципитации. При этом используют весь набор иммунных сывороток. Какая сыворотка вызовет преципитацию, тому виду животного или человеку принадлежит кровь исследуемого пятна.

Допустим, судебный эксперт заключает: «Нож испачкан кровью человека». А подозреваемый в убийстве говорит: «Да. Но это моя кровь. Не так давно этим ножом я порезал свой палец». Тогда экспертиза продолжается. На столе криминалистов появляются антисыворотки против групп крови и к HLA-антигенам. И иммунология снова дает точный ответ: кровь относится к группе АВ, содержит фактор М, резус-отрицательный, антигены гистосовместимости такие то и т.д. Ситуация окончательно разъясняется. Полученная характеристика полностью совпадает с антигенной характеристикой крови подозреваемого. Следовательно, он сказал правду, это действительно его кровь.

Остановимся ещё на одной ситуации, которая имеет огромное моральное звучание. Представьте себе, что война или иное бедствие разлучили родителей с детьми. У детей потерялись фамилии и имена. Неужели нельзя найти своего ребенка среди других? Ведь антигены эритроцитов и HLA передаются по наследству. И если у отца и матери нет фактора М, то его не может быть и у ребенка. И наоборот, если оба родителя принадлежат к группе А, то ребенок не может иметь группу крови В или АВ. Так же и по HLA-антигенам. Причем с очень высокой достоверностью».

Установление подлинности останков членов царской семьи Николая II проводилось именно так, с помощью ДНК типирования.

«Действительно, всё так. Единственный абсолютно точный и объективный метод установления отцовства (мать обычно известна) - **иммунологический**. В некоторых странах, например, в Англии, к вопросам определения отцовства относятся особенно щепетильно. Но там это чаще всего связано не с войной. Строгие законы об отцовстве объясняются строгими законами о наследниках и правах наследования капиталов, титулов, прав, привилегий.

Вообразите лорда, который объявляет своим наследником юношу, которого родила не его жена. Тогда может возникнуть необходимость доказать, что юноша его сын. Или вдруг появляется джентльмен, объявляющий себя незаконнорожденным сыном и, следовательно, наследником миллионера. Может быть, это правда, но может быть, сей джентльмен – аферист. Вопрос решает анализ антигенов родителей и детей».

Распределение HLA-антигенов оказалось разным у представителей разных рас и национальностей. С 1966 г. интенсивное исследование структуры антигенов тканевой совместимости по инициативе ВОЗ стало проводиться во всех странах мира. Вскоре карта мира оказалась покрытой иммунологическими иероглифами, показывающими, где и в каком сочетании встречаются антигены HLA. Теперь, пожалуй, нет необходимости подобно Туру Хейердалу снаряжать экспедицию на тростниковой лодке, чтобы доказать миграцию населения из Южной Америки на острова Полинезии. Достаточно взглянуть в современный атлас распространения HLA- антигенов и с уверенностью сказать, что в обоих этих географических регионах есть общие генетические маркеры.

#### Полиморфизм классических HLA - антигенов, выявляемых серологическими и клеточно-опосредованными методами

HLA-DR	HLA-DQ	HLA-DP	HLA-A	HLA-B	HLA-C
24	9	6	28	61	10
II класс			I класс		