مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره هشتم ــ اردیبهشت ماه ۲۵۳۷ ــ صفحه ۲۲۹

تأثیر زنده بودن لنفوسیتها در تست روزت مخصوص

اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T , B

دکتر سیمین غازانشاهی

تست روزت همانطورکه قبلا هم شرح داده‌ایم (1) یکی از روشهای موثر برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای B و T میباشداین تست امروزه دربسیاری ازآزمایشگاهها انجام می‌پذیرد میدانیم که اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B یکی از روشهای قابل اطمینان در بررسی بیماران مشکوک به نقص سیستم ایمنی میباشد .

در مطالعه اخیر ما تأثیر قابلیت زنده بودن لنفوسیتها را در تعداد روزتهای T و B مورد مطالعه قرار دادیم .

روش از ۲۲ فرد سالم کنترل بین سنین ۶ و ۴۵ سال تست روزت T و B بعمل آمد و تأثیر زنده بودن لنفوسیتها در تعداد روزتهای T و B آنها مورد مطالعه قرار گرفت .

تهیه لنفوسیتها

لنفوسیتها از خون محیطی بطریق متد Thorsby and Bratile (9) جدا گردید و بعداز شستشو با محلول بافربابیتال طوری رقیق نمودیم که در هر سانتیمتر مکعب دارای 4×10^6 عدد لنفوسیت داشته باشیم .

بررسی تأثیر زنده بودن لنفوسیتها در روزتهای T و B

برای بررسی تأثیر زنده بودن لنفوسیتها در تعداد روزتهای T و B لنفوسیتهارادرخون‌محیطی‌بطریقه فوق‌الذکر در فاصله یکساعت بعد از گرفتن خون از افراد مورد مطالعه جدانمودیم .محلول لنفوسیتهای تهیه شده رابدو قسم مساوی تقسیم نمودیم بایک قسمت تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B را بفاصله نیم الی یکساعت‌بعداز جدانمودن لنفوسیتها از خون محیطی انجام دادیم .

تعداد لنفوسیتهای مرده که بارنگ تراپین بلوTrypan blue مشخص نمودیم قبل از انجام تست روزت کمتر از ۵ درصد بود قسمت دوم محلول لنفوسیتهای جدا شده را در۴ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۴ ساعت نگهداری نمودیم و سپس با آنها تست روزت مخصوص اندازه‌گیری لنفوسیتهای T و B مشابه قسمت‌اول انجام‌دادیم .قسمت دوم محلول لنفوسیتها که قبل از انجام تست روزت بمدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند ده الی سی در صدشان با رنگ تراپین بلومرده تشخیص داده شدند .

روش انجام تست روزت مخصوص

اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T

همانطور که قبلا این روش را شرح دادیم (1) مقدار کمی از محلول لنفوسیتهای جدا شده رابامقدارمساوی‌محلول یک‌درصدگلبولهای قرمزگوسفند مخلوط نموده بعدازسانتریفوژ کردن بمدت ۵ دقیقه در ۶۰۰ RPM بمدت یکساعت در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری نموده و سپس روزتهای تشکیل شده رابا هموسایتومترشمردیم . (به لنفوسیتهائی‌که سه عدد و یا بیشتر گلبولهای قرمز گوسفند دورشان‌جمع شده

دانشکده علوم پایه پزشکی ــ بخش ایمونولوژی و میکرب‌شناسی دانشگاه تهران

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

ود روزت اطلاق نمودیم) .

تست روزت مخصوص اندازه‌گیری لنفوسیتهای B

برای انجام تست روزت جهت تعیین تعداد لنفوسیتهای B ابتدا گلبولهای قرمز گوسفند را با کمپلمان حساس نمود و سپس تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B را عیناً مطابق روشی که قبلا شرح دادیم (1) انجام دادیم .

نتیجه

در مطالعه اخیر خود مشاهده نمودیم که تعداد روزت لنفوسیتهای T در نمونه‌هائی که بعداز نگهداری لنفوسیتها بمدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفته بود . (۱۰ الی ۳۰ درصد لنفوسیتهای مزبور مرده بودند) بمراتب کمتر از نمونه‌هائی بود که تست روزت در آنها بالنفوسیتهای تازه (محتوی کمتر از ۵ درصد لنفوسیتهای مرده بودند) و در فاصله یک الی دو ساعت بعداز گرفتن خون و جدا نمودن لنفوسیتها بعمل آمده بود (جدول ۱) .

انجام تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B بالنفوسیتهائی که ۲۴ ساعت قبل از انجام تست روزت مخصوص دریخچال نگهداری شده بودند و (ده تا سی درصدشان مرده بودند) تفاوت چندانی از نظر تعداد نتیجه تست بالنفوسیتهای تازه (محتوی کمتر از ۵ درصد لنفوسیتهای مرده بودند) نداشت (جدول ۱)

بحث

چون امروزه انجام تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B یکی از روشهای ذیقیمت در بررسی بیماران مشکوک به نقص سیستم ایمنی میباشد . آشنائی کامل با خصوصیات این تست و تغییراتی که ممکن است در ارقام بدست آمده در اثر عوامل مختلف بوقوع بپیوندد لازم میباشد . درتجربه اخیرخود مامشاهده نمودیم که تست روزت مخصوص لنفوسیتهای T اگربفاصله یک الی دوساعت بعداز گرفتن خون و جدا نمودن لنفوسیتها انجام گیرد نتیجه تست قابل اطمینان میباشدولی اگر تست مزبور با لنفوسیتهائی که تازه نباشند و مدتی بعداز گرفتن خون و یا جدا نمودن لنفوسیتها انجام گیرد دراثر افزایش نسبت لنفوسیتهای مرده در محلول لنفوسیتها تعداد روزتهای تشکیل شده ودرنتیجه تعداد لنفوسیتهای T شمرده شده کمتر از میزان حقیقی شخص آزمایش شده بوده ونتیجه مطلوب را از تست خود نخواهیم گرفت . انجام تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B بالنفوسیتهائی که محتوی ۱۰ الی ۳۰ درصد لنفوسیت مرده بودند تأثیر کمتری در تعداد آنها داشت (جدول ۱) بعبارت دیگر زنده بودن لنفوسیتها حائز اهمیت بیشتری در تست روزت لنفوسیتهای T میباشد .

جـــدول (۱)

تعداد روزتهای B با لنفوسیتهای D Mean ± SD	تعداد روزتهای B با لنفوسیتهای زنده Mean ± SD	تعداد روزتهای T با لنفوسیتهای D Mean ± SD	تعداد روزتهای T با لنفوسیتهای زنده Mean ± SD	تعداد نفرات
۳۴/۶ ± ۳/۱۵	۳۵/۲۵ ± ۳/۳	۴۷/۹ ± ۵/۷	۶۴/۱۸ ± ۶/۱	۲۲ فرد سالم کنترل

لنفوسیتهائی که ۲۴ ساعت در ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شده و ده تا سی درصدشان مرده بودند = لنفوسیتهای D

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

خلاصه

در تجربه اخیر خود ما مشاهده نمودیم که در انجام تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B تأخیر درانجام تست پس از گرفتن خون از شخص و یابعداز جدا نمودن لنفوسیتها سبب مرگ عده‌ای از لنفوسیتها (ده تا سی درصد از لنفوسیتها بعداز ۲۴ ساعت نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد میمیرند) و درنتیجه کاهش تعداد روزتهای T و B مخصوصا تعداد روزتهای T میگردد . (جدول ۱) زنده‌بودن لنفوسیتهااهمیت‌بیشتری رادرتست روزت مخصوص لنفوسیتهای T دارد درصورتیکه انجام تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B باکمی تأخیر بعداز گرفتن خون ویاجدانمودن لنفوسیتهاباندازه تست روزت مخصوص لنفوسیتهای T مختل نمیگردد .

بهرصورت‌توصیه‌میگرددتست روزت‌مخصوص اندازه‌گیری لنفوسیتهای T و B راباید بفاصله حداکثر یک الی دو ساعت بعدازگرفتن خون از شخص و جدانمودن لنفوسیتهاانجام‌داد تأخیر در انجام تست سبب مرگ لنفوسیتها و کاهش تعداد روزتها مخصوصا روزتهای T میگردد .

References

1- *Ghazanshahi S,Townlet R, Chaperone E and Villacorte G.T and lymphocyte rosette in bronchial asthma. Annals of Allergy. 36: 5, 324,1976.*

2- *Gupta, S. Cell surface markers of human T and B lymphocytes. Their progile in primary immunodeficiencies. New Yprk State J.Med. 76: 24, 1976.*

3- *Report of WHO/I ARC-sponsored workshop on human B and T cells. Special technical report. Scand J Immunol 3: 54, 1974.*

4- *Shevach, E. M, Edelson, R., Frank, M.M., Lutzner, M., and Green, I.A human Leukemic cells with both B and T cell surface receptors. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 73: 863, 1974.*

5- *Steel C,Evans MJ and Smith Ma. The sheep cell rosette test on human peripheral blood lymphocytes, An analysis of some variable factors in technique. Br J hematol 28: 245, 1974.*

6- *Sumiya, M., Mizoguchi, H., Kosaka, K., Miura, Y., Takaku, F., and YATA, J. Chronic lymohocytic leukemia of T-cell origin. Lancet 11: 910,1973.*

7- *Thosby E and Bratile A.A rapid method for prepartion of pure lymphocyte suspension. Histocompatibility testing 1970 ed. P.I.*

8- *Werner, N.L. Membtan immunoglobulins and antigen receptors on B and T*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

lymphocytes. Advances in Immunology 19: 67, 1974.

9- *White side, TL, Berardi RS and Rabin BS. Quantitation of human peripheral blood T and B lymphocytes. Int Arch Allergy Appl Immunol 48: 431. 1975.*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]