

### تأثیر زنده بودن لنفوسیتها در تست روزت مخصوص

#### اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T, B

دکتر سیمین غازاناشاهی

تقسیم نمودیم بایک قسمت تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B را بفاصله نیم الی یکساعت بعد از جدانمودن لنفوسیتها از خون محیطی انجام دادیم .

تعداد لنفوسیتهای مرده که با رنگ تراپین بلو Trypan blue مشخص نمودیم قبل از انجام تست روزت کمتر از ۵ درصد بود قسمت دوم محلول لنفوسیتهای جدا شده را در ۴ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۴ ساعت نگهداری نمودیم و سپس با آنها تست روزت مخصوص اندازه‌گیری لنفوسیتهای T و B مشابه قسمت اول انجام دادیم . قسمت دوم محلول لنفوسیتها که قبل از انجام تست روزت بمدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند ده الی سی درصدشان با رنگ تراپین بلو مرده تشخیص داده شدند .

#### روش انجام تست روزت مخصوص

#### اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T

همانطور که قبلاً این روش را شرح دادیم ( 1 ) مقدار کمی از محلول لنفوسیتهای جدا شده را با مقدار مساوی محلول یک درصد گلبولهای قرمز گوسفند مخلوط نموده بعد از سانتریفوژ کردن بمدت ۵ دقیقه در ۶۰۰ RPM بمدت یکساعت در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری نموده و سپس روزتهای تشکیل شده را با هموسایتومتر شمردیم . ( به لنفوسیتهایی که سه عدد و یا بیشتر گلبولهای قرمز گوسفند دورشان جمع شده

تست روزت همانطور که قبلاً هم شرح داده‌ایم ( 1 ) یکی از روشهای موثر برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای B و T میباشد این تست امروزه در بسیاری از آزمایشگاهها 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 Bratle ( 9 ) جدا گردید و بعد از شستشوی محلول با فراباریتال طوری رقیق نمودیم که در هر سانتیمتر مکعب دارای  $4 \times 10^6$  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 لنفوسیتها را در خون محیطی بطریقه فوق‌الذکر در فاصله یکساعت بعد از گرفتن خون از افراد مورد مطالعه جدانمودیم . محلول لنفوسیتهای تهیه شده را بدو قسم مساوی

## بحث

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 کمی لمان حساس نمود و سپس تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B را عیناً مطابق روشی که قبلاً شرح دادیم ( 1 ) انجام دادیم .

#### نتیجه

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

انجام تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B بالنفوسیت‌هایی که ۲۴ ساعت قبل از انجام تست روزت مخصوص در یخچال 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 )

چون امروزه انجام تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیت‌های T و B یکی از روش‌های دقیقیت 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 . در تجربه اخیر خود ما مشاهده نمودیم که تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های T اگر فاصله یک الی دو ساعت بعد از گرفتن خون و جدا نمودن لنفوسیت‌ها انجام گیرد نتیجه تست قابل اطمینان میباشد ولی اگر تست مزبور با لنفوسیت‌هایی که تازه نباشند و مدتی بعد از گرفتن خون و یا جدا نمودن لنفوسیت‌ها انجام گیرد در اثر افزایش نسبت لنفوسیت‌های مرده در محلول لنفوسیت‌ها تعداد روزت‌های تشکیل شده و در نتیجه تعداد لنفوسیت‌های T شمرده شده کمتر از میزان حقیقی شخص آزمایش شده بوده و نتیجه مطلوب را از تست خود نخواهیم گرفت . انجام تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B بالنفوسیت‌هایی 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 .

### جدول ( ۱ )

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

لنفوسیت‌هایی که ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و ده تا سی درصدشان مرده بودند = لنفوسیت‌های D

## خلاصه

در تجربه اخیر خود ما مشاهده نمودیم که در انجام تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیت‌های T و B تأخیر در انجام تست پس از گرفتن خون از شخص و یا بعد از جدا نمودن لنفوسیتها سبب مرگ عده‌ای از لنفوسیتها (ده تا سی درصد از لنفوسیتها بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد می‌میرند) و در نتیجه کاهش تعداد روزتهای T و B مخصوصاً تعداد روزتهای T میگردد. (جدول ۱) زنده بودن لنفوسیتها اهمیت بیشتری را در تست روزت مخصوص

لنفوسیت‌های T دارد در صورتیکه انجام تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B با کمی تأخیر بعد از گرفتن خون و یا جدا نمودن لنفوسیتها با اندازه تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های T مختل نمیگردد.

بهر صورت توصیه میگردد تست روزت مخصوص اندازه‌گیری لنفوسیت‌های T و B را باید با فاصله حداکثر یک الی دو ساعت بعد از گرفتن خون از شخص و جدا نمودن لنفوسیتها انجام داد تأخیر در انجام تست سبب مرگ لنفوسیتها و کاهش تعداد روزتها مخصوصاً 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 profile 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 lymphocytic leukemia of T-cell origin. *Lancet* 11: 910, 1973.
- 7- Thosby E and Bratile A. A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspension. *Histocompatibility testing* 1970 ed. P.I.
- 8- Werner, N.L. Membran immunoglobulins and antigen receptors on B and T

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.