

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 شستشویا محلول بافر باربیتال 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 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 لیمان 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/IARC-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.