عوامل تکنیکی موثر در تعداد روزتهای T و B

دکتر سیمین غازانشاهی ـ دکتر احمد مسعود

میدانیم لنفوسیتها بدو نوع اصلی باسم لنفوسیتهای T و B تقسیم میگردند. تعداد لنفوسیتهای T و B ممکن است بطور ارثی و مادرزادی و یا بطور اکتسابی بعلت بعضی از بیماریها مانند سرطانها (۱) تغییر یابد. بدین جهت اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B در خون محیطی یکی از روشهای موثر در تشخیص و یا بررسی پیش‌آگهی بیماریهائی که با نقص سیستم ایمنی همراه هستند میباشد.

تست روزت Rosette test روش قابل اطمینان برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T میباشد. تعداد لنفوسیتهای B را بروش روزت مخصوص لنفوسیتهای B میتوان تعیین نمود گرچه برای تعیین تعداد لنفوسیتهای B روشهای متعدد دیگری هم وجود دارند که از جمله متد ایمونوفلورسان و بررسی ایمونوگلوبولین‌های سطحی میباشد. در مطالعه اخیر خود ما تاثیر عوامل زمانی و مکانیکی را در تعداد روزتهای T و B مورد مطالعه قرار دادیم.

روش تست روزت مخصوص اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای B.T. از ۲۰ فرد سالم کنترل بین سنین ۱۰ و ۵۰ سال بعمل آمد و تغییراتی که عوامل زمانی و مکانیکی در روش تست در تعداد روزتهای T و B آنها داشت بررسی گردید.

تهیه لنفوسیتها لنفوسیتها از خون محیطی بطریقه متد Thorby and Bratile (۷) جدا گردید.

تست روزت برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T لنفوستیهای جدا شده را بعد از شستشو با محلول بافر باربیتال طوری رقیق نمودیم که در هر سانتیمترمکعب دارای ۴×۱۰^{۶} عدد لنفوسیت داشته باشیم سپس مقدار کمی از محلول لنفوسیتها را با مقدار متساوی محلول یکدرصد گلبولهای قرمز گوسفند مخلوط نموده و بعد از سانتریفوژ کردن بمدت ۵ دقیقه در ۶۰۰ RPM در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم از هر فردی چندین نمونه آزمایش تهیه نمودیم و روزتهای آنها را در فواصل زمانی متفاوت از یکدیگر بعد از نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد با هموسایتومتر شمردیم (لنفوسیتهائی که سه عدد و یا بیشتر گلبولهای قرمز گوسفند دورشان جمع شده بود روزت اطلاق نمودیم).

تست روزت لنفوسیتهای B لنفوسیتهای B دارای گیرنده طبیعی برای گلبولهای قرمز گوسفند مانند لنفوسیتهای T نمیباشند ولی چون دارای گیرنده‌هائی برای کمپلمان میباشند

گروه میکربشناسی و ایمونولوژی ــ دانشکده علوم پایه پزشکی ـ دانشگاه تهران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-29]

برای انجام تست روزت جهت تعیین تعداد لنفوسیتهای B ابتدا باید گلبولهای قرمز گوسفند را بوسیله کمپلمان حساس نمود و سپس با انجام تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B و شمردن روزتهای تشکیل شده تعداد لنفوسیتهای B را میتوان بدست آورد که جزئیات روش کار در مقاله قبلی شرح داده شده است (۲)

مطالعه تاثیر زمان در تعداد روزتها Tبرای بررسی تاثیر مدت نگهداری در چهار درجه سانتی‌گراد در تعداد روزتهای T از هر یک از افراد مورد آزمایش چندین نمونه آزمایشی تهیه نمودیم و هر نمونه را جداگانه در فواصل زمانی معین بعد از سانتریفوژ کردن لنفوسیتها با گلبولهای قرمز گوسفند مورد بررسی قرار دادیم نمونه اول را بلافاصله بعد از سانتریفوژ کردن و بدون نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد شمردیم نمونه‌های دیگر را به ترتیب بعد از یکساعت، دوساعت و۲۴ ساعت نگهداری در شرایط فوق‌الذکر بررسی نمودیم از بعضی از افراد نمونه‌های دیگری را هم بعد از ۴۸ ساعت، ۷۲ ساعت، ۵ روز، یک هفته بعد از نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد شمارش نمودیم.

بررسی اثر عوامل مکانیکی در تعداد روزتهای T و B برای تهیه نمونه آزمایشی جهت شمردن روزتهای T و B در هموسایتومتر بطور معمول مارسوب ته لوله را که محتوی روزت میباشد در مایع بالای رسوب حل مینمائیم در تجربه اخیر خود ما تاثیر تکانهای شدید را در ضمن حل کردن رسوب در تعداد روزتهای T و B مورد مطالعه قرار دادیم بدین طریق که از هر فردی به یکی از نمونه‌ها برای حل کردن رسوب روزتهای T و B تکانهای شدید به لوله محتوی نمونه آزمایشی دادیم و تعداد روزتهای شمرده شده از نمونه‌های فوق را با ارقامی که از شمارش روزتهای T و B با حل کردن رسوب بطریق معمولی و آرام بدست آورده بودیم مقایسه نمودیم.

نتیجه بطوریکه در جدول (۱) نشان داده شده است افزایش قابل ملاحظه‌ای در تعداد روزتهای T با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد تا حد معین (۲۴ ساعت) حاصل گردید. از شمارش بعضی از نمونه‌ها در زمان طویلتر از ۲۴ ساعت ملاحظه نمودیم که تعداد روزتهای T بین ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت ثابت میماند و بعد بتدریج از تعداد آنها کاسته شده در ۶ و یا ۷ روز به صفر میرسد.

در بررسی تأثیر عوامل مکانیکی در تعداد روزتهای T و B مطابق جدول (۲) ملاحظه میگردد که روزتهای T و B هردو به عوامل مکانیکی مثل تکانهای شدید به لوله محتوی آنها حساس بوده و این تکانها سبب کاهش تعداد آنها میگردد. روزتهای T با مقایسه با روزتهای B بسیار مستحکم‌تر بوده و تکانهای شدیدتر برای کاهش تعداد آنها لازم میباشد درصورتیکه روزتهای T بسیار شکننده بوده و تکانهای شدید سبب کاهش فوق‌العاده در تعداد آنها میگردد.

بحث نظر باینکه اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B با انجام تست روزت در خون محیطی ممکن است در بسیاری از موارد کمک ذیقیمتی در تشخیص بیماریهائی که با نقص سیستم ایمنی همراه هستند بنماید آشنائی کامل با روش این تست برای کسانیکه علاقمند به تعیین تعداد لنفوسیتهای T و B در بیماران فوق‌الذکر میباشند لازم است و بعلت شکننده بودن روزتهای T و B مخصوصا روزتهای T در اثر عوامل مکانیکی و همچنین تغییر تعداد روزتهای T با تغییر زمان نگهداری آنها در ۴ درجه اگر آزمایش‌کننده باین عوامل توجه ننماید احتمال دارد نتیجه کارشان یکنواخت و صحیح نباشد. بنابراین آزمایش‌کننده باید سعی نماید نمونه‌های کنترل و بیماران خود را در یک فاصله زمانی مساوی بعد از نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد بشمارد و همچنین به تاثیر عوامل مکانیکی توجه نموده و حل کردن رسوب روزت جهت شمارش باید هرچه ممکن است بآرامی انجام گیرد. از هر بیمار باید بیشتر از یک نمونه تهیه نمود تا در صورت برخورد به ارقام غیر ـ طبیعی برای اطمینان نمونه دیگر را هم مورد بررسی قرار داد. (با روشی که ما بکار میبریم اختلاف در شمارش روزتهای بین دو نمونه از یک فرد در شرایط مساوی کمتر از ۱۰ درصد میباشد) ثانیا چون تعداد روزتهای T با طریقه نگهداری نمونه‌ها بطور طویل‌المدت (۲۴ ـ ۲۰) ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از طریقه سریع‌المدت (یکساعت) است بهتر است شمارش روزتهای T بدو طریقه سریع‌المدت (یکساعت) و طویل‌المدت (۲۴ ـ ۲۰ ساعت) بعد از نگهداری در ۴

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-29]

خلاصه اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T و B در خون محیطی بروش تست روزت یکی از راههای بررسی سیستم ایمنی میباشد تعداد روزتهای T برحسب مدت نگهداری نمونه‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد متغیر میباشد. تعداد آنها بعد از نگهداری نمونه‌ها بمدت ۲۴ ساعت در شرایط فوق‌الذکر به حد نهائی خود میرسد سپس بعد از ۷۲ ساعت بتدریج از تعدادشان کاسته شده در ۷ ــ ۶ روز به صفر میرسد. روزتهای B مخصوصا روزتهای T نسبت به عوامل مکانیکی بسیار حساس بوده و حرکات شدید لوله آزمایش جهت حل کردن رسوب روزتها در محلول فوقانی در هنگام تهیه نمونه برای شمردن آنها باعث جدا شدن گلبولهای گوسفند چسبیده به لنفوسیتها و در نتیجه سبب کاهش تعداد روزتهای تشکیل شده میگردد. بدین‌جهت تمام مراحل تهیه نمونه جهت شمارش روزتها و مخصوصا روزتهای T باید بآرامی و ملایمت انجام گیرد.

درجه سانتی‌گراد انجام گیرد.

جدول ۱ ــ تغییرات تعداد درصد روزتهای T برحسب زمان نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد

تعداد نفرات	بدون نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد Mean ± SD	یکساعت Mean ± SD	۲ ساعت Mean ± SD	۲۰ ــ ۲۴ ساعت Mean ± SD
۲۰ نفر	۵۴ ± ۷/۴	۶۶/۵ ± ۴/۳۲	۷۰/۱ ± ۱/۹۴	۷۶/۵ ± ۳/۷۲
اهمیت آماری	P < ۰/۰۱	P < ۰/۱	P < ۰/۰۱	

Mean = حد متوسط

SD = Standard deviation استاندارد دوی ایشن

در اهمیت آماری جدول فوق هر ستون فقط با ستون بلافاصله مابعد خود مقایسه شده است

جدول ۲ ــ تغییرات درصد روزتهای T و B در اثر عوامل مکانیکی

افراد	TRR Mean ± SD	TRV Mean ± SD	BRR Mean ± SD	BRV Mean ± SD
۲۰ نفر	۷۱/۵ ± ۷/۵	۴۲/۷ ± ۱۸/۴	۳۵/۲ ± ۳/۹	۲۹/۸ ± ۶/۶
اهمیت آماری	P < ۰/۰۱		P < ۰/۱	

TRR = T Rosttes with regular shaking — تعداد درصد روزتهای T با حل رسوب بطریقه معمول و آرام

TRV = T Rosettes with vigorous shaking — تعداد درصد روزتهای T با حل رسوب توام با تکانهای شدید

BRR = B Rosettes with regular shaking — تعداد درصد روزتهای B با حل رسوب بطریقه معمولی و آرام

BRV = B Rosettes with vigorous shaking — تعداد درصد روزتهای B با حل رسوب توام با تکانهای شدید

Mean = حد متوسط

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-29]

References

1. Anthony H. M, Kirk J.A., Madsen K B., Mason M.K. and Templement G.H. E and EAC rosetting lymphocytes in patients with carcinoma of bronchus. Clin Exp. Immunology. 20, 29,40, 1975.
2. Ghazanshahi S, Townley R, Chaperone E and Villacorte G: T and B lymphocyte rosette in bronchial asthma. Annals of Allergy. 36; 5, 324, 1976.
3. Luckasen JR, Sabad KJ, Gajl-peczalasks KJ and Kersey JH: Lymphocytes bearing complement receptor, surface immunoglobulins and sheep erythrocyte receptors in primary immunodeficiency disease. Clin Exp Immunol 16: 536, 1974.
4. Report of WHO/I ARC-sponsored workshop on human B and T cells. Special technical report. Scand J Immunol 3: 54, 1974.
5. Silveria NPA, Mendes NF and Tolinai MEA: Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinquished by membrane receptors. J Immunol 108: 1456, 1972.
6. Steel c, Evans MJ and Smith MA. The sheep cell rosette test on human peripheral blood lymphocytes. An analysis of some variable factors in the chnique. Br J hematol 28: 245, 1974.
7. Thorsby E and Bratile A.A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspensions. Histocompatilibility testing 1970 ed. P.I.
8. White side TL, Berardi RS and Rabin BS: Quantitation of human peripheral blood T and B lymphocytes. Int Arch Allergy Appl Immun 48: 431, 1975.
9. Williams, R.C. JR., Deboard J.R., Mellbye O.J., Messner, R. P. and Lindstrom F.D: Studies of T and B lymphocytes in patients with connective tissue diesease. The J of clinical investugation 52: 283, 1973.
10 Yu DTY: Human lymphocyte subpopulation: Early and late rosettes. J. Immunolol 115: 91, 1975.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-29]