



AllMed-MedTokens

Тақырыбы: Иммуниеттің Т және В-жүйесін
бағалаудың зертханалық әдістері.

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың зертханалық әдістері

Сынамалар

1-нші деңгейдегі
сынамалар.

2-нші деңгейдегі
сынамалар.

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың
1-деңгейдегі сынамалары:

- Лимфоциттердің жалпы санын анықтау
- Жетілген Т-лимфоциттердің және екі негізгі субпопуляцияларының (хелпер/индуктор CD4 және киллер/супрессор CD8) пайызы мен абсолюттік санын анықтау

T-лимфоциттердің санын анықтау

1. науқастың 10 мл қаны гепарині бар пробиркаға алынады
2. фиколл-верографин (лимфоциттерді бөліп алу үшін) қоспасына жаймен құйылады
3. центрифугада айналдырылады
4. эритроциттер пробирканың түбіне шөгеді, ал лимфоциттер фиколл-верографин және плазманың шегарасында жіңішке қабат болып орналасады
5. лимфоциттер қабаты жаймен алынады
6. $2-4 \times 10^9$ /мл концентрациясына дейін жеткізіледі
7. 1:1 қатынаста қой эритроциттері қосылады
8. 10 минут 37°C температурада инкубацияланады
9. қайта центрифугада айналдырылады
10. бірнеше сағатқа 4°C мұздатқышқа салынады
11. Горяев камерасында люминесцентті микроскоп астында лимфоциттердің абсолюттік саны есептеледі

T-лимфоциттердің қалыпты деңгейі – лимфоциттердің жалпы санының 50-70% құрайды.





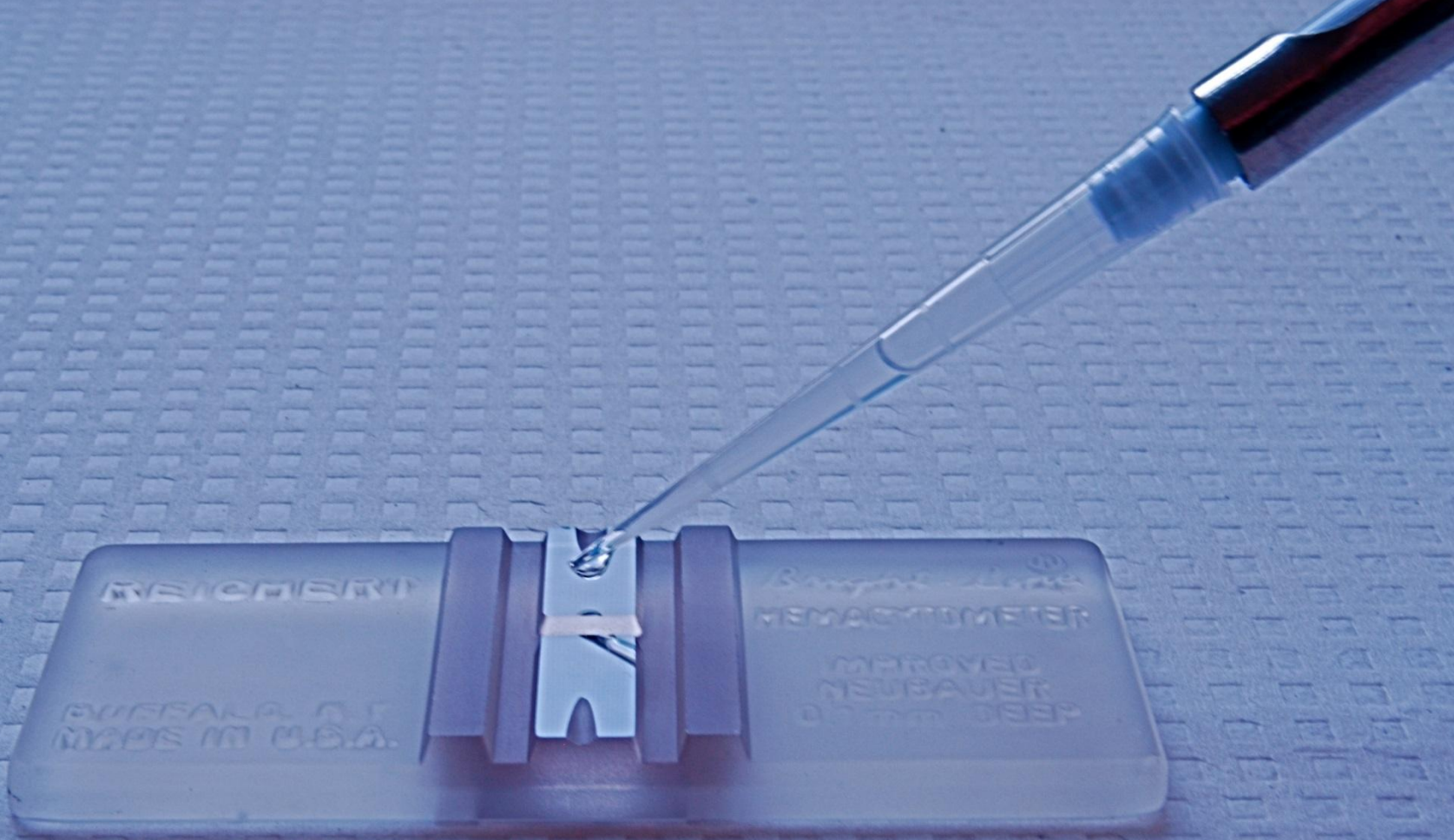
Download from
Dreamstime.com

This watermarked comp image is for previewing purposes only.



ID 3581375

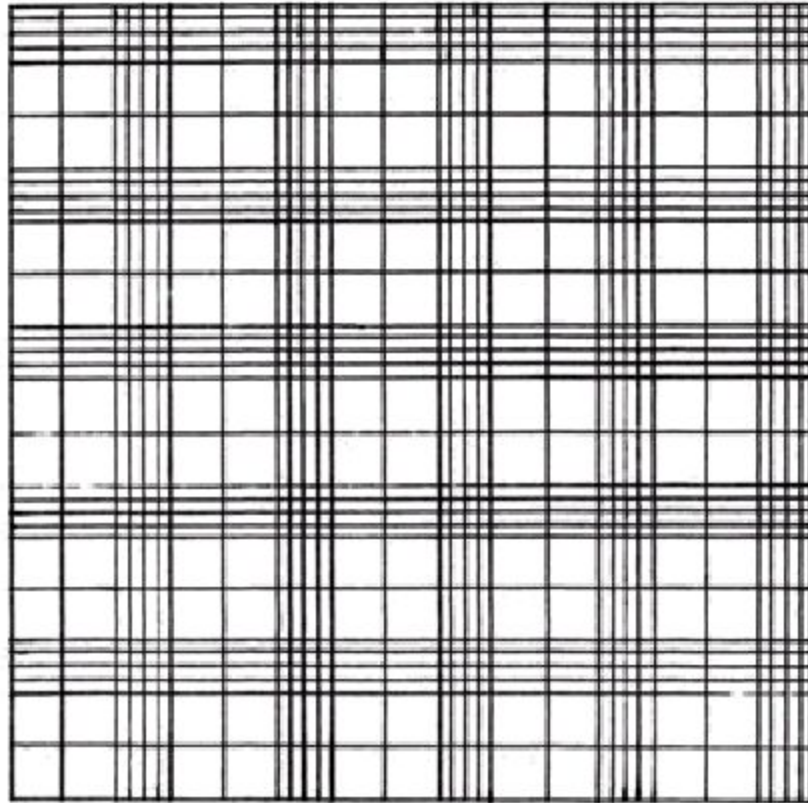
© David888lee | Dreamstime.com



GILLETTE

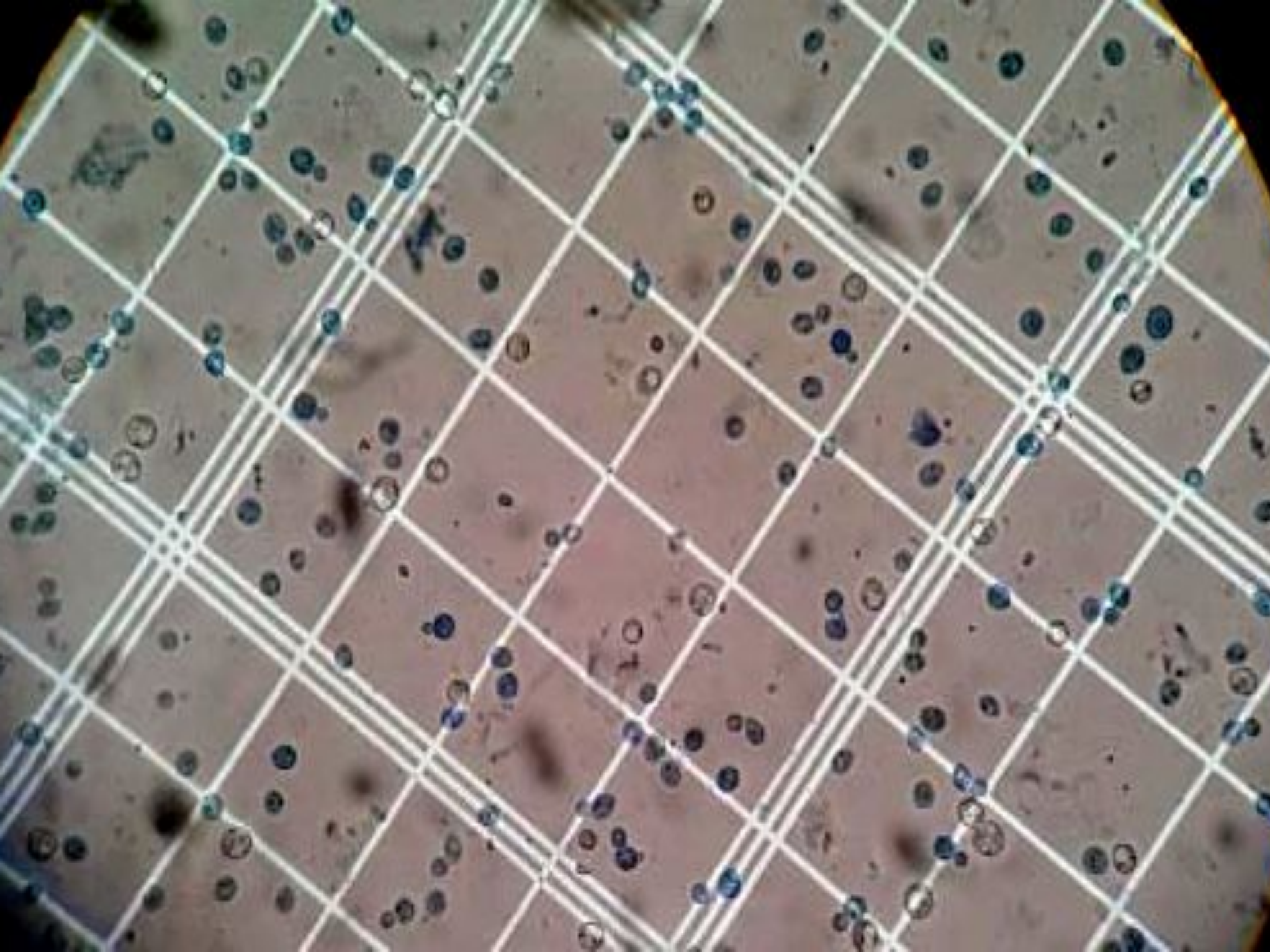
MADE IN U.S.A.

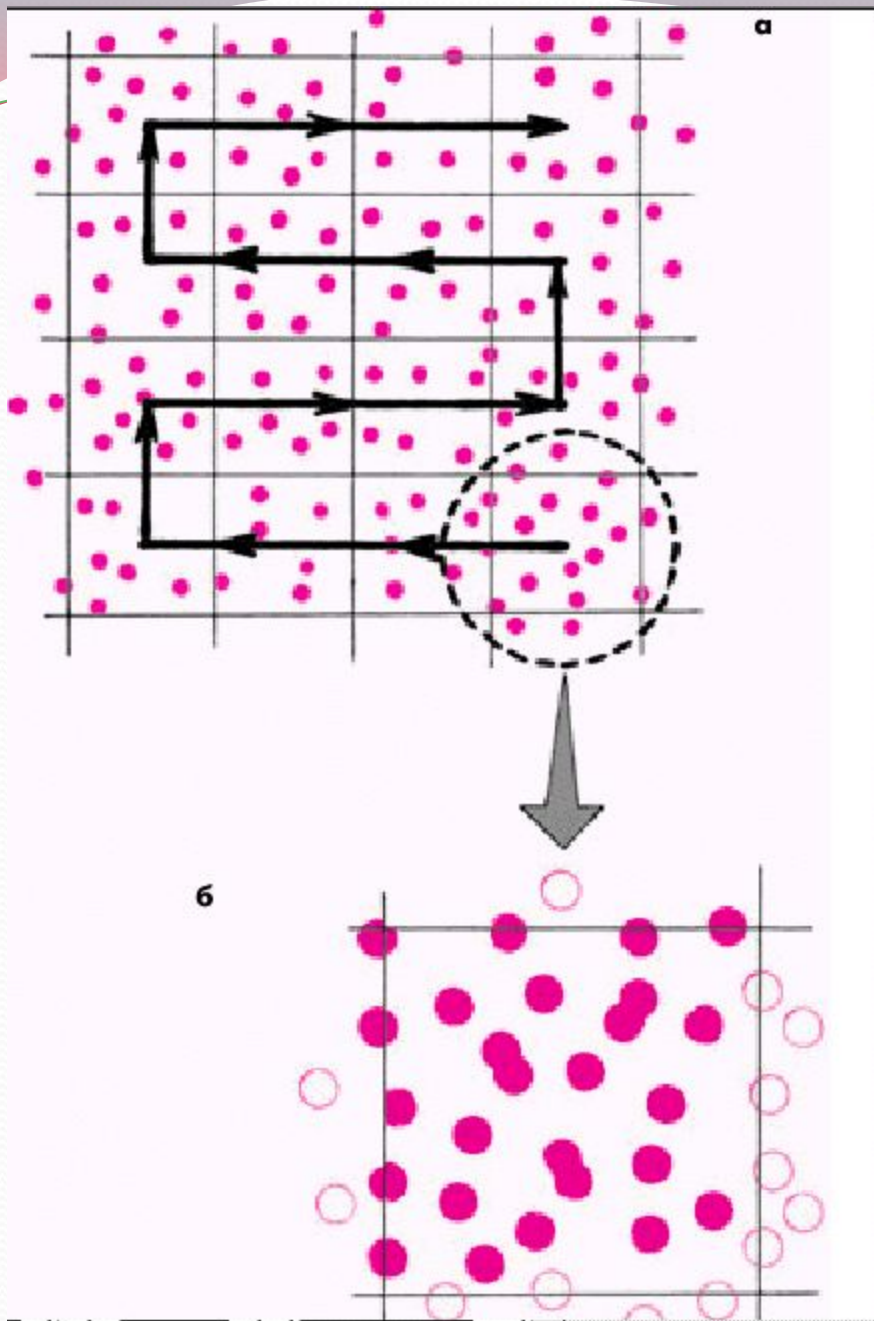
RETRACTOR
MADE IN U.S.A.



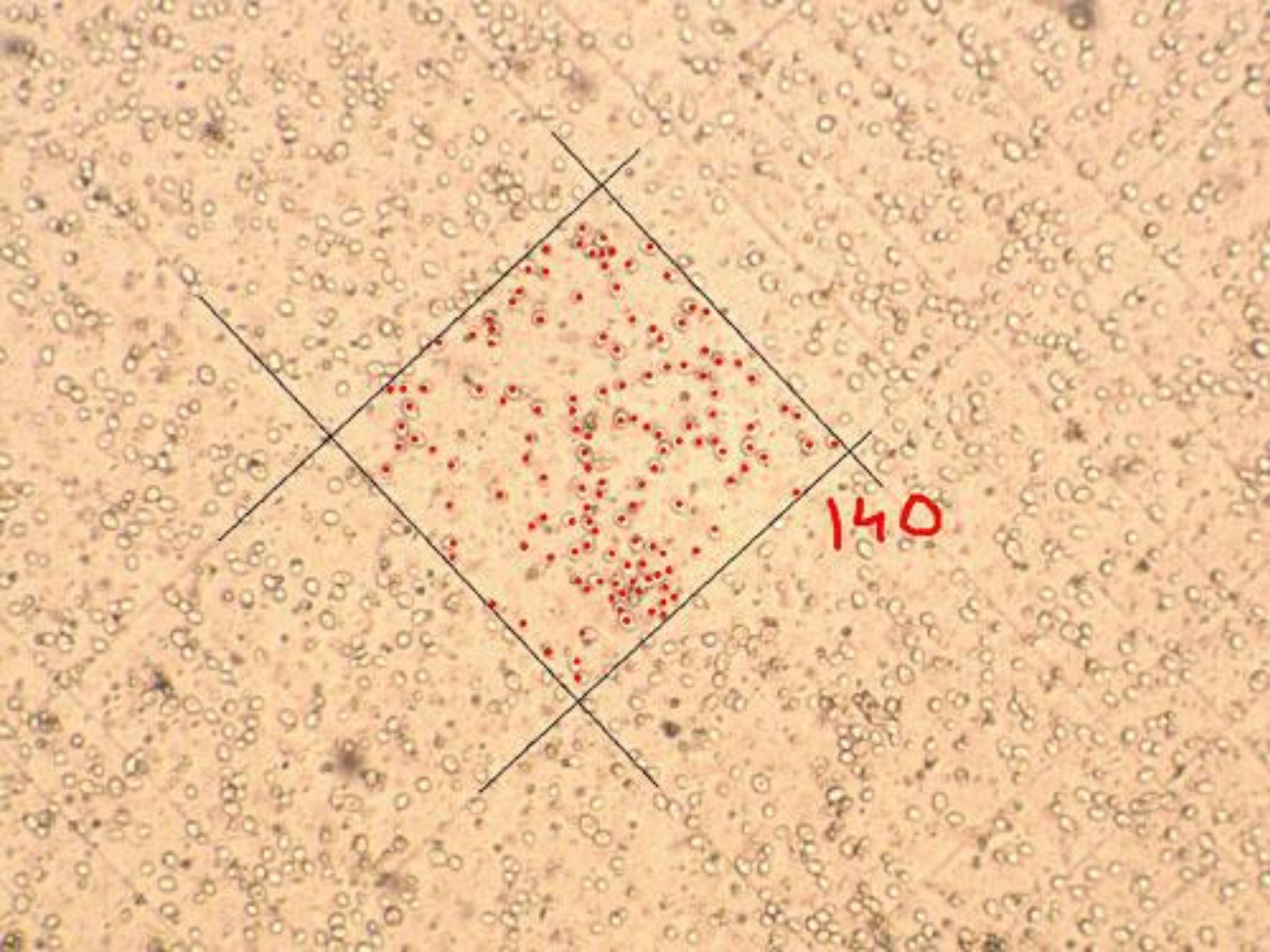
Әрбір Горяев торы 225 үлкен төртбұрыштардан тұрады, олардың 25 үлкен тағы да 16 кіші төртбұрыштарға бөлінген. Үлкен төртбұрыштың жаны 0,2 мм-ге тең, кіші төртбұрыштың жаны - 4 есе кем (0,05 мм). Сонымен, үлкен төртбұрыштың көлемі 0,04 мм² (4×10^{-2} мм²), кіші төртбұрыштың көлемі - 0,0025 мм² (25×10^{-4} мм²) құрайды.







Әрбір кіші төртбұрышта оның ішінде, төртбұрыштың сол және жоғары шегарасында орналасқан лейкоциттер саналады. Бұл бір лейкоцитті екі рет санап кетпеу үшін маңызды.



140

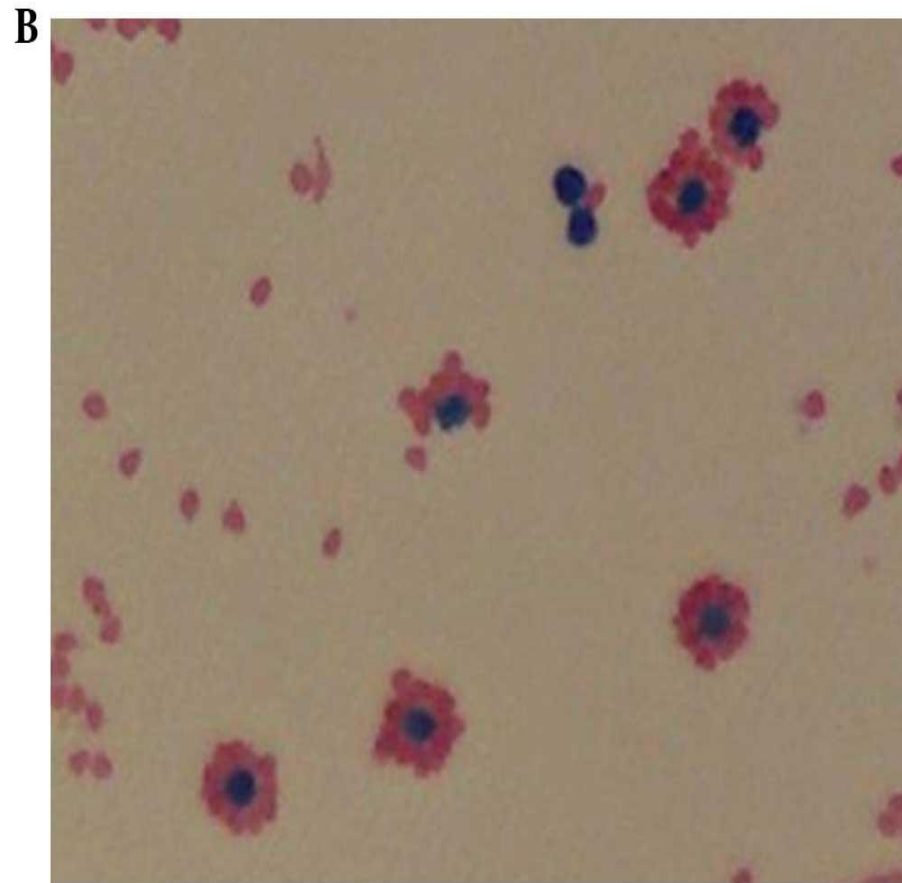
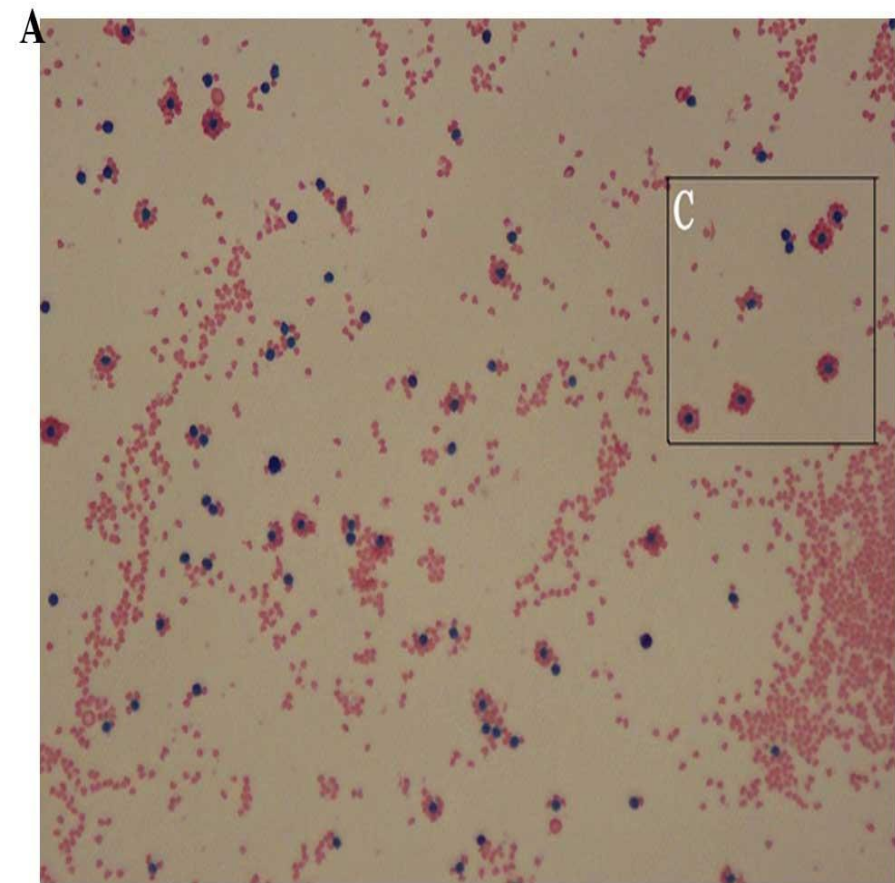
Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың 2-деңгейдегі сынамалары:

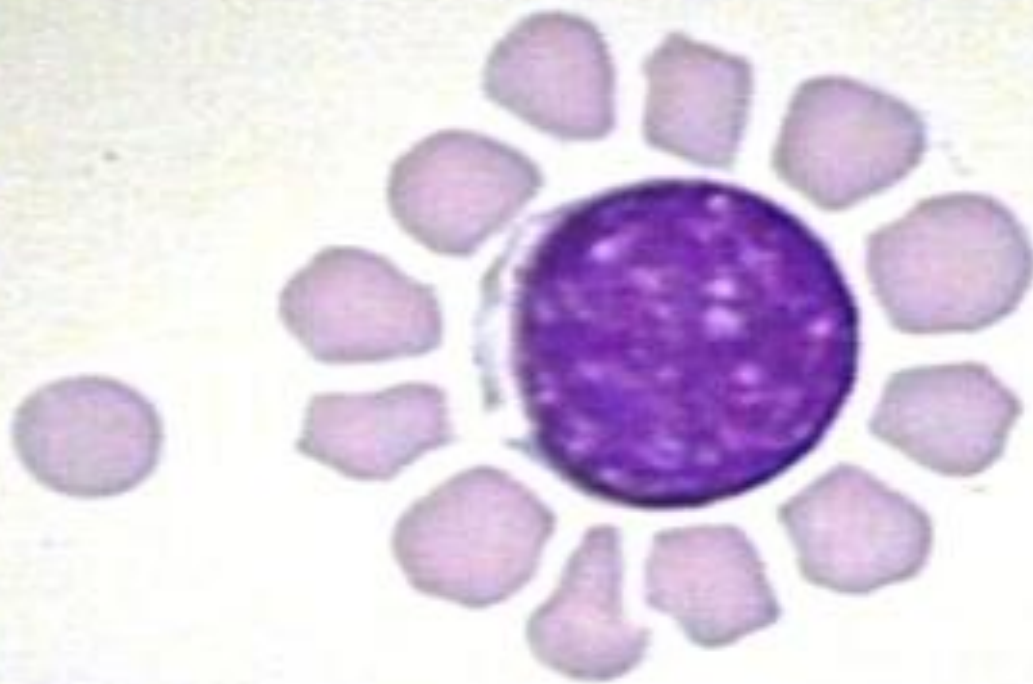
- Цитокиндердің (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИНФ және т.б.) бөлінуін анықтау
- Адгезия молекулаларын анықтау
- Тері сынамалары арқылы аллергиялық реакцияларды анықтау

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың әдістері:

- Е-розетка түзу (Е-РОК)
- Теофилинмен жүтеме жасау әдісі: Т-хелперлер мен Т-супрессорларды анықтау әдісі
- Лимфоциттердің бластты трансформациялану реакциясы (РБТЛ)
- Лейкоциттердің миграциялануын тежеу реакциясы (РТМЛ)
- Цитокиндердің өндірілуін анықтау

Розетка түзу сынаması – бұл шеткі қандағы Т-лимфоциттердің санын анықтау әдісі. Әдіс Т-лимфоциттердің барлық субпопуляцияларында қой эритроцитіне рецепторлардың болуымен және Т-лимфоциттердің олармен тығыз байланысу (розетка) қабілетінің болуымен негізделеді





Жасы

T-лимфоцит саны %

7-10

72±8

20-30

65±4

31-40

63±5

41-60

68±8

70-90

55±4

Белсенді Т-лимфоциттерді анықтау

Белсенді Т-лимфоциттер – бұл инкубациясыз розетка түзе алатын жасушалар

Қалыпты жағдайда шеткі қанда 23-40% белсенді Т-лимфоциттер анықталады

Спонтанды және белсендірілген фагоцитоз сынамалары

- Спонтанды және белсендірілген фагоцитоз сынамалары латекстің бөлшегін қолдану арқылы жүргізеді. Латекс пен фагоцитоз нейтрофилдердің латекс бөлшегін жұтуға негізделген (адгезия, ұстап алу және толық жұту). Серпілісті жүргізу кезінде, шеткі қаннан алынған лейкоциттерді латекс бөлшегінің суспензиясымен араластырады; индуцирленген фагоцитоз серпілісін жүргізу кезінде алынған қоспаға пирогенал ерітіндісін қосады. 30 минут бойы 37⁰ С инкубацияланғаннан кейін жағынды дайындап, бекітілген және Романовский-Гимза бояуымен боялған жағындыда латексті жұтқан нейтрофилдердің пайызын есептейді

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың зертханалық әдістері

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың 1-деңгейдегі сынамалары:

- Шеткі қандағы В-лимфоциттердің пайызы мен абсолюттік санын анықтау
- Сары суда G, M, A, E иммуноглобулиндерін анықтау

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың 2-деңгейдегі сынамалары:

- G иммуноглобулиндерінің субкластарын анықтау
- Секреторлық IgA анықтау
- Ақуызды және полисахаридті антигендерге қарсы спецификалық антиденелерді анықтау
- Пролиферативті қабілетін анықтау

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың әдістері:

- ЕАК-розетка түзу (ЕАК-РОК)
- ЕТ-розетка түзу (ЕТ-РОК)
- Манчини реакциясы: А, М, G иммуноглобулиндері деңгейін анықтау әдісі
- ИФА: Е иммуноглобулин деңгейін анықтау әдісі
- ИФА: жұқпалы және жұқпалы емес антигендерге қарсы спецификалық антиденелерді анықтау
- Циркуляциядағы иммундық комплекстерді анықтау (ЦИК)

В-лимфоциттердің санын анықтау

В-лимфоциттердің санын анықтау әдісі бұл жасушалардың бетінде иммуноглобулиндерге және комплементке спецификалық рецепторлардың болуымен негізделеді.

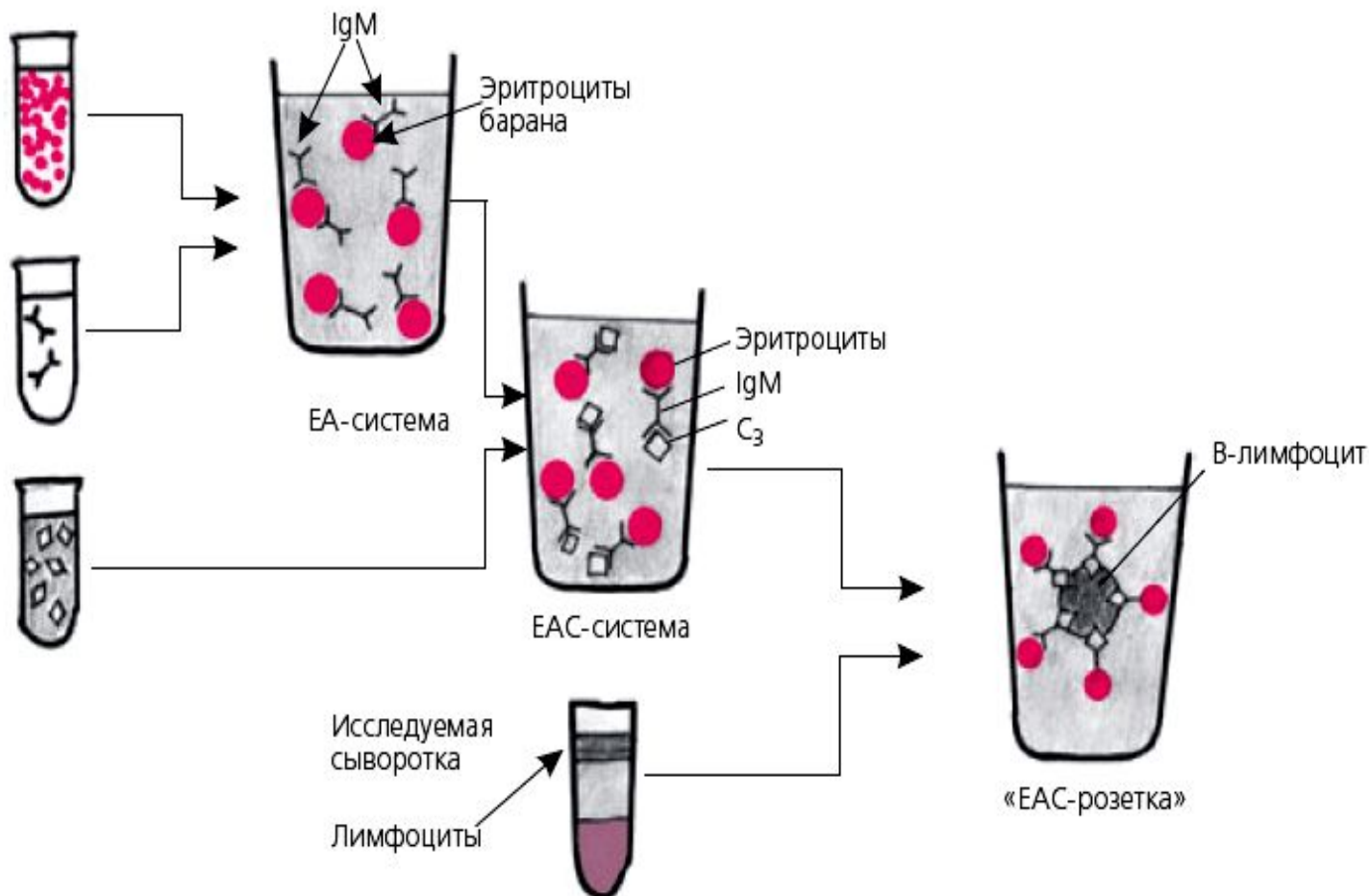
Шеткі қанда қалыпты жағдайда В-лимфоциттер 30-35% құрайды.

ЕАК-розетка түзу сынамасы

Эритроциты
барана

Антисыворотка
(IgM к
эритроцитам
барана)

Сыворотка
мышей C₃

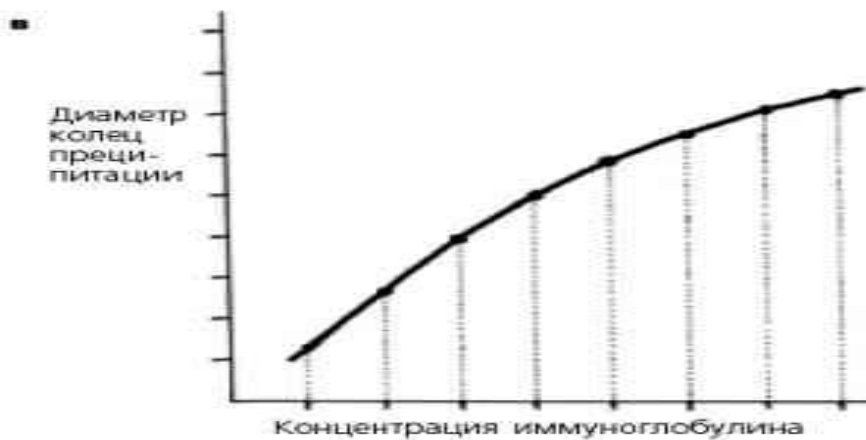
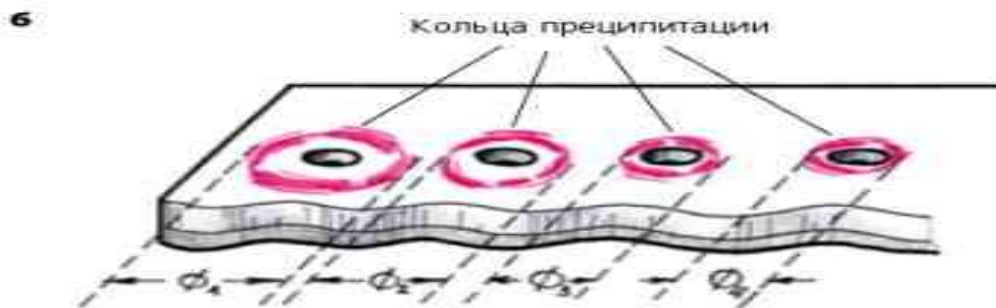
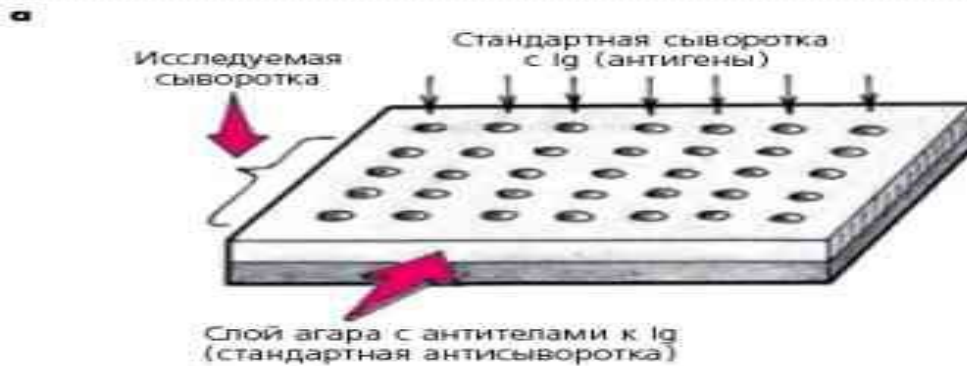


Реакцияны қоюға қои эритроциттеріне қарсы антиденелері (IgM) бар анти сары су (қоянды қой эритроциттерімен иммунизациялау арқылы алынады) және құрамында комплемент бар тышқанның сары суы қажет.

Спецификалық гуморалдық иммунитетті зерттеу:

- Қан сары суында әртүрлі иммуноглобулиндердің құрамын анықтау (радиалді иммунодиффузия (РИД))
- Спецификалық антиденелердің құрамын анықтау
- Циркуляциядағы иммундық комплекстерді анықтау

Радиалді иммунодиффузия әдісі



адамдарда)

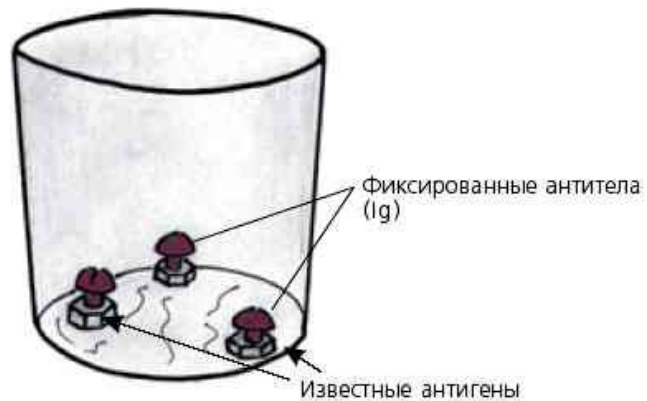
Ig	Қан сары суында мөлшері	%
Ig M	0,5-1,9 г/л	6%
IgG	8-16,8 г/л	75-80%
IgA	1,4-4,2 г/л	13%
IgE	0,00005-0,00003 г/л	0,002%
IgD	0,03-0,04 г/л	1%

Спецификалық антиденелердің құрамын анықтау

а



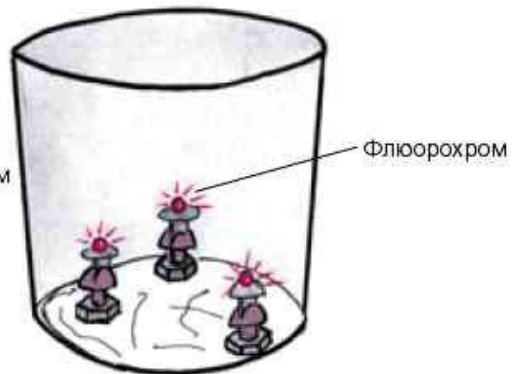
б



в



г



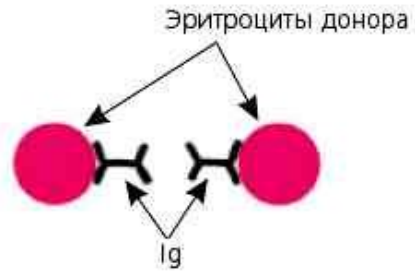
(Кумбс реакциясы)

а

Исследуемая сыворотка (неполные антитела)

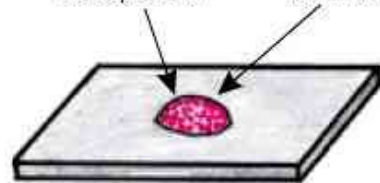


Эритроциты донора [O(I); Rh+]

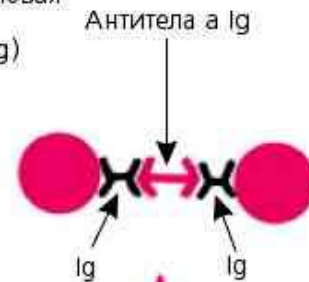


б

Эритроциты, "обработанные" исследуемой сывороткой



Стандартная антиглобулиновая сыворотка (антитела к Ig)



Агглютинация эритроцитов

Иммундық комплекстерді анықтау

Радиоиммундық әдіс

