

Реакция бласттрансформации лимфоцитов



РБТЛ

- О функциональной активности **Т- и В-лимфоцитов** судят по реакции бластной трансформации (РБТЛ) с использованием митогена - фитогемагглютинаина (ФГА).
- **Реакция бласттрансформации** характеризует способность лейкоцитов к трансформации и размножению под воздействием антигенов, аллергенов и митогенов.

- Проллиферативный ответ **лимфоцитов** на антигены даёт представление о выраженности специфической сенсибилизации организма.
- Реакция бласттрансформации применяется для комплексной оценки **иммунного статуса** больного.

■ Метод определения РБТЛ:

Микроскопия.

■ Нормальные пределы РБТЛ:

1) Для РБТЛ с ФГА: 50-70%

2) Для РБТЛ с антигеном: отрицательный

■ Материал для анализа РБТЛ:

Плазма крови.

Забор крови осуществляется в пробирку с гепарином. Кровь должна быть доставлена в лабораторию в течение 2 часов.

- Подготовка пациента к РБТЛ:
Забор крови осуществляют в утренние часы натощак. Накануне исследования и в день забора крови исключить жирную пищу.
- Факторы, влияющие на РБТЛ:
Снижают: цитостатики, иммунодепрессанты, кортикостероиды, облучение ионизирующей радиацией.

Спонтанная РБТЛ

- суспензию спленоцитов (5×10 кл./мл) на "среде культивирования" разливают в 96-луночную панель по 200 мкл в лунку (по три лунки на каждый образец) и инкубируют в СО-инкубаторе (5% СО) при температуре 37 град.С в течение 72 ч.
- добавляют Н-тимидин в объеме 25 - 50 мкл в среде RPMI-1640 на лунку и инкубируют в тех же условиях еще 16 - 24 ч.
- по окончании инкубации клетки переносят на фильтры, фильтры после сушки в термостате помещают во флаконы, содержащие по 3 мл сцинтилляционной жидкости (на 1 л толуола 0,2 г PPO и 5 г PPO).

РБТЛ под влиянием митогенов

- Постановку РБТЛ под влиянием митогенов осуществляют так же, как спонтанную, только в опытные лунки добавляют Т- или В-клеточные митогены (не менее 3 лунок на каждый митоген) в оптимальной стимулирующей дозе (КонА 1 - 15 мкг/мл, ФГА 10 - 15 мкг/мл, ЛПС 15 - 100 мкг/мл). Контролем служат лунки с взвесью лимфоцитов без добавления митогенов.

- Некоторые митогены селективно стимулируют различные субпопуляции лимфоцитов.
- Например, КонА стимулирует тимоциты, зрелые и незрелые Т-клетки, ФГА стимулирует пролиферацию только зрелых Т-клеток. Такие митогены, как липополисахарид и бактериальный липопротеин, стимулируют пролиферацию В-клеток.
- Благодаря этой селективности митогены могут использоваться для характеристики функционального состояния различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток.

Учёт результатов

- Радиоактивность (имп./мин.) образцов измерить с помощью бета-счетчика. Учет реакции можно проводить визуально, определяя процент бластных форм лимфоцитов. Результаты представляют в виде индексов стимуляции клеток (ИСК), которые подсчитывают по формуле:

$$\text{ИСК} = \frac{\text{имп./мин. в культуре с митогеном}}{\text{имп./мин. в культуре без митогена}}$$

Расшифровка анализов

■ РБТЛ с ФГА

- Повышение: гиперактивность иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях, активация антитрансплантационного иммунитета, острый период первичной инфекции, иммунный ответ на тимусзависимые антигены.
- Снижение: онкологические заболевания, вторичные иммунодефициты, первичные иммунодефициты, СПИД, тяжёлые вирусные инфекции, тяжёлые ожоги, травмы.

Расшифровка анализов

- **РБТЛ с антигеном:**
- Наличие пролиферативного ответа лимфоцитов на определенный антиген даёт представление о наличии и выраженности специфической сенсibilизации организма.