УДК 577. 27 : 576

ДИНАМІКА АКТИВОВАНИХ ЛІМФОЦИТІВ В ПРОЛОНГОВАНИХ КУЛЬТУРАХ ЛІМФОЦИТІВ, СТИМУЛЬОВАНИХ МІТОГЕНАМИ ТА АНТИГЕНАМИ

Фролов О.К., Федотов Є.Р., Лупиніс О.В., Копійка В.В., Лагрон В.А.

Більша частина закономірностей реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) вивчена в короткостроковій 3-добовій культурі, стимульованій поліклональними мітогенами (час початку синтезу ДНК, тривалість мітотичного циклу, пік проліферативної реакції [1, 2], кратність мітозів [3]). У клінічній імунології короткострокова РБТЛ застосовується для визначення проліферативних потенцій лімфоцитів [4]. Пролонгована (7-10 і більше діб) культура лімфоцитів має переваги над короткостроковою, а саме: окрім етапів активації, бластної трансформації та проліферації лімфоцитів включає і елементи диференцірівки, яку проходять послідовно клітини, що діляться. Такі здобуті ознаки зберігають новоутворені в лімфоїдних органах лімфоцити, які виходять у циркуляцію. Тому пролонгована культура лімфоцитів є моделлю імуногенезу, що проходить в організмі і дозволяє виявляти та характеризувати ознаки активованих лімфоцитів, що і стало метою нашого дослідження у зв'язку з поставленою в клінічній імунології проблемою - розробкою патогенетичного підходу до аналізу стану імунної системи [5].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Пролонговану культуру, стимульовану поліклональними мітогенами, ставили з венозної гепаринізованої (0,2 мг/мл, Спофа) крові 4-х донорів у віці 21-26 років (2 жінки і 2 чоловіка) та 2 чоловіків, хворих ревматоїдний артрит (РА) у віці 28 і 32 років. Перший з них був обстежений до призначення глюкокортикоїдів, другий - у процесі терапії, яка включала глюкокортикоїди в терапевтичних дозах. Лімфоцити виділяли на фікол-верографиновому градієнті 1,078 г/мл. Відмиті лімфоцити розводили живильною сумішшю (середовище 199, 20% ембріональна теляча сироватка (ЕТС), 0,1 мг/мл глутаміну, 0,02 мг/мл аспарагіну, 100 од/мл канаміцину) у кінцевій концентрації $0,8x10^6$ клітин на мл, розливали по флаконах об'ємом 20 $см^3$ по 3 мл. Живильну суміш змінювали кожні 3 дні культивування. З отриманної суспензії лімфоцитів проводили 4 види дослідів: у першому досліді лімфоцити культивували без мітогенів, у другому - лімфоцити спочатку одноразово стимулювали 20 мкг/мл фітогемаглютиніном (ФГА) ("Діфко П"); у третьому - постійно додавали 20 мкг/мл ФГА при кожній зміні середовища; у четвертому - лімфоцити стимулювали ФГА як і у другому досліді, тільки на початку культивування. У культурах перших трьох дослідів вивчалась динаміка частот класів лімфоцитів без асоціацій акроцентричних хромосом і з двома акроцентриками в асоціації (КЛ 0+2 ААХ), для чого зразки культури через деякий час субкультивували з одним із мітогенів. У четвертому досліді цитологічні та імунологічні показники зразків культур вивчали без субкультивування. Попередніми дослідженнями показано, що до даних класів відносяться ранні новоутворені постпроліферативні активовані лімфоцити [6]. Для одержання препаратів хромосом через визначений час культивування частину зразків кожного з 3-х дослідів відбирали і піддавали субкультивуванню. Для цього у відібраному зразку змінювали живильну суміш і додавали один з мітогенів: 20 мкг/мл ФГА або 2мкл/мл мітогену лаконосу (МЛ) (Сігма), маючи на увазі, що на ФГА реагують, в основному, Т-лімфоцити, а під дією МЛ відбувається Т-залежна проліферація В-лімфоцитів [7]. Субкультури з ФГА фіксували через 52-54 години, а з МЛ - через 64 години культивування, коли інтактні лімфоцити діляться в основному перший раз і зберігають початкове розташування хромосом ядра. У досліді 4 відбирались зразки культури без субкультивування. У них вивчалась реакція бластної трансформації цитоморфометричним методом при аналізі 500 мононуклеарів, спонтанне розеткоутворення з еритроцитами барану (ЕБ) у 200 Т-лімфоцитах при постановці реакції з додаванням в середовище 199 20% ЕТС і за допомогою окуляр-мікрометру на мазках з культур в 200 лімфоцитах вимірювали діаметр клітин. Серед розткоутворюючих Т-лімфоцитів визначали частоту класів, яки приєднали 8 і більше ЕБ, середній діаметр розеткоутворюючих і нерозеткоутворюючих лімфоцитів.

З частини лімфоцитів зразка культури виготовлювали мазки, в яких вивчали реакцію бластної трансформації лімфоцитів та частоту розмірних класів лімфоцитів (КЛ). РБТЛ оцінювали цитоморфологічним методом при аналізі 500 мононуклеарів, а розмірні КЛ визначали цитоморфометричним методом шляхом вимірювання діаметру клітин за допомогою окуляр-мікрометру і визначення долі лімфоцитів з діаметром до 6,0 мкм в 200 лімфоцитах. У залишеній частці лімфоцитів

визначали реакцію спонтаного розеткоутворення з еритроцитами барану (Е-РУК) за загальноприйнятим методом [8], але з обов'язковим додаванням у культуральне середовище 20% ЕТС, яка сприяє кращому проявленню рецепторів до ЕБ. В фіксованих препаратах Е-РУК в 4-х його частинах вивчали загальну частоту Е-РУК і з них високоавідних, які приєднали більше 8 ЕБ і середню кількість приєднаних до лимфоцитів ЕБ. Окрім цього, визначали середній діаметр нерозеткоутворюючих та розеткоутворюючих клітин.

Однонаправлену змішану культуру ставили за рекомендованим методом [9] з гепаринізованої венозної крові 10 подружніх пар, обстежених з метою вивчення ступеня сумісності їх лімфоцитів по HLA-системі. Після 7 діб культивування у виготовлених препаратах вивчали РБТЛ та розеткоутворюючу здатність лімфоцитів до ЕБ як було описано вище.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У культурах без попереднього додавання ФГА клітини мали вид малих лімфоцитів на протязі всього досліду. Їх кількість різко зменшувалась по мірі культивування за рахунок відмирання клітин. Препарати хромосом вдалося отримати в субкультурах 1 і 2 донорів тільки до третьої доби культивування. Після цього терміну РБТЛ на ФГА та МЛ, а отже і мітози, у субкультурах були відсутні навіть при доведенні кількості клітин до оптимальної концентрації ($1 \cdot 10^6$/мл) шляхом об'єднання культур з декількох флаконів. У третього донора в першому досліді інтактні лімфоцити реагували на поліклональні мітогени аж до сьомої доби культивування, після чого також як у 1 і 2 донорів з третьої доби наступала ареактивність лімфоцитів на мітогенні стимули і прогресивне відмирання лімфоцитів.

У вихідних субкультурах частота КЛ 0+2 ААХ перевищувала при їх стимуляції МЛ порівняно з ФГА, причому в 1 донора ця різниця була більше ніж у 3 рази, у 2 і 3 донорів - мінімальна - 8% і 2% відповідно. По мірі культивування без мітогенів (третя доба) у 1 донора ця різниця залишалась на початковому рівні, тоді як у 2-го донора перевищення КЛ 0+2 ААХ у МЛ-стимульованій культурі було вдвічі, а в 3-го донора ця різниця складала 21%. У 3-го донора, в якого лімфоцити зберігають здатність до відповіді на мітогени на 5-тій добі культивування, цитогенетичний показник продовжував зростати з перевищенням у культурах з МЛ. На 7-мій добі, найбільший строк отримання субкультур, частота КЛ 0+2 ААХ майже зрівнялась на рівні 50% і 56% у флаконах з ФГА та МЛ відповідно.

Виживання та РБТЛ лімфоцитів у пролонгованій культурі з одноразовим у момент постановки введенням ФГА були задовільними (дослід 2, таблиця 1). Препарати хромосом вдалося отримати в культурах до 15 доби культивування (строк спостереження). У донора 1 частота КЛ 0+2 ААХ у субкультурах з ФГА і МЛ підвищувалась до 9-ої доби, а з 11-12-ої доби спостерігався короткочасний спад з наступним підйомом до 15-ої доби. Причому аналізований показник в усіх субкультурах, стимульованих МЛ, був вище, ніж з ФГА. У донора 2 в процесі культивування відзначалося повільне підвищення частоти КЛ 0+2 ААХ, яке перевищувало величину першого донора. Превалювання показника в МЛ-стимульованих культурах відмічалось тільки на початку культивування.

У досліді 3 при постійному додаванні ФГА з кожною зміною середовища, проліферативна активність лімфоцитів у субкультурах була також висока на протязі всього досліду. Початкова частота КЛ 0+2 ААХ обстежених хворих РА була значно нижче, ніж у донорів, особливо у другого хворого, який на момент обстеження приймав преднізолон. У нього відмічались більш низькі рівні збільшення даного показника в процесі культивування. Однак, у обох хворих підйом частоти КЛ 0+2 ААХ супроводжувався короткочасним спадом на 9-11-ту добу культивування.

Порівняння цитогенетичних результатів трьох дослідів виявило схожість і відмінності. Схожість полягала в тому, що в процесі культивування збільшувалась частота КЛ 0+2 ААХ в аналізованій популяції лімфоцитів. Однак, генез даного збільшення в досліді 1 відрізнявся від дослідів 2 і 3. Так, в останніх збільшення КЛ 0+2 ААХ пояснюється проходженням лімфоцитами під впливом мітогенів серії мітотичних ділень, при яких як було вже неодноразово доведено, руйнуються асоціації акроцентриків. У досліді 1 при відсутності мітогенів збільшення КЛ 0+2 ААХ у субкультурах, які вдавалося отримати, можна пояснити тільки лише втратою реактивності на мітогени та відмиранням при відсутності факторів росту в першу чергу лімфоцитів, більш довго циркулюючих у рідкому середовищі організма і що відносяться до КЛ 0+2 ААХ. КЛ 0+2 ААХ є активовані нещодавно утворені в лімфоїдних органах. Тому, значно менше залежать від факторів росту. Першовідкривачі феномена ареактивності і відмирання лімфоцитів без антигенної та мітогенної стимуляції пояснювали його активацією в цих умовах неспецифічних спонтанних супресорних клітин, які не тільки самі безпосередньо, але й через супернатант інгібірували проліферативну реакцію свіжоотриманих лімфоцитів [10].

Зараз заперечується наявність окремої субпопуляції супресорних Т-лімфоцитів [11]. Регуляція клітинного і гуморального імунітету в організмі здійснюється почерговою активацією Tx_1 та Tx_2, які взаємно інгібірують одна другу у випадку активації однієї із субпопуляцій. Одночасна подовжена відсутність антигенної та мітогенної стимуляції лімфоцитів є ситуацією, яка не спостерігається в організмі. Тому, виходячи з подвоєності функцій Тх, можна припустити, що в цих умовах обидві субпопуляції Tx_1 та Tx_2 одночасно виробляють супресорні фактори, що біологічно виправдано для

збереження енергоструктурних ресурсів, якщо екстраполювати їх функцію на організменний рівень. В організмі також вибірково відмирають тільки ті клони лімфоцитів, які після їх утворення не зустрілися з антигеном і не були активованими.

В усіх трьох дослідах виявлена функціональна гетерогенність лімфоцитів по частоті КЛ 0+2 ААХ в субкультурах, стимульованих ФГА та МЛ; в останніх частота даного показника була вище, ніж в перших. Відомо, що низькі концентрації МЛ стимулюють синтез ДНК в основному в В-лімфоцитах, а оптимальні дози ФГА стимулюють більшість Т-лімфоцитів[12]. Якщо врахувати, що частота КЛ 0+2 ААХ відображає долю новоутворених лімфоцитів, то більш висока частота даних цитогенетичних класів в культурах з МЛ порівняно з ФГА підтверджують дані літератури [13], що строк життя популяцій В-лімфоцитів значно коротший, ніж Т-лімфоцитів, тому гістогенез та оновлення клітинного складу в них відбуваються більш інтенсивно.

Проліферативна реакція мітоген-стимульованих культур супроводжується прогресивним збільшенням частоти КЛ 0+2 ААХ за рахунок розпаду ААХ, так що в кінцевих культурах дані класи переважали і при цьому часто нівелювалась різниця показників субкультур ФГА та МЛ. Однак дане збільшення в пролонгованих культурах біло нерівномірним і чергувалося короткочасним спадом (на 11 добу у першого донора та 9-у - у хворих РА). Даний спад приросту КЛ 0+2 ААХ був обумовлений додатковим залученням в проліферативну реакцію лімфоцитів, які залишалися інтактними до цього строку культивування. Імовірним поясненням даного феномена можуть бути регуляторні взаємовідношення між Tx_1 і Tx_2, що залежать від концентрації клітин. При початковій відносно високій концентрації клітин активні субпопуляції Тх залучають в проліферативну реакцію переважно Т-лімфоцити. При зниженні концентрації клітин по мірі культивування, що фактично відбувалося, активувалися Tx_2 субпопуляція та відповідно залежні від них лімфоцити, переважно В-лімфоцити. При цьому до цього строку обстеження відмінності цитогенетичних показників в субкультурах з МЛ та ФГА знижалися та вирівнювались. Нелінійну S-образну проліферативну реакцію на екзогенний інтерлейкін 2, що залежить від концентрації лімфоцитів та обумовлену взаємодією Tx_1 і Tx_2, спостерігали і інші автори [11].

У досліді 4 після одноразової стимуляції лімфоцитів ФГА аналізували клітинні зміни за більш короткі інтервали культивування та без додаткового субкультивування (таблиця 2). Динаміка РБТЛ на ФГА в культурі відповідала відомим закономірностям: її максимум спостерігався через 72 години культивування з наступною стабілізацією та зниженням. Більшість бласттрансформованих лімфоцитів та їх нащадків піддавалася апоптичній елімінації, що є закономірним явищем для імуногенезу як in vitro, так і in vivo [14]. Роль активаційного апоптозу лімфоцитів полягає в регуляції об'єму наробки клонів відповідної специфічності, усунення клітин, які не можуть бути реалізованими в цьому мікрооточенні та в результаті інших ще мало вивчених причин [15]. Однак вже на підставі регулярності апоптозу при формуванні імунної відповіді запропоновано його тестування для характеристики імунної системи по патогенетичному принципу. Відповідно з РБТЛ змінювались цитоморфометричні та розеточні показники. Так, частота КЛ≤6,0 мкм зменшувалась при втягуванні лімфоцитів в проліферативну реакцію, досягаючи мінімальних значень на найбільшій висоті РБТЛ, а після неї, починаючи з 96 години пролонгованої культури лімфоцитів, доля КЛ≤6,0 мкм збільшувалась, перевищуючи початковий рівень. Цей підйом обумовлений в значній мірі новоутворенням вторинних малих лімфоцитів, що утворилися внаслідок швидкої серії послідовних мітозів, а також зниження бласттрансформаційної та проліферативної потенції лімфоцитів в процесі пролонгованого культивування.

Динаміка змін розеткоутворення Т-лімфоцитів співпадала з функціональними ознаками СД2-структури : активації та адгезії. У період активації культури на 8 і 24-31 годині культивування спостерігались перші значні підйоми розеткоутворюючої здібності Т-лімфоцитів та їх авідності до ЕБ. Бласттрансформація та проліферація, максимуми яких приходились на 72, 96 години культивування (3-тя та 4-та доба), супроводжуються елементами дедиференціровки клітин. З цих позицій стає поясненим зниження експресії СД2, а з нею і розеткоутворення Т-лімфоцитів в ці строки фіксування культури. Через СД2 структури в клітині вже був проведений активуючий та мітогенний сигнал на попередніх етапах (24-31 годинах культивування). Тому на етапах бласттрансформації та проліферації функціональне навантаження на даний рецептор знижується.

На подальших етапах культивування бласттрансформаційна та проліферативна активність лімфоцитів зменшується, але посилюються диференційні процеси в утворених вторинних малих лімфоцитах, частка яких знов зростає в культурі. Імовірно, внаслідок цих перетворень частота Е-РУК та авідність Т-лімфоцитів до ЕБ зростає, що необхідно для полегшення їх адгезії до високого епітелію посткапілярних венул при майбутній рециркуляції та наступній активації при ефекторних та регуляторних реакціях. Приведена гіпотеза підтверджується порівнянням цитоморфометричних та розеточних показників. Так, середня кількість прикріплених ЕБ до Т-лімфоцитів була максимальною в періоди активації та в постпроліферативні періоди, тоді як на висоті РБТЛ даний показник був мінімальним. Між середнім діаметром Е-РУК та середнім числом приєднаних ЕБ виявлена негативна кореляція ($r=-0,74$, $p<0,01$), що є високою для біологічних досліджень.

Подібна закономірність нами виявлена і в однонаправленій змішаній культурі лімфоцитів (ЗКЛ). ЗКЛ ставили по загальноприйнятому методу з лімфоконцентрата, отриманого з крові 10 подружніх пар молодого віку. Відповідаючими служили лімфоцити жінки, стимулюючими - лімфоцити чоловіка, які попередньо обробляли мітоміцином С (Сігма)(16 мкг/мл). Відомо, що первинна проліферативна реакція в ЗКЛ обумовлена різницею в основному по HLA-DR-локусу. Результати досліду представлені в таблиці 3. Частота Е-РУК та КЛ≥8 ЕБ значно знижувалась через 7 днів однонаправленої ЗКЛ. Причому ступінь зниження розеткоутворюючої здатності змінювався в залежності від інтенсивності РБТЛ, яка в свою чергу була обумовлена ступенем різниці антигенів D-регіону. Так, між рівнем РБТЛ і зниженням Е-РУК, коефіцієнт кореляції дорівнював 0,84, а зниженням КЛ≥8 ЕБ - відповідно 0,70. Даний дослід ще раз підтверджує переважну функцію СД2-структури - участь на початкових стадіях активації та в наступній адгезії Т-лімфоцитів.

Таким чином, моделювання основних етапів імуногенезу в пролонгованій культурі лімфоцитів, стимульованій мітогенами та в ЗКЛ, доказало зв'язок цитогенетичних, цитоморфометричних та авідних розеткових ознак з його окремими етапами. З цього випливає, що за наявністю таких ознак на циркулюючих у внутрішньому середовищі лімфоцитах можна судити про стан імунної системи організму.

Інтенсивність РБТЛ істотно різнилася у різних подружніх пар і коливалася у межах 7-30%. Ця різниця була обумовлена ступенем алельного поліморфізму по D-регіону і може враховуватися при прогнозуванні протікання вагітності [16]. Жінкам з низькими показниками РБТЛ в ЗКЛ рекомендують цитотерапію пулірованими лейкоцитами.

ВИСНОВКИ

1. У пролонгованій культурі лімфоцитів проходило хвильообразне збільшення частоти КЛ 0+2 ААХ за рахунок додаткового втягування в проліферативну реакцію інтактних лімфоцитів, що, імовірно, було результатом зміни активації Tx_1 і Tx_2 в процесі зниження концентрації клітин у культурі.

2. Частота КЛ≤6,0 мкм знижувалась на протязі 3-х діб культивування по мірі втягнення лімфоцитів в РБТЛ і збільшувалась після 4-х діб у результаті їх новоутворення після серії мітозів та диференціровки.

3. У пролонгованій культурі лімфоцитів та в ЗКЛ максимальні значення Е-РУК та КЛ≥8 ЕБ спостерігались у період активації лімфоцитів і в постпроліферативний період, а мінімальні - на висоті бласттрансформаційної та проліферативної активності, при цьому між авідністю Т-лімфоцитів до ЕБ та розміром клітини спостерігалася висока негативна кореляція, що співпадає з функцією СД2-структури в активації та проліферації лімфоцитів

Таблиця 1 - Частота КЛ 0+2 ААХ в субкультурах лімфоцитів, стимульованих ФГА (чисельник) та МЛ (знаменник), відібраних з культур без попередньої стимуляції ФГА (дослід 1), одноразово стимульованих ФГА в день постановки культури (дослід 2) і при постійному додаванні ФГА при зміні середовища (дослід 3)

№ досліду, хворі, донори	Строк культивування, доба														
	0	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Дослід 1															
1-й донор	14/48	18/40	x	--	x	--	--								
2-й донор	38/46	30/62	x	--	x	--	--								
3-й донор	28/30	36/57	x	42/61	x	50/56	--								
Дослід 2															
1-й донор	14/48	21/58	43/71	48/78	45/74	42/68	x	46/52	x	24/30	x	31/50	x	54/66	x
2-й донор	38/46	44/51	68/62	72/66	73/61	70/66	x	82/79	x	90/75	x	80/80	x	85/83	x
Дослід 3															
1-й хворий	16	36	61	64	50	56	64	34	36	46	66	64	60	60	70
2-й хворий*	6	7	24	28	42	36	60	24	14	30	40	42	38	38	65

Примітка : * - хворий до дослідження отримував преднізолон у середніх дозах ; x - у даний строк культивування аналіз не проводився; -- відсутність РБТЛ у культурі.

Таблиця 2 - Динаміка цитоморфометричних і розеткових з ЕБ показників у пролонгованій культурі лімфоцитів, одноразово стимульованій ФГА в день постановки досліду

№ етапу	Строк культиву-вання, час (доба)	РБТЛ на ФГА, %	КЛ≤ 6,0 мкм, %	Серед-ній діаметр клітини, мкм	Е-РУК,%	КЛ≥8 ЕБ, %	Середній діаметр Е-РУК, мкм	Середній діаметр не Е-РУК, мкм	Середня кількість ЕБ на клітину Е-РУК	Кількість живих мононуклеарів у флаконі, млн. в 3 мл
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	0	0	22.1±2.5	7.2±0.14	35.5±3.4	15.0±2.5	5.3±0.11	5.1±0.10	6.9±0.07	4.5
2	1	0	17.0±2.4	8.4±0.16	42.3±3.5	9.5±2.1	5.4±0.11	5.8±0.12	5.6±0.08	4.5
5	5	7.0±0.9	26.0±2.9	7.6±0.14	35.0±3.4	9.2±2.0	5.7±0.12	6.0±0.13	5.9±0.08	4.4
6	8	7.0±0.8	33.0±3.2	7.5±0.15	54±3.5	11.0±2.2	5.7±0.10	6.1±0.11	5.4±0.10	4.35
7	24	30±3.4	10.0±1.8	8.6±0.17	40.5±3.8	20.3±3.1	4.8±0.11	4.1±0.09	7.6±0.11	3.24
8	31	31±2.9	32.0±3.1	8.1±0.16	53.0±3.5	20.5±2.8	4.9±0.12	4.6±0.11	7.2±0.12	3.44
9	48(2)	41±3.9	15.0±2.0	9.1±0.18	36.0±3.4	9.9±2.1	5.5±0.13	5.5±0.12	6.07±0.14	2.55
10	55	31±3.6	17.0±2.8	8.5±0.17	23.5±3.0	4.0±1.3	6.2±0.14	5.6±0.12	5.3±0.09	2.26
11	72(3)	53±4.9	4.0±0.6	9.8±0.20	10.0±2.1	1.5±0.8	5.4±0.13	5.3±0.11	5.0±0.11	2.10
12	96(4)	33±3.7	25.0±2.7	9.0±0.19	50.5±3.5	15.4±2.5	5.1±0.10	5.9±0.13	6.1±0.14	2.40
13	120(5)	30±3.6	16.0±1.7	8.9±0.17	23.0±2.9	4.0±1.3	5.5±0.11	4.7±0.09	5.6±0.13	2.40
14	144(6)	29±3.0	34.0±3.6	8.0±0.14	36.0±3.4	13.5±2.4	5.3±0.14	4.5±0.09	6.5±0.15	2.40
15	168(7)	26±2.9	23.1±2.9	8.2±0.13	31.0±3.3	18.5±2.7	4.9±0.11	4.2±0.09	8.0±0.17	2.25
16	192(8)	22±2.8	51.0±4.9	7.4±0.14	30.0±3.2	14.5±2.4	5.0±0.11	4.1±0.10	7.4±0.16	2.25
17	216(9)	33±3.7	32.0±3.7	8.3±0.16	25.0±3.0	8.5±1.7	5.0±0.12	4.1±0.11	6.4±0.14	1.80
18	264(11)	35±3.8	27.0±2.8	7.3±0,13	39.8±3.7	23.2±3.0	5.07±0.12	4.57±0.11	8.02±0.19	1.20
19	288(12)	24±3.0	20.0±2.2	8,0±0,16	32.0±3.1	13.0±2.0	4.8±0.10	3.9±0.08	6.7±0.12	1.20

Таблиця 3 - РБТЛ та розеткоутворююча здібність Т-лімфоцитів до ЕБ у змішаній культурі лімфоцитів (ЗКЛ).

№ подружніх пар	РБТЛ, %	Е-РУК, %*		КЛ≥8 ЕБ, %*	
		I	II	I	II
1	2	3	4	5	6
1	14±2.0	62.5±3.1	52.5±2.9	42.5±3.4	21.8±2.3
2	8.5±1.6	41.0±2.7	37.0±2.7	19.5±1.9	20.5±2.2
3	30.6±2.7	82.5±5.5	55.0±3.9	52.5±4.4	27.0±2.9
4	18.0±1.9	68.0±3.9	47.0±3.0	50.0±3.3	13.5±1.7
5	7.3±1.1	73.0±4.8	66.0±3.3	48.5±3.0	41.5±2.7
6	12.7±2.0	46.0±3.2	32.0±2.4	20.0±1.9	12.5±1.9
7	12.1±1.9	75.0±2.9	58.0±3.4	52.0±3.9	34.0±2.9
8	25.0±2.9	64.5±3.1	46.0±3.2	46.0±3.3	16.5±1.7
9	11.1±1.8	62.5±2.8	54.5±4.1	34.5±2.9	20.0±2.4
10	23.7±2.7	63.5±3.0	47.5±3.8	41.0±3.1	20.5±2.3
Разом	16.3±1.1	63.9±2.4	49.6±2.4	40.7±2.1	22.8±1.8

Коефіцієнт кореляції (r): 2 і (3-4) = 0.84; 2 і (5-6) = 0.70 ($P<0.05$)

Примітка : I - показники до культивування; II - через 7 днів СКЛ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Козинец Г.И. Функционально-морфологическая характеристика лимфоцитов //Проблемы гематологии и переливания крови.-1970.-Т.15.-№7.-С. 41-46
2. Гаврилов О., Козинец Г., Черняк Н. Клетки костного мозга и периферической крови -М. : Медицина, 1985.-287 с.
3. Фролов А.К. Частота ассоциаций акроцентрических хромосом в лимфоцитах человека, делящихся первый, второй и третий раз //Цитология.-1985.-Т.27, №10.-С.1199-1202
4. Петров Р.В., Лопухин Ю.М., Чередеев А.Н. и др. Оценка иммунного статуса человека при массовых исследованиях : метод. рекомендации МЗ СССР.-М., 1984.-24с.
5. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Патогенетический принцип оценки иммунной системы человека : дальнейшее развитие //Клиническая лабораторная диагностика.-1995.-№6.-С. 78-80
6. Фролов А.К., Арцимович Н.Г., Сохин А.А. Иммуноцитогенетика.-М. : Медицина, 1993.-240с.
7. Лимфоциты. Методы /Под ред. Жд. Клауса.-М.: Мир, 1990.-393с.
8. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С., Гончарова С.Н. и др. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения.-Методические рекомендации.-К., 1988.-18с.
9. Иммунологические методы /Под ред. Фримеля.-М.:Медицина, 1987.-472с.
10. Мурзенок П.П. Характеристика супрессорной активности клеток и растворимых факторов, подавляющих пролиферацию лимфоцитов человека. Автореф. ... дис. канд. мед.наук.- М., 1981.-23с.
11. Калиниченко Т.В., Дозморов И.М., Сидоров И.А., Свирщевская Е.В. Роль цитокинов в регуляции взаимодействия между Т-хелперами 1 и 2 на клональном уровне //Иммунология.-1996.-№3.-С.25-29
12. Mellstedt H. In vitro activation of human T and B lymphocytes bu pokeweed mitogen // Clin. and Exp. Immunol. - 1975. - V. 19, №1. - P. 75-82.
13. Вершигора А.Е. Общая иммунология. - К.: Выща шк., 1989. - 736 с.

14. Чередеев А.Н., Ковальчук Л.В. Апоптоз как важный этап оценки иммунной системы по патогенетическому принципу //Клиническая лабораторная диагностика.-1997.-№7.-С. 31-34
15. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах //Иммунология.-1996.-№6.-С. 10-22.
16. Говалло В.И. Иммунология репродукции.-М.:Медицина, 1987.-304с.