**Клиническая иммунология**

**Контрольная работа**

**Требования к написанию контрольной работы:**

**Работа должна быть написана от руки в тонкой ученической тетради. Ответы на вопросы должны быть четкими и сжатыми.**

**Вариант 1**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **4,1** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **2** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **38** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **3** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **55** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **2** |

**Задание 2.**Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 10 исследований согласно приведенному протоколу (использование одноступенчатого градиента плотности для выделения мононуклеаров из периферической крови):

2. Осторожно наслоить кровь или полученную взвесь клеток (4 – 6 мл) на 1,5-2,0 мл градиента плотности (1,077 г/см3) и центрифугировать в течение 30 мин при 1500 об/мин.

3. По площади сечения пробирки на границе раздела фаз собрать слой мононуклеаров, перенести в другую центрифужную пробирку и развести в 3-5 раз 0,9% раствором NaCl.

4. Тщательно ресуспендировать. Центрифугировать 10 мин при 1000 об/мин. Аккуратно, не перемешивая, удалить надосадочную жидкость, оставляя не более 1 мл жидкости над осадком, содержащим фракцию мононуклеаров. Развести клеточную смесь в 3-5 раз 0,9% раствором NaCl и центрифугировать 10 мин при 1000об/мин. Процедуру повторить.

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма мужчина 46 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 50 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 38 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 27 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 39 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 6 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и  антигенной нагрузки | 54 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 9 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммун. ответа | 36 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 43 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического ответа | 12 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,4 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,86 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 0,75 |
| Ранние тимоциты | CD3+CD4+CD8+ | < 1 | 6 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 17,0 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 2,3 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 1,85 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 50 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 55 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 6,0 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 10 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,14 |

**Задание 4.** Методы исследования функциональной активности лимфоцитов и их диагностическое значение.

**Вариант 2**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **5,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **1** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **62** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **2** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **30** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **4** |

**Задание 2.**

Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 15 исследований согласно приведенному протоколу.

Протокол 2 – использование двухступенчатого градиента для разделения моно- и полинуклеарных клеток:

1. Цельную гепаринизированную кровь проинкубировать в течение 40 минут при комнатной температуре.

2. Собрать образовавшуюся лейковзвесь и наслоить на растворы градиента (1,120 г/см3 и 1,080 г/см3) в соотношении 1:1:2. Центрифугировать при комнатной температуре в течение 40 минут при 1500 об/мин

3. Отобрать образовавшиеся слой плазмы, кольцо мононуклеаров и градиент. Собрать кольцо нейтрофилов в новую чистую пробирку.

4. Оставшиеся эритроциты разрушить гипотоническим лизисом (см. ниже).

5. Полученные клетки дважды отмыть раствором Хенкса (без Са2+ и Мg2+), каждый раз центрифугируя в течение 10 минут при 1500 об/мин.

6. Отмытые от эритроцитов и градиента клетки ресуспендировать в бессывороточной среде RPMI-1640 или другом требуемом для исследования буфере.

**Задание 3.**

Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Мужчина, 21 год

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 61 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 34 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 22 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 6 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 26 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 72 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 15 |
| Стимулированные/эффекторные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 12 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 47 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ | связаны с активацией цитотоксического иммун- | не опре- |
|  | CD56+CD8+ | ного ответа | деляются |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,5 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,77 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 5 |
| Ранние тимоциты и клетки, не экспрессирующие маркеры зрелых лимфоцитов | CD3+CD4+CD8+ | < 1 | 7 |

**Задание 4.** Диагностическое значение исследования иммуноглобулинов.

**Вариант 3**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **3,6** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **1** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **24** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **3** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **70** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **2** |

**Задание 2.**

Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 100 исследований согласно приведенному протоколу.

Протокол процедуры гипотонического шока для удаления эритроцитов из суспензии нейтрофилов:

1.Для лизиса эритроцитов к 1 мл пробы добавить 6 мл 0,2%раствора хлорида натрия (Т=4˚С), оставить на 20 секунд, после чего добавить 6 мл 1,6% NaCl (Т=4˚С) для восстановления изотоничности.

2.Полученную суспензию отцентрифугировать при 1500 об/мин при 4˚С в течение 10 мин. Супернатант слить и клетки дважды отмыть раствором Хенкса (без Са2+ и Мg2+) (Т=4˚С) каждый раз центрифугируя в течение 10 минут при 1500 об/мин. Клетки ресуспендировали в требуемой питательной среде или буферном растворе.

**Задание 3.**

Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Женщина, 20 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 60 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 36 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 22 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 8 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 21 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 76 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 17 |
| Стимулированные/эффекторные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 8 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 53 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ | связаны с активацией цитотоксического | не опре- |
|  | CD56+CD8+ | иммунного ответа | деляются |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,6 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,88 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 2 |
| Ранние тимоциты  и клетки, не экспрессирующие маркеры зрелых лимфоцитов | CD3+CD4+CD8+ | < 1  0 | 0  11 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 74 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 3,5 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 10 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,12 |

**Задание 4.** Объясните физиологическую и патофизиологическую роль иммуноглобулинов разных классов.

**Вариант 4**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **12,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **15** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **76** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **0** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **7** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **2** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 55 исследований согласно приведенному протоколу (гипотонический шок для удаления эритроцитов из суспензии нейтрофилов):

Готовят раствор (буфер) 0,83% хлорида аммония согласно следующей методики: в сухой пробирке готовится смесь навесок сухих веществ – 4,15 г хлорид амонния (NH4Cl), 0,5 г калия гидрокарбонат (KHCO3), 15 мг ЭДТА. Смесь растворяется в 20-30 мл стерильной дистиллированной воды объём доводиться до 500 мл стерильной дистиллированной водой

1. Взвесь клеток осаждают центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин.

2. Осадок ресусперндируют в лизирующем буфере, из расчёта 300 миллионов клеток на 1 мл буфера.

3. Суспензию оставляют на 7-10 мин при комнатной температуре до появления характерного цвета гемолиза - "лакированной крови".

4. Разбавить суспензию 10-кратным объёмом PBS или физраствора, осадить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин.

**Задание 3.** Причины возникновения вторичных иммунодефицитов.

**Задание 4.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

**Мужчина, 23 года**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 74 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 46 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 26 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 4 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 17 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 76 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 14 |
| Стимулированные/эффекторные л-ты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 9 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 64 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ | связаны с активацией цитотокс. | не опре- |
|  | CD56+CD8+ | иммунного ответа | деляются |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,8 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,86 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 1 |
| Ранние тимоциты  и клетки, не экспрессирующие маркеры зрелых лимфоцитов | CD3+CD4+CD8+ | < 1  0 | 0  5 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 63 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 3,1 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 7 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,1 |

**Вариант 5**

**Задание 1.**Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **10,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **2** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **27** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **1** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **64** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **6** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 20 исследований согласно приведенному протоколу (исследование адгезивной активности нейтрофилов):

1. Готовят суспензию нейтрофилов в культуральной среде в концентрации 2×106 кл/мл.

2. Для каждого исследования используется 9 лунок плоскодонного 96-луночного планшета. В первую по шестую лунки вносят по 10 мкл раствора Хенкса (без Са2+ и Мg2+) (фоновая оптическая плотность и спонтанная активность клеток), в седьмую по девятую – по 10 мкл раствора стимулятора, например, PMA (стимулированная активность клеток).

3. Суспензию НФ вносят в каждую из подготовленных лунок по 90 мкл/лунку.

4. Клетки инкубируют при 37˚С в течение 60 минут в атмосфере с 5% СО2.

5. Лунки с 4-й по 9-ю (т.е. кроме лунок для определения фоновой оптической плотности) три раза осторожно промывают холодным (Т=4˚С) раствором Хенкса (без Са2+ и Мg2+).

6. Планшет высушивают и проводят фиксацию и окраску клеток в течение 10 минут, добавляя 100 мкл раствора 0,5% кристаллического фиолетового в метаноле во все лунки.

7. Краситель удаляют, лунки тщательно промывают физиологическим раствором, высушивают на воздухе.

8. Клеточный монослой лизируют внесением по 100 мкл изопропилового спирта, подкисленного соляной кислотой до 0,04 М концентрации последней.

**Задание 3.**

Опишите механизмы развития вторичных иммунодефицтных состояний

**Задание 4.**Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Женщина, 21 год

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 83 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 34 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 39 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 16 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 5 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 61 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 24 |
| Стимулированные/эффекторные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 15 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 57 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ | связаны с активацией цитотокс. | 2 |
|  | CD56+CD8+ | иммунного ответа | 4 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 0,87 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,69 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 10 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 58 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 6,1 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 15 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,12 |

**Вариант 6**

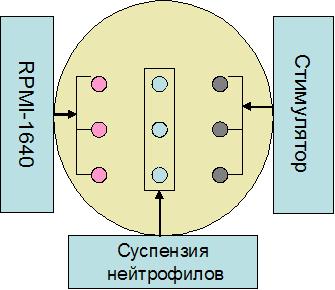
**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **11,2** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **4** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **27** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **2** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **55** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **12** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 10 исследований согласно приведенному протоколу (исследования миграционной активности нейтрофилов):

1. Готовят раствор агарозы в стерильной бидистиллированной воде в концентрации 2 мг/мл. Для этого агарозу добавляют в стерильную деионизированную воду (можно бидистилированную) в концентрации 2 мг/мл, кипятят на водяной бане при 100°С в течение 20 минут.

2. Раствор охлаждают до 50˚С и смешивают с двукратной полной культуральной средой, нагретой до 50˚С в соотношении 1:1. В стерильные пластиковые чашки Петри заливают необходимый объем агарозы, так, чтобы толщина слоя составила 3 мм.

3. За час до проведения исследования с помощью пробойника в агарозе делают лунки диаметром 3 мм на расстоянии 3 мм друг от друга по 3 лунки в ряду и помещают в термостат (37˚С).

4. В центральные лунки вносят по 10 мкл суспензии НФ в концентрации 107 кл/мл, в один столбец из боковых лунок – 10 мкл среды RPMI-1640, во второй столбец боковых лунок – 10 мкл стимулятора (например, fMLP - 10-5М) в соответствии с рисунком 5.1.

6. После окончания инкубации в чашки заливают по 4 мл 10% раствора формалина и оставляют при комнатной температуре в течение 30 минут.

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Женщина 39 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 77 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 44 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 28 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 19 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 3 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 68 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 38 |
| Стимулированные/эффекторные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 8,5 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 54 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+, % | связаны с активацией цитотоксического иммун- | 2,1 |
|  | CD56+CD8+, % | ного ответа | 1,0 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,57 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,7 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8-,% | < 1 | 6 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 53 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 3,2 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 8 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,11 |

**Задание 4.** Формы первичных иммунодефицитных состояний

**Вариант 7**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **9,1** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **10** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **58** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **9** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **15** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **8** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 30 сследований согласно приведенному протоколу (исследование хемилюминецентной активности нейтрофилов):

1. Готовят 0,01% раствор люминола в растворе Хенкса без фенолового красного. Растворяют в течение 18 часов в темноте на магнитной мешалке. Конечная концентрация – 5,6 ×10-4М.

2. Готовят раствор 1 (для снижения агрегации нейтрофилов). Все составляющие смешиваются и доводятся до 1 литра дистиллированной водой: NaCl – 8г.KCl – 0,4г, Na2PO4 – 0,4г, KH2PO4 – 0,4г, глюкоза – 1г, HEPES – 2,7г.

3. Готовят раствор 2: все составляющие смешиваются и доводятся до 100 мл раствором Хенкса: сывороточный альбумин –50 мкг , HEPES – 50 мкг, раствор люминола (5,6×10-4М) – 200 мкл.

4. Готовят раствор зимозана – 20 мкг/мл.

5. В каждый флакон для сцинциляционного счета добавляют 2 мл раствора 2.

6. Во флаконы вносят суспензию нейтрофилов в растворе 1, так, чтобы конечная концентрация составила 0,5×106 в мл.

**Задание 3.** Т-клеточные первичные иммунодефициты

**Задание 4.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 25 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 90 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 24 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 76 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 5 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 2 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 45 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 63 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 8 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 19 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ (CD8+) | связаны с активацией имм. ответа | 2 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 0,32 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,21 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 48 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 4,2 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 8 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,06 |

**Вариант 8**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **3,0** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **8** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **84** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **1** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **1** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **5** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **1** |

**Задание 2.**

Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 25 исследований согласно приведенному протоколу НСТ-теста для определения метаболической активности нейтрофилов, рассчитайте средний цитохимический коэффициент согласно приведенному протоколу:

а) в 2 лунки 96-луночного плоскодонного планшета для каждого исследования вносят по 10 мкл раствора стимулятора (например, РМА в конечной концентрации 100нг/мл). Для постановки спонтанного варианта теста в 2 другие лунки вносят по 10 мкл раствора Хенкса (без Са2+ и Мg2+),

б) во все лунки вносят по 40 мкл раствора НСТ в концентрации 0,25 %.

в) во все лунки добавляют по 50 мкл клеточной суспензии в концентрации 2×106 кл/мл в полной культуральной среде,

**Задание 3.**

Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма мальчик 7 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 88 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 16 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 62 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 7 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 4 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 27 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 63 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 8 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 62 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ (CD8+) | связаны с активацией иммунного ответа | 2 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 0,26 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,7 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 10 |
| Ранние формы лимфоцитов | CD3-CD19-CD56- | 0 | 1 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 48 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 4,2 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 8 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,06 |

**Задание 4**. Первичные иммунодефициты в виде нарушения продукции антител

**Вариант 9**

**Задание 1.**Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **4,2** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **1** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **37** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **1** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **60** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **2** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 20 исследований согласно приведенному протоколу (культивирование лимфоцитов для оценки пролиферативной активности):

1.В полной культуральной среде довести количество клеток до концентрации 2×106 кл/мл. При использовании цельной крови в образце определяется количество лейкоцитов и процент лимфоцитов, исходя из этих результатов в образце определяется абсолютное количество лимфоцитов и проба крови разводится ППС для достижения нужной концентрации лимфоцитов.

2.В стерильный плоскодонный планшет внести по 100 мкл полной культуральной среды и сред с митогенами (ФГА в конечной концентрации - 2,5-20 мкг/мл, PWM - 5-10 мкг/мл, ЛПС - 5-10 мкг/мл) или специфических антигенов (концентрация вариабельна – 1 – 100 мкг/мл). Предварительно в лаборатории проводятся исследования по выбору оптимальной и субоптимальной дозы митогенов и антигенов, так как биологическая активность этих препаратов может быть различной у разных фирм-производителей, а также в условиях разных протоколов исследований. Все среды вносятся в триплетах, т.е. в три лунки планшета.

3.Внести в лунки по 100 мкл суспензии лимфоцитов (для каждого образца – в три лунки, т.е. в триплет).

4.Закладывают контроли: контроль ППС – 300 мкл ППС (контроль стерильности среды); контроль митогена – 200 мкл ППС+100 мкл раствора митогена (контроль стерильности митогена); контроль интактных лимфоцитов – 200 мкл ППС+100 мкл клеточной суспензии (контроль спонтанной пролиферации).

**Задание 3.**Физиологическое и патофизиологическое значение фагоцитоза.

**Задание 4.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

**Иммунограмма** мужчина 16 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 91 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 8 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 81 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 5 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 2 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 12 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 73 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 11 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 41 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+ (CD8+) | связаны с активацией иммунного ответа | 0 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 0,099 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,45 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарная активность | ФП, % | 40 -75 | 88 |
|  | ФЧ | 3,0 - 7,5 | 10,1 |
| Метаболическая активность | НСТ+-клетки,% | 6 - 12 | 24 |
|  | СЦК | 0,06 - 0,14 | 0,3 |

**Вариант 10**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **8,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **5** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **72** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **5** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **13** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **5** |

**Задание 2.**

Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 10 исследований согласно приведенному протоколу МТТ-теста:

Б) Стерильно отмыть трижды имеющуюся суспензию клеток в фосфатном буфере

В) В полной культуральной среде довести количество клеток до концентрации 2×106 кл/мл

Г) В стерильный плоскодонный планшет внести по 100 мкл полной культуральной среды и сред с митогенами (ФГА в конечной концентрации - 2,5-20 мкг/мл, PWM - 5-10 мкг/мл, ЛПС - 5-10 мкг/мл) или специфических антигенов (концентрация вариабельна – 1 – 100 мкг/мл). Все среды вносятся в триплетах.

Д) Внести в лунки по 100 мкл суспензии лимфоцитов (для каждого образца – в три лунки, т.е. в триплет).

Е) Закладывают контроли: контроль ППС – 300 мкл ППС (контроль стерильности среды); контроль митогена – 200 мкл ППС+100 мкл раствора митогена (контроль стерильности митогена); контроль интактных лимфоцитов – 200 мкл ППС+100 мкл клеточной суспензии (контроль спонтанной пролиферации).

З) Культивировать в течение 48 ч в СО2-инкубаторе при температуре +37°С

Внести раствор МТТ (5 мг/мл) за 3-4 часа до окончания культивирования.

И) Добавить 20 мкл растворителя (0,05N HCl в изопропаноле) и ресуспендировать.

**Задание 3.** Методы диагностики первичных иммунодефицитов

**Задание 4.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 33 года

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 69 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 33 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 30 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 24 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 7 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 60 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 3 |
| Стимулированные/эффекторные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 35 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 65 - 75 | 56 |
|  |  |  |  |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,1 |
| Уровень способных к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,8 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 6 |

**Вариант 11**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **45,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **0** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **15** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **0** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **0** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **85** |

**Задание 2.**

Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 50 исследований согласно приведенному протоколу исследования фагоцитарной активности нейтрофилов:

В пробирке смешивают в равных объемах (100 мкл +100 мкл или 50 мкл + 50 мкл) микробную и лейкоцитарную взвеси (или гепаринизированную кровь), перемешивают и инкубируют при 37° С 30 мин (это время необходимо для миграции нейтрофилов, адгезии микробов на их цитоплазматической мембране и собственно фагоцитоза), затем центрифугируют (5 мин, 1500 об/мин.) и из осадка готовят мазки. Мазки высушивают, фиксируют этанолом 15 мин., окрашивают по Романовскому-Гимзе 20-30 мин.(рН 7,2 - 7,4), ополаскивают в проточной воде и микроскопируют.

**Задание 3.**

Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 35 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 66 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 34 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 27 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 23 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 6 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 61 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 24 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 13 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 52 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,26 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,79 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 5 |
| Ранние тимоциты | CD3+CD4+CD8+ | < 1 | 1 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 8,8 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 3,8 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,1 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 650 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 55 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 5,5 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 6 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,16 |

**Задание 4.** Иммунный статус, уровни и методы оценки

**Вариант 12**

**Задание 1.**Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **9,4** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **6** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **65** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **2** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **17** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **10** |

**Задание 2.**Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения исследований 100 образцов сыворотки крови согласно приведенному протоколу.

Схема гемолитического титрования активности системы комплемента

1. Разводим исследуемую сыворотку буферным раствором в 10 раз: 1 мл сыворотки = 9 мл буф.р-ра

2. Исследуемую сыворотку разливают по пробиркам по схеме, затем уравнивают объемы вероналовым буфером и вносят гемсистему:

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № пробирки | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Иссл.сыв-ка, **мл** | 0,05 | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,5 | \_\_ |
| Буфер,**мл** | 1,45 | 1,4 | 1,35 | 1,3 | 1,25 | 1,2 | 1,15 | 1,1 | 1,05 | 1 | 1,5 |
| Гем. система,**мл** | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |

**Задание 3.**Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 19 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 65 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 32 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 28 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 21 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 10 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 56 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 30 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 13 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 44 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,14 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,68 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 5 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 12,5 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 1,0 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,5 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 75 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 55 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 4,5 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 6 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,1 |

**Задание 4.**  Физиологическая и патофизиологическая роль системы комплемента

**Вариант 13**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **5,5** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **3** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **63** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **4** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **25** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **5** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 10 исследований согласно приведенному протоколу (исследование пролиферативной активности лимфоцитов):

Каждый образец лимфоцитов исследуется в трёх повторах: спонтанная пролиферативная активность, индуцированная митогеном (ФГА, КонА, ЛПС) пролиферативная активность:

в каждую лунку 96-луночной круглодонной платы вносим по 180 мкл среды (исходная среда + митоген), добавляем 20 мкл крови или суспензии лимфоцитов и ресуспендируем. Плату закрываем крышкой и инкубируем в присутствии 5 % СО2 при температуре +37о С в течение 48 часов.

Затем во все лунки вносим по 10 мкл 3Н тимидиновой метки, ресуспензируем и инкубируем при прежних условиях. По включению тимидина можно судить об уровне пролиферативной активности лимфоцитов, т.к. тимидин является одним из необходимых оснований для построения ДНК в ходе пролиферации клеток.

**Задание 3**. Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 52 года

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 54 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 30 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 32 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 39 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 6 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 60 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 30 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации иммунного ответа | 8 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 45 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического иммунного ответа | 12 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 0,94 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,83 |
| 3. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 15,8 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 4,7 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 3,5 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 20 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 84 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 9,3 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 16 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,25 |

Задание 4. Физиологическое и патофизиологическое значение ЕК-лимфоцитов

**Вариант 14**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **9,7** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **3** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **32** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **0** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **65** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **0** |

**Задание 2**. Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 17 исследований согласно приведенному протоколу (выделение мононуклеаров на одноступенчатом градиенте плотности):

2. Осторожно наслоить кровь или полученную взвесь клеток (4 – 6 мл) на 1,5-2,0 мл градиента плотности (1,077 г/см3) и центрифугировать в течение 30 мин при 1500 об/мин.

3. По площади сечения пробирки на границе раздела фаз собрать слой мононуклеаров, перенести в другую центрифужную пробирку и развести в 3-5 раз 0,9% раствором NaCl.

4. Тщательно ресуспендировать. Центрифугировать 10 мин при 1000 об/мин. Аккуратно, не перемешивая, удалить надосадочную жидкость, оставляя не более 1 мл жидкости над осадком, содержащим фракцию мононуклеаров. Развести клеточную смесь в 3-5 раз 0,9% раствором NaCl и центрифугировать 10 мин при 1000об/мин. Процедуру повторить.

**Задание 3**. Врождённые дефекты фагоцитарных клеток.

**Задание 4.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма мужчина 27 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 50 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 28 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 24 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 37 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 8 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 74 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 20 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от актив. имм. ответа | 5 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 45 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотокс. имм. ответа | 0 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,17 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,9 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Ранние тимоциты | CD3+CD4+CD8+ | < 1 | 4 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 14,4 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 3,2 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,1 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 25 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 55 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 4,4 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 5 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,1 |

**Вариант 15**

**Задание 1.**Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **5,6** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **2** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **68** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **4** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **1** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **19** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **6** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 8 исследований согласно приведенному протоколу разделения лейкоцитов на мононуклеарную и полинуклеарную фракции:

1. Кровь наслоить на растворы градиента (1,120 г/см3 и 1,080 г/см3) в соотношении 1:1:2. Центрифугировать при комнатной температуре в течение 40 минут при 1500 об/мин.

2. Отобрать образовавшиеся слой плазмы, кольцо мононуклеаров и градиент. Собрать кольцо нейтрофилов в новую чистую пробирку.

3. Полученные клетки дважды отмыть раствором Хенкса (без Са2+ и Мg2+), каждый раз центрифугируя в течение 10 минут при 1500 об/мин.

4. Отмытые от эритроцитов и градиента клетки ресуспендировать в бессывороточной среде RPMI-1640 или другом требуемом для исследования буфере.

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 35 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 81 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 47 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 30 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 11 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 8 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 60 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 26 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации им. ответа | 14 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 70 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического имм. ответа | 2 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,6 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,86 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 2 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 13,2 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 3,3 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,5 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 25 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 44 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 3,8 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 5 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,14 |

**Задание 4.**  Врождённые дефициты по системе комплемента

**Вариант 16**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **6,3** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **2** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **45** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **3** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **40** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **10** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 75 исследований согласно приведенному протоколу (процедура гипотонического шока для удаления эритроцитов из суспензии нейтрофилов):

1.Для лизиса эритроцитов к 1 мл пробы добавить 6 мл 0,2%раствора хлорида натрия (Т=4˚С), оставить на 20 секунд, после чего добавить 6 мл 1,6% NaCl (Т=4˚С) для восстановления изотоничности.

2.Полученную суспензию отцентрифугировать при 1500 об/мин при 4˚С в течение 10 мин. Супернатант слить и клетки дважды отмыть раствором Хенкса (без Са2+ и Мg2+) (Т=4˚С), каждый раз центрифугируя в течение 10 минут при 1500 об/мин. Клетки ресуспендировали в требуемой питательной среде или буферном растворе.

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 24 года

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 55 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 27 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 23 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 18 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 14 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 58 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 35 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 25 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 45 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического им. ответа | 0 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,17 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,8 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 5 |
| Ранние тимоциты | CD3+CD4+CD8+ | < 1 | 0 |
| Ранние формы лимфоцитов (без маркеров зрелых клеток) |  | 0 | 12 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 17,4 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 4,3 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,0 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 150 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 69 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 4,4 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 6 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,08 |

Задание 4. Классификация вторичных иммунодефицитов

**Вариант 17**

**Задание 1.** Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **16,2** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **18** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **38** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **1** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **1** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **30** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **10** |

**Задание 2.**Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 20 исследований согласно приведенному протоколу МТТ-теста:

Б) Стерильно отмыть трижды имеющуюся суспензию клеток в фосфатном буфере.

В) В полной культуральной среде довести количество клеток до концентрации 2×106 кл/мл

Г) В стерильный плоскодонный планшет внести по 100 мкл полной культуральной среды и сред с митогенами (ФГА в конечной концентрации - 2,5-20 мкг/мл, PWM - 5-10 мкг/мл, ЛПС - 5-10 мкг/мл) или специфических антигенов (концентрация вариабельна – 1 – 100 мкг/мл). Все среды вносятся в триплетах.

Д) Внести в лунки по 100 мкл суспензии лимфоцитов (для каждого образца – в три лунки).

Е) Закладывают контроли: контроль ППС – 300 мкл ППС (контроль стерильности среды); контроль митогена – 200 мкл ППС+100 мкл раствора митогена (контроль стерильности митогена); контроль интактных лимфоцитов – 200 мкл ППС+100 мкл клеточной суспензии (контроль спонтанной пролиферации).

Ж) Культивировать в течение 48 ч в СО2-инкубаторе при температуре +37°С .Внести раствор МТТ (5 мг/мл) за 3-4 часа до окончания культивирования.

З) Добавить 20 мкл растворителя (0,05N HCl в изопропаноле) и ресуспендировать.

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма мужчина 16 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 63 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 43 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 25 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 27 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 11 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 58 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 28 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 11 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 54 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического имм. ответа | 9 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,72 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,86 |
| 3. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 10,2 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 1,55 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 1,05 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 65 |
| 4. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 35 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 3,4 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 4 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,03 |

Задание 4. Методы определения концентрации иммуноглобулинов разных классов.

**Вариант 18**

**Задание 1.**

Рассчитайте абсолютное содержание популяций лейкоцитов в образце периферической крови по приведенным данным. Укажите показатели, не соответствующие физиологическому уровню. Укажите, при каких состояниях возможны такие изменения?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Уровни физиологических значений | Значение в образце |
| 1. Лейкоциты, ×109/л | 3,5 – 9,0 × 109/л | **2,2** |
| 2. Нейтрофилы палочко-ядерные, % | 0 – 6 % | **3** |
| 3. Нейтрофилы сегменто-ядерные,% | 45 – 70 % | **70** |
| 4. Эозинофилы,% | 0 – 5 % | **7** |
| 5. Базофилы, % | 0 – 1 % | **0** |
| 6. Лимфоциты, % | 16 – 39 % | **12** |
| 7. Моноциты, % | 1 – 8 % | **8** |

**Задание 2.** Рассчитайте количество реактивов, необходимое для проведения 20 исследований согласно приведенному протоколу (культивирование лимфоцитов для оценки пролиферативной активности):

2.В стерильный плоскодонный планшет внести по 100 мкл полной культуральной среды и сред с митогенами (ФГА в конечной концентрации - 2,5-20 мкг/мл, PWM - 5-10 мкг/мл, ЛПС - 5-10 мкг/мл) или специфических антигенов (концентрация вариабельна – 1 – 100 мкг/мл). Все среды вносятся в триплетах.

3.Внести в лунки по 100 мкл суспензии лимфоцитов (для каждого образца – в три лунки).

4.Закладывают контроли: контроль ППС – 300 мкл ППС (контроль стерильности среды); контроль митогена – 200 мкл ППС+100 мкл раствора митогена (контроль стерильности митогена); контроль интактных лимфоцитов – 200 мкл ППС+100 мкл клеточной суспензии (контроль спонтанной пролиферации).

**Задание 3.** Отметьте в приведенной иммунограмме имеющиеся изменения. Каким иммунопатологическим состояниям могут сопутствовать эти изменения?

Иммунограмма женщина 46 лет

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Маркеры | Уровни значений в норме | Значения |
| 1. Статусные показатели. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови, % клеток | | | |
| Т-лимфоциты | CD3+ | 65 - 80 | 65 |
| Т-хелперы | CD4+ | 40 - 50 | 31 |
| Т-цитотоксические лимфоциты | CD8+ | 20 - 30 | 29 |
| NK-лимфоциты | CD56+ | 8 - 18 | 24 |
| В- лимфоциты | CD19+ | 4 - 12 | 13 |
| Показатели стимуляции/активации лимфоцитов, % клеток | | | |
| "Наивные" лимфоциты | CD45RA+ | зависит от возраста и антигенной нагрузки | 59 |
| Лимфоциты памяти | CD45RO+ | 32 |
| Стимулированные лимфоциты | CD45RA+ CD45RO+ | зависит от активации имм. ответа | 6 |
| Активационный потенциал лимфоцитов | CD28+ | 55 - 75 | 42 |
| Стимулированные NK-клетки | CD56+CD3+(CD8+) | определяются при активации  цитотоксического имм. ответа | 7 |
| 2. Иммунорегуляторные индексы | | | |
| Соотношение субпопуляций Т-клеток | CD4+/CD8+ | 1,7 - 2,5 | 1,07 |
| Способные к активации Т-лимфоцитов | CD28+/CD3+ | 0,8 - 1,0 | 0,65 |
| 3. Минорные субпопуляции лимфоцитов, % клеток | | | |
| Двойные негативные Т-лимфоциты | CD3+CD4-CD8- | < 1 | 5 |
| 4. Иммуноглобулины | | | |
| Иммуноглобулины G | IgG | 6,0 – 16,0 г/л | 14,5 |
| Иммуноглобулины А | IgA | 0,4 – 4,0 г/л | 5,6 |
| Иммуноглобулины М | IgM | 0,2 – 2,3 г/л | 2,3 |
| Иммуноглобулины Е | IgE | < 100 МЕ/мл | 25 |
| 5. Показатели функциональной активности нейтрофилов | | | |
| Фагоцитарный показатель | ФП | 40 – 75 % | 86 |
| Фагоцитарное число | ФЧ | 4,5 – 7,5 | 9,1 |
| Количество НСТ+- нейтрофилов | НСТ+,% | 4 – 12 | 16 |
| Средний цитохимический коэффициент | СЦК | 0,04 – 0,14 | 0,22 |

**Задание 4.** Общий вариабельный иммунодефицит