

اختبار قابلية الخلايا للمفاوية في الدم المحيطي على التحول والانقسام باستخدام التحفيز المشطر PHA في الأشخاص المصابين بالـ Cytomegalovirus

محمد شفيق توفيق**

غنيمة صادق محمد*

مريم كامل محمد*

تاريخ قبول النشر 2010/ 3/ 1

الخلاصة

تم جمع (39) نموذج دم من نساء حوامل عانين من اجهاضات سابقة متكررة و/أو لديهن أطفال يعانون من تشوهات خلقية ولادية ، ظهر أن (31) منهن مصابات بفايروس التضخم الخلوي CMV و (19) نموذج دم من اطفال حديثي الولادة يعانون من اختلالات و/أو تشوهات خلقية ولادية ، كان (15) طفلاً منهم مصاب ولادياً بالفايروس نفسه .

وكذلك جمع (20) نموذج دم من نساء حوامل و (15) نموذج دم من نساء غير حوامل و (15) نموذج دم من اطفال حديثي الولادة كانوا جميعاً غير مصابين بفايروس CMV (مجموعات سيطرة control). شخصت الاصابة بالفايروس عن طريق التحري عن وجود اضداد الفايروس نوعي IgM و IgG في مصول العينات المدروسة باستخدام اختبار الاليزا ELISA .

تم اختبار قابلية الخلايا للمفاوية في الدم المحيطي على التحول والانقسام باستخدام التحفيز بالمشطر PHA لكل من عينات المرضى وعينات السيطرة ، وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية في قابلية الخلايا للمفاوية على التحول والانقسام بين المجموعتين المدروسة ، إذ ظهر انخفاض في القابلية عند النساء الحوامل المصابات بالفايروس عنها في النساء (الحوامل وغير الحوامل) غير المصابات. وكذلك لوحظ انخفاض قابلية الخلايا للمفاوية على التحول والانقسام في الاطفال حديثي الولادة المصابين بالفايروس مقارنة مع الاطفال حديثي الولادة غير المصابين .

الكلمات المفتاحية: الخلايا للمفاوية ، PHA ، Cytomegalovirus

المقدمة :

الذين يعانون من انخفاض المناعة وبخاصة بعد عمليات زراعة الاعضاء (transplantation procedures) او بعد استخدام العقاقير الكابحة للجهاز المناعي (Immunosuppressive drugs) ، وبعد معالجة حالات السرطانات (cancer therapy) فضلاً عن المرضى المصابين بفايروس العوز المناعي (HIV) [5 ; 4] .

فضلاً عن ذلك تزداد خطورة الاصابة بهذا الفايروس عندما تكون الام الحامل حاملة للفايروس وتنقله الى جنينها مسببة بذلك الكثير من التغيرات غير الطبيعية في انسجة وخلايا الجنين النامي مما قد يؤدي الى فقدان الجنين (الاجهاض abortion) في مراحل مبكرة من الحمل او موت الطفل بعد ولادته او ولادة طفل يبقى الممرض يلازمه طيلة حياته ، وفي كل الاحوال فان خسارة طفل امر صعب للاهل ولاسيما الوالدين [7 ; 6] .

وانطلاقاً من اهمية التعرف على الحالة المناعية للنساء الحوامل المصابات بفايروس CMV والاطفال حديثي الولادة المصابين جاءت فكرة هذه الدراسة التي تهدف الى :

يعود فايروس التضخم الخلوي الذي يصيب الانسان (human cytomegalovirus (HCMV)) الى عائلة Herpesviridae والاسم العامي له human herpes virus 5 ، وهو اكبر فايروسات هذه العائلة ، وشكله المظهري مميز عن بقية فايروسات الحلا (herpes virus) التي تصيب الانسان [1] .

ينتشر هذا الفايروس في مدى واسع من العالم وفي مختلف البقاع الجغرافية ومختلف المستويات الاجتماعية والمعيشية [2] .

تظهر الاصابة بهذا الفايروس غالباً بشكل اصابة تحت سريرية غير واضحة الاعراض (subclinical inapparent infection) ولكن الفايروس يتغلغل في الجسم وينتشر في مختلف الاعضاء والانسجة ويبقى كامناً (latent) الى ان يُعاد تنشيطه (reactivation) عند انخفاض المناعة في الشخص المصاب ، وعندئذ تظهر الاعراض السريرية للاصابة وبشكل واضح [3] .

يصيب هذا الفايروس مراحل عمرية مختلفة تمتد من الاطفال حديثي الولادة الى البالغين ، ولكن اكثر الاصابات خطورة واهمية تكمن في الاشخاص

العدد التشخيصية الخاصة بكل نوع من الاضداد والمجهزة من قبل شركتي Trinity biotech و Biocheck , Inc على التوالي.

فحص قابلية الخلايا للمفاوية على التحول والانقسام Lymphocyte Transformation :

اجري هذا الفحص على وفق الطريقة التي استخدمها [8] وعلى النحو الاتي:

اضيفت (0.25) مل من نموذج الدم الحوي على مادة الهيبارين الى انابيب زجاجية معقمة مطلية بالسليكون حاوية على (2.5) مل من الوسط الزرعي RPMI-1640 الكامل المعقم.

استخدمت انبوتان لكل نموذج واحدة اضعف اليها (0.25) مل من المشطر PHA وعولمت كنموذج اختبار test والاخرى تركت بدون اضافة المشطر وعولمت كسيطرة (Control) للنموذج المحضر المضاف اليه PHA.

حضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م لمدة (72) ساعة .

بعد مدة الحضان رسبت الخلايا باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة (2000) دورة / دقيقة لمدة (10) دقائق.

اهمل الراشح واضيف مقدار (5) مل من المحلول ناقص التوتر kcl (2,85 غم / 500 مل DW) المحضر أنياً الى الخلايا المرسبة في كل انبوبة اختبار ، وحضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م لمدة (40 – 50) دقيقة .

رسبت الخلايا مرة اخرى بالطريقة السابقة نفسها ، بعد ذلك اهمل الراشح واضيفت بضع قطرات من المحلول المثبت (3 حجومات من الكحول المثلي المطلق (ذي التركيز 99.6 %) مع 1 حجم من حامض الخليك الثلجي) المحضر أنياً والمبرد الى الخلايا المرسبة مع الرج المستمر وباستخدام المازج (vortex) ثم اكمل الحجم الى (5) مل من المثبت مع الاستمرار بالرج .

ترك عالق الخلايا مع المثبت في الثلجة لمدة (15) دقيقة ثم رسبت الخلايا مرة اخرى بالطريقة السابقة نفسها.

اهمل الراشح واضيف مقدار (3-5) مل من المحلول المثبت الى الخلايا المرسبة لغسلها ، كررت عملية الغسل بالمثبت (3-4) مرات الى ان تم الحصول على عالق للخلايا رائق (عديم اللون) ، وبعد اخر غسل اضعف مقدار (0.5-1) مل من المثبت للخلايا المرسبة.

باستخدام ماصة باستور تم اسقاط (5-7) قطرات من عالق الخلايا على شرائح زجاجية نظيفة ومبردة من ارتفاع (60) سم على ان تكون الشريحة بمستوى مائل قليلاً لعمل غشاء.

ترك الغشاء ليحفظ بدرجة حرارة الغرفة.

1- تشخيص الاصابة بالفايروس بالطرائق المصلية عن طريق التحري عن اضداد الفايروس نوعي IgM و IgG في النساء الحوامل والاطفال حديثي الولادة.

2- دراسة قابلية الخلايا للمفاوية في الدم المحيطي على التحول والانقسام lymphocyte transformation للنساء الحوامل المصابات بالفايروس والاطفال حديثي الولادة المصابين وذلك عند تحفيزها بالمشطر PHA .

المواد وطرائق العمل : جمع العينات :

جمعت العينات من المريضات المراجعات لكل من مستشفى اليرموك التعليمي – شعبة النسائية - ومستشفى الكاظمية التعليمي – شعبة النسائية وشعبة الأطفال – ومركز الرعاية الأولية في حي العدل ومستشفى الأطفال في الكاظمية.

تم جمع عينات الدم من (39) امرأة حاملاً (بمدة حمل 1 – 7 اشهر بما يعادل 28 اسبوعاً فما دون) يعانين من اجهاضات سابقة متكررة (اجهاضين فما فوق) و / أو لديهم اطفال يعانون من تشوهات خلقية ولادية (congenital abnormalities).

وجمعت عينات دم من (19) طفلاً حديثي الولادة يعانون من اختلالات و / أو تشوهات خلقية ولادية بعمر (1-30) يوم.

وجمعت عينات دم من (20) امرأة حاملاً و (15) طفلاً حديثي الولادة و (15) امرأة غير حامل اصحاء عولموا جميعهم كمجموعات سيطرة (control) لمختلف الفحوصات والاختبارات قيد الدراسة.

قسمت كل عينة دم الى قسمين :

1- وضع القسم الاول في انبوب اختبار اعتيادي (plain tube) لغرض فصل مصل الدم (blood serum) ، لغرض اجراء فحص التحري عن اضداد الفايروس .

2- وضع القسم الثاني في انبوب اختبار زجاجي يحتوي على مادة الهيبارين المانعة للتخثر ، (يجب استخدام مادة الهيبارين المانعة للتخثر وليس مادة EDTA لسمية الاخيرة على الخلايا للمفاوية).

استخدم هذا النموذج من الدم لاجراء فحص التحول والانقسام (دراسة قابلية الخلايا للمفاوية على التحول والانقسام بالنسبة للنساء الحوامل والاطفال حديثي الولادة المصابين بالفايروس ومجاميع السيطرة المقابلة لهم).

التحري عن اضداد فايروس CMV : تم التحري عن وجود اضداد الفايروس IgM , IgG باستخدام

الاصابة فيه او حتى فقدان الجنين بحدوث الاجهاض او موت الجنين داخل الرحم. وعلى الرغم من خطر الاصابة الثانوية على الجنين فقد اشارت الدراسات ان الخطر الاكبر يكمن في الاصابة الاولى للام الحامل بالفايروس إذ ان انتقال الفايروس من الام الى جنينها (او حتى اصابة المشيمة بالفايروس) وبخاصة في الاشهر الاولى من الحمل يؤدي الى احداث تلف في انسجة الجنين النامي وتاخر في نموه داخل الرحم (Intrauterine growth retardation IUGR) ان لم يؤد الى فقدان الجنين إذ ان الاصابة تؤدي الى ارتفاع درجة حرارة الحامل مما يسبب الاجهاض.

اما الاطفال حديثو الولادة فقد ظهر الضد نوع IgG في مصول (15) طفلاً من الاطفال قيد الدراسة والذين كانوا يعانون من مشاكل صحية واضحة ومشخصة من قبل الاطباء وشملت الاعراض : صغر حجم الجمجمة ، ظهور طفح جلدي في منطقة البطن ، تضخم في الطحال ، وتلف في الجهاز العصبي المركزي ، وكذلك تشوه خلقي في احد هؤلاء الاطفال (إذ ظهر يمتلك عيناً واحدة) ، ولم يظهر الضد نوع IgM في أي من المصول المدروسة لهؤلاء الاطفال، بينما لم يظهر ايأ من الضدين في مصول أربعة أطفال (مما يدل على عدم وجود اصابة بالـCMV حين اجراء الفحص).

ان اصابة الجنين داخل الرحم تتحدد بعدة عوامل منها :

في أي وقت من الحمل (gestational age) تحدث الاصابة ، إذ ان الاصابة في الاشهر الاولى من الحمل يكون لها الاثر الاكبر في الجنين لأن الجنين في هذه الاشهر يبدأ بتكوين انسجته واعضائه وان وجود الفايروس في هذا الوقت يؤدي الى احداث ضرر وتلف في هذه الانسجة. تؤثر كذلك الحالة المناعية والمستوى المعاشي المتدني للام الحامل في احداث اعادة تنشيط الفايروس.

تؤثر العوامل الوراثية (genetic factors) التي تسيطر على الاستجابة المناعية والاختلافات في امراضية (فوعة Virulence) السلالة الفايروسية التي تصاب بها الام الحامل ايضاً في اصابة الجنين وفيما اذا كانت هذه الاصابة ذات اعراض سريرية واضحة عند الولادة او ان الاعراض تظهر بتقدم عمر الطفل وفيما اذا كانت هذه الاعراض كنتيجة للاصابة بفايروس CMV فقط او متداخلة مع اصابات اخرى [4 ; 9 ; 10] .

ومما هو معروف ان الضد نوع IgM لا يعبر خلال المشيمة لذلك فان تقديره في الاطفال حديثي الولادة لا يكون صحيحاً دائماً إذ ان الاختبار من الممكن ان يعطي نتيجة موجبة كاذبة False positive لان IgM يتداخل مع وجود اصابات

صبغت الشرائح بصبغة كمزا لمدة (10-15) دقيقة ثم غسلت الشرائح بمحلول دارى الفوسفات الفسيولوجي PBS (ومن الممكن استعمال الماء المقطر).

تركت الشرائح بعد عملية التصبغ والغسل لتجف في هواء الغرفة.

فحصت الشرائح باستخدام المجهر الضوئي بقوة تكبير (100 X x 10) (أي بالعدسة الزيتية) ، وتم حساب (200) خلية لمفاوية في اطوار انقسام مختلفة ، ثم استخرجت نسبة الخلايا للمفاوية المتحسنة كما في المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للخلايا للمفاوية} = \frac{\text{عدد الخلايا للمفاوية المتحسنة}}{\text{عدد خلايا لمفاوية وارومية لمفاوية}} \times 100\%$$

عدد (200) خلية لمفاوية وارومية لمفاوية

وقد تم الحساب للشرائح المحضرة من الانابيب المعاملة كاختبار (test) والشرائح المحضرة من الانابيب المعاملة كسيطرة (control) لكل نموذج دم.

ومن ثم حسبت النسبة المئوية للتحسس من طرح النسبة المئوية للخلايا المتحسنة لشريحة الاختبار test والنسبة المئوية للخلايا للمفاوية لشريحة السيطرة لكل نموذج (عينة) وكما يلي :

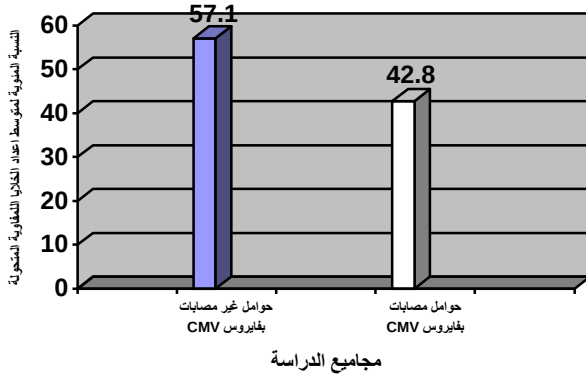
نسبة التحسس المئوية = النسبة المئوية للاختبار % - النسبة المئوية للسيطرة % .

النتائج والمناقشة :

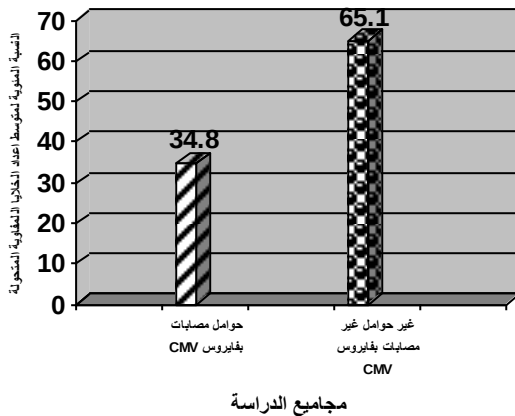
تشخيص الاصابة الفايروسية باستخدام الغلوبولينات المناعية :

تم تشخيص الاصابة بفايروس CMV عن طريق التحري عن وجود اضداد الفايروس من نوع IgG و IgM في المصول قيد الدراسة باستخدام اختبار الـ ELISA فيشأن النساء الحوامل المصابات بالفايروس فقد اظهرت النتائج ان نسبة قليلة من هؤلاء النساء الحوامل مصابات بالفايروس لأول مرة Primary infection ، إذ ظهر الضد نوع IgM فقط في مصولهن ، بينما غالبية النساء الحوامل حدثت لهن عملية اعادة تنشيط (reactivation) أو اعادة اصابة بالفايروس (reinfection) ، إذ ظهر الضد نوع IgG في مصولهن ولوحظ ايضاً ان معظم النساء الحوامل اللواتي كن تحت تاثير الاصابة الثانوية (secondary infection) (اعادة تنشيط الفايروس او اعادة الاصابة بسلالات اخرى من الفايروس)، وظهر في مصولهن الضد IgM فضلاً عن الضد IgG.

لقد تبين ان وجود اضداد لفايروس CMV في جسم المرأة الحامل لا يمنع من اعادة تنشيط الفايروس الكامن latent في الجسم ولا يمنع من انتقال الفايروس من الام الى جنينها واحداث

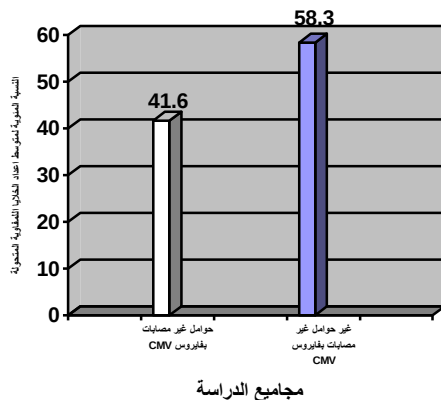


شكل (2) النسبة المئوية لمتوسط اعداد الخلايا اللمفاوية المتحولة عند تحفيزها بالمشط PHA للنساء الحوامل المصابات بفايروس CMV والنساء الحوامل غير المصابات بالفايروس .



شكل (3) النسبة المئوية لمتوسط اعداد الخلايا اللمفاوية المتحولة المتحسسة بالمشط PHA للنساء الحوامل المصابات بفايروس CMV والنساء غير الحوامل غير المصابات بالفايروس .

وكذلك لوحظ انخفاض في هذه القابلية في النساء الحوامل غير المصابات بالفايروس (41.64 %) مقارنة مع النساء غير الحوامل غير المصابات (58.35 %) (شكل (4)).



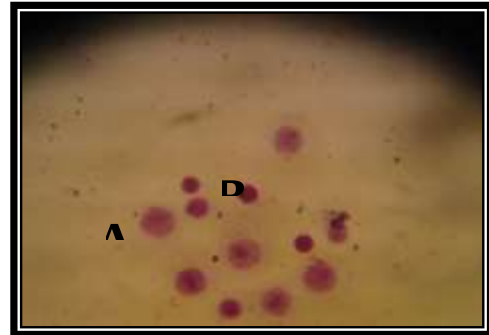
شكل (4) النسبة المئوية لمتوسط اعداد الخلايا اللمفاوية المتحولة المتحسسة بالمشط PHA للنساء الحوامل غير المصابات بفايروس CMV والنساء غير الحوامل غير المصابات بالفايروس .

فايروسية اخرى كالاصابة بالـ Varicella-Zoster virus (VS) و Epstein-Barr Virus (EB) ، وكذلك بوجود العامل الرثوي (rheumatoid factors) ، وقد جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع نتيجة [11] إذ وجد الضد IgM في 22 حالة (0.24 %) فقط من اصل 9100 حالة مدروسة وكذلك وجد [12] ان IgM اعطى نتيجة موجبة في 53 حالة (0.61 %) من اصل 8644 حالة مدروسة.

ولكن اختلفت نتائج هذه الدراسة مع دراسة [4] التي استطاعت الحصول على نتيجة موجبة للضد IgM في مصل اطفال عراقيين حديثي الولادة مصابين بالـ CMV ولادياً (بنسبة 16.1 %) بعد التخلص من العامل الرثوي (rheumatoid factor) .

فحص قابلية الخلايا اللمفاوية على التحول والانقسام :

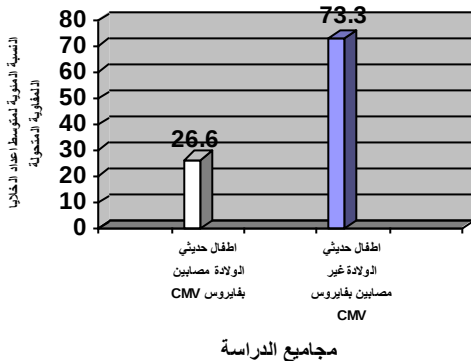
تم قياس النسبة المئوية لمتوسط تحول وانقسام الخلايا اللمفاوية المتحسسة بالمشط PHA في نماذج الدم للعينات قيد الدراسة لمعرفة مدى تأثير الاصابة بفايروس التضخم الخلوي CMV اثناء الحمل في قابلية الخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي على التحول والانقسام (شكل (1) .



شكل (1) تظهر خلايا لمفاوية متحسسة بالمشط PHA (ارومات لمفاوية (Lymphoblasts) (A) وخلايا لمفاوية غير متحسسة بالمشط PHA (X40)، (B) (Lymphocytes) (خلايا لمفاوية)

اظهرت نتائج الدراسة وجود فروق معنوية في قابلية الخلايا اللمفاوية على التحول و الانقسام بين النساء الحوامل المصابات بفايروس CMV ، والنساء الحوامل غير المصابات بالفايروس ، إذ لوحظ انخفاض في هذه القابلية عند النساء الحوامل المصابات (42.88 %) مقارنة مع النساء الحوامل غير المصابات (57.11 %) (شكل (2) ، كما اظهرت النتائج انخفاضاً عالياً في قابلية الخلايا اللمفاوية على التحسس بالمشط PHA) في النساء الحوامل المصابات بالفايروس (34.89 %) عنها في النساء غير الحوامل غير المصابات بالفايروس (65.10 %) (شكل (3) .

الاصابة بفايروس CMV المنتقل عن طريق الام في هؤلاء الاطفال .
 اظهرت النتائج وجود فروق معنوية في قابلية الخلايا للمفاوية على التحول والانقسام ($P=0.05$) بين الاطفال حديثي الولادة المصابين بالفايروس ، والاطفال حديثي الولادة غير المصابين به (مجموعة السيطرة control) ، إذ لوحظ انخفاض عال لهذه القابلية في الاطفال المرضى (26.66 % مقارنة مع الاطفال في مجموعة السيطرة (73.33 %) شكل (5) .



شكل (5) النسبة المئوية المنوية لمتوسط اعداد الخلايا للمفاوية المتحولة المتحسسة بالمشطر PHA للاطفال حديثي الولادة المصابين بفايروس CMV والاطفال حديثي الولادة غير المصابين بالفايروس .

قد يرجع السبب في انخفاض القابلية هذه الى ضعف وقلة كفاءة الجهاز المناعي لدى هؤلاء الاطفال بسبب الاصابة بالفايروس إذ ان الاصابة كانت ولادية لجميع الاطفال المصابين قيد الدراسة (Congenital infection).

وجد العالم [18] ان المرضى المصابين بفايروس CMV تنخفض لديهم القابلية على الاستجابة للمشطر PHA وفي دراسة اخرى للعالم Reynolds وجماعته (1979) لوحظ حدوث هبوط للمناعة الخلوية (depression of CMI) في الاطفال حديثي الولادة المصابين بفايروس CMV ولادياً وذلك عند تحفيز الخلايا للمفاوية باستخدام مستضدات نوعية للفايروس (CMV - specific antigen) وكذلك عند استخدام HSV-antigen. وبهذا يتبين لنا مقدار الضعف وعدم النضوج (Immaturity) في الاستجابة المناعية الخلوية لدى الاطفال حديثي الولادة المصابين بالفايروس وقد جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع نتائج الدراسات السابقة. كما اوضح [19] حدوث انخفاض في نسبة الخلايا للمفاوية التائية المساعدة الى الخلايا للمفاوية التائية الكابحة (T-helper T-suppressor ratio /) في جميع الاطفال حديثي الولادة الذين ظهرت عليهم اعراض سريرية للاصابة منذ الولادة وشملت الاعراض تضخم الطحال ، والكبد ، واليرقان ، وطفح جلدي ،

ان سبب انخفاض قابلية الخلايا للمفاوية المتحسسة بالمشطر (PHA) على التحول والانقسام لدى المرأة الحامل اثناء الحمل قد يعود لعدة اسباب اولها انخفاض مستوى المناعة المتوسطة بالخلايا (CMI) نتيجة للتغيرات الحاصلة في تجمعات الخلايا للمفاوية في الدم المحيطي اثناء الحمل [13 ; 14] . او نتيجة لانخفاض النسبي لاعداد الخلايا للمفاوية التائية مرافقاً لزيادة في نسبة اعداد الخلايا البائية وذلك بسبب وجود عامل الحمل المبكر (EPF) early pregnancy factor) الذي له دور تثبيطي على الخلايا للمفاوية التائية إذ يظهر هذا العامل بشكل سريع جداً بعد عملية الاخصاب (Fertilization) ويستمر خلال المرحلتين الاولى والثانية من الحمل [15] .

فضلاً عن ذلك فان وجود عوامل الكبح المناعي للمرأة الحامل التي تشمل هرموني البروجسترون (Progesterone) و الهايـدروكورتزون (hydrocortizone) ، و المستضد النوعي للارومة المولدة (Trophoblast specific antigen) خلال الحمل كلها عوامل تؤدي الى قلة المناعة الخلوية في هذه المدة مما يساعد المرأة الحامل في جعل جهاز المناعة يعمل بصورة حاذقة من اجل ابقاء الجنين داخل الرحم وعدم رفضه بوصفه جسماً غريباً [16].

لقد اشار [17] الى ان فايروس CMV يقوم بكبح جهاز المناعة إذ انه يؤثر في خلايا هذا الجهاز ، إذ لاحظ انخفاض في نسبة الخلايا للمفاوية التائية المساعدة T-helper cells مقارنة مع الخلايا للمفاوية الكابحة T-suppressor cells كما لاحظ ان النساء الحوامل المصابات بالفايروس تنخفض لديهن فعالية الخلايا التائية ، وتنخفض قابليتها على الاستجابة لمحفزات الانقسام والمشطرات مقارنة مع النساء الحوامل والنساء غير الحوامل غير المصابات بالفايروس وتبقى هذه الفعالية منخفضة حتى بعد سنة من الولادة .

ان هذا الانخفاض في الاستجابة المناعية الخلوية للنساء الحوامل المصابات بالفايروس من الممكن ان يزيد ويسرع من اعادة تنشيط (reactivation) للفايروسات الكامنة (latent viruses) في الجسم خلال الحمل وكذلك يزيد من احتمالية اعادة الاصابة (reinfection) بسلالات اخرى للفايروس نفسه او بفايروسات اخرى ، وهذا كله يؤدي الى انتقال الفايروس من الام الى الجنين واصابته وقد يؤدي الى وفاته وحدوث الاجهاض [6] .

اما بشأن الأطفال حديثي الولادة فقد تم قياس النسبة المئوية لمتوسط تحول وانقسام الخلايا للمفاوية المتحسسة بالمشطر (PHA) في الدم المحيطي لهؤلاء الاطفال لمعرفة مدى تأثير

- lymphocytes. I. Effect of culture conditions. The nucleus. 29 (3) : 92 – 98.
9. **Stango, S.; Pass, R.F. et al, 1982.** Congenital and perinatal CMV infections. Semin pernatol. 7: 31 – 42.
 10. **Demmier, G. J. 1994.** Congenital CMV infection. Semin. Ped. atr. Neural. 1(1) : 38 – 42.
 11. **Reynolds, D.W.; Stagno, S.; Stubbs, G.; Dahle, A.J.; Livingsto, M.M.; Saxan, S.S. and Alford, C.A. 1974.** Inapparent congenital Cytomegalovirus infection with elevated Coed IgM levels. N. Engl. J. Med. 290: 291 – 296.
 12. **Hanshaw, J. B.; Scheiner, A. P.; Moxley, A. W.; Gaev, L, Abel, V. and Scheiner, B, 1976.** School failure and deafness after " Silent" congenital Cytomegalovirus infection. N. Engl. J. Med. 295: 468 – 470.
 13. **Voision, G.A. 1983.** Enhancing antibodies and suppression cells in pregnancy : Role of placentation in Isojima, S. and Billington, W.D.
 14. **Finn etal., 1972.** Br. Med. J. 3: 150 – 152. In : **Streikanskas, A.J.; Wilson, B. S.; And drugs, S. (1975).** In : Version of levels of human T and B cels in early pregnancy. Nature 258(27) : 331 – 332.
 15. **Rolfe, 1982 (Cited by 2005 السعدي).**
 16. **السعدي، امال عزيز، 2005.** دراسة الحالة المناعية للنساء الحوامل وعلاقتها بالاصابات البكتيرية. (اطروحة ماجستير). كلية العلوم. جامعة بغداد.
 17. **Gehrz, R. C.; Christianso, W. R.; Linner, K. M.; Conroy, M. M.; MuCue, S. A. and Balfoa, H. H. 1981.** CMV specific humoral and cellular immune response in human pregnancy J. infect. Dis. 143(3): 391 – 394.
- وصغر حجم الجمجمة ، واختلالات في النمو، كما بين أن هناك زيادة في اعداد الخلايا اللمفاوية التائية الكابحة مقارنة مع بقية انواع الخلايا اللمفاوية التائية وبضمنها T-helper.
- وقد اشار كل من [20] و [4] في دراسات اجريت لقياس نسبة T-helper / T-suppressor ratio في الدم المحيطي للاطفال حديثي الولادة المصابين بفيروس CMV ولادياً ان هذه النسبة انخفضت بشكل ملحوظ في هؤلاء الاطفال المصابين مقارنة مع مجموعة السيطرة المقابلة لهم .
- المصادر :**
1. **Jawetz, E.; Melnik, J. L. and Adelberg, E. A. 1998.** Herpes viruses. In : medical microbiology, 5th ed. TYPO Press. 401 – 405.
 2. **Mokarsk; E. S., 1993.** CMV biology and replication In : The human herpesviruses. (**Roizman, B.; Whitley, R.; Lopez, C. , eds**). New York : Raven. 173 – 226.
 3. **Chin, J. 2000.** Cytomegalovirus. In : Control of communicable diseases manual. 17th ed. American Public Health Association. P. 138.
 4. **Habib, M. A. 2000.** Immunological and cytological methods in the diagnosis of human cytomegalovirus infection in Iraqi infants. College of Medicine, Al- Nahrain University.
 5. **Taylor, G.H. 2003.** Cytomegalovirus. Journal of the American Academy of Family Physicians. 67(3) [Internet – www.aaff.org].
 6. **Fowler, K. B.; Stagno, S. etal. 1992.** the outcome of congenital CMV infection in reaction to maternal antibody status. N. E. J. M. 326: 663 – 667.
 7. **Tanka, K. 1998.** The role of immune system in the pathogenesis of CMV associated disease. Nippon. Rinsho. 56(1) : 97 – 101 [abstract].
 8. **Shubber, E. K. and Allak, B.M.A. 1985.** Spontaneous chromosomal abberration in human

- Subpopulation in congenital CMV infection. Infect. Imm. 41(3) : 1380 – 1382.
20. Carney, W.P., Rubin, R.H.; Hoffman, R.A. et al. 1981. Analysis of T lymphocyte subsets in CMV mononucleosis. J. Immunol. 126 : 2114 – 2116.
18. Tamura, T.; Chiba, S.; ABO, W.; Chiba, Y. and Nakao, T. 1980. Cytomegalovirus – specific lymphocyte transformation in subjects of different ages with primary Immunodeficiency. Infect. Immun. 28(1) : 49 – 53.
19. Pass, R.F.; Roper, M. A. and August, A. M. 1983. T lymphocyte

Studying the ability of transformation of lymphocytes by using PHA in patient with Cytomegalovirus

*Mariam Kamil Mohammed** *Ghanima Sadik Mohammed**
*Mohammed Shafeeq Tawfeeq ***

* College of Science -- University of Baghdad/Biology Department

** College of Medicine -- Al-Nahrin University

Abstract:

Blood samples were collected from (31) pregnant women infected with cytomegalovirus , also (15) blood samples were collected from congenitally infected infants, and (20),(15),(15) blood samples were collected from pregnant women ,non pregnant and infants, respectively, all of them were as control groups.

CMV infection identified by using ELISA assay to detect specific CMV IgM & IgG in sera.

The results of lymphocyte transformation showed a significant decrease when phytohemagglutinin (PHA) used as stimulator, lymphocytes response in infected pregnant women was lower than that of non infected pregnant women as well as non pregnant women. Result also showed a significant decrease in the ability of lymphocyte division in healthy pregnant women when compared with healthy non pregnant women. Lymphocyte activity of infants infected with CMV was also significantly lower when comparison with non infected infants.