

دراسة مناعية كروموسومية لمكونات دم الحبل السري عند الولادة

إسراء عدنان عبد الجليل*، محمد قيس العاني*، سليم عبيد المولى**، ناهي يوسف ياسين***، صفاء كامل الأمين*

* جامعة الانبار - كلية العلوم.

** وزارة الصحة - دائرة صحة الانبار.

*** الجامعة المستنصرية - المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية.

الخلاصة:

استهدفت الدراسة الحالية جمع نماذج دم الحبل السري من الأطفال حديثي الولادة في مدينة الرمادي واجراء الكشف المناعي عن وجود الاجسام المضادة النوعية لبعض الحالات المرضية فضلا عن اجراء دراسة للهيئة الكروموسومية للخلايا المصفية من خلايا الدم البيض. اظهرت النتائج ما يأتي:

نتائج الاختبارات المناعية: تبين ان النتائج الموجبة لاختبار بروتين سي الفعال هي 33.9%، كما بلغت النتائج الموجبة لاختبار كومب غير المباشر 81.1% وكانت النتائج الموجبة لاختبارات TORCH لمصل دم الحبل السري =66.0% Rubella، 47.3% Toxoplasma، 45.3% HSV، 50.9% CMV. نتائج الترحيل الكهربائي: لوحظ وجود اختلافات في طرز بروتينات مصل دم الحبل السري وبين الامهات ايضا. نتائج الدراسة الكروموسومية: لم تظهر اية تغيرات كروموسومية لا عديدة ولا تركيبية في نماذج مصل دم الحبل السري قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: الحبل السري، علم المناعة، دراسة خلوية.

المقدمة:

بامراض معدية اذ ان هذا الاختبار يقيس مستوى الاجسام المضادة في الدم لمجموعة من الامراض اكتسب منها الاختبار اسمه اذ ان الاختبار هو اختصار للاحرف الخمسة الاولى للامراض التي يتم كشفها بهذا الاختبار وهي: Toxoplasmosis , Other infections , Cytomegalovirus , Rubella , Herpes simplex virus . ويشير مصطلح Other infections الى مجموعة من الامراض هي Syphilis , Hepatitis B , Coxsackie , Epstein Barr virus , (Varicella-Zoster virus , & Human parvovirus.) 5.

تعد دراسة كروموسومات خلايا دم الحبل السري موضوعا حديثا جدا جاءت نتيجة لتوجه العالم اليوم نحو امكانية استعمال دم الحبل السري مصدرا طبيعيا لعلاج الكثير من الامراض الوراثية وخصوصا بعد اكتشاف ما يعرف بالخلايا الجذعية (Stem cell) في عام 1983 وقدراتها الكبيرة على التمايز والتخصص بعد زراعتها في الجسم.

تمكن 6 من دراسة الكروموسومات في خلايا دم الحبل السري وتحديد اشكال الكروموسومات وتصنيفها تبعا لموقع الجزء المركزي واستنتج وجود اختلافات في اشكال الكروموسومات بين الذكور والاناث الخاضعين للدراسة.

بينت دراسة 7 وجود اختلافات في الهيئة الكروموسومية لكروموسومات خلايا دم الحبل السري بين الذكور والاناث لمجموعة من اطفال مدينة نينوى الهندية بلغ عددهم 100 ذكرا و 100 انثى حديثي الولادة وكانت الاختلافات

يعرف دم الحبل السري (Umbilical cord blood) بانه الدم المتبقي في المشيمة وحبل السرة بعد الولادة، ويتم جمعه مباشرة بعد فصل المولود عن المشيمة والحبل المتصل بسرته ويمتاز دم الحبل السري بمميزات جعلت منه مادة مهمة من الناحية الطبية العلاجية ومن اهم هذه المميزات هو احتوائه على خلايا جذعية بدائية، وكذلك سرعة توافر المكونات الخلوية للدم واحتوائه على المغذيات بكمية كبيرة(1).

يغطي دم الحبل السري باهتمام الكثير من الباحثين خصوصا خلال السنوات العشر الأخيرة باعتباره المصدر البديل والمهم للخلايا الجذعية بدلا من زراعة نقي العظم. بدأت فكرة الاستفادة من مكونات دم الحبل السري عام 1972 وبعدها توجهت الانظار الى ان دم الحبل السري ليس مجرد فضلات يتم التخلص منها بل هي مصدرا مهما للحصول على الخلايا الجذعية التي اثبتت نجاحا باهرا في علاج الكثير من الامراض الوراثية والسرطانية(2).

توجد العديد من الاختبارات التي يمكن من خلالها تحديد المكونات المناعية لدم الحبل السري، ومن هذه الاختبارات اختبار كومب فقد اوضحت دراسة 3 ان نسبة الاطفال حديثي الولادة المصابين بامراض تحلل الدم بلغت 59% عند اجراء اختبار كومب لدم الحبل السري واعتبر استعمال اختبار كومب المباشر في دراسة امراض تحلل الدم في الحبل السري افضل من استخدام اختبار كومب غير المباشر عند استعمال دم الحبل السري.

استخدم 4 تقنية اليزا في التحري عن بروتين سي الفعال في الاطفال حديثي الولادة وذكر انها طريقة حساسة لتشخيص اصابة الاطفال بالتهابات وتجرحم الدم. ومن الاختبارات المناعية المهمة التي يمكن اجراؤها على دم الحبل السري اختبار TORCH لدم الحبل السري ويدعى ايضا (TORCH panel) وهو مجموعة من الاختبارات المناعية للدم ويعد مقياسا حتميا للاجسام المضادة الخاصة

Corresponding author:

NAhi Y. Yaseen

Iraqi Center of Cancer and Medical Genetics / University of Al-Mustansirya

E-mail: nahiyaseen@yahoo.com

اختبار التلازن للكشف عن وجود بروتين C الفعال:

أظهرت نتائج اختبار التلازن ان بروتين سي الفعال اعطى نتيجة موجبة قدرها 33.9% في مصل دم الحبل السري باعتماد الفئة العمرية للام ، وقد توزعت النتائج الموجبة بنسب متفاوتة بلغت اعلى قيمة لها في الفئة العمرية 21-25 سنة بينما بلغت اقل نسبة وقدرها 11.1% في الفئتين العمريتين 16-20 سنة و 31-35 سنة والجدول (1) يوضح توزيع نتائج اختبار بروتين C الفعال باعتماد الفئة العمرية للام.

يعد اختبار سي الفعال احد اهم الاختبارات التخصصية التي يمكن من خلالها تشخيص الاصابة بالامراض الالتهابية اذ يمكن من خلال متابعة مستوى بروتين سي الفعال في الدم ملاحظة الاضطرابات الالتهابية والمناعية الذاتية ، كما يمكن الاستفادة من بروتين سي الفعال في الكشف عن تخرثم الدم في الاطفال حديثي الولادة (14).

اوضحت نتائج دراستنا الحالية وجود نتائج موجبة لبروتين سي الفعال في مصل دم الحبل السري وقد تكون هذه النتائج الموجبة هي نتيجة لاصابة الام ببعض الالتهابات اثناء فترة الحمل او تعرض الطفل الى بعض الرضوض والكدمات اثناء عملية الولادة ، ان امتلاك بروتين سي الفعال للوظيفة التنظيفية يجعل منه اختبارا ناجحا للتحري عن الالتهابات حتى بعد انتهاء الالتهاب وهذا يتفق مع ما ذكره 15.

اختبار كومب غير المباشر: بينت نتائج اختبار كومب غير المباشر ان 81.1% من نتائج الاختبار كانت موجبة باعتماد الفئة العمرية للام وقد توزعت النتائج الموجبة بنسب متفاوتة على الفئات العمرية وبلغت اعلى نسبة وقدرها 44.2% في الفئة العمرية 21-25 سنة بينما بلغت اقل نسبة وقدرها 9.3% في الفئة العمرية 31-35 سنة . كما موضح في جدول (2) .

يمكن الاستفادة من اجراء اختبار كومب للتحري عن وجود الامراض التحليلية التي قد تصيب الاطفال حديثي الولادة او يستخدم للكشف عن وجود الاصابة بفقر الدم التحللي او لغرض التحقق من تطابق فصيلة الدم قبيل عملية نقل الدم ، كما ويمكن الاستفادة من اختبار كومب غير المباشر في الكشف عن وجود اجسام مضادة في المصل وتحديد وجود اجسام مضادة للعامل الريسي Rh خلال فترة الحمل ولا توجد طريقة لاثبات التطابق في العامل الريسي غير هذا الاختبار (16).

لوحظ من نتائج دراستنا الحالية وجود عدد كبير من النتائج الموجبة لبروتين سي الفعال وهذا يتفق مع ما وجدته 17 اذ لاحظ وجود 89% نتيجة في الاطفال حديثي الولادة في دراسة أجريت في البرازيل للتحري عن انتشار أمراض الدم التحليلية في الاطفال حديثي الولادة.

نتائج اختبار الاليزا Anti – Cytomegalovirus IgG

اظهرت نتائج اختبار الاليزا باعتماد الاجسام المضادة من نوع IgG وجود اجسام مضادة لفايروس تضخم الخلايا بنسبة 50.9% كنتيجة موجبة باعتماد الفئة العمرية للام وقد سجلت اعلى نسبة في الفئة العمرية 21-25 سنة وبنسبة قدرها 37.0% في حين ظهرت اقل نتيجة موجبة في الفئة العمرية 31-35 سنة وبلغت 14.8% جدول رقم (3) .

اظهرت نتائج دراستنا الحالية وجود عدد كبير من النتائج الموجبة للاصابة بفايروس CMV اذ ظهر وجود IgG في مصل دم الحبل السري قيد الدراسة بنسبة 50.9% ويمكن القول بان هذه الاصابة قد انتقلت من الام الى جنينها عبر دم الحبل السري وحدثت الاصابة فيه او ان تكون اصابة ثانوية فانتقلت IgG من الام الى الجنين دون اصابة الجنين ، وهذا يتوافق مع ما ذكره 18.

ان السبب الرئيس لفقدان الجنين عند اصابة الام بفايروس CMV هو التلف الذي يحدثه الفايروس في انسجة الجنين النامي والعمل على ايقاف نموه داخل الرحم ، كما ان اصابة الام الحامل يؤدي الى ارتفاع درجة حرارتها وينتهي بالاجهاض

الكروموسومية المسجلة غير معنوية.

اوضحت دراسة 8 امكانية استعمال مصل دم الحبل السري في الدراسات الكروموسومية اذ تمكنوا من الحصول على حزم كروموسومية منضدة وواضحة بشكل افضل بمقارنتها مع كروموسومات مصل الماشية واستنتج ان دم الحبل السري لا يمكن اهماله كونه مصدرا غنيا بالمغذيات فضلا عن احتوائه على الخلايا الجذعية التي تعد المفتاح الجديد لعلاج كثير من الامراض الوراثية.

ذكر 9 ان دم الحبل السري هو افضل مصدر لدراسة الكروموسومات البشرية ويمكن استعماله لتحديد الامراض الوراثية التي من المحتمل ان يصاب بها الطفل الوليد بعد الولادة فضلا عن احتواء دم الحبل السري على الخلايا الجذعية البالغة التي يمكن استعمالها وتوظيفها في علاج كثير من الامراض التي تصيب الانسان.

ذكر 10 ان دم الحبل السري يحتوي على خلايا لمفية (Lymphocytes) يمكن توظيفها للدراسات الوراثية من خلال زراعتها على الاوساط الغذائية واختضاعها لخطوات التحزيم والتلون للحصول على الهيئة الكروموسومية التي يمكن ان توضح الكثير من الجوانب الوراثية للطفل.

ونظرا لقلة الدراسات المحلية على مكونات دم الحبل السري ولغرض تقييم امكانية الاستفادة من دم الحبل السري لاغراض تشخيصية فقد جاءت هذه الدراسة مستهدفة جمع نماذج دم من الحبل السري للاطفال المولودين حديثا في مستشفى النسائية والاطفال في الرمادي لغرض دراسة الجوانب التالية:

1. اجراء الاختبارات المناعية بطريقة الاليزا (ELISA) لمصل دم الحبل السري للكشف عن وجود الاجسام المضادة النوعية من نوع IgG لبعض المسببات المرضية شملت: ، Rubella virus ، Toxoplasma gondii ، Cytomegalo Virus ، Herpes simplex virus
2. دراسة الكروموسومات من خلايا دم الحبل السري وتصويرها لتحديد حالات وجود تشوهات او انحرافات كروموسومية.

طرائق العمل:

جمع عينات الدم: جمعت (10) مل من دم الحبل السري من الاطفال حديثي الولادة للنساء الوافدات الى صالات الولادة في مستشفى النسائية والاطفال في الرمادي والبالغ عددهن 86 امرأة للفترة من 1/7/2008 لغاية 20/1/2009 ، جمع الدم اثناء قطع الحبل السري بعد الولادة وبعد الحصول على الكمية المطلوبة.

1. اختبارات الاليزا: (11) وتضمنت تقدير الاجسام المضادة من نوع IgG Anti-Cytomegalovirus - و تقدير الاجسام المضادة من نوع IgG Anti-Rubella - و تقدير الاجسام المضادة من نوع IgG Anti-Toxo - واختبار كومب غير المباشر وقياس بروتين C الفعال
2. الدراسة الكروموسومية 12 وتضمنت زراعة دم الحبل السري ودراسة الكروموسومات وأجريت كافة خطوات هذه التجربة في مركز بحوث التقانة الاحيائية - جامعة النهرين.

النتائج والمناقشة:

يعد دم الحبل السري مهما من الناحية العلمية اذ انه يشكل احد اهم المصادر الغنية بالخلايا الجذعية اضافة الى ان مستويات بعض المتغيرات الكيميائية والدموية فيه يمكن ان تعكس مستوى التحفيز الحاصل من دم الام الى الجنين اثناء فترة الحمل فضلا عن اعطاء فكرة عن حالة الطفل اثناء الولادة ، كما ان صورة الدم في الحبل السري يمكن ان ترتبط بتغيرات طويلة الامد في الوظائف الايضية للفرد ما بعد الولادة (13).

الاختبارات المناعية:

(19).

ان العوامل التي تؤدي الى اصابة الجنين يمكن ان تكون بسبب المستوى المعاشي اضافة الى عوامل وراثية كثيرة ترتبط جميعها بالاستجابة المناعية داخل جسم الام الحامل (20).

لم تتضمن الدراسة الحالية تقدير IgM في دم الحبل السري للأطفال عند الولادة وذلك لانه غير قادر على عبور المشيمة لذا لا يمكن تقديره ويمكن ان يتداخل مع اصابة بفايروسات اخرى او بسبب وجود Rf-factor وهذا يتفق مع و 21 اذ تمكن من الحصول على IgM في الاطفال حديثي الولادة بنسبة 0.6-0.2.

بينت دراسة 22 ان 18% من الاطفال حديثي الولادة في مدينة دهي الهندية والمناطق المجاورة لها اعطى نتيجة موجبة لاختبار CMV-IgG antibodies اعتبر هذه النسبة هي نتيجة حتمية لاصابة الام الحامل بفايروس CMV في فترة مبكرة من الحمل.

نتائج اختبار الاليزا لـ *Anti Herpes virus IgG*

اظهرت نتائج اختبار الاليزا للكشف عن وجود الاجسام المضادة من نوع IgG لفايروس القوباء البسيط ان نسبة الانتشار بلغت 45.3% في مصلى دم الحبل السري باعتماد الفئة العمرية للام ، وقد توزعت النتائج الموجبة بنسب متفاوتة بلغت اعلى قيمة لها في الفئة العمرية 25-21 سنة وبنسبة قدرها 41.7% ، بينما سجلت اقل نسبة في الفئة العمرية 35-31 سنة وبلغت 16.7% والجدول (4) يوضح توزيع نتائج اختبار الاليزا لـ *Anti-IgG – Herpes virus* باعتماد الفئة العمرية للام.

اوضحت نتائج دراستنا الحالية ان 45% من نماذج دم الحبل السري قيد الدراسة كانت موجبة لاختبار فايروس الحلا البسيط وهذا يتفق مع ما وجدته 23 التي اجريت على دم الحبل السري لاطفال ولدوا في مستشفيات طهران ولاحظوا ان نسبة 90% كانت موجبة لاختبار HSV ولوحظ ان هناك علاقة ارتباط موجبة بين زيادة عمر الام وبين الاصابة بهذا الفايروس ، كما تتفق نتائج دراستنا الحالية مع نتائج 24 اذ لاحظوا ان 65% من الاطفال حديثي الولادة كانوا مصابين بفايروس HSV.

كما تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما اوجده 25 اذ لاحظ ان 50% من الاطفال حديثي الولادة في ولاية كاليفورنيا كانوا مصابين بـ HSV وقد فسرت هذه النتائج الموجبة بانها بسبب انتقال تلقائي للاجسام المضادة الناتجة عن اصابة الام بفايروس HSV ، كما وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجدته 26 ان 73% من الاطفال في هولندا اعطوا نتيجة موجبة لاختبار HSV كما لوحظ عدم وجود ارتباط بين شهر الولادة والاصابة بالفايروس ولكن كان الارتباط موجبا باعتماد المواقع الجغرافية الخاضعة للدراسة في هولندا.

اتفقت نتائجنا الحالية مع ما وجدته 27 اذ لاحظ ان 30% من الأطفال حديثي الولادة في ولاية تورنتو اعطوا نتيجة موجبة لاختبار HSV . كما تتفق نتائجنا الحالية مع ما وجدته 28 اذ لاحظ ان الاطفال حديثي الولادة في بلغاريا اعطوا نتيجة موجبة للاصابة بفايروس HSV بنسبة مقدارها 84%. ان الاصابة بفايروس HSV يتأثر بعدة عوامل اهمها المستوى الاجتماعي والاقتصادي ودرجة الوعي الصحي فضلا عن السلوك الجنسي الذي يلعب دورا كبيرا في انتشار الإصابة (29).

نتائج اختبار الاليزا لـ *Anti Toxoplasma gondii IgG*

اظهرت نتائج اختبار الاليزا للكشف عن وجود الاجسام المضادة من نوع IgG لطيفيلي داء المقوسات الكونديا ان 35.8% من النتائج كانت موجبة باعتماد الفئة العمرية للام ، وسجلت اعلى نسبة انتشار في الفئة العمرية 25-21 سنة وبلغت 47.3% بينما اظهرت النتائج ان اقل نسبة انتشار سجلت في الفئة

العمرية 35-31 سنة وبنسبة قدرها 10.5% ، والجدول (5) يوضح توزيع نتائج اختبار الاليزا لـ *Anti-IgG – Toxoplasma gondii* باعتماد الفئة العمرية للام.

يتضح من نتائج التشخيص المناعي للاصابة بداء المقوسات الكونديا في مصلى دم الحبل السري بلغ 35.8% وقد يكون السبب هو تعرض الام الحامل الى الاطوار المعدية للطيفيلي عن طريق الطعام الملوث ببراز القطط المصابة او من خلال وصول اكياس النسيج الحية عن طريق اللحوم غير المطبوخة جيدا وهذا يتفق مع ما وجدته 30 اذ ان وصول كيس لقحية واحد يكون كافيا لاحداث الخمج في النساء وهذا ما ذكره 31 وكما لوحظ من الدراسة الحالية ان الاصابة قد تركزت في النساء اللواتي تتراوح اعمارهم بين 25-21 سنة وهذا يتفق مع ما وجدته 32

حيث لاحظ ازدياد احتمال الاصابة بداء المقوسات مع تقدم العمر وتصل اعلى نسبة اصابة بعمر 34 سنة وقد يكون السبب في ذلك هو ان هذا العمر يمثل سن الزواج والانجاب في عموم العراق (30).

تلعب العوامل الاجتماعية والاقتصادية دورا كبيرا في انتشار الاصابة بداء المقوسات الكونديا بسبب انخفاض الوعي الصحي وعدم الاحتراز من الاختلاط بالقطط المصابة بطيفيلي داء المقوسات الكونديا كما تلعب الحشرات دور ناقل ميكانيكي من خلال نقل براز القطط الملوث الى الاطعمة المكشوفة وهذا يتفق مع ما وجدته 33 بسبب هذا الطيفيلي حدوث الاجهاض في النساء الحوامل بسبب قدرة حويثاته على اختراق نسيج المشيمة لتصل الى الجنين مما يؤدي الى حدوث استجابة مناعية تؤدي الى رفض الجنين وحدثت اجهاض تلقائي او ولادة اجنة ميتة (34) وهذا ما ذكره 30 من ان الاجهاض قد يكون ناجما من تقلص الرحم الناتج من الاستجابة المناعية والحمى المرتفعة بسبب الخمج.

نتائج اختبار *Anti-IgG – Rubella virus*

اظهرت نتائج اختبار الاليزا للكشف عن وجود الاجسام المضادة من نوع IgG لفايروس الحصبة الالمانية ان نسبة الانتشار بلغت 66.0% في مصلى دم الحبل السري باعتماد الفئة العمرية للام وقد تباينت نسبة الانتشار باختلاف الفئة العمرية اذ سجلت اعلى نسبة موجبة في الفئة العمرية 25-21 سنة وبلغت 42.9% في حين سجلت اقل نسبة موجبة في الفئة العمرية 35-31 سنة وبلغت 8.6% ، الجدول رقم 6).

اظهرت نتائج دراستنا الحالية ان نسبة 66.0% من الاطفال اعطوا نتيجة موجبة لاختبار *Anti-IgG – Rubella virus* يمكن القول بانه عادة ما تحدث الاصابة في الام ومن ثم تنتقل الى الجنين عن طريق دم الحبل السري ويقوم الفايروس بمهاجمة انسجة الجنين واحداث سلسلة من التفاعلات المناعية التي تنتهي بعملية الاجهاض .

ان النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة تشير الى حدوث اصابه سابقة في جسم الام الحامل جاءت لتنتقل عبر دم الحبل السري الى الطفل دون وجود الاصابة الاصلية، وذلك لان الجنين يعتمد على الام في حصوله على الاجسام المضادة IgG خلال فترة النصف الاول من الحمل لذلك فعند تكون الاجسام المضادة في دم الام الحامل تبدأ بعدها بالانتقال الى جسم الجنين بشكل متزايد لان النشاط المناعي للجنين يشترك مع النشاط المناعي للام في تحديد النشاط الفايروسي عن طريق انتقال الاجسام المضادة نوع IgG من الام الى الجنين (35).

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجدته 36 اذ وجد ان 93% من الاطفال حديثي الولادة في تركيا اعطوا نتيجة موجبة لاختبار *Anti-IgG – Rubella virus* واوصت هذه الدراسة بضرورة تلقيح الامهات والفتيات اللواتي في سن الانجاب ، كما تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجدته 37 اذ لاحظ ان 32% من الاطفال حديثي الولادة في مدينة ازمير التركية كانوا مصابين بـ *Rubella* واستنتج ان سبب هذه الاصابة هو انتقالها من الام الى الطفل عبر دم الحبل

السري.

وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجدته 38 في دراسة أجريت على الأطفال حديثي الولادة في مدينة انقره التركية إذ لاحظ وجود علاقة ارتباط موجبة بين عمر الأم والاصابة بفايروس الحصبة الألمانية .

ان الإصابة بفايروس الحصبة الألمانية خلال فترة الحمل وخصوصا الأشهر الأولى للحمل يمكن ان يسبب اصابة الجنين او موته لذلك فان جسم الأم المصابة بالفايروس ينتج اجسام مضادة يمكن ان تنتقل الى الطفل عبر المشيمة لذا فقد اقترح في الدول المتقدمة ان يتم تلقيح الفتيات بعمر 13 سنة ضد هذا الفايروس لانه يمكن ان يوفر حماية مقدارها 95% للام والطفل لفترات تصل عدة سنوات. (39) ، ان الطفل حديث الولادة يشكل الهدف الرئيس للإصابة بالفايروس بعد ان تصاب الأم في فترة الحمل بهذا الفايروس (40).

نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات

اظهر الترحيل الكهربائي لبروتينات مصلى الدم على هلام متعدد الاكريلاميد PAGE وجود بعض الاختلافات بين طرز بروتينات مصلى الدم الحبل السري بين الاطفال انفسهم وكذلك بين مصلى دم الأم ومصلى دم الحبل السري لطفلها كما موضح في الصورة رقم 1.

ان الهدف من هذه التجربة هو لتحديد وجود الاختلافات في طرز البروتينات المتواجدة في مصلى دم الحبل السري واظهرت النتائج وجود اختلافات جوهريّة في أصناف البروتينات في نماذج مصلى دم الحبل السري ويمكن تفسير هذه الاختلافات الى الحالة المناعية والفسلجية التي مر بها الطفل والأم على حد سواء خلال فترة الحمل إذ ان اصابة الأم ببعض الأمراض خلال فترة الحمل يمكن ان يسبب تكوين بروتينات مناعية للدفاع ضد الممرضات او ان التعرض للظروف الصحية المختلفة الناتجة بفعل الحمل يمكن ان يتسبب في تكوين بروتينات معينة يمكن الكشف عنها في مصلى دم الحبل السري بطريقة الترحيل الكهربائي.

جدول (1) : توزيع نتائج اختبار بروتين C الفعال باعتماد الفئة العمرية للام.

الجموعه العمرية		العدد الكلي		النتيجة الموجبة		النتيجة السالبة	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
16-20		10	18.9	2	11.1	8	22.9
21-25		21	39.6	8	44.4	13	37.1
26-30		15	28.3	6	33.3	9	25.7
31-35		7	13.2	2	11.1	5	14.3
المجموع		53		18	33.9	35	66.0

جدول (2) : توزيع نتائج اختبار كومب باعتماد الفئة العمرية للام.

الجموعه العمرية		العدد الكلي		النتيجة الموجبة		النتيجة السالبة	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
16-20		10	18.9	8	18.6	2	20.0
21-25		21	39.6	19	44.2	2	20.0
26-30		15	28.3	12	27.9	3	30.0
31-35		7	13.2	4	9.3	3	30.0
المجموع		53		43	81.1	10	18.9

الدراسة الكروموسومية:

توضح الصورة رقم 2 الكروموسومات الطبيعية التي تم الحصول عليها في الخلايا المفاوية لدم الحبل السري للاطفال بعد الولادة ويتضح من الصورة عدم وجود تغيرات كروموسومية تركيبية ولا عددية في الحالات التي تم دراستها. ان عدم وجود تغيرات كروموسومية عددية او تركيبية قد يعزى الى الفترة القصيرة لعمر الطفل عند جمع النموذج حيث يتقدم العمر تزداد نسبة التغيرات الكروموسومية ، كما ان عدم التعرض الى العوامل المختلفة التي تؤدي الى تغير طبيعة ووظيفة المادة الوراثية يفسر الى حد بعيد عدم ظهور انحرافات كروموسومية في دم الحبل السري، اضافة الى النشاط المناعي المتزايد نسبيا قبل عملية الولادة والذي يزيد من قابلية الخلية على اصلاح المادة الوراثية اذا ما حصل هنالك أي انحراف حفاظا على حياة الجنين (41) .

ان التغيرات في اعداد الكروموسومات تشمل التضاعف غير الحقيقي الذي يتضمن زيادة او نقصان كروموسوم واحد او اكثر أي ان التغير لا يحدث بالجموعة الكروموسومية او ان يكون تضاعف كروموسوم حقيقي وهذا يختلف تبعا لعدد المجموعات الكروموسومية ، ان العدد الكروموسومي يكون ثابتا في النوع الواحد ويعتمد المصنفون على العدد الكروموسومي كدليل مهم لتحديد نوع الكائن الحي والعلاقة التصنيفية بين الكائنات ، تعتبر خلايا الانسان ثنائية المجموعة الكروموسومية (2n) اذ تمتلك الخلية 46 كروموسوما بواقع 22 زوج كروموسوما ذاتيا (Autosome وكروموسومين جنسيين (42 sex chromosome) ، اما التغيرات الكروموسومية التركيبية فانها تشمل تغيرا حقيقيا غير طبيعي في تركيب الكروموسوم من خلال حدوث عمليات الحذف (Deletion) او التضاعف (Duplication) او الانتقال (Translocation) او الانقلاب (Inversion) او ان يحدث تغير في شكل الكروموسوم بتحويله الى كروموسوم مزدوج او حلقي او متناظر (43).

جدول (3) : توزيع نتائج اختبار الاليزا لـ *IgG Cytomegalovirus – Anti* باعتماد الفئة العمرية للام. ($0.71=Off-Cut$)

النتيجة السالبة		النتيجة الموجبة		العدد الكلي		المجموعة العمرية
%	العدد	%	العدد	%	العدد	
15.4	4	22.2	6	18.9	10	16-20
42.3	10	37.0	10	39.6	21	21-25
30.8	8	25.9	7	28.3	15	26-30
11.5	3	14.8	4	13.2	7	31-35
49.1	26	50.9	27	53		المجموع

جدول (4) : توزيع نتائج اختبار الاليزا لـ *virus Herpes – IgG-Anti* باعتماد الفئة العمرية للام. ($0.85=Off-Cut$)

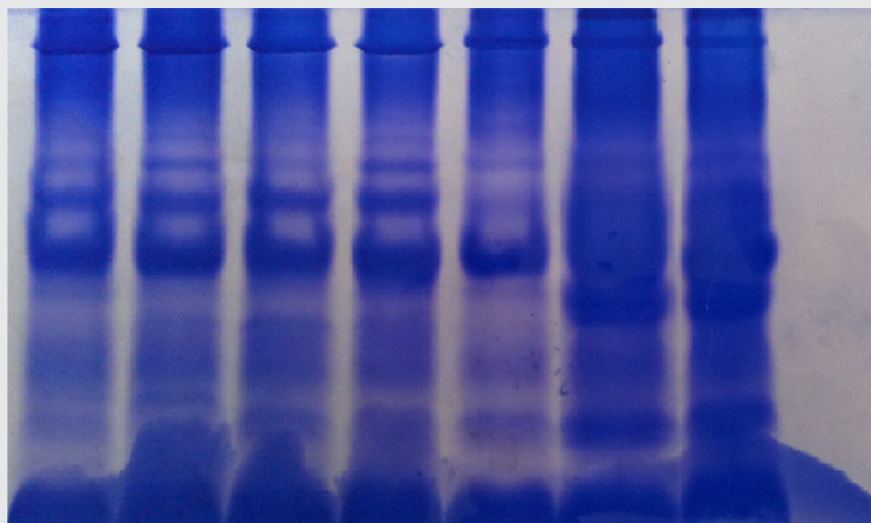
النتيجة السالبة		النتيجة الموجبة		العدد الكلي		المجموعة العمرية
%	العدد	%	العدد	%	العدد	
17.2	5	20.8	5	18.9	10	16-20
37.9	11	41.7	10	39.6	21	21-25
34.5	10	20.8	5	28.3	15	26-30
10.3	3	16.7	4	13.2	7	31-35
54.7	29	45.3	24	53		المجموع

جدول (5) : توزيع نتائج اختبار الاليزا لـ *Anti Toxoplasma gondii IgG* باعتماد الفئة العمرية للام.

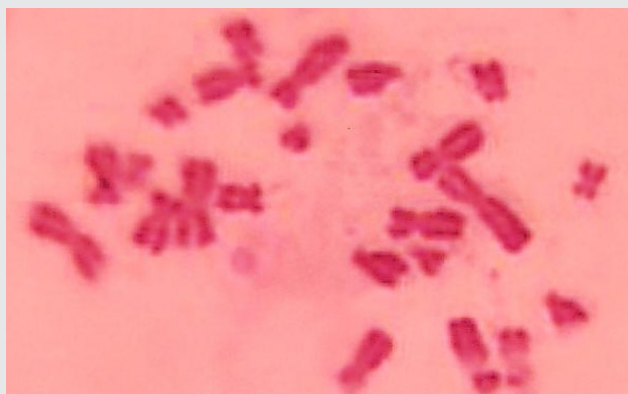
النتيجة السالبة		النتيجة الموجبة		العدد الكلي		المجموعة العمرية
%	العدد	%	العدد	%	العدد	
17.6	6	21.1	4	18.9	10	16-20
35.3	12	47.3	9	39.6	21	21-25
32.4	11	21.1	4	28.3	15	26-30
14.7	5	10.5	2	13.2	7	31-35
64.2	34	35.8	19	53		المجموع

جدول (6) : توزيع نتائج اختبار *Rubella virus – IgG-Anti* باعتماد الفئة العمرية للام ($Cut-off=0.78$).

النتيجة السالبة		النتيجة الموجبة		العدد الكلي		المجموعة العمرية
%	العدد	%	العدد	%	العدد	
16.7	3	20	7	18.9	10	16-20
33.3	6	42.9	15	39.6	21	21-25
27.8	5	28.6	10	28.3	15	26-30
22.2	4	8.6	3	13.2	7	31-35
34.0	18	66.0	35	53		المجموع



صورة (1) الترحيل الكهربائي لبروتينات
مصل الدم على هلام متعدد الاكريلاميد
تتركيز (12.5%) مصبغة بصبغة
massae brilliant blue R-250
[Lane 1-3] = مصلى دم الحبل السري
[Lane 4-7] = مصلى دم الام



صورة 2: B. الكروموسومات الطبيعية في دم الحبل السري قيد
الدراسة (قوة التكبير 1000X).



صورة 2: A. الكروموسومات الطبيعية في دم الحبل السري قيد
الدراسة (قوة التكبير 1000X).

المصادر:

1. Petersdorf EW, Gooley TA, Anasetti C, Otkun M, Ekluklu G (1998) . Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood*.;92:3515–3520
2. Szydlo R, Goldman JM, Klein JP, Harris, G.K. and Buhi, W.C (1997). Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol*.;15:1767–1777.
3. Mordue, D. G.; N. Desai; M. Dustin and L. D. Sibley. 1999. Invasion by *Toxoplasma gondii* establishes a moving junction that selectively enclude host cell plasma membrane proteins on the basis of their membrane anchoring. *J. Exp. Med.* 1783-1792.
4. Yoon, B.H., Romero, R. Shim, J. Shim, and Jun, K. (2003) C-reactive protein in umbilical cord blood :a simple and widely available clinical method to assess the risk of aminotic fluid infection and funisitis *J. Matern. fet. Neon. Med.* 14:85-90
5. Levin, Myron J. (1997) "Infections: Viral & Rickett-sial." In *Current Pediatric Diagnosis & Treatment*, edited by William W. Hay Jr., et al. Stamford: Appleton & Lange.
6. Perner, S. Silk, B. Hasel, C. and Moller, P. (2003) Quantifying telomere lengths of human individual chromosomes arms by centromere-calibrated fluorescence in situ hybridization and digital imaging. *American J. Pathol.* 163.5:1751-1756.
7. Potluri, V. Singh, I. and Bhasin, M. (1985) Human chromosomal Heteromorphisms in Delhi newborns. *Hum. Hered.* 35(5):333-338.
8. Victor, R. Rao, A. Rao, V. and sayee, R. (2007) Use of Umbilical Cord serum in chromosomal studies. *Int. J. Hum. Genet.* 7. (2):163-166.
9. Cairo, M. and wagner, J. (1997) Placental and/or umbilical cord blood: An alternative source of haematopoietic stem cells for transplantation. *Blood*. 90. 12:4665-4678.
10. Hall, J. Adams, S. Lasser, D. and Bean, M. (1995) Detection of maternal cells in a human umbilical cord blood using fluo-

- rescence in situ hibridization blood.86(7):2829-2832.
11. Gravell , M. Dorcett, P. Ley,A. (1977) Detection of antibody to Rubella virus by ELISA . J.Infect.Dis.136:300-310.
12. Verma , R.S. and Babu , A. (1989) Human chromosomes : Manual of basic techniques. 1st printing . Pergamon Press, Inc. New York.
13. Rafeey , M. Ouladsahebmadarek ,E. Rashtchizadeh, N.(2007) :Correlation between maternal and cord blood leptin and fetal growth African journal of Biotechnology .6(17): 2023- 2027,.
14. Cotton, F.; Thiry, P.; Hsain, A. B.; Boeynaems, J-M. (2001). Analyzer transfer of a broad rang high-sensitivity C-reactive protein immunoassay. Clin. Lab. 47: 405- 409.
15. Taskinen, S.; Kovanen, P. T.; Java, H.; Merl, S. and Pentikinen, M. O. (2002). Binding of C-reactive protein to modified low-density-lipoprotein particle: identification of cholesterol as a novel ligand for C-reactive protein. J. Biochem. 367:403-412.
16. Fischbach , F. (2004) A manual of laboratory diagnostic tests. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins.New York.
17. Herschel, M., Karrison, Th., Wen, M., Galdarlli, L. and Baron, B. (2002) Evaluation of the direct antiglobuline (coombs test) for identifying newborns at risk for hemolysis as determind by End-Tidal Carbon Monoxide Concentration (ETCOc); and comparison of the coombs test with ETCOc for detection significant jaundice. journal of printalogy.22:341-347.
18. Stango, S.; Volanakis, J.E.; and Reynolds, D.W. (1977). Virus host interactions in perinatally acquired CMV infection of man: In , Cooper, M.D. and Dayton, D.H. (eds). The development of host defense. Raven press. New York. 237 – 250.
19. 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.
20. Habib, M. A. (2000). Immunological and cytological methods in the diagnosis of human cytomegalovirus infection in Iraqi infants. College of Medicine, Al- Nahrain University.
21. محمد ، مريم كامل (2007) دراسة بعض الجوانب المناعية والوراثية في رسالة ماجستير – كلية ، Cytomegalovirus المرضي المصابين بال- العلوم – جامعة بغداد
22. Gandhoke I, Aggarwal R, Lai S and Khare S.(2006) Congenital CMV infection in symptomatic infants in Delhi and surrounding areas.Indian J Pediatr.73(12):1095-7.
23. Ziyaenan , M. Japoni , A. and Salihe , S. (2007) A serological survey of herpes simplex virus type 1 and type 2 immunity in pregnant women at the labor stage in Tahrn – Iran. Pak. J. Biol. Sci. 10(1):148-51.
24. Brown , Z.A. Benedditi , J. Ashley , R. and Corey , L. (1991) Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic maternal infection at the time of labor. N.Engl.J. Med. 324(18): 1247-52.
25. Arvin , A.M. (1991) Relationships between maternal immunity to herpes simplex virus and the risk of neonatal herpes virus infection. Rev. Infect. Dis. 11:S953-6
26. Gaytant , M.A. Steegers , E.A. Van Laere , M. and Galama , J.M. (2002) Seroprevalences of herpes simplex virus type 1 and type 2 among pregnant women in the Netherlands. Sex Transm Dis.29(11):710-714.
27. [27].Haddow LJ, Sullivan EA, Taylor J, Abel M, Cunningham AL, Tabrizi S and Mindel A. (2007) Herpes simplex virus type2 (HSV-2) infection in women attending an antenatal clinic in the south pacific island nation of Vanuatu.Sex Transm Dis.34(5):258-61.
28. [28]. Bodeus M,Laffineur K, Kabamba-Mukadi B,Hubinont C,Bernard P and Goubau P.(2001) Seroepidemiology of herpes simplex type 2 in pregnant women in Belgium.Sex Transm Dis.31(5):297-300.
29. [29]. Dan M,Sadan O, Glezerman M, Raveh D and Samara Z.(2003) Prevalence and risk factors for herpes simplex virus type 2 infection among pregnant women in Quds.Sex Transm Dis.30(11):835-8.
30. جنة ، مهلب علي كاظم (2006) دراسة بعض المؤشرات المناعية. 30 لمصول النساء المصابات بداء المقوسات الكوندية . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة بغداد
31. [31]. Cox, F. E.; J. P. Kreier and D. Wakelin. (1998) . Parasitology In: Collier. L. (Ed.). Microbial Infections .9th ed. Tolpley and Wilsons. USA.
32. [32].Shani, W. S. 2004. Humoral and Cellular Immune Response in Women Afflicted with Toxoplasmosis. Ph. D. Thesis. University of Basrah.
33. [33]. Beamn, M. H.; R. E. McCabe and J. S. Remington. 1995. Toxoplasma gondii. In: Mendell, G. L. (Ed.). Principle and practice of infectious diseases. vol. 2, chapter 257, pp. 2455-2471. Churchill Livingstone. New york.
34. [34].Nguyent, T.Erbs , L. and Odwd,B.(1995) Cloning, Expression, and chromosomal lcalization of the human Uridine Nucleotide receptor gene.J.Biological-chemistry.270.52:30845-30848.
35. [35]. Edward, Y. (1982). Rubella and congenital rubella syndrome. Med. J. Aust. 1(12) :514-523.
36. [36]. Oner N,Vatansever U,Karasalihoglu S, Tatman Ot-kun M, Ekuklu G and Kucukugurluoglu Y.(2006) Rubella seroprevalence among Turkish adolescent girls living in Edirne,Turkey.Turk J Pediatr.48(4):288-93.
37. [37]. Aksit S, Egemen A, Ozacar T, Kurugol Z, Keskinoglu p, Tasbakan M and Caglayan S.(1999) Rubella seroprevalence in an unvaccinated population in Azmer: recommendations for rubella vaccination in Turkey.Pediatr Infect Dis J.18(7):577-80.
38. [38]. Yalcin A, Caliskan D and Isik A.(2008) Age-specific rubella seroprevalence in unvaccinated adolescents in Ankara, Turkey.East Mediterr Health J.14(5):1036-43.
39. [39].Wysokinska T, Janaszek W, Bucholc B, Gorska P, Gnidek G, Slusarczyk J and Rawicz M.(2004) The Prevalence of anti-rubella antibodies in women of childbearing age in Poland.Vaccine.7:22(15-16):1899-902.
40. [40]. Edlich RF, Winters KL, Long WB 3rd and Gulber KD.(2005) Rubella and Congenital rubella (German measles).J LongTerm Eff Med Implants:15(3):319-28.
41. [41].Ebbesen , P. (1984) Cancer and normal ageing : Mechanisms of ageing and development.25:269-283.
42. تاج الدين، سعد جابر . والعيسى ، عبد النبي هادي (2000) عام. 42 الوراثة . الجزء الثاني – الطبعة الثانية – دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل
43. كودانيوف ، اورسولا (1985) علم الوراثة . ترجمة عدنان حسن محمد . 43 العذارى – الجزء الاول – كلية الزراعة والغابات – مطبعة جامعة الموصل – جامعة الموصل

Immunological and Chromosomal study for Cord Blood Components After Labour

Asraa A. Abdul-Jalil*, Mohammed Q. Al-Ani*, Saleem O. AL-Molla**, NAhi Y. Yaseen***, Safa K. Al-ameen*

* *Al Anbar University - Collage of Sciences*

** *Ministry of health - Al Anbar health office*

*** *Iraqi Center of Cancer and Medical Genetics / University of Al-Mustansiryha*

Abstract:

This study aims at collecting umbilical cord blood from infants in Al-Ramadi city. It estimates some of the cellular and biochemical blood criteria and achieves immunological tests to find specific antibodies for some pathogenic cases in addition to the study of chromosomal form for the lymphocytes .

The results showed the following:

- Immunological tests: The positive results for C-reactive protein were 33.9%. Positive results for in direct coombs test were 81.1%. Positive results for TORCH as follows : CMV=50.9% , HSV=45.3%, Toxoplasma=47.3% and Rubella=66.0%.
- Chromosomal study results: There were no any chromosomal , numerical and strucural abberations in the cord blood under taken in the study.