جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى/ كلية العلوم
قسم علوم الحياة

دراسة مصلية ومناعية للفايروس المضخم للخلايا لدى عينة من النساء ذات الحمل الطبيعي والاسقاطات المتكررة في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ احياء مجهرية

من قبل الطالبة

نور الهدى سعدون جاسم

بكالوريوس علوم حياة 2007

بإشراف

الاستاذ الدكتور محمد خليفة خضير
دكتوراه احياء مجهرية/فايروسات طبية

الدكتور مازن رزوقي محمد
استشاري امراض دم

1438 هـ

2017 م

شكر و تقدير

الحمد لله حمداً أستتم به نعمته واستعجل به رحمته واستبعد به نقمته فهو الذي جعل الحمد مفتاحا لذكره وخلق الأشياء ناطقة بحمده وشكره والصلاة والسلام على عبده ورسوله وعلى سائر أنبيائه ورسله وآله الطيبين الطاهرين وصحبه.

يسرني أن أتقدم بالشكر والثناء الجزيل إلى الاستاذ الدكتور محمد خليفة خضير , والدكتور مازن رزوقي محمد اللهيبي المشرفين على هذا البحث لما قدماه من جهود كبيرة منذ اقتراحهما موضوع البحث وإشرافهما المتواصل ولنصائحهما القيمة التي ساعدتني في تذليل الصعوبات التي واجهتني سائلة الله تعالى بدائم الصحة والتوفيق لهما وكما يشرفني أن أتقدم بالشكر الجزيل لرئاسة قسم علوم الحياة \ كلية العلوم لرعايتهم المستمرة لطلبة الدراسات العليا كما لا يفوتني أن أقدم شكري إلى إدارة مستشفى البتول التعليمي , ومستشفى بعقوبة العام , والكادر الطبي في المختبر الاستشاري لمساعدتهم الكبيرة في جمع العينات. كما اشكر إدارة المختبر المركزي وخصوصا الست منال احسان حسن لصبرها وتعاونها الكبير معي في العمل على جهاز ELISA وتحليل النماذج وأود أن اشكر زملائي طلبة الدراسات العليا, لما قدموه من دعم ونصح اثناء مدة البحث وخصوصا السيد علاء محمد لمساعدته لي في التحليل الاحصائي. و إلى كل من أعانني ولو بكلمة تشجيع وعسى الله أن يجزي الجميع عني خير الجزاء.

وختاما اتقدم بالشكر الجزيل لأمي الحبيبة التي لولاها ما اكملت دراستي وزوجي الحبيب الذي كان معي في كل خطوه في هذا البحث واختي الحبيبة واخي الغالي فاتح ولصبرهم وتشجيعهم المستمر لي طيلة فترة الدراسة ولتعاونهم في رعاية اولادي.

واخر دعوانا ان الحمد لله رب العالمين ، وصلى الله تعالى على سيدنا محمد وعلى اله وصحبه اجمعين.

.

الإهداء

إلى ... نور الهدى ، وبدر الدجى ...
إلى ... من هو للشفاعة مرتجى ...
الرسول الكريم محمد صلى الله عليه وسلم
إلى ... الطير الذي هاجر من عش الحياة ...
إلى ... من أدعو الله له بالرحمة والغفران وأن يدخله اعلى مراتب الجنان ويحشره مع النبين والصديقين والشهداء ...
إلى ... من توج اسمه اسمي، إلى الذي أفنى عمره ووهب لي الحياة ...

أبي
إلى ... نبض القلب ، ونور العين ، ونبع الحنان ...
إلى ... من منحتني الحياة والأمل ...
إلى ... من أضاءت لي الدرب ، وكان لي حضنها بر الأمان ... والتي تأنس روحي بقربها، ويستنير دربي بدعائها، وتغفو أحزاني بابتسامة عينها ...
أمي
إلى ... إلى هنائي وسعادتي و سندي، ورفيق دربي، إلى من منحني الحب، والطمأنينة، والأمان ...
زوجي الحبيب
إلى ... النجوم المرصعات في السماء الّذين اشعر بوجودهم بالاكتفاء
إلى ... من اشد بهم أزري وحبهم يجري في عروقي، والذين أحاطوني برعايتهم وقدموا لي الدعم المعنوي ...
إلى ... من يكون بهم هنائي ...
أخوتي وريحانة حياتي اختي الغالية
إلى ... ثمرة حياتي وأملي ومستقبلي المشرق ،،، ولديَّ ... انس ... ميار ...

نور الهدى

الخلاصة

الفايروس المضخم للخلايا البشري (HCMV) هو احدى الاصابات الفايروسية الشائعة في جميع انحاء العالم, يسبب اصابة شبه سريرية مدى الحياة في البالغين الاصحاء ويمثل السبب الرئيسي للعدوى الخلقية.

تهدف هذة الدراسة الى تحديد انتشار الضد المناعي IgG و IgM للفايرس المضخم للخلايا لدى النساء في محافظة ديالى وتحديد مستوى تركيز البين الابيضاضي السادس والعاشر (IL10 , IL6) ودورهما في الاستجابة المناعية.

اجريت هذه الدراسة في محافظة ديالى على 350. امراة ممن راجعنة الى مستشفى البتول التعليمي للنسائية والاطفال , والعيادة الخارجية لمستشفى بعقوبة التعليمي. بالاضافة الى 160 عينة من النساء الطبيعيات كمجموعة سيطرة خلال الفترة من سبتمبر 2015 الى فبراير 2016.

تم تقسيم مجموعة الدراسة الى عدة مجاميع ، مجموعة النساء المقبلات على الزواج وتضم 110 عينة , ومجموعة النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا (بدون اسقاطات) وتضم 110 عينة , ومجموعة النساء ذات الاسقاطات وتضم 130عينة , وكذلك تم خذ 160 عينة من النساء الطبيعيات كمجموعة سيطرة , واختيرت هذه العينات ضمن مدى عمري ما بين (15–30) سنة.

اجريت اختبارات الضدات المناعية IgM , IgG لـ CMV باستخدام مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) في مختبر الصحة العامة في بعقوبة.

اظهرت النتائج ان معدل انتشار الضدات المناعية IgG ، IgM للفايروس المضخم للخلايا لدى النساء الحوامل ذات الاسقاطات بنسبة 96.15% و 6.92% على التوالي وبفرقٍ

معنوي $P \leq 0.05$ ، ولدى النساء المقبلات على الزواج بنسبة 67.27% و2.72% على التوالي مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P> 0.05$ ، اما النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا فسجلت نسبة 95.45% و 6.36% على التوالي وبفرقٍ معنوي $P \leq 0.05$ عند مقارنتهم مع مجموعة السيطرة , في حين سجلت مجموعة السيطرة نسبة 68.8%, 2.5% على التوالي.

تم اختيار 88 عينة من المجموع الكلي للعينات قيد الدراسة والموجبة للضد المناعي IgG لقياس مستوى البين الابيضاضي (IL6 , IL10) في المصل باستخدام مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) ايضا.

وتم تقسيمها الى اربعة مجاميع , مجموعة النساء المقبلات على الزواج وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73% ، مجموعة النساء الحوامل الطبيعية ظاهريا وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73% ، مجموعة النساء ذات الاسقاطات وتضم 28 عينة وبنسبة 31.82% ، ومجموعة السيطرة الاصحاء وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73%.

اظهرت النتائج ارتفاع مستوى البين الابيضاضي السادس(IL-6) في مصل النساء الحاملات للضد المناعي CMV−IgG حيث كان تركيزه لدى النساء ذات الاسقاطات (7.89±23.23) pg/ml وبفرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.001$ ، النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا وبنسبة (6.77±15.4) pg/ml مع وجود فرقٍ معنوي $P \leq 0.001$., النساء المقبلات على الزواج وبمستوى (4.25±12.5) pg/ml مع عدم وجود فرقٍ معنويا $P> 0.05$, مقارنة مع مجموعة السيطرة الاصحاء (5.66±10.27) pg/ml.

اظهرت النتائج انخفاض تركيز البين الابيضاضي العاشر(IL-10) لدى النساء الحاملات للضد المناعي CMV-IgG حيث بلغ مستواه لدى النساء ذات الاسقاطات (2.01±5.00) pg/ml مع وجود فرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.003$ كذلك لدى النساء ذات

الحمل الطبيعي ظاهريا بنسبة (3.04±6.56) pg/ml وبفرقٍ معنوي $P \leq 0.03$. اما لدى النساء المقبلات على الزواج بمستوى (4.43±12.5) pg/ml وعدم وجود فرقٍ معنويا بمستوى $P > 0.05$. عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الاصحاء (22.65±30.2) pg/ml.

كشفت الدراسة الشيوع المصلي العالي للضد المناعي لـ CMV-IgG لدى النساء الحوامل والاسقاطات في محافظة ديالى. وايجابية المصل للضد المناعي CMV-IgM في سن الانجاب. من خلال نتائج الدراسة الحالية وجد ان موجبية الضد المناعي CMV-IgM بالنسبة للنساء ذات الاسقاط المتكرر والنساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا كانت متقاربة وهذا يدل الى عدم اهمية الاصابة بالـ CMV على الاسقاطات المتكررة , وهذا ماثبته الطب المسند بالدليل في الكلية الملكية البريطانية للنسائية والتوليد.

.ارتفاع مستوى البين الابيضاضي (IL-6) وانخفاض مستوى البين الابيضاضي (IL-10) في مصل النساء الحاملات للضدات المناعي للفايروس. وان عدم التوازن في تركيز البين الابيضاضي (IL-6 , IL-10) ربما يؤدي الى احداث عملية اجهاض لدى النساء الحوامل.

قائمة المحتويات

التسلسل	العنوان	الصفحة
	الفصل الاول : المقدمة	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني : استعراض المراجع	
1-2	نبذة تاريخية عن الفايروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus(CMV)	4
2-2	عائلة الهربس (الحلأ)	5
3-2	تصنيف عائلة الحلأ	7
4-2	تركيب الفايروس المضخم للخلايا	8
5-2	تكاثر الفايروس المضخم للخلايا	10
1-5-2	دخول الفايروس الى الخلية	10
2-5-2	دورة تضاعف الفايروس المضخم للخلايا	10
1-2-5-2	الطور المبكر الفوري	10
2-2-5-2	الطور المبكر	10
3-2-5-2	الطور النهائي	11
6-2	التفاعل بين الفايروس وخلايا المضيف	13
7-2	كمون الفايروس	14
8-2	الوبائية	15

1-8-2	معدل انتشار الفايروس في العراق	16
2-8-2	معدل انتشار الفايروس في الوطن العربي والعالم	17
9-2	امراضية الفايروس	18
1-9-2	الامراضية للمضيف الطبيعي	20
2-9-2	الامراضية لدى مرضى الكبت المناعي	20
3-9-2	الاصابة الجنينية	22
10-2	طرق انتقال الفايروس	24
1-10-2	الانتقال الافقي	24
1-1-10-2	اللعاب	24
2-1-10-2	الانتقال الجنسي	25
3-1-10-2	الانتقال عن طريق نقل الدم	25
4-1-10-2	زرع الاعضاء	25
2-10-2	الانتقال العمودي	26
1-2-10-2	الانتقال خلال المشيمة	26
2-2-10-2	أثناء الولادة	26
3-2-10-2	حليب الام	27
11-2	الاستجابة المناعية	27
1-11-2	الاستجابة المناعية المتاصلة او الذاتية	27
2-11-2	الاستجابة المناعية الخلطية	28
3-11-2	الاستجابة المناعية الخلوية	29

12-2	الحركيات الخلوية	30
1-12-2	البين الابيضاضي العاشر	31
2-12-2	البين الابيضاضي السادس	32
المواد و طرائق العمل		
3	المواد و طرائق العمل	34
1-3	الاجهزة والمواد	34
1-1-3	الاجهزة المستخدمة	34
2-1-3	العدد المختبرية	34
3-1-3	الادوات المستخدمة	35
2-3	طرائق العمل	35
1-2-3	موقع و فترة البحث	35
2-2-3	جمع العينات	36
3-3	الاختبارات المناعية	36
1-3-3	اختبار مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) للكشف عن الضد المناعي IgM للفيروس المضخم للخلايا	36
1-1-3-3	مبدأ الاختبار	37
2-1-3-3	اعداد الكواشف	37
3-1-3-3	اعداد العينة	38
4-1-3-3	تحضير محلول الغسل	38
5-1-3-3	اجراء الاختبار	38

6-1-3-3	حساب قيم السيطرة والحد الفاصل	39
2-3-3	اختبار مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) للكشف عن الضد المناعي IgG للفيروس المضخم للخلايا	40
1-2-3-3	مبدا الاختبار	40
2-2-3-3	اعداد الكواشف	40
3-2-3-3	اعداد العينة	41
4-2-3-3	عمل محلول الغسل	41
5-2-3-3	اجراء الاختبار	41
6-2-3-3	حساب قيم السيطرة والحد الفاصل	41
3-3-3	مستوى (IL-6 , IL10) في مصل الدم	42
1-3-3-3	مبدأ عمل الاختبار	42
2-3-3-3	تحضير المحاليل	43
3-3-3-3	طريقة العمل	46
4-3	التحليل الاحصائي	48
النتائج والمناقشة		
4	النتائج والمناقشة	49
1-4	عينات الدراسة	49
2-4	انتشار الضد المناعي CMV-IgG لعينات الدراسة	50
3-4	انتشار الضد المناعي CMV-IgM للفايروس المضخم للخلايا لعينات الدراسة	52
4-4	العينات الموجبة للأضداد المناعية CMV(IgG , IgM) وحسب الفئات العمرية	55

5-4	عينات الدراسة الحاملين للضدات المناعية CMV(IgG,IgM) وحسب السكن	60
6-4	مستوى الحركيات الخلوية في المصل	62
1-6-4	نماذج الدراسة	62
2-6-4	قياس مستوى البين الابيضاضي (IL-6) في المصل لمجاميع الدراسة	63
3-6-4	قياس مستوى البين الابيضاضي (IL-10) في المصل لمجاميع الدراسة	65
الاستنتاجات		
لاستنتاجات		67
التوصيات		
التوصيات		68
المصادر		
المصادر		69
الملاحق		

قائمة الاشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	الاصابة الفايروسية بـCMV مع وجود اجسام الاشتمال inclusion body داخل النواة .	5
2-2	تركيب الفايرس	9
3-2	دورة تضاعف الفايروس	12
4-2	الفرق بين المرحلة الكامنة والمرحلة التحليلية لاصابةCMV	15
5-2	التشوهات الخلقية للفايرس المضخم للخلايا في مراحل مختلفة	24
6-2	الاستجابة المناعية للفايروس المضخم للخلايا	30
1-3	مبدأ اختبار شطيرة الاليزا	42
2-3	عملية تحضير المحلول القياسي للبين الابيضاضي (IL-6)	45
3-3	عملية تحضير المحلول القياسي للبين الابيضاضي (IL-10)	45
4-3	طريقة عمل للبين الابيضاضي (IL-10 و IL-6)	47

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	تصنيف فايروسات الهربس	8
1-3	قائمة بالأجهزة المستخدمة في الدراسة الحالية	34
2-3	قائمة بالعدة المختبرية التشخيصية المستخدمة في الدراسة الحالية	34
3-3	قائمة بالأدوات المستخدمة في الدراسة الحالية	35
4-1-أ	اعداد النماذج المستخدمة في الدراسة الحالية	49
4-1-ب	اعداد النماذج المستخدمة في الدراسة الحالية	50
2-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgG للدراسة الحالية	50
3-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM في الدراسه الحالية	52
4-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV- IgG وحسب الفئات العمرية.	55
5-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM وحسب الفئات العمرية	56
6-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM وحسب السكن	60
7-4	الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعيCMV - IgG وحسب السكن	60
8-4	مقارنة (IL-6) مع مجاميع الدراسة الحالية	63
9-4	مقارنة (IL-10) مع مجاميع الدراسة الحالية	65

قائمة المختصرات

الكلمة	اختصارها
Antigen Presenting Cells	APC
Central Nervous System	CNS
Cytotoxic T cell	CTL
Cytomegalic inclusion disease	CID
Cluster of Differentiation 14	CD14
C-reactive protein	CRP
Dense body	Db
Early Phase	EP
Epstein-Barr virus	EBV
Glycoprotein B	gB
Glycoprotein H	gH
Human Cytomegalovirus	HCMV
Human Immunodeficiency Syndrome	HIV/AIDS
Immediate Early Phase	IEP
Immunoglobulin(G)	IgG
Immunoglobulin(M)	IgM
Interferons	INFs
Interferons Gamma	INFγ
Interleukins	ILs
Interleukin -10	IL10

Interleukin- 6	**IL6**
Karposis Sarcoma herpes virus	**KSHV-8**
Kilo Dalton	**Kd**
Major Histocompatibility Complex	**MHC1**
Mikroliter	**µl**
Natural Killer Cells	**NK**
Non-Infectious enveloped particles	**NIEPS**
Pattern Recognition Receptors	**PRR**
Phosphoprotien 65	**PP65**
Recurrent Spontaneous Miscarriage	**RSA**
Solid Organ Transplant	**SOT**
The Late Phase	**LP**
T helper 1	**Th1**
T helper 2	**Th2**
Tumor Necrosis Factor	**TNF**
Tumor Necrosis Factor Alpha	**TNFα**
Varicella –Zoster virus	**VZV**

الفصل الاول

المقدمة

INTRODUCTION

المقدمة

يعد الفايروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus (CMV) من فايروسات الدنا DNA صنف بيتا النوع الخامس Herpesvirus-5 والتي تنتمي الى عائلة فايروسات الهربس المعروفة بانتشارها الواسع لدى العديد من الثديات ومنها الانسان. (الحمودي,2015)

تظهر الاصابة بهذا الفايروس غالبا بشكل اصابة تحت سريرية غير واضحة الاعراض Subclinical Inapparent Infection ولكن الفايروس يتغلغل في الجسم , وينتشر في مختلف الاعضاء والانسجة ويبقى كامنا Latent الى ان يعاد تنشيطه Reactivation. (محمد واخرون., 2010)

إن شدة الاصابة وظهور الاعراض المرضية تعتمد على كفاءة الجهاز المناعي للمصابين وغالبا ما تكون الاصابة غير مصحوبة بظهور الاعراض المرضية Asymptomatic للأشخاص الكفوئين مناعيا Immunocompetent Persons وتزداد امراضية الفايروس عند مرضى الكبت المناعي Immunocompromised patients وبذلك فان التأثير المرضي الخطير لهذا الفايروس وسعة انتشاره في كل من الاطفال المولودين حديثا ومرضى الكبت المناعي جعل هذا الفايروس من الممرضات الانتهازية المهمة , والتي قد تنتهي بأعراض مرضية خطيرة قد تهدد حياة المصاب بهذا الفايروس .(Laufer-Perl *et al*., 2012 ; Pandey *et al*., 2014)

كذلك تزداد خطورة الاصابة بهذا الفايروس عندما تكون الام الحامل حاملةً للفايروس وتنقله الى جنينها مسببة بذلك الكثير من التغيرات غير الطبيعية في انسجة وخلايا الجنين النامي

مما قد يؤدي الى فقدان الجنين Miscarriage في مراحل مبكرة من الحمل او موت الطفل بعد الولادة. وان معدل انتقاله من الام الى الجنين 30–40% ، كذلك تختلف الاصابة باختلاف المستويين الاقتصادي والاجتماعي وظروف المعيشة والثقافة الصحية , اذ تشكل الإصابة 60% تقريبا في البلدان المتقدمة و100% في البلدان النامية منها امريكا الجنوبية وافريقيا واسيا.(Griffithet *et al*., 2015)

في العراق اشارت العديد من الدراسات ان معدل انتشار الضد IgG هو 85% والضد IgM 10% بين النساء المجهضات (Albaiet, 2014) , اما في النساء المقبلات على الزواج فان معدل انتشار الضد IgG فهو 58% في حين IgM 9.9% .(Al-azzawi, 2012).

الحركيات الخلوية (Cytokines) هي عبارة عن جزيئات بروتينية صغيرة تعمل كوسائط اتصال عند تعرض الجسم للاصابة مما يستدعي ردا مناعيا , وتساعد الحركيات الخلوية بعضها البعض سواء بتوجيه نشاطها او تحفيزها , وفي بعض الاحيان كبحها بالاضافة الى نقل الاشارات بين الخلايا Intercellular Signals لتنظيم الاستجابة المناعية الخلوية والخليطة ومنها.(Vazques-Lombar *et al*., 2010)

البين الابيضاضي (IL-10) هو عبارة عن بروتين سكري ينتج من مجموعة من الخلايا اللمفاوية التائية T cells, والخلايا اللمفاوية البائية B cells وخلايا مناعية اخرى. وهو مثبط مناعي Immuno suppressive قوي ومضاد للالتهاب بالاضافة الى قدرته على تثبيط وظيفة الخلايا المقدمة للانتجين Antigen presenting cell (APC), وتثبيط تعبير السايتوكينات الالتهابية, وتثبيط الخلايا التائية السامة Cytotoxic T cells (CTL) وتنظيم بقاء وانتشار الخلايا اللمفاوية البائية B cell. (Kotiranta-ainamo, 2006).

وهو المساهم الرئيسي في التوازن بين اشارات الحركيات الخلوية الموالية للالتهاب مقابل الاشارات المضادة للالتهاب والتي تنسق لانتاج حمل ناجح.

البين الابيضاضي(IL-6) ينتج من الخلايا الوحيدة Monocytes , والخلايا البلعمية Macrophages , وهو الوسيط الرئيسي لاستجابة المرحلة الحادة Acute Phase Response.

وهو بروتين سكري يمتاز بوظائف متعددة كما يؤدي دوراً مركزياً ومهماً في دفاعات المضيف ضد العدوى والاصابة , بالإضافة الى قدرته في تحفيز الاستجابة المناعية المتاصلة و المناعة المتكيفة (Jones, 2005).

يعبر عنه بشكل واسع في انسجة الحمل , ويمارس المهام التنضيمية في زرع الاجنة وتطور المشيمة فضلا عن تحمل الحمل Tolerance pregnancy (Prins *et al*., 2012).

ولأهمية انتشار هذا الفايرس بين النساء في محافظة ديالى صممت هذه الدراسة للأهداف الاتية:-

1. تحديد انتشار الضد المناعي IgG,IgM للفايرس المضخم للخلايا لدى عينة من النساء في محافظة ديالى.
2. تحديد مستوى تركيز البين الابيضاضي السادس والعاشر (IL6 , IL10) ودورهما في الاستجابة المناعية.

الفصل الثاني

أستعراض المراجع

Literature Review

2-1-نبذة تاريخية عن الفايروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus(CMV)

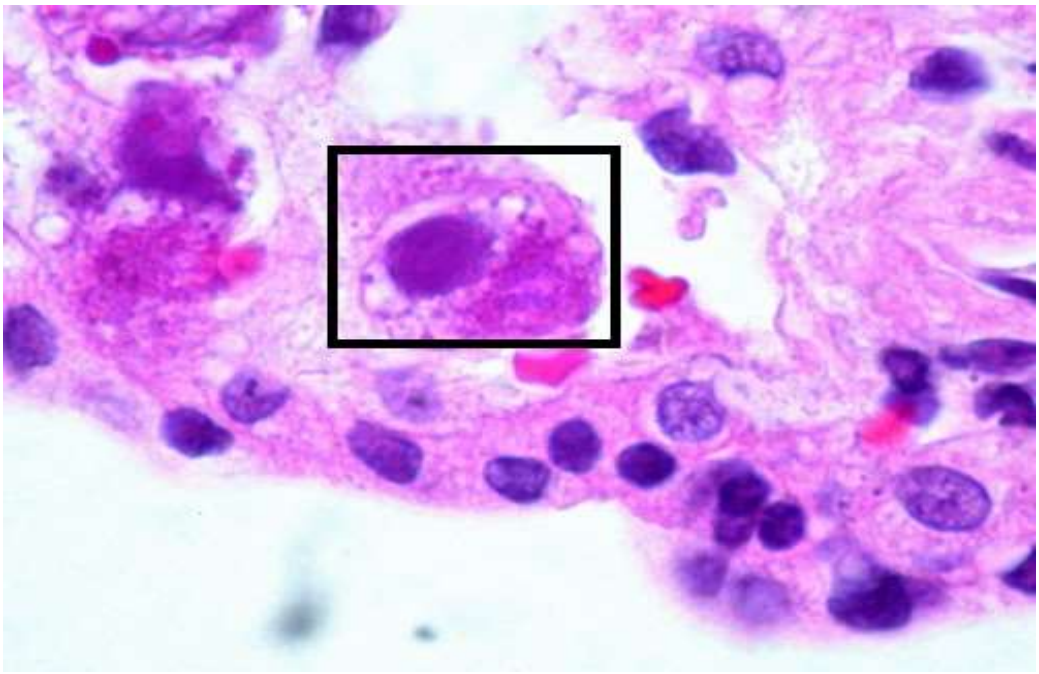
الفايروس المضخم للخلايا من الفايروسات القديمة تم الاشارة الى وجوده في عام 1881 من قبل العالم Ribbert الذي لاحظ وجود اجسام الاشتمال Inclusion body في مقاطع كلية لجثث اطفال مولودين حديثا ومصابين بتشوهات خلقية Congenital anomaly , ولكنهم لم يتمكنوا من تفسير ذلك ، حتى تم رؤية تقرير لـ Jesionek , Kiolemenglau في عام 1904 الذي وصف خلايا مشابهة للابتدائيات Protozoan في الرئتين Lungs , الكلى Kidney , والكبد liver لجنين يبلغ من العمر 8 اشهر. وتم وصفها على انها اجسام نووية مركزية Center nuclear body محاطة بهالة واضحة داخل الخلايا الكبيرة كما في شكل(2-1).

وفي عام 1907 اكد العالم Ribbert ماسبق , حيث لاحظ مثل هذه الخلايا في الغدة النكفية Parotid Gland, لأربعة اطفال من اصل 30 طفلاً. وتوالت هذه الملاحظات من قبل علماء اخرين. ففي عام 1920 نفوا العديد من العلماء فكرة كون هذه الخلايا ذات اصل ابتدائي Protezoan Origin (اي ناتجة عن الاصابة الابتدائيات) , لانه لا يمكن لهذه المخلوقات ان تعبر المشيمة Placenta وهي بهذا الحجم (Hanshow *et al*,. 1985; Ho, 2008)

وفي عام 1921 كان Talbert اول من اقترح ان تضخم الخلايا Cytomegalia يمكن ان يعزى الى عامل فايروسي. وفي عام 1950 اظهر كل من Smith and Vellios ان العدوى قد تحدث في الرحم ، اما مرض خلايا الاشتمال الضخمة Cytomegalic inclusion disease (CID) فقد اطلق عام 1950 من قبل العالمين Smith and Vellios لتوضيح خاصيته في تكوين اجسام الاشتمال داخل الخلايا الضخمة. وقد تمكن الباحث Minder عام1953 من تشخيص الفايروس بالمجهر الالكتروني لخلايا البنكرياس لطفل ميت مصاب بـ CID (Minder, 1953). اذ لاحظ وجود جزيئات صغيرة

داخل النواة او في السايتوبلازم بقطر 100مايكرون تقريبا وبهذا تأكد من وجود الفايروس داخل الخلايا المصابة. وقد تمكن Smith and Rowe وزملاؤهم في عام 1956 و Weller واخرون في عام 1957 من عزل سلالة الفايرس بشكل مستقل.

وفي عام 1960 اقترح Weller وزملاؤه مصطلح الفايروس المضخم للخلايا البشري Human Cytomegalovirus(HCMV) , وعزل الـ HCMV بعد ذلك من بول الاطفال الذين يعانون من امراض عامة Generalized Disease. وبهذا ثبت حقيقة كون الفايروس المضخم للخلايا هو المسؤول الاول عن اصابة الجنين Fetus (Ho, 2008).



شكل (2-1) الاصابة الفايروسية بـCMV مع وجود اجسام الاشتمال inclusion body داخل النواة (Jones, 2010).

2-2-عائلة الهربس (الحلأ) Herpesviridae

تعد هذه العائلة من العوائل الكبيرة التي تضم مجموعة فايروسات لها اهمية امراضية بالغة اذا تعد شائعة جدا في الطبيعة وتسبب امراضا كثيرة للانسان (Mettenteter *et al*., 2008).

من المعروف ان هذه العائلة تعرف باسم Herpesviruses واسم العائلة مشتق من الكلمة اليونانية Herpeton بمعنى يزحف (Creeping) يشير اما الى طبيعة الاصابة الجلدية او الى الاختفاء , لانها تسبب اصابة فايروسية راجعة تشترك جميع فايروسات العائلة بتركيب متماثل غير انها تختلف بيولوجيا وإمراضيا Pathogenicity ان جميع فايروسات العائلة تبقى بصورة دائمية في العائل بعد الاصابة الاولية (Brown and William, 2011).

يعتقد ان المادة الوراثية (الدنا الخطي Linear DNA) يندمج مع الخلية العصبية بالشكل الدائري Episome , غير ان العديد من حالات التخفي لحد الان غير معروفة , لذلك تشترك جميع الفايروسات بوصفها ذات القدرة على اعادة التنشيط Reactivation بعد فترة من الاختفاء Latency مسببة الامراض الراجعة او الثانوية وذلك نتيجة عوامل عدة منها الضغط النفسي او اشعة الشمس او التغير لدرجات الحرارة او الحوادث او الاصابات الاخرى او الادوية المسببة لتثبيط المناعة (Wang, 2013)

ان فايروس الحلا البسيط وفايروس جدري الدجاج والحزام الناري لا ينتجان اي تضاعف في اثناء فترة الاختفاء على الرغم من انهما يحملان قليلا من الحمض النووي الريبي الرسول (Messenger RNA) ومن ثم البروتينات الناتجة منه , غير ان فايروس المضخم للخلايا وفايروس اينشتاين بار (Epstein–Barr virus) ينتجان اعدادا قليلة من الفايروسات لذلك بالامكان ان تصيب خلايا جديدة في اثناء فترة الاختفاء. يتوافر اكثر من 130 نوعا من فايروسات الهربس herpes التي تصيب انواعا مختلفة من الحيوانات منها الثدييات , الطيور, الاسماك , الزواحف , البرمائيات والرخويات وتم عزل ثمانية انواع من فايروسات الهربس التي تعد اكثر شيوعا ولها اهمية صحية للإنسان كما في الجدول (2–1) (الحمودي, 2015 ; Penkert, 2011)

2-3- تصنيف عائلة الحلأ Herpesviridae

تصنف فايروسات الحلا Herpesvirus الى ثلاث مجاميع تحت العائلة اعتمادا على التركيب كما في الجدول (2-1) , وكما في ادناه طبقا لـ (Burke and Heldwen, 2015 ; Wang, 2013):-

1-تحت العائلة نوع الفا Alphaherpesvirinae

2- تحت العائلة نوع بيتا Betaherpesvirinae

3- تحت العائلة نوع كاما Gammaherpesvirinae

تمتاز تحت العائلة نوع الفا بان دورة التضاعف Replicative Cycle لها تكون سريعة نسبيا تبلغ 12-18ساعة, وعادة ماتسبب تدمير الخلية المضيفة Lysis وتنشا اصابة كامنة في العقد الحسية Sensory Ganglia ولها مدى واسع من المضائف. ومثال هذه المجموعة هو فايروس الحلا البسيط Herpes simplex virus_1, Herpes simplex virus_2 وفايروس الحماق النطاقي(VZV) Varicella -Zostervirus (Kramer, 2013).

في حين تحت العائلة نوع بيتا , تتميز ببطء دورة التضاعف فيها اذ يكون على الاقل 24 ساعة حيث تسبب هذه الفايروسات كبر حجم الخلية المصابة Cytomegalia فى داخل الجسم الحي In vivo وحتى خارجه in vitro عند زراعتها في المزرعة النسيجية وتسبب فايروسات هذه المجموعة عادة اصابة كامنة في غدد الافراز Secretory Gland والخلايا اللمفية Lymphoreticular Cell والكلية Kidney. ومن الامثلة لهذه المجموعة هو الفايرس المضخم للخلايا Cytomegalovirus و(HHV6 & 7) Human Herpes virus 6&7.

اما تحت العائلة نوع كاما فتتميز جميعها بتضاعفها في الخلايا المولدة للخلايا اللمفاوية Lymphoblastiod التي تتخصص فيما بعد الى الخلايا اللمفاوية البائية B- Lymphocyte او الخلايا اللمفاوية التائية T-Lymphocyte وعادة ما تسبب هذه الفايروسات اصابة كامنة في النسيج اللمفاوي لها مدى ضيق من المضائف مثال على هذه العائلة فايروسات Epstein-Barr virus (EBV) و Karposis Sarcoma herpes virus (KSHV-8) .(Roth, 2011)

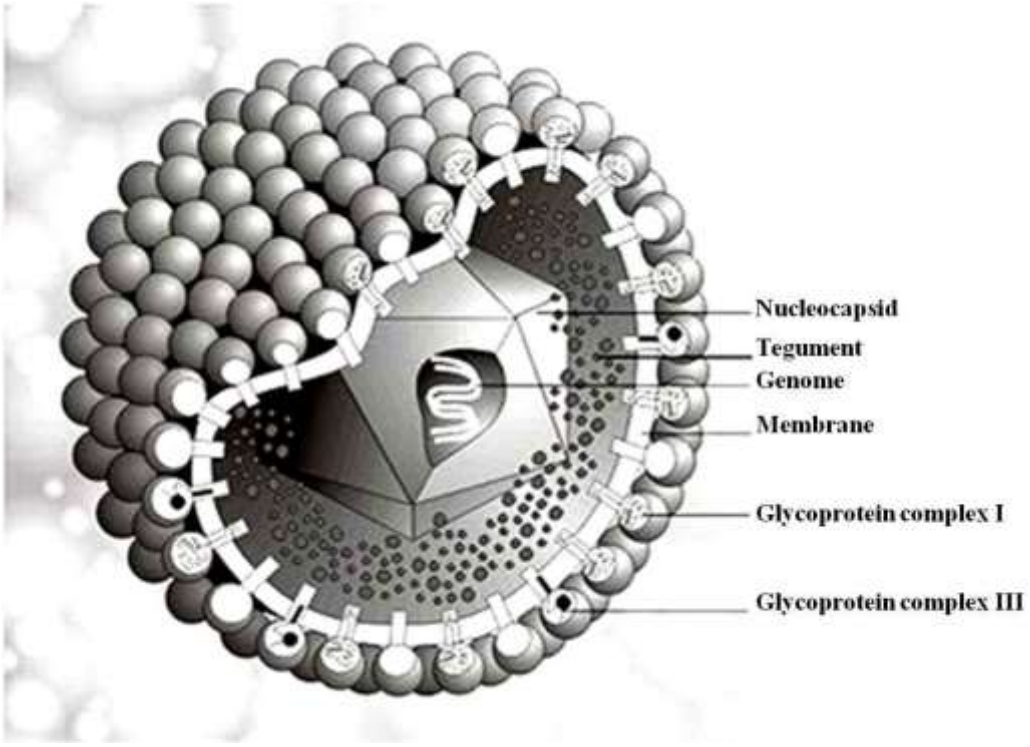
جدول (2-1) تصنيف فايروسات الهربس (Penkert, 2011)

Family	Virus	Productive (Lytic) Replication	Site of Latency
α	HSV-1	Epithelial and Kerationcyte	Neuron
	HSV-2	Epithelial and Kerationcyte	Neuron
	VZV	Epithelial, Kerationcyte, T cell, Sebocyte, Monocyte, Endothelial, Langerhans and PBMC	Neuron
β	HCMV	Macrophage, Dendritic, Smooth Muscle, Epithelial and Fibroblast	CD34+HSC, Monocyte
	HHV-6	T cell	BMP
	HHV-7	T cell	T cell
γ	EBV	B cell and Epithelial	B cell
	KSHV	Lymphocyte	B cell

2-4-تركيب الفايروس المضخم للخلايا Structure of Cytomegalovirus

يعد هذا الفايروس من اكبر الفايروسات في هذه المجموعة. اذ يبلغ قطر الفايروس الكامل 230nm , يحتوي هذا الفايروس على حامض نووي رايبوزي منقوص الاوكسجين خيطي

ثنائي الشريط (Ds DNA) حجمه تقريبا 240 kbp يحاط بغلاف متعدد الاوجه Icosahedric يسمى الحافظة Capsid وهو غلاف بروتيني مكون من بروتينات غير مفسفرة non-Phospharylated Protein قطره 110nm تنظم في 162 وحدة بنائية Capsomeres. يشكل الغلاف البروتيني Capsid مع الحامض النووي تركيب يسمى المحفظة النووية Nucleocapsid قطرها 105nm. وتغلف المحفظة Capsid بطبقة قطرها 50nm مكونة من بروتينات مفسفرة Phospharylated Protein تسمى القشرة او القالب Tegument or matrix, ويحاط الفايروس بغلاف دهني ثنائي الطبقة يسمى بالـ Envelope ويظهر على سطحه بروزات مكونة من بروتينات سكرية Glycoprotein تشبه الاشواك spikes تعمل كبروتينات غزو عندما يرتبط الفايروس بمستقبلات الخلية الهدف Target cell كما موضح في الشكل (2-2) الذي يظهر تركيب الفايرس المضخم للخلايا (CMV (Gibson, 2008 ; Brown and Newcomb, 2011 ; Tomtishen, 2013).



شكل(2-2) تركيب الفايرس CMV (Johansson, 2014)

2 -5-تكاثر الفايروس المضخم للخلايا Replication Cytomegalovirus

2-5-1-دخول الفايروس الى الخلية The virus Entry in to the cell

يرتبط الفايروس بسطح الخلية لاحداث اصابة اولية Initial Infection بواسطة التفاعل بين Viral Envelope Glycoprotein بواحد او اكثر من المستقبلات Receptors الخاص على سطح الخلية المستهدفة فيصبح الفايرون virion وغشاء الخلية مندمجان fuse , ثم يتبع عملية الارتباط عملية دخول الفايروس الى خلية العائل اما عن طريق الاندماج المباشر Direct Fusion مع سطح الخلية Fibroblasts في حين يدخل في انواع اخرى عن طريق الالتهام Endocytic (Endothetial Cell). وبذلك تتحرر بروتينات المحفظة , والقالب capsid and tegument protein الى سيتوبلازم خلية العائل ومن ثم تدخل النواة Nucleus ويحدث Uncoat اي تصبح المادة الوراثية حرة ويحدث الارتباط للمادة الوراثية (DNA) داخل النواة Nucleus (Tomtishen, 2013 ; Jawetz *et al*., 2013).

2-5-2-دورة تضاعف الفايروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus Replication cycle

تبدا عملية تضاعف المادة الوراثية (DNA) الفايروس داخل النواة. وتتم في ثلاث مراحل تختلف طول فترة التضاعف من حوالي 18 ساعة الى اكثر من 70 ساعة لبداية انتاج الذرية الجديدة من الفايروس (Kalejta, 2008).

2-5-2-1 الطور المبكر الفوري Immediate Early Phase (IEP)

هذا الطور يحدث بعد ساعتين من اصابة خلية الهدف. حيث يتم في هذه المرحلة تصنيع بروتينات غير تركيبية للانتقال الى الطور التالي.

2-5-2-2- الطور المبكر Early Phase (EP)

تحدث عملية التصنيع بعد مرور 2-4 ساعة من بداية اصابة الفايروس للخلية وينتهي

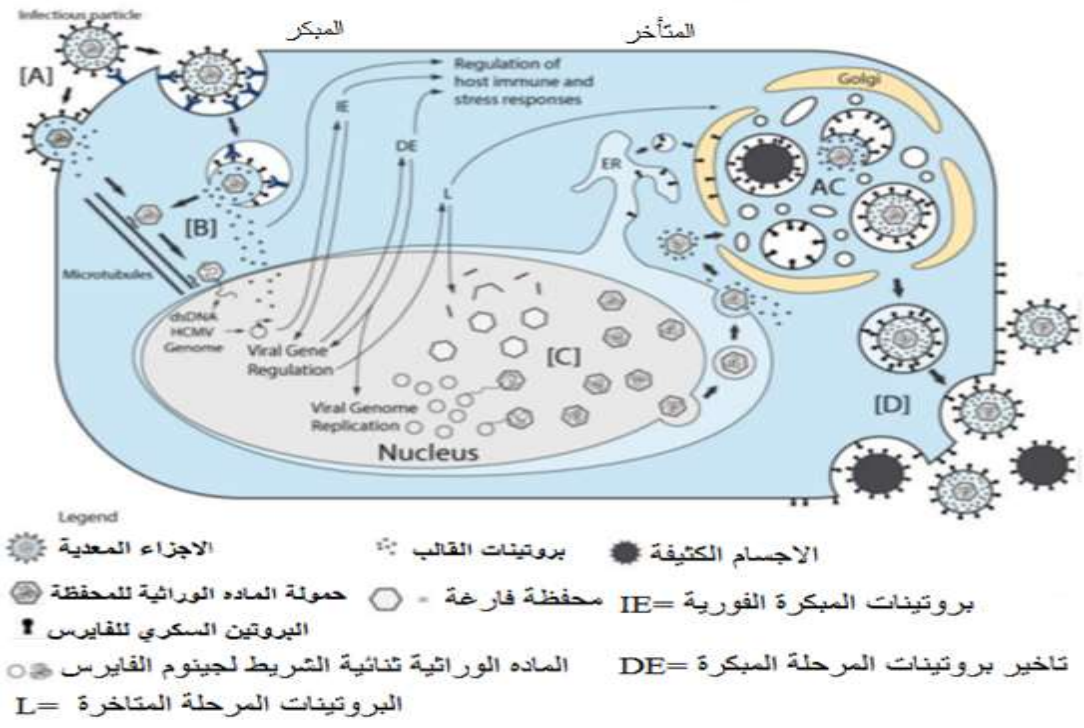
بعد مرور 24–48 ساعة (Mocarskies and pass, 2007). وخلال هذا الطور يتم تصنيع الانزيمات الضرورية لتضاعف دنا الفايروس مثل DNA polymerase والبروتينات المكونة للقالب مثل البروتينات المفسفرة–65 Phosphorprotien 65 (PP65) وبعض البروتينات التركيبة وبنهاية هذا الطور فان 75% من المادة الوراثية يتم استنساخها والخلية يصبح شكلها دائري (Beltran and Cristea, 2015).

2–5–2–3– الطور النهائي The Late Phase (LP)

يبدا هذا الطور بعد 24–48 ساعة من اصابة الخلية الهدف ويستمر الى موت الخلية. وخلال هذا الطور يتم ترجمة البروتينات التركيبة المكونة للغلاف البروتيني والبروتينات المسفرة الخاصة بالقالب والبروتينات السكرية الخاصة بالغلاف الخارجي , وبنهاية هذا الطور فان 90% من المادة الوراثية Genomes للفايروس يتم استنساخها , ثم يعبر بالتدريج عبر السايتوبلازم الى سطح الخلايا المصابة وقد ينتقل من خلية الى اخرى بالتماس (Hetzenecker, 2014).

تتجمع وتخرج ذرية جديدة من الخلايا المصابة , وهي الفايروسات المعدية Infection virus, واجزاء الغلاف غير المعدية Non–Infection eneveloped particles (NIEPS) , و الاجسام الكثيفة Dense body (Db). حيث يتكون الفايروس المعدي من المحفظة Capside تحوي على جينوم الفايروس والقالب Tegument والغلاف الدهني للفايروس Envelope Lipid, اما اجزاء الغلاف غير المعدي تحوي على المحفظة Capside الفارغة محاطة بغلاف دهني , في حين الاجسام الكثيفة (Db) هي تراكيب غير معدية محاطة بغلاف الفايروس Viral Enveloped تتكون تراكيبها الداخلية بشكل اساس من بروتينات القالب Tegument Protien PP65 وتكون فاقدة للمحفظة Capside او المادة الوراثية الـ DNA. وان الاجسام الكثيفة (Db) تدخل خلايا الانسان او الحيوان بواسطة انصهار الغشاء Membran Fusion للخلية

الهدف, مما يؤدي الى تقديم محتواها من البروتينات الى السايتوبلازم. وان البروتينات المفسفرة phosphoprotien 65 (PP65) هي العنصر الاساسي لمكونات القالب Tegument اذ يشكل حوالي 15% من الكتلة الكلية لـ virun , وانPP65 ليس ضروري لانتاج اصابة جديدة من جزيئات الفايروس المعدي , فقد اثبتت الدراسات انه في السلالة الفاقدة لـ PP65 مايزال يتكاثر في المزروع. بالإضافة الى ان PP65 هو المسؤول الرئيسي للتحوير والهروب من الاستجابة المناعية للعائل خلال الاصابة بـ CMV, وكذلك مواجهة الاستجابة المناعية الذاتية Innate immunity والمناعة المتكيفة adaptive immunity. اظهرت الدراسات بانه يمكن تطوير اجسام مضادة تستهدف المستضد الموجود على سطح PP65 والتي من شانها ان تثبط تطور المرحلة التحليلية لدورة حياة الفايروس كما موضح في الشكل (2-3). وبذلك تعد الاجسام الكثيفة Db نظام كفوء لتطوير اللقاح والعلاج المضاد للفايروس. (Becke *et al*.,.2010 ; Reyda *et al*., 2015 ; Krömmelbein *et al*., .2016).



شكل (2-3) دورة تضاعف الفايروس (CMV) (Beltran and Cristea, 2015).

2-6-التفاعل بين الفايروس وخلايا المضيف

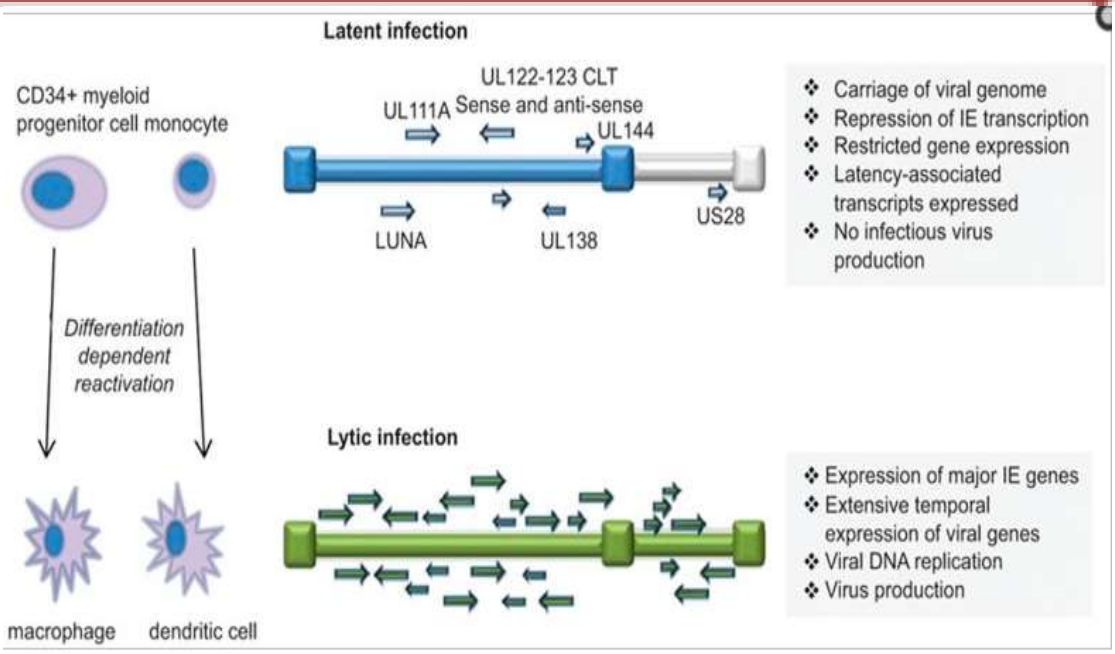
احدى الخصائص المميزة للفايروس المضخم للخلايا البشري HCMV انه يؤثر على العديد من جوانب التنظيم والتمثيل الغذائي Metabolism لخلية المضيف ، في الخلايا الطبيعية الـ Permissive الخلايا التي تدعم تكاثر الفايروس ، فان الـ HCMV له القدرة على تنظيم تشفير البروتينات التي تحث على عرقلة دورة الخلية وايقاف تضاعف المادة الوراثية (DNA) للخلية , الا انه يحافظ على الحالة الفعالة لقدرته على تضاعف DNA الفايروس (Hwang *et al*., 2009).

المرحلة المبكرة الفورية (IE) من دوره تضاعف الفايروس تعد المفتاح الرئيسي للاصابة التحليلية لـ HCMV, وقد اشارت البحوث ان HCMV يؤدي دورا كبيرا في تراكم بروتين protein (P53) (البروتين الخلوي الكابح للسرطان) في الخلية المصابة وتغير الوظائف الخلوية بالإضافة الى ارتباطه مع اضطرابات دوره تضاعف الخلية في بعض الامراض. ان العديد من المنتجات الجينية للفايرس مسؤولة عن التحوير الخلوي transforming وان بروتين الفايرس IE-86 يمكن ان يقلل من الاستنساخ الفعال لبروتين P53 عن طريق التفاعل المباشر معه. ومن البروتينات الاخرى للمرحلة المبكرة الفورية IE84 الذي يثبط بروتين P53 من خلال تكوينه لمعقد مع هذا البروتين(Kwon *et al*., 2013). اما تاثير الـ HCMV على عامل النمو المحول(TGF-β) Transforming Growth Factor β فانه يحث على انتاجه في الخلية المصابة , مما يؤثر تاثير سلبي على نمو الخلية, كما ان هذا البروتين يعزز من تضاعف الفايروس (Arai *et al*., 2012). ومن الامثلة الاخرى على بروتينات الفايروس التي لها القدرة على تغيير خلية المضيف لصالح تكاثر الفايروس , هو بروتين Protein (PUL38) وهو اول تعبير خلال المرحلة المبكرة Early Phase بعد الاصابة , حيث انه يغلق الموت المبرمج

apoptosis للخلايا المصابة ويسهل نمو الفايروس , ويغلق مسارات التنظيم ليسهل تضاعف الفايروس (Terhune *et al*., 2007).

2-7- كمون الفايروس Latency virus

بعد الاصابة الاولية بـ CMV تؤدي الى حث استجابة مناعية فعالة في ايقاف تضاعف الفايروس وانتشاره. اذ لا يتم قتل الفايروس من قبل المضيف وانما يستمر مدى الحياة , على الاقل جزئيا وهذا مايسمى الكمون Latency ، يمتلك الفايروس القدرة على تحوير المستضدات Antigen Modulation الخاصة به , وبالتالي لا تتمكن الخلايا اللمفاوية التائية السامة T-cell (Cytotoxic) من تحليل الخلايا المصابة بالفايروس ، بالاضافة الى قدرته على تصنيع بروتينات مشابهة الى مستضدات معقد التطابق النسيجي الصنف الاول Major Histocompatibility Complex (MHC1) مما يؤدي الى عرض الفايروس الى سطح الخلية وبالتالي لن تتمكن الاضداد من معادلته فيبقى كامنا داخل الخلية (Wills *et al*., 2015) ، بالاضافة الى انتاج بروتينات مضادة للموت المبرمج Anti apptotic Protien للخلية المصابة بالفايروس خلال الاصابة الكامنة مع غياب التعبير الجيني للجينات التحللية Lytic الرئيسية للفايروس دون انتاج ذرية فايروس معدية. اذ يبقى كامنا في (CD34,CD33,CD14) Cluster of Differentiation وهي علامات markers على سطح الخلايا المناعية للخلايا الوحيدة Monocyte والخلايا البلعمية Macrophage كما في الشكل (2-4) (Manicklal, 2013).



شكل (2-4) الفرق بين المرحلة الكامنة والمرحلة التحليلية لاصابة CMV تبعا لـ (Wills *et al.*, 2015).

2-8-الوبائية Epidemiology

ان الاصابة بهذا النوع من الفايروسات متوطنة في جميع انحاء العالم , و موجودة على مدار السنة بغض النظر عن موسم معين ، ان انتشار المصلي يختلف باختلاف المستويين الاقتصادي والاجتماعي وظروف المعيشة والثقافة الصحية , فهو يوجد بمعدل 60% تقريبا في البلدان المتقدمة اوربا الغربية , الولايات المتحدة الامريكية و100% في البلدان النامية من امريكا الجنوبية وافريقا واسيا (Poole et al., 2014). يمكن ان تحصل الاصابة في الجنين Fetus , وحديثي الولادة Neonate , والاطفال والبالغين ، والاصابة الخلقية لـCMV يمكن ان تنتج من الاصابة الاولية للام Maternal Primary او من اعادة تنشيط الاصابة خلال فتره الحمل و انتشار الاصابة الخلقية لـ CMV تتباين بين 0.2-2.4% في مختلف الاقطار, ففي الدول المتقدمة حوالي 50-60% من الحوامل , وربما تكون معتدلة في المجاميع ذات المستويين

الاقتصادي والاجتماعي العاليين , بالمقارنة الى حوالي 85% لدى الفئات ذات المستويين الاقتصادي والاجتماعي المتدنيين (Malm, 2007 ; Ouedraogo *et al*., 2012)

2-8-1-معدل انتشار الفايروس في العراق

اجريت دراسة في بغداد (Albaiati, 2014) سجلت معدل انتشار الـ CMV صنف IgG هو85% بين النساء المجهضات, في حين وجد معدل صنف الـ IgM هو 10% باستخدام تقنية مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم(ELISA). وفي دراسة اجريت في الديوانية من قبل الباحث (Al-shimmery, 2011) وجد ان معدل انتشار الـ CMV صنف IgG هو 59.2% اما صنف IgM فهو16% لدى النساء ذات الاسقاط المتكرر باستخدام تقنية (ELISA) ايضا. وفي دراسة اجريت في الناصرية فوجد (Tuama, 2015) ان معدل انتشار الـ CMV صنف IgG هو 97% في النساء الحوامل اما الصنف IgM فهو 10% باستخدام تقنية (ELISA). آما في محافظة بابل فوجد الـ (Ahmed, 2013) ان معدل انتشار CMV صنف IgG هو70.5% بين النساء في حالة الاجهاض باستخدام تقنية (ELISA). وفي كركوك (Hassan *et al*., 2014) وجد ان معدل انتشار CMV الصنف IgG هو91.2% لدى النساء ذات الاسقاط المتكرر في حين كان الـ IgM هو 3.8%, اما في النساء ذات الحمل الطبيعي فكان IgG هو 93.8% وIgMهو4.5% باستخدام تقنية (ELISA). وفي دراسة اجريت من قبل الـ (Alazzawi, 2012) في محافظة بغداد وجد ان معدل انتشار CMV في النساء قبل الزواج هو36% للصنف IgG اما عن الـ IgM فهو 9.9% باستخدام تقنية (ELISA). في حين اجريت دراسة في الموصل من قبل الـ (Al-dabbagh, 2010) على الاشخاص المتبرعين بالدم فوجد ان معدل انتشار الفايروس صنف IgM هو 10 % باستخدام تقنية (ELISA). وفي محافظة ذي قار وجد الباحث

(Al-Khafaji and Al-zubaidi, 2010) ان معدل انتشار الـ CMV صنف IgG هو 100% في النساء المجهضات اما عن IgM فكانت 15% باستخدام تقنية (ELISA). وفي دراسة اخرى اجريت في محافظة ديالى من قبل (Khudir and Molan, 2012) فوجد معدل انتشار CMV صنف IgG هو 97.4% بين الاصحاء الذكور والاناث في حين كان صنف IgM مساوية الى 1.6% باستخدام تقنية (ELISA). وفي دراسة اخرى ايضا وجد AL-jurani عام 2014 ان معدل انتشار CMV صنف IgG هو 100% اما صنف IgM فكانت 0.0% بين النساء الحوامل باستخدام تقنية (ELISA) (AL-jurani, 2014) . وفي السليمانية وجد (Hama and Albdurahan, 2013) ان معدل انتشار CMV بين النساء الحوامل ذات الاسقاط المتكرر هو 90% , 9.2% لكل من IgG , IgM على التوالي باستخدام تقنية (ELISA).

2-8-2-معدل انتشار الفايروس في الوطن العربي والعالم

اظهر بحث اجري في نيجيريا للباحث (Yeroh *et al*,. 2014) ان معدل انتشار الـ CMV بين النساء الحوامل صنف IgG هو 94.8% في حين معدل انتشاره بين النساء غير الحوامل 100% باستخدام تقنية مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA). اما في ماليزيا فوجد الباحث (Saraswathy *et al*,. 2008) ان معدل انتشار الـ CMV صنف IgGهو 84% اما صنف IgM فهو 7.2% بين النساء الحوامل باستخدام تقنية (ELISA).. وفي Benue state, Nigeria وجد الباحث (Umeh *et al*,. 2015) ان معدل انتشار الفايروس صنف IgG هو 93.3%. اما صنف IgM هو هو 3.5% بين النساء الحوامل باستخدام تقنية (ELISA). في دراسة اخرى اجريت في ايران وجد الباحث (Bagheri *et al*,.2012) ان معدل انتشار CMV صنف IgG بين النساء الحوامل هو

72.1% اما صنف IgM فهو2.5% باستخدام تقنية (ELISA). وفي السودان وجد الباحث (Hamdan *et al*., 2011) ان معدل انتشار الـ CMV بين النساء الحوامل صنف IgG هو72.2% في حين معدل انتشار IgM فهو 2.5% باستخدام تقنية (ELISA).

وفي دراسة اخرى في ليبيا وجد (Abusetta *et al* .,2013) ان معدل انتشار CMV بين النساء الحوامل ذات الاسقاط المتكرر هو 75.1% , 24% لكل من IgG, وIgM على التوالي باستخدام تقنية (ELISA). وفي دراسة اخرى اجريت في فلسطين (Neirukh *et al* .,2013) فكان معدل انتشار الـIgG هو96.6% في حين IgM هو11.5% بين النساء الحوامل باستخدام تقنية (ELISA).

2-9-امراضية الفايروس pathogenesis of virus

اثبتت الدراسات النسيجية Histopathologic studies وجود الفايروس المضخم للخلايا في انواع مختلفة من الاعضاء والخلايا بما في ذلك الغدد اللعابية Salivary gland , والكلية Kidney , والبنكرياس Pancreas , والغدة الكظرية Adrenal gland , والرئتين Lung , والكبد Liver , والعين Eye , والأذن Ear , والمشيمة Plancenta , والجهاز الهضمي Gastrointestinal tract , والقلب Heart , والمبايض Ovaries , والجلد Skin , والدم Blood , والاوعية Vessals , والدماغ Brain. (Pass, 2002).

ان الخصائص المهمة للاصابة التي ترتبط مع الامراضية هي قدرة الفايروس على تحطيم خلية العائل والتداخل مع دفاعات العائل والهروب من الجهاز المناعي, مما يمكنه من البقاء لمدة طويلة او يبقى بشكل كامن داخل المضيف (Johansson *et al*., 2014).

عند اصابة الجهاز العصبي المركزي Central Nervaus System (CNS) فان الفايروس يمكن ان يصيب انواعا مختلفة من الخلايا بما في ذلك الخلايا العصبية Neurons, والدبقية Glia, وبطانة العصبية Epenyma , والضفيرة المشيمية Choroid Plexus , وسحايا الدماغ Menings , وبطانة الاوعية الدموية Vascular Endothelium وبذلك يؤدي الى ضعف وظيفة الجهاز نتيجة لاصابة بطانة اوعية الخلايا Vascular Endothelial cell. بالاضافة الى قدرة الفايروس على اصابة كريات الدم البيضاء White Blood cell مما يسهل انتشار الفايروس داخل المضيف (Pass, 2002).

هناك نسبة صغيرة من الخلايا وحيدة النواة في الاشخاص المصابين بالفايروس تحوي على اصابة فايروسية كامنة latent CMV , وعندما تنشط الخلايا الوحيدة وتتمايز الى الخلايا البلعمية في الانسجة فان الفايروس المضخم للخلايا ينشط من الاصابة الكامنة وينتقل الى انواع عديدة من انسجة الجسم لاحداث الاصابة (Cohen, 2014 ; Wills, 2015)

ان قدرة الفايروس المضخم للخلايا للحفاظ على الاصابة الفعالة Active infection في المضيف الطبيعي لفترات طويلة من الزمن دون القضاء عليه من قبل النظام المناعي immune System بسبب امتلاكه ستراتيجيات متعددة لتتداخل مع الاستجابة المناعية للعائل، وهذه تتضمن غلق تقديم المستضد Antigen Presentation بواسطة معقد التطابق النسيجي الصنف الاول والثاني, وتثبيط عمل الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cell. بالاضافة الى ان CMV يشفر لبروتينات يكون لها القدرة على عرقلة دفاعات المضيف بواسطة آليات اخرى مثل التداخل مع Apoptosis وتحليل وسائط المتمم Complement– mediated lysis. كذلك له القدرة على تشفير حركيات الجذب الكيميائي Chemokines مع القدرة على

جذب الخلايا العدلة Neutrophils , والخلايا وحيده النواة Monocytes لتسهيل انتشار الفايروس (Christidou *et al*., 2007).

2-9-1-الامراضية للمضيف الطبيعي Normal Host Pathogensis

ان الاصابة الاولية لـ HCMV في المرضى الطبيعيين مناعيا هي عادة بدون اعراض ونادرا ما تسبب المرض ، وفي بعض الحالات تظهر اعراض مشابهة لداء وحيدات النوة Mononucleosis-like Syndrome الذي يسببه فايرس الابشتاين بار, مع حمى Fever , الم عضلي Myalgia , وتضخم الكبد Hepatomegaly , واعتلال العقد اللمفاوية Lymphadenopathy (Laufer-Perl *et al*., 2012).

ان التهاب اللوزتين والبلعوم Tonsillopharyngitis , واعتلال العقد اللمفاوية Lymphadenopathy , وتضخم الطحال Splenomegaly , هي من الاعراض الاقل شيوعا في اصابة HCMV مقارنة مع ابشتاين بار، ومن المضاعفات النادرة الاخرى للاصابة هي ألم مفصلي Arthralgia , والتهاب المفاصل Arthritis , والتهاب القولون التقرحي Ulcerative Colitis , والاتهاب الرئوي Pneumonitis , والتهاب الكبد Hepatitis , والتهاب السحايا Aseptic Meningitis, التهاب عضلة القلب Myocarditis (Crough and Khanna, 2009).

2 -9-2-الامراضية لدى مرضى الكبت المناعي

الفايروس المضخم للخلايا هو من الامراض الفايروسية الانتهازية المهمة في المرضى المصابين بالكبت المناعي Immunocompromis وخصوصا مرض العوز المناعي المكتسب Human Immunodeficiency Synedrome (HIV/AIDS) ومتلقي زرع الاعضاء الصلبة Transplant Recipents مما يتسبب في كثير من الامراض وزيادة معدل الوفيات.اذ

اشارت البحوث ان معدل انتشار CMV في مرض HIV هو 40% (Momin *et al*., 2011 ; Pandey *et al*., 2014).

ان الاصابة الاولية Primary infection او اعادة التنشيط Reactive في كل من مرضى الزرع والايدز يرتبط مع انخفاض قيمة المناعة ففي مرضى الايدز فان المشاكل الاكثر شيوعا المتعلقة بـ CMV هي التهاب الشبكية Retinitis, والتهاب المريء Esophagitis والتهاب القولون Colitis , ونادرا ماتحدث مضاعفات تشمل التهاب الدماغ Brain Inflammation والاعتلال العصبي Neuropathy والتهاب الكبد Hepatitis , والالتهاب الرئوي Pneumonitis (Yeroh *et al*., 2015).

التاثير المباشر Direct effects لاصابة بالفايروس المضخم للخلايا (CMV) في مرض زرع الاعضاء الصلبة Solid Organ Transplant (SOT) هو السبب الرئيسي لمعدلات الاعتلال والوفيات بعد زرع الاعضاء الصلبة (SOT) . (Ramanan and Razonable, 2013)

يسبب الفايروس امراضا عديدة , تبدا من متلازمة الفايرس المضخم للخلايا الى امراض غزو النسيج Tissue Invasive. حيث ان متلازمة CMV تشبه اعراض الانفلونزا Flu-like illness والتي قد تتميز بحمى Fever وتوعك Maliase , ونقص كريات الدم البيض Leucopenia ونقص الصفيحات الدموية Thrombocytopenia وارتفاع خفيف في انزيمات الكبد , اما امراض غزو النسيج Tissue-Invasive diseases فهي تختلف باختلاف العضو المزروع. واشارت البحوث ان نسبة الاصابة بـ CMV في مرض زرع الرئة 35%-75% و والقلب 9%-35% في غياب الوقاية (Kotton *et al*., 2013).

بالاضافة للتاثيرات المباشرة لغزو CMV للاصابة الغازية. فان الاثار غير المباشرة لـCMV سواء اكانت عامة او خاصة بالعضو المزروع فهي لاترتبط مباشرة بغزو النسيج. وانما ترتبط مع زيادة مخاطر الاصابة البكترية Bactrial , الفطريات Fungal واصابة فايروسية او اصابة جديدة بداء السكري Diabest Mellitus , بعد زرع الاعضاء ورفض العضو الحاد Acute rejection (Srinivasan,2014 ; Hecking, 2013).

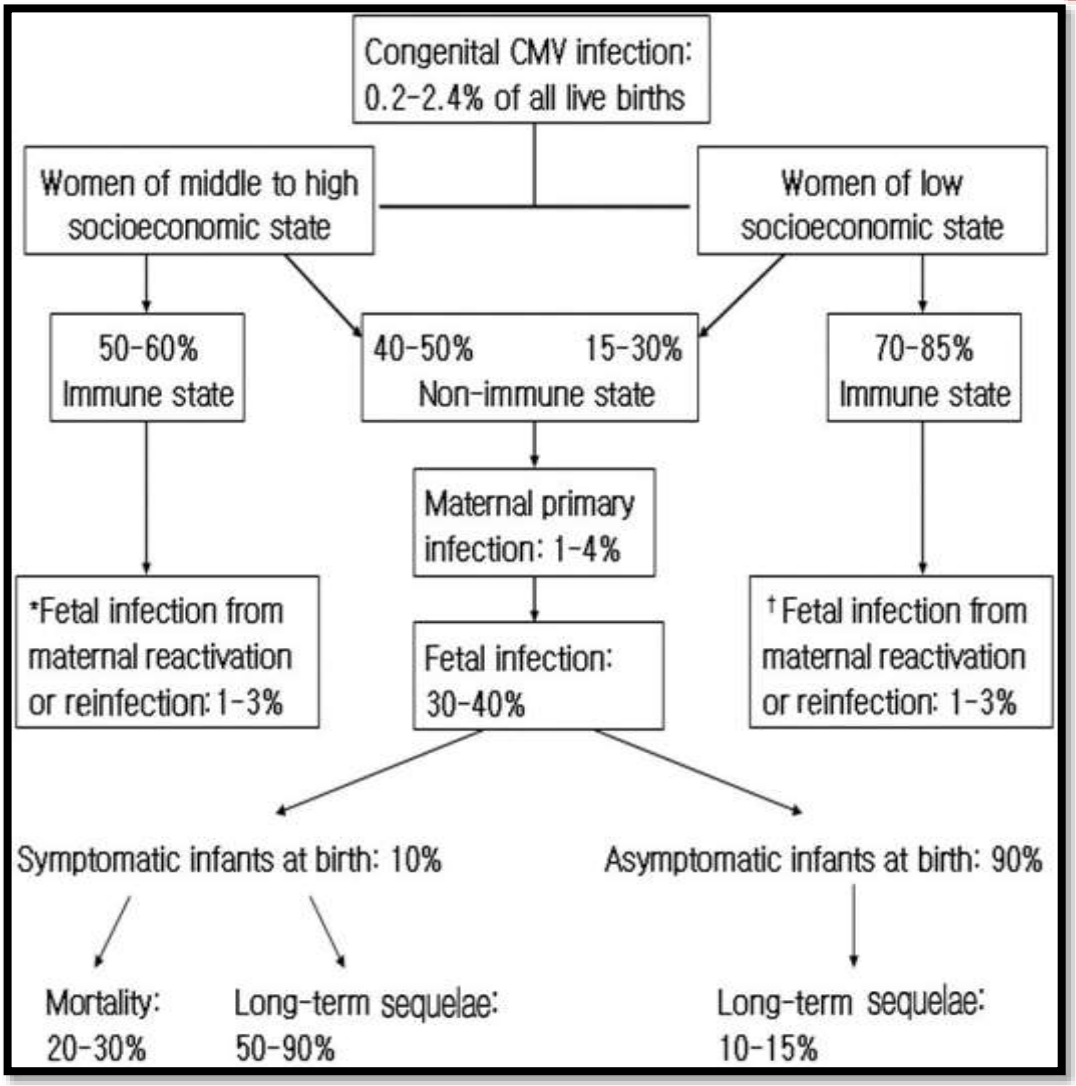
2-9-3-الاصابة الجنينية Congenitial Infection

اصابة الجنين او الاطفال حديثي الولادة ربما تكون شديدة , وهي نتيجة لانتقال CMV عبر المشيمة Transplacental ، ويحدث انتقاله الى الجنين بسبب الاصابة الاولية او اصابة الام اصابة ثانوية ، وان احتمال انتقالها داخل الرحم بعد الاصابة الاولية خلال الحمل هي 30%-40% مقارنة بـ1% فقط بعد الاصابة الثانوية.

وان حوالي 15%-50% من اصابة الجنين خلقيا يكون مصحوبا باعراض عند الولادة بما في ذلك تحديد نمو الجنين Intrauterine Growth restriction , صغر الراس Microcephaly , ضخامة الكبد والطحال Hepatosplenomegaly , نمشات دموية Petechiae , واليرقان Jaundice , والتهاب المشيمة والشبكية Chorioretinitis , قلة الصفيحات Thrombocytopenia , فقر الدم anemia , ونسبة 20-30% تحدث لديهم حالة وفاة من تجلط الدم داخل الاوعية الدموية Disseminated intravascular او القصور الكبدي Hepatic Dysfunction وان معظم الاصابة الخلقية للاطفال 85-90% هي بدون اعراض عند الولادة , ولكن بنسبة 5-15% منهم تتطور الى مضاعفات مثل فقدان السمع الحسي العصبيSensorineural Hearing Loss , وضعف البصرVisual impairment,

وتأخر في التطور Delay Psychomotor Development كما موضحة في الشكل (2-5) (yinon *et al*., 2010 ; Adler, 2015).

ان شدة الاصابة تعتمد على الفترة التي اصيب بها الجنين او المولود بالفايروس ، فعندما يصاب الجنين في اثناء فترة الحمل Congenital فان الاصابة تكون اكثر شدة مما لو حدثت الاصابة عند الولادة Perinatal وتكون اشد من الاصابة بعد الولادة Postnatal ، كما وجد ان الاضداد الموجودة في دم الام تؤدي دور كبير في تحديد التلف الذي قد يحدث للجنين , لان هذه الاضداد IgG لها القدرة على العبور عبر المشيمة الى الجنين. حيث يتضاعف الفايروس المضخم للخلايا CMV في الغدة الظهارية للرحم Uterine Glandular epithelium وبطانة الخلايا الشعرية Capillary Endothelial cell وينتشر الى أرومة غاذية خلوية Cytotrophoblasts حيث ان فايروس الـ CMV يستخدم Fc-Receptor الجنين للانتقال عبر المشيمة (Manicklal *at el*, 2013 ; Adler and Nigro, 2013)



شكل (2-5) التشوهات الخلقية للفايرس المضخم للخلايا في مراحل مختلفة

(Kim, 2010)

2-10-طرق انتقال الفايروس Mode of Transmission of virus

2-10-1-الانتقال الافقي Horizantial Transmission

2-10-1-1-اللعاب Saliva

يعد اللعاب احد الطرق الرئيسية لانتقال الفايروس للاطفال بعد الولادة. حيث يمكن للفايروس ان ينتقل خلال التماس بين الاطفال , بالاضافة الى انتقاله بين افراد الاسرة ومركز رعاية الاطفال , ان معدل انتقاله في مركز رعاية الاطفال يمكن ان يصل الى 70% في

الاطفال الذين تتراوح اعمارهم بين 1-3 سنة, كما يمكن ان ينتقل من خلال الادرار ايضا (Bennett *et al*., 2015).

2-10-1-2-الانتقال الجنسي Sexual Transmission

يوجد هذا الفايروس في كل من السائل المنوي وكذلك في عنق الرحم ولكن عادة وقبل الاتصال الجنسي يكون هناك اتصال عن طريق الفم (فم –فم) والتي من الممكن ان تكون طريقا جيدا لانتقال الفايروس , اوضحت الدراسات ان العلاقات الجنسية الشاذة (مع الجنس نفسه) يكون لها خطر كبير لأحداث الاصابة , واشارت الدراسة ان الاتصال بشكل عرضي بالمستقيم قد يكون احد العوامل المتطورة لانتقال الفايروس المضخم للخلايا (Studemeister, 2011).

2-10-1-3-الانتقال عن طريق نقل الدم Blood Transfusion

اثبتت الدراسات ان الفايروس المضخم للخلايا يمكن ان يبقى كامنا في بعض خلايا الدم مثل الخلايا البلعمية Macrophage والخلايا وحيدة النواة Monocyt وهذه الخلايا تدعم تكاثر الفايروس ، ويمكن ان تنتقل العدوى من دم الواهب ذي المصول الموجبة Seropositive donor , وان خطر الاصابة يرتبط بحجم الدم المنقول للمستلم ذي المصول السالبة Seronagative recipient. وان نسبة احتمال الاصابة الـ CMV هي 50% (Salvoni *et al*., 2014).

2-10-1-4-زرع الاعضاء Organ Transplantation

اوضحت الدراسات ان عملية زرع الاعضاء هي واحدة من اكثر الحالات شيوعا لنقل الفايروس المضخم للخلايا من الشخص الواهب الحامل للفايروس الى الشخص المستلم ، واهم عمليات الزرع التي تشكل خطر كبير في انتقال الفايروس هي عملية زرع الكلية , ويمكن ان تصنف على انها اصابه اولية Primary-Infection, عندما يحدث الانتقال خلال الزرع

Graft او اعادة التنشيط Reactivation وبالتالي فان الـ CMV يعتبر عامل خطير لرفض العضو المزروع وخاصة في عمليات زرع الرئة , وهنالك دراسة اكدت ان 64% للرفض الحاد للكلية هو وجود الفايروس المضخم للخلايا(Requião-Moura, 2015 ; Solidoro *et al*., 2014).

2-10-2-الانتقال العمودي Vertical Transmission

2-10-2-1-الانتقال خلال المشيمة Transplacental

ينتقل الفايروس المضخم للخلايا من الام الى الجنين بنسبة 35% من حالات الحمل والتي تحدث نتيجة للاصابة الاولية للام ، ومعدل الانتقال عن طريق المشيمة ، يشكل نسبة 20% , عندما تحدث الاصابة في الثلث الاول من الحمل , ويزداد مع ازدياد فترة الحمل الى 75% خلال الثلث الثالث من الحمل.

تكون اصابة الام الحامل بدون اعراض , غير ان الاصابة الخلقية للجنين تعود الى الثلث الاول لاصابة الام , الاصابة المتاخرة للام التي تسبب امراضا للجنين والتي تكون واضحة لدى المولود الجديد على انها علامات العدوى الخلقية Congenitial infection ، ويمكن ان ينتقل ايضا من الام الى الجنين في حالة وجود اصابة قديمة , واعيد تنشيطها Reactivation بسبب ضعف المناعة. وهاتان الحالتان يمكن حدوثهما في اي وقت من فترة الحمل (pass *et al*., 2009 ; Leurez-Ville *et al*., 2013).

2-10-2-2-أثناء الولادة Intrapartum Transmission

يحدث انتقال الـ CMV من الام الى الجنين من خلال الولادة ويرجع ذلك الى وجود الفايروس في عنق الرحم Cervix او المهبل Vagina اذ اشارت التقارير ان50% من الاطفال المصابين بالفايروس هم الذين ولدوا من امهات مصابات بـ CMV-Positive, وتعرض الجنين

للإفرازات الموجود في المهبل في اثناء مروره عبر قناة الولادة .(Pass *et al*., 2009 ; Roxby *et al*., 2014)

2-10-2-3-حليب الام Breast Milk

الرضاعة الطبيعية هي من الطرق الشائعة لانتقال الفايروس المضخم للخلايا وخصوصا في المجتمعات السكنية التي يرتفع فيها معدل انتشار الفايروس وارتفاع معدل الرضاعة الطبيعية ، ويفرز الفايروس المضخم للخلايا عادة في حليب الام للنساء المصابات ابتداء من الاسبوع الاول بعد الولادة وتبلغ ذروتها في الفترة بين 4-8 اسابيع بعد الولادة ثم ينخفض بانتظام بعد ذلك و تم عزل الفايروس من حليب الام بمعدل 40-97% من النساء المصابات بـ CMV .(Pass and Anderson, 2014)

2-11-الاستجابة المناعية Immune Response

2-11-1-الاستجابة المناعية المتاصلة او الذاتية Innate Immune Response

عند دخول الفايروس المضخم للخلايا. فان العائل سوف يتعرف على اجزاء الفايروس, ويتم تفعيل العديد من الميكانيكيات ومسارات الاستجابة المناعية المتاصلة وهذه تتضمن السايتوكينات الالتهابية Inflammatory Cytokines. والنوع الاول من الانترفيرون (IFN), وزيادة تنظيم التحفيز المشترك Costimulatory للجزيئات التي تعد حاسمة لتقليل تضاعف الفايروس وتقليل الامراضية و تحفيز الاستجابة المناعة المتكيفة Adaptive Immune وبذلك تعد المناعة المتاصلة الخط الدفاع الاول ضد الفايروس المضخم للخلايا , وتسمح للعائل باتخاذ التدابير السريعة المضادة للفايروس (La Rosa and Diamond, 2012; Isaacson *et al*., 2008 ; Gibson *et al*., 2007).

يتم كشف العامل المرضي من قبل النظام المناعي الذاتي من خلال فئة من جزيئات الاستشعار المناعية Immune Sensor والتي تدعى مستقبلات انماط التميز Pattern Recognition Receptors (PRR) وان Toll Like Receptor (TLRs) وهو صنف من انماط (PRR) والذي يكشف عن مدى واسع من مسببات الامراض تتضمن البكتريا والفايروس , كما ان تنشيط استجابة النظام المناعي الذاتية يتضمن تحفيز الخلايا المقدمة للانتجين Antigen–Presenting cell والخلايا البلعمية Phagocytes والخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer cells (NK). وهناك ادلة علمية متزايدة تشير الى انNK تؤدي دورا اساسا وحاسما في دفاعات المضيف ضد CMV , من خلال تراكمها في العديد من الاجهزة والاعضاء خلال الاصابة ، اذ تكون فعالة في القضاء المباشر على الخلية المصابة بواسطة الخاصية السامة Cytotoxicity , من خلال اطلاق محتوياتها من الحبيبات Granzymes, Perforins على سطح الخلية المصابة حيث ان Perforins يمكن ان يخلق مسامات في غشاء الخلية مما يسمح لمرور Granzymes (وهو الانزيم المحلل للبروتين Protolytic Enzymes) الى داخل الخلية وحدوث الموت المبرمج للخلايا Apoptosis , وتنظيم عالي لتعبير معقد التطابق النسيجي الصنف الاول MHC1 على الخلايا المقدمة للانتجين APC, مما يؤدي الى تقليل تضاعف الفايروس والخلايا السرطانية Malignant cell .(Orange. 2008 ; Vivier *et al*,. 2011 ; Berrien–Elliott *et al*., 2015)

2–11–2 الاستجابة المناعية الخلطية Humoral immune responses

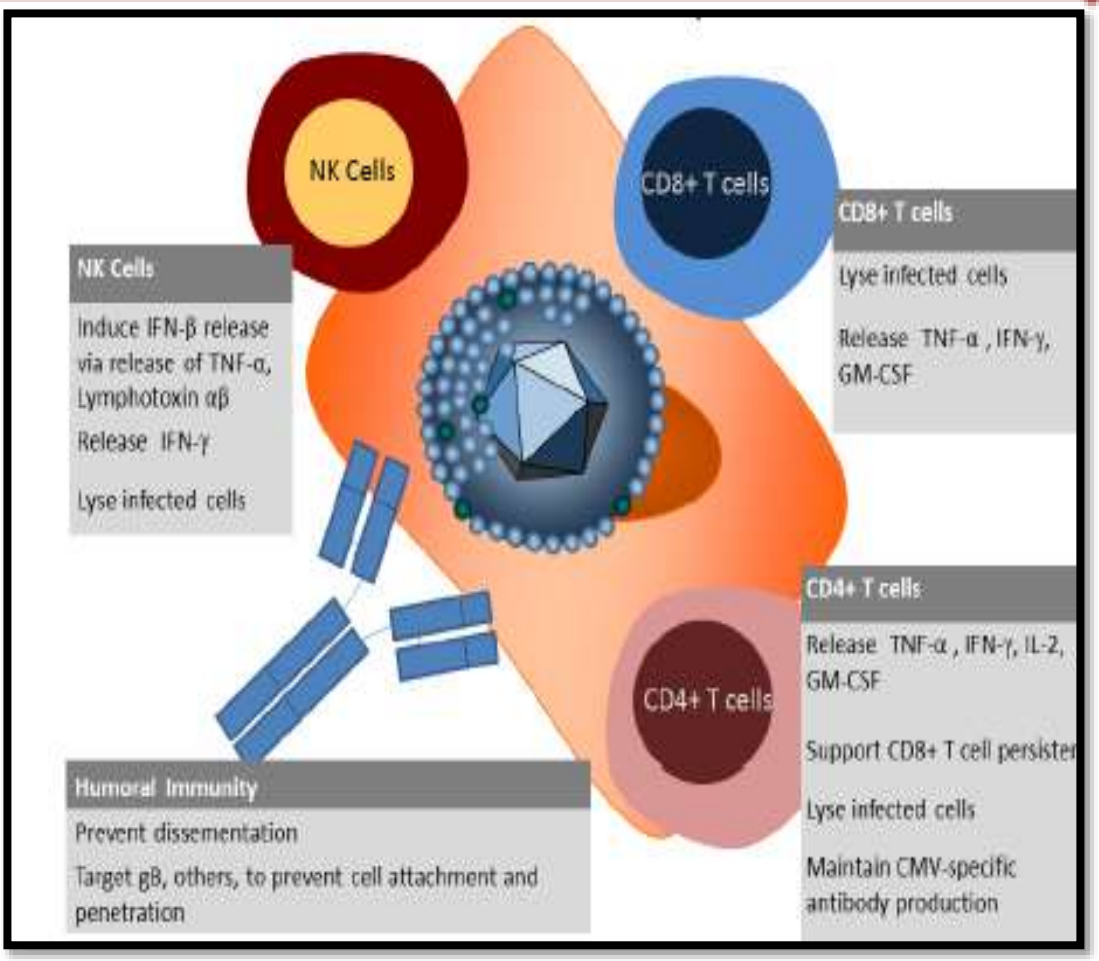
بعد الاصابة الاولية لـ HCMV واثارة استجابة مناعية قوية حيث تساهم الاجسام المضادة للتعرف على العديد من البروتينات لاجزاء مختلفة من الفايرس , بما في ذلك pp65, pp150 من بروتينات القالب Tegument , البروتينات السكرية للغلاف

glycoprotein H (gH) , glycoprotein B (gB), وكذلك البروتينات التي تشترك في عملية الاستنساخ مثل بروتينات المرحله المبكره IE 1 , ففي معظم الاشخاص ذوي المصول الموجبة لـ CMV يمتلك اجسام مضادة يوجهها ضد glycoprotein B (gB), أن للاجسام المضادة دوراً مهماً في تحديد الفيروس ومنع ارتباطه بالخلية الهدف أما عن طريق معادلته Neutralization أو تحطيمه بتفعيل المتمم Complment activation أو استساغته Opsonization وتنشيط الخلايا البلعمية. ففي الاشخاص الاصحاء تنتج اجسام مضادة anti-CMV نوع IgM خلال الاصابة الاولية ويستمر لعدة اسابيع , اما IgG فينتج بعد عدة اسابيع ويستمر مدى الحياه (Lachmann, 2013).

2-11-3 الاستجابة المناعية الخلوية Cell-Mediated Immune responses

الاستجابة المناعية الخلوية ضرورية للسيطرة على كمون الفايروس واعاقة تكاثره في الافراد المصابين. حيث ان 10% من جميع الخلايا اللمفاوية التائية CD8 وTcell CD4 في الدم المحيطي يمكن ان تميز بروتينات HCMV وهو عدد هائل بالنظر للامكانية المناعية الواسعة للحماية من الامراض (Hanley and Bollard, 2014).

وقد تبين في دراسة حديثة ظهور الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة CD4 Tcell المتخصصة بـ CMV في الاشخاص الاصحاء مناعيا بعد 10 ايام من وجود DNA الفايروس. ويتبعها بعد 14 يوم ظهور الخلايا اللمفاوية التائية السامة CD8Tcell المتخصصة لـ CMV. كما في الشكل (**2-6**) (Lachmann, 2013).



شكل (2-6) الاستجابة المناعية للفايروس المضخم للخلايا (Hanley and Bollard, 2014)

2-12- الحركيات الخلوية Cytokines

وهي عبارة عن جزيئات صغيرة بروتينية , تتراوح اوزانها الجزيئية بين 27- 30 Kd. تفرز من انواع مختلفة من قبل خلايا مناعية متنوعة مثل الخلايا المفاوية التائية T-Lymphocyte , الخلايا البلعمية Macrophage والخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer Cells , ومن خلايا غير مناعية مثل خلايا شوان Schwan Cells والخلايا الليفية Fibroblast (Chen *et al*., 2012).

وتعمل كوسائط اتصال عند تعرض الجسم للاصابة مما يستدعي ردا مناعيا, وتساعد الحركيات الخلوية بعضها البعض سواء بتوجيه نشاطها او تحفيزها , وفي

بعض الاحيان كبحها بالاضافة الى نقل الاشارات بين الخلايا Intercellular Signal لتنظيم الاستجابة المناعية الخلوية والخليطة وفي جميع اطوارها اذ انها تساعد في تكاثر Proliferation والتمايز Differentiation والهجرة Migration خلال الجهاز المناعي (Vazques-Lombar *et al*., 2013).

ان الوظيفة الرئيسية للـ Cytokines هي تنظيم تمايز الخلايا اللمفاوية التائية Tcell Differentiation من الخلايا غير المتمايزة Undifferentiation الى الخلايا المفاوية التائية المساعدة الاولية Th1 , والخلايا المفاوية التائية المساعدة الثانوية Th2 , بالاضافة الى تنظيم الانترلوكينات Interleukins (ILs) , والانترفيرونات Interferouns (INFs) . (Babon and Nicola, 2012)

2-12-1 البين الابيضاضي العاشر Interleukin-10 (IL10)

هو عبارة عن بروتين سكري يتكون من 178 حامض اميني يبلغ وزنه الجزيئي 18.5 Kd (Sabat *et al*., 2010) ينتج من مجموعة من الخلايا اللمفاوية التائية T cell , والخلايا اللمفاوية البائية B cell والخلايا البلعمية Macrophage, والخلايا المتفرعة Dendritic cell, والخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cell , والعديد من الخلايا غير المناعية مثل الخلايا الارومة الغاذية Trophoblast cell , والخلايا اللحمية الساقطة Decidual Stromal cell وله اثار عديدة في تنظيم الجهاز المناعي والالتهابات inflammation ، ايضا له القدرة على تثبيط تصنيع السايتوكينات الموالية للالتهاب Pro inflammatory مثل البين الابيضاضي (IL2) , الانترفيرون الفا (INFγ) , وعامل التنخر الورمي (TNFα) , والبين الابيضاضي (IL3) التي تحفز بواسطة الخلايا البلعمية Macrophages , والخلايا المساعدة النوع الاول T helper1 (Azarpira *et al*., 2010).

البين الابيضاضي 10 هو مثبط مناعي Immuno suppressive قوي ومضاد للالتهاب. بالاضافة الى قدرتة على تثبيط وظيفة الخلايا المقدمة للانتجين Antigen Present Cell (APC) , وتثبيط تعبير الحركيات الخلوية الالتهابية , وتثبيط الخلايا التائية السامة Cytotoxic T cell (CTL) وتنظيم بقاء وانتشار الخلايا اللمفاوية البائية B cell (Aboul enien et al., 2006).

وهو المساهم الرئيسي في التوازن بين اشارات الحركيات الخلوية الموالية للالتهاب مقابل الاشارات المضادة للالتهاب والتي تنسق لانتاج حمل ناجح ، واظهرت الدراسات السابقة ان نجاح الحمل يعتمد على تحول الاستجابة المناعية للام من الموالية للالتهاب Pro inflammatory (TH1) نحو المضاد للالتهاب Anti-inflammatory (TH2). حيث تم اكتشاف مستوى عالٍ من الانترلوكين 10 في الحمل الصحي مقارنة مع النساء ذات الاسقاط العفوي المجهول السبب (Makhseed *et al*., 2001; Daher *et al*., 2003)

ان انخفاضه يؤدي الى نتائج سلبية مثل الاجهاض المتكرر العفوي Recurrent Spontaneous Miscarriage , الولادة المبكرة Preterm Birth , وتسمم الحمل pre-eclampsia (Walia *et al*., 2008 ; Kamali-Sarvestani *et al*., 2006)

2-12-2 البين الابيضاضي السادس Interleukin 6 (IL6)

هو بروتين سكري مكون من 184 حامض اميني, ويبلغ وزنه الجزيئي 20.5 Kd. وهو مادة افرازية تنتج من عدد كبير من الخلايا مختلفة الاصناف , كذلك مستقبلات (IL6-R) متوزعة بشكل واسع في الجسم.

IL6 يمتاز بوظائف متعددة و يلعب دوراً مركزياً ومهماً في دفاعات المضيف ضد العدوى والاصابة. بالاضافة الى قدرته في تحفيز الاستجابة المناعية المتاصلة وتتابعها للمناعة المتكيفة (Jones, 2005).

ينتج IL- 6 من الخلايا الوحيدة Monocyte , والخلايا البلعمية Macrophage , كذلك هو واحد من اول الحركيات الخلوية التي تتحرر استجابة لتحفيز الالتهاب , وهو الوسيط الرئيسي لاستجابة المرحلة الحادة Acute Phase Response , كما انه ينشط تمايز الخلايا التائية الى خلايا تائية سامة Cytotoxic T cell (Mesquida, 2014).

ففي المرحلة الاولى من الاصابة او اصابة النسيج , يحث IL-6 بروتينات الطور الحاد Acute-Phase Protein , وتنشط Macrophages , ويتوسط الخلايا اللمفاوية للوصول الى موقع الالتهاب وفي مرحلة التخلص من الالتهاب سوف يحث البين الابيضاضي (IL-6) الى الموت المبرمج للخلايا مثل Neutrophil , كذلك يمكن ان يثبط الحركيات الخلوية الموالية للالتهاب وانتاج الكيموكينات Chemokine (Sohlberg, 2011).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

المواد و طرائق العمل Materials and Methods

3-1-الاجهزة والمواد Instruments and Materials

3-1-1-الاجهزة المستخدمة Instrument

جدول (3-1) قائمة بالأجهزة المستخدمة في الدراسة الحالية

الاجهزة	المنشأ	الشركة المصنعة
جهاز الغسل Bioelisa washer	امريكي	Biokit
جهاز القراءة Bioelisa reader	امريكي	Biokit
طابعة Printer	أمريكي	Biokit
ثلاجة Refrigerator	فرنسي	Concord
جهاز الطرد المركزي Centrifuge	المانيا	Hettich
الحاضنة Incubator	المانيا	Thermaks

3-1-2-العدد المختبرية Laboratory Kits

جدول (3-2) قائمة بالعدة المختبرية التشخيصية المستخدمة في الدراسة الحالية

العدة المختبرية	المنشأ	الشركة المصنعة
CMV IgG ELISA Kit	الماني	Human
CMV IgM ELISA Kit	الماني	Human
(IL-10) ELISA Kit	الماني	Human
(IL-6) ELISA Kit	الماني	Human

3-1-3-الادوات المستخدمة Equipments

جدول (3-3) قائمة بالأدوات المستخدمة في الدراسة الحالية

الادوات	المنشأ	الشركة المصنعة
حامل انابيب ابندروفEppendorf tube rack	أمريكي	Biobasic
ماصة دقيقة Micro pipette	فنلندا	Bioki
ماصة pipette	فلندا	Bioki
حامل انابيب Rack tube	كوري	Bioneer
ساعة توقيت Stop watch	يابان	Casio
أنابيب ابندروف Eppendrof tube	المانيا	Grenier
انابيب اختبار Test tubes	المانيا	Labcco
محقنة طبية plastic disposable syringes 5 ml	صيني	Meheco
طبق بتري	صيني	Meheco
اوراق ترشيح Filter papers	المانيا	Seweiehesschuell
كاميرا Camera	ياباني	Sony
Pipette tips	امريكا	Sterillin

3-2-طرائق العمل Methods

3-2-1-موقع و فترة البحث Location and time of collection

اجري البحث في محافظة ديالى في مختبرات عدة منها مختبر مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال و العيادة الخارجية لمستشفى بعقوبة التعليمي ومختبر الصحة العامة في بعقوبة وقد بدا العمل في شهر أيلول لعام 2015 ولغاية شباط 2016

تم جمع النماذج من مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال قسم النسائية والتوليد و العيادة الخارجية لمستشفى بعقوبة التعليمي.

3-2-2-جمع العينات Collection of Samples

جمعت 510 عينة دم من النساء ولحالات مختلفة حيث اشتملت على 110 عينة للنساء المقبلات على الزواج و110 عينة لنساء ذات الحمل الطبيعي و130 من النساء ذات الاسقاطات و160 عينة من النساء الطبيعيات استعملت كمجموعة سيطرة وضمن مدى عمري ما بين (15-30) سنة. واعدت استمارة استبيان تضمنت معلومات العمر ، الجنس ، السكن , نوع العينة نساء مقبلات على الزواج , حمل طبيعي , اسقاطات- عدد الاسقاطات. مع موافقة خطية من المرضى للحصول على عينات الدم لأغراض البحث (وأرفقت الاستمارتين في الملاحق).

تم جمع العينات عن طريق سحب الدم الوريدي , اذ تم سحب (5 مل) من الدم عن طريق استخدام محاقن طبية بلاستيكية وتم وضع الدم المسحوب في مجموعتين من الانابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر, اذ يوضع فيها الدم ويترك (30) دقيقة في درجة حرارة الغرفة للتخثر, ثم فصلت الامصال بواسطة الجهاز الطرد المركزي لمدة (5) دقائق وبمعدل (3000 دورة / دقيقة) وتم تقسيم المصل الى كميات متساوية (250) مايكرو ليتر في انابيب صغيرة وحفظه في درجة حرارة (20 ℃ -) لحين الاستخدام.

3-3-الاختبارات المناعية Immunological Tests

3-3-1-اختبار الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) للكشف عن الضد المناعي IgM للفيروس المضخم للخلايا

اجري الفحص بحسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة التشخيصية (Human , Germany).

3-3-1-1-مبدأ الاختبار Principle Test

يستند اختبار الاليزا للضد المناعي IgM لفيروس المضخم للخلايا البشري على التقنية (indirect ELISA), تحتوي الصفيحة العيارية (microtiter) على حفر كطور صلب وهي مغطاة بمستضدات الفيروس (CMV Ag) المشتقة من خلايا مستنبتة. في مرحلة الحضن الاولى يتفاعل الاجسام المضادة صنف IgM للفيروس (CMV-IgM-Ab) الموجودة في عينة المريض او الاصحاء (السيطرة) وترتبط مع المستضدات في الطور الصلب (الحفر). يحتوي دارئ تخفيف العينة على (anti-human IgG) لمنع العامل الروماتويد Rheumatoid Factor (RF) من التداخل والمنافسة لضد المناعي معين صنف IgM الموجود في عينة المرضى.

في نهاية الحضن , يتم غسل المكونات غير المرتبطة والتخلص منها خارج الحفر. في المرحلة الثانية من الحضن يتم اضافة الضد المناعي صنف IgM المقترن anti-IgM conjugate بأنزيم البيروكسيديز (Horse Radish Peroxidaes) الذي يرتبط على وجه التحديد بالأجسام المضادة صنف IgM مما ينتج في تكوين معقدات مناعية نموذجية (Typical immunocomplexes). بعد مرحلة الغسل الثانية لإزالة الزائد من المقترن, يتم اضافة المادة الاساس TMB/Substrate.فيتحول اللون الى الازرق ثم الى اللون الاصفر بعد توقف التفاعل. كثافة اللون تتناسب طردياً مع تركيز الجسم المضاد صنف IgM لفيروس المضخم للخلايا في عينة المريض (Revello *et al*,. 2005).

3-3-1--2-اعداد الكواشف Reagents Preparation

توضع جميع الكواشف الى درجة حرارة الغرفة (15-25 Cº) , ويجب خزن الكواشف في درجة (2-8 Cº).

3-3-1-3-اعداد العينة Sample Preparation

تخفف العينة, وذلك بأضافة 10 مايكروليتر الى 1 ml من محلول DIL-M وتمزج جيدا , تخزن العينة المخففة على الاقل 5 دقائق قبل الاستخدام. ويمكن خزن العينة المخففة ما يصل الى 24 ساعة في (8-2 Cº) قبل الاختبار. محلول السيطرة (control) لا يخفف بل يكون جاهزا للاستخدام.

3-3-1-4-تحضير محلول الغسل Preparation of Wash Solution

تم تحضيره باضافة 50 ml من المحلول الى 1000 ml من الماء المقطر ليصل الحجم النهائي الى 1050 ml. يمكن خزنه لمدة 60 يوم في (25-15 Cº) قبل الاستخدام.

3-3-1-5-اجراء الاختبار Test Procedure

الخطوه الاولى Step 1 :

يضاف 100 مايكروليتر من العينات او الامصال المخففة وضوابط السيطرة الموجبة والسالبة مع ترك حفرةA1 فارغة blank كـ(كفئ). وتغطى الصفيحة العيارية بشرائح لاصقة. ثم تحضن الصفيحة لمدة 30 دقيقة في (25-17Cº).بعدها يتم ازالة الشرائح اللاصقة, وغسل الصفيحة 4 مرات وذلك بملء كل حفرة بمحلول الغسل المخف او المنظم بـ 350 مايكروليتر.

الخطوه الثانية Step 2 :

يتم اضافة 100 مايكرولتر من محلول المقترن لكل حفرة باستثناء A1. تغطى الصفيحة بشرائح لاصقة, تحضن لمدة 30 دقيقة في (25-17) درجة سيليزية. من ثم يتم ازالة الشرائط اللاصقة وغسل الصفيحة 5 مرات وذلك بملء كل حفرة بمحلول الغسل المخفف ب 350 مايكروليتر.

الخطوه الثالثة Step 3 :

يضاف 100 مايكروليتر من محلول المادة الاساس المحضرة لكل حفرة. تحضن الصفيحة لمدة 15 دقيقة في (25-17 Cº) في مكان مظلم , يضاف 100 مايكروليتر من محلول . والمزج بعناية يتم قياس الامتصاصية في 450 نانوميتر في غضون 30 دقيقة بعد انتهاء التفاعل.

3-3-1-6-حساب قيم السيطرة والحد الفاصل Calculation of Control Values and Cut-off

قيم الامتصاصية للسيطرة السالبة في الحفر B_1 و C_1 , يتم حساب الوسط الحسابي للسيطرة السالبة (MNC) وفقا للمعادلة الاتية:

$$MNC = \frac{(B1) + (C1)}{2}$$

قيم الامتصاصية للسيطرة الموجبة في الحفر E_1 و D_1, يتم حساب الوسط الحسابي للسيطرة الموجبة (MPC) وفقا للمعادلة الاتية:

$$MPC = \frac{(D1) + (E1)}{2}$$

يتم حساب قيمة الحد الفاصل value Cut-off وفقا للمعادلة الاتية :

Cut-off value COV = MNC + (0.2 x MPC)

وعلى ضوء قيمة الحد الفاصل COV, تكون النتيجة موجبة اذا كانت قيمة الامتصاصية للمصل اكبر او تساوي قيمة الحد الفاصل, اما اذا كانت قيمة الامتصاصية للمصل اقل من قيمة الحد الفاصل فان النتيجة سالبة.

Substrate Blank in well A1 < 0.150

3-3-2-اختبار مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) للكشف عن الضد المناعي IgG للفيروس المضخم للخلايا

اجري الفحص بحسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة التشخيصية (Human , Germany).

3-3-2-1-مبدأ الاختبار Principle test

يستند اختبار الاليزا للضد المناعي IgG لفيروس المضخم للخلايا البشري على تقنية الاليزا غير المباشرة indirect ELISA , تحتوي الصفيحة العيارية microtiter على حفر كطور صلب وهي مغطاة بمستضدات الفيروس (CMV Ag) المشتقة من خلايا مستنبتة. في فترة او مرحلة الحضن الاولى يقابل الاجسام المضادة صنف IgG للفيروس (CMV-IgG-Ab) المجودة في عينة المريض او الاصحاء (السيطرة) لترتبط مع المستضدات في الطور الصلب.في نهاية الحضن, يتم غسل المكونات الغير مرتبطة والتخلص منها خارج الحفر. في المرحلة الثانية من الحضن يتم اضافة IgG المقترن anti-IgG conjugate بأنزيم البيروكسيديز الذي يرتبط على وجه التحديد بالأجسام الاضداد صنف IgG مما ينتج في تكوين معقدات مناعية نموذجية (typical immunocomplexes). بعد مرحلة الغسل الثانية لإزالة الزائد من المقترن conjugate, يتم اضافة المادة الاساس TMB/Substrate. يتحول اللون الازرق الى اللون الاصفر بعد اضافة محلول توقف التفاعل. كثافة اللون تتناسب طردياً مع تركيز الضد صنف IgG لفيروس المضخم للخلايا في عينة المريض (Revello *et al*,. 2005).

3-3-2-2-اعداد الكواشف Reagents Preparation

تم تحضير الكواشف بنفس الطريقة الموضحة في الفقرة 3-3-1-2

3-3-2-3-اعداد العينة Sample Preparation

تم تحضير العينات بنفس الطريقة الموضحة في الفقرة 3-3-1-3

3-3-2-4-عمل محلول الغسل Preparation of Wash Solution

تم عمل محلول الغسل بنفس الطريقة الموضحة في الفقرة 3-3-1-4

3-3-2-5-اجراء الاختبار Test Procedure

اجريت الاختبارات بنفس الطريقة الموضحة في الفقرة 3-3-1-5

3-3-2-6-حساب قيم السيطرة والحد الفاصل Calculation of Control Values and Cut-off

قيم الامتصاصية للسيطرة السالبة في الحفر B_1 و C_1, يتم حساب الوسط الحسابي للسيطرة السالبة (MNC) وفقا للمعادلة الاتية:

$$MNC = \frac{(B1) + (C1)}{2}$$

قيم الامتصاصية للسيطرة الموجبة في الحفر E_1 و D_1 , يتم حساب الوسط الحسابي للسيطرة الموجبة (MPC) وفقا للمعادلة الاتية :

$$MPC = \frac{(D1) + (E1)}{2}$$

يتم حساب قيمة الحد الفاصل value Cut-off وفقا للمعادلة الاتية:

Cut-off value COV = MNC + (0.1 x MPC)

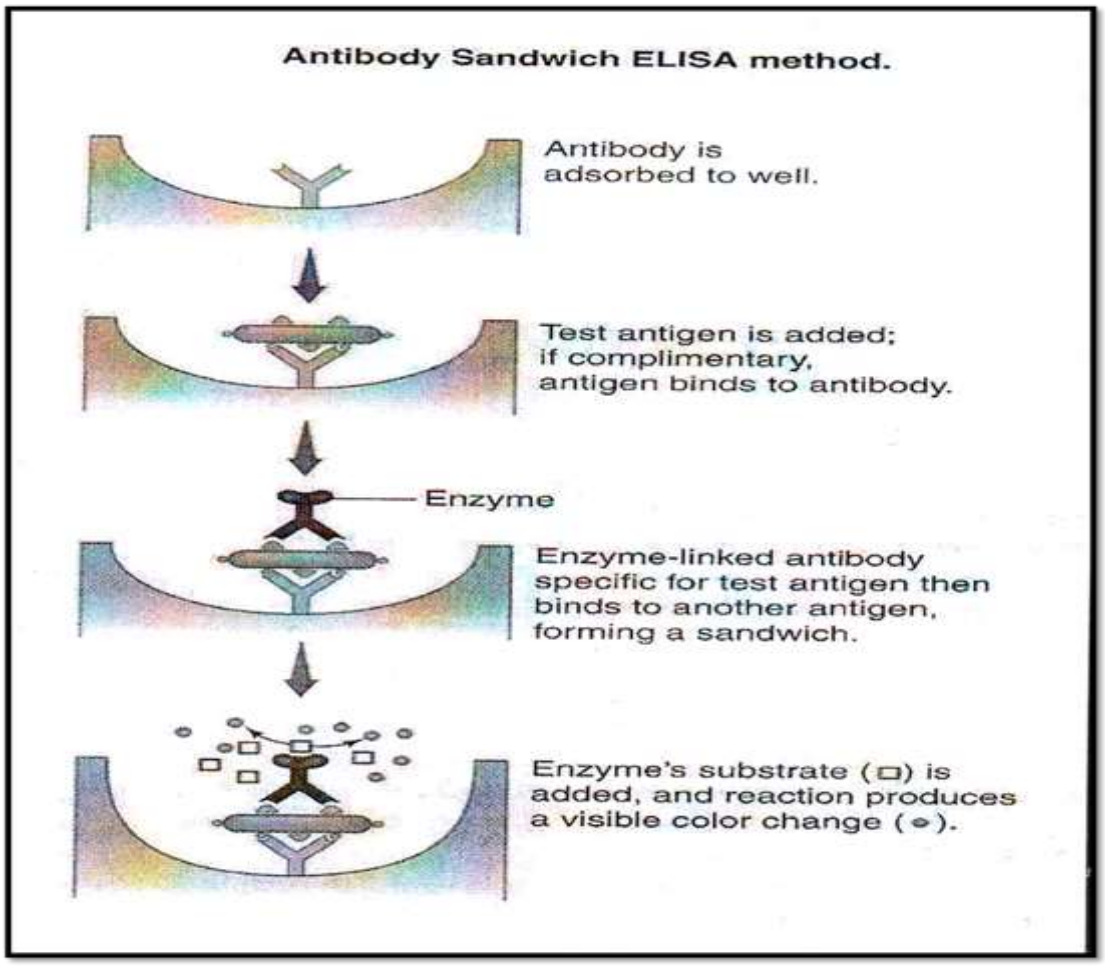
وعلى ضوء قيمة الحد الفاصل COV , كانت النتيجة موجبة اذا كانت قيمة الامتصاصية للمصل اكبر او تساوي قيمة الحد الفاصل , اما اذا كانت قيمة الامتصاصية للمصل اقل من قيمة الحد الفاصل فان النتيجة سالبة.

Substrate Blank in well A1 < 0.150.

3-3-3-مستوى (IL-6 , IL10) في مصل الدم Serum Level of Cytokines

ان مستويات مصل الانترلوكين (IL-10 , IL-6) تم تحديدها كمياً باستخدام اختبار شطيرة الاليزا (Sandwich ELISA test) لـ(70) من النساء الحوامل المصابات ب CMV و(20)

امراة سليمة وحسب التعليمات الواردة في عدة الفحص المصنوعة في شركة (CUSABIO) ومبادئ الاختبار المبينة في الشكل(3-1)



شكل (3-1) مبدأ اختبار شطيرة الاليزا (Talaro , 2005) .

3-3-3-1-مبدأ عمل الاختبار Test principle

يستخدم هذا الاختبار في كمية من الانزيمات الجاهزة وحسب تقنية (immuno assay)حيث ان الاجسام المضادة المتخصصة البين الابيضاضي (IL-10) او (IL-6)تكون مبطنة لحفر المعايرة الدقيقة, وقد وضعت المحاليل القياسية (standards solutions) والعينات (samples) في هذه الحفر وبوجود (IL-6 , IL-10) حدث الارتباط باستهلاك الاجسام المضادة , بعدها يتم إضافة مادة (biotin) اذ تعمل على ربط الاجسام المضادة المتخصصة

البين الابيضاضي (IL-6 , IL-10) عند اضافتها للحفر, بعد عملية الغسل يتم اضافة (avidin) الذي يعمل على ربط انزيم (HRP) وبعدها يضاف انزيم (HRP) الى الحفر ومن ثم اجراء عملية الغسل للإزالة اي مواد غير مرتبطة واي اعاقة قد تعيق الكواشف (avidin – enzyme reagent) وتضاف المادة الاساس (substrate) الى الحفر وبعد اضافة هذه المحاليل تبدأ النسب اللونية بالتغيير وحساب كمية (IL-6 IL-10,) المرتبط في اول خطوة ثم يتوقف التغيير اللوني بإضافة المادة توقف التفاعل (Sulfuric acid) وتقاس الكثافة اللونية وتقرأ النتيجة بجهاز القراءة على طول موجي (450) نانوميتر (Talaro, 2005)

3-3-3-2-تحضير المحاليل Reagent preparation.

تم وضع كل المحاليل بدرجة حرارة الغرفة (18-25 ℃) قبل الاستخدام بمقدار(30) دقيقة وقد حضرت المحاليل مباشرتا اثناء استعمال كل فحص وحسب تعليمات الشركة المصنعة مع مراعاة تجنب حدوث رغوة واستخدام التحريك المستمرة والخلط حتى يتم اذابة كافة البلورات غير الذائبة وتحضر سلسلة من التخفيف باستخدام الماء المقطر .

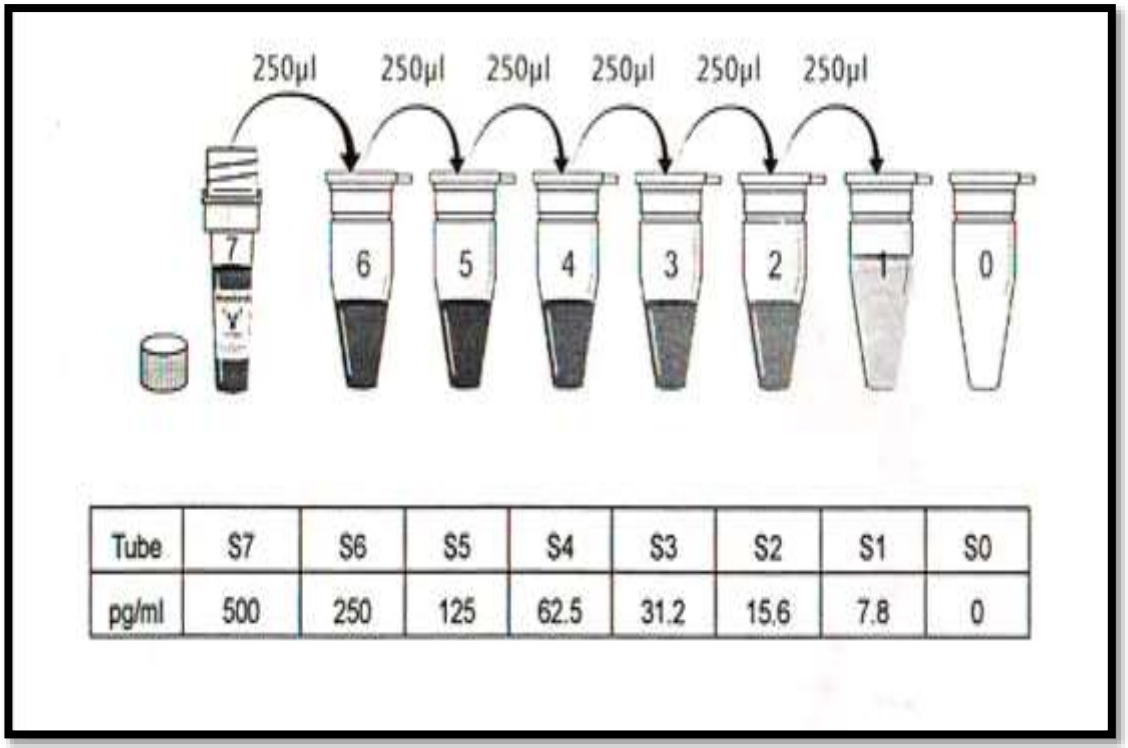
1- تحضير المحلول (1x) Biotin – antibody / من خلال وضع المحلول بجهاز الطرد المركزي لترسيب الجزيئات قبل الاستخدام ومن ثم تخفيف المحلول وذلك بأخذ 10µlمن Biotin-antibody + 990µl من Biotin – antibody Diluent.

2- تحضير محلول (1x) HRP- avidin / من خلال وضع المحلول لجهاز الطرد المركزي قبل الاستخدام لترسيب الجزيئات ومن ثم تخفيف المحلول وذلك بأخذ 10µl من HRP – avidin + 990µl من HRP – avidin Diluent

3- تحضير دارئ الغسيل (1x) Buffer wash / عند وجود الـ crystals يجب اذابتها تماماً ولتخفيف 20ml من wash Buffer يوضع في اسطوانة زجاجية ومن ثم اضف اليه 480ml من الماء المقطر distilled water ليصل حجم كمية الدارئ الى 500 ml

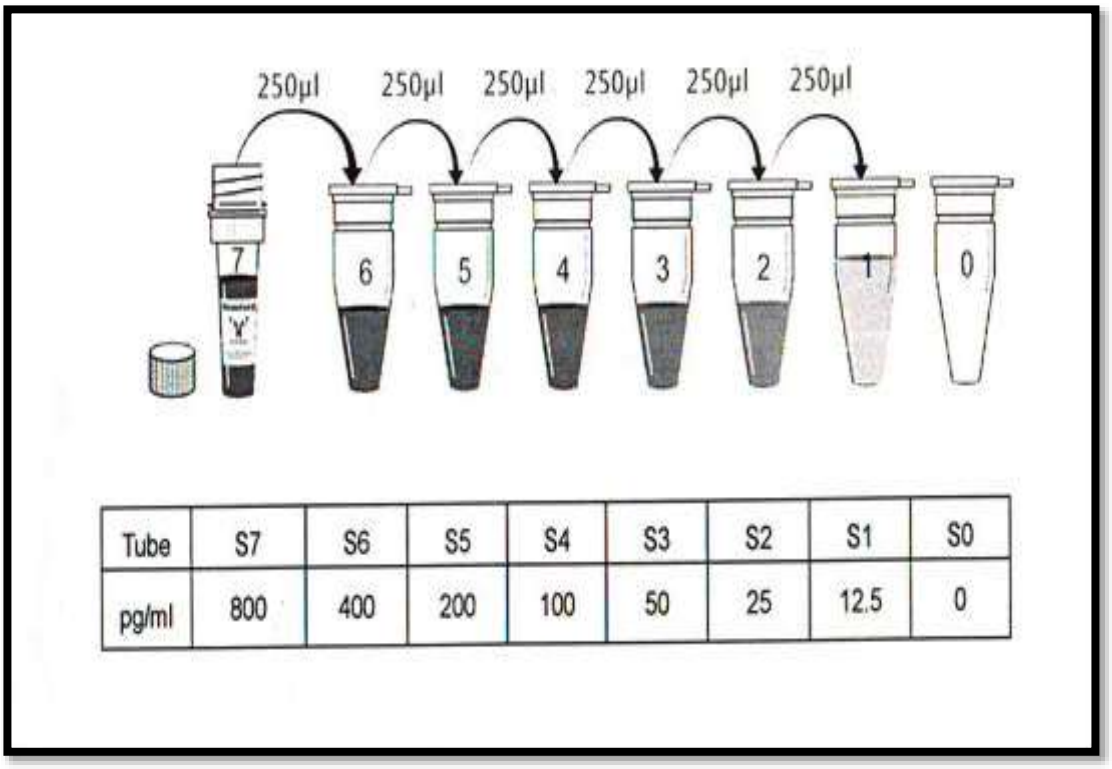
4- تحضير المحلول القياسي Standard Solution / تم وضع Standard solution في جهاز الطرد المركزي قبل الاستخدام, ثم حضر stock solution بتركيز 500 pg / ml والمتكون من 50µ2l Sample diluents, 250 µl من diluent ثم حضرت من 1 الى Standard 6 عن طريق اخذ 250µl من standard (S7) واضيف لها 250µl من الـ diluent وهكذا الى ان تصل الى (S1) اما (S0) فيحتوي فقط على 250µl من diluent وكما موضح في الاشكل(3-2) و (3-3).

5- وحسب تعليمات الشركة المنتجة تبقى الـ standard لمدة (15) دقيقة قبل البدء بالعمل



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	500	250	125	62.5	31.2	15.6	7.8	0

شكل (3-2) عملية تحضير المحلول القياسي البين الابيضاضي (IL-6)



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	800	400	200	100	50	25	12.5	0

شكل (3-3) عملية تحضير المحلول القياسي البين الابيضاضي (IL-10)

3-3-3-3-طريقة العمل Assay procedure

تتضمن طريقة العمل على الخطوات الاتية:-

1- تحضير المحاليل القياسية والعينات بحسب التعليمات مع فتح صفيحة القياس لغرض البدء بالعمل

2- اضيف 100 µl من standard والعينات في الحفر المخصصة لها وغطت الصفيحة بوساطة شرائح لاصقه مجهزة مع العدة التشخيصية ثم حضنت الصفيحة في جهاز الحاضنة في درجة حرارة 37c ولمدة ساعتين .

3- ازيل جميع السوائل من الحفر دون غسل .

4- اضيف 100 µl من الـ Biotin – antibody (1x) الى كل الحفر ثم تغطى الصفيحة بشرائح لاصقة مجددا وتحضن في درجة حرارة 37c لمدة ساعة واحدة .

5- غسلت الصفيحة ثلاث مرات ولمدة دقيقتين في كل مرة .

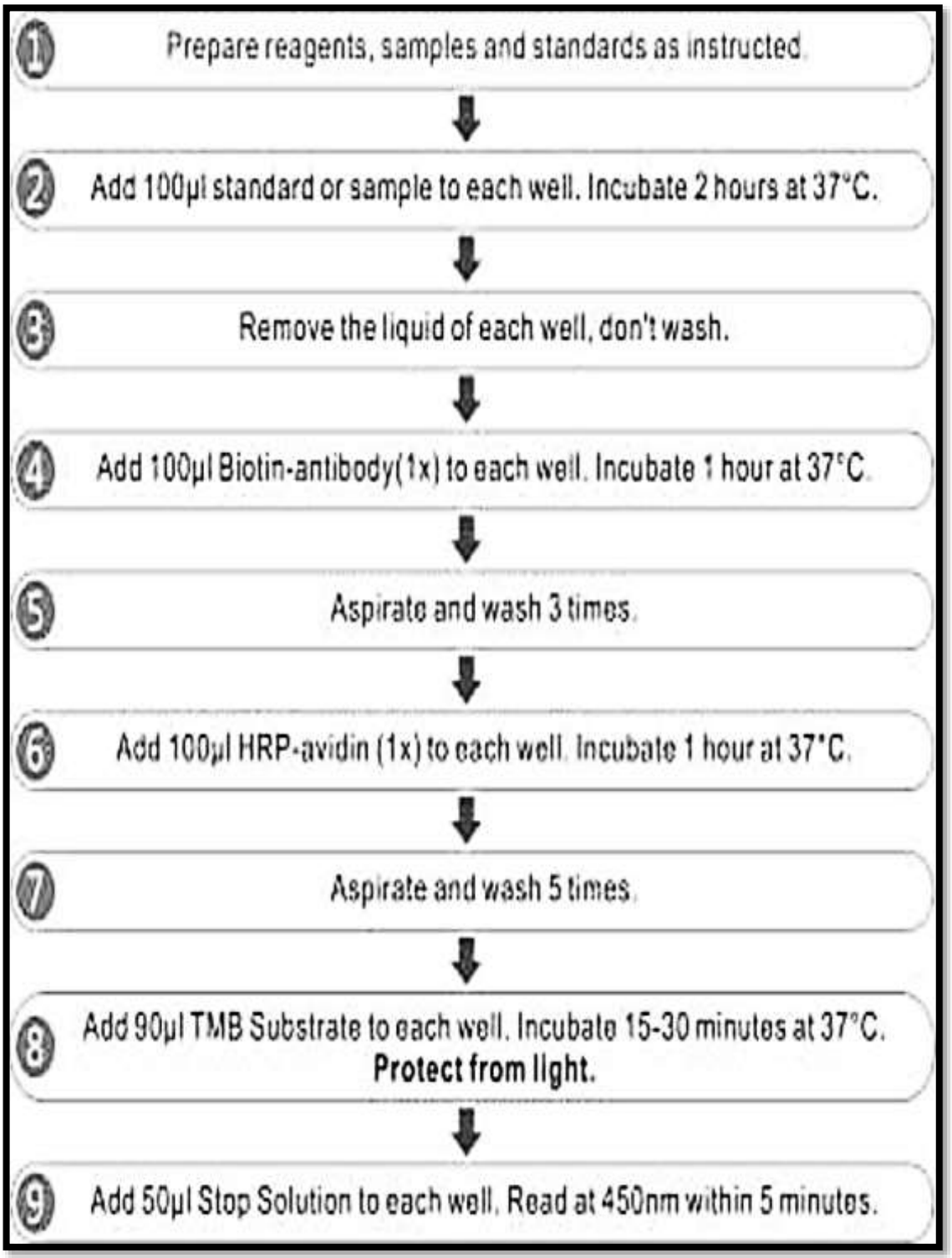
6- اضيفت 100 µl من الـ HRP – avidin (1x) الى كل الحفر مع تغطية الصفيحة بغطاء لاصق جديد ووضعها بالحاضنة في درجة حرارة 37c ولمدة ساعة واحدة .

7- غسلت الصفيحة خمس مرات ولمدة دقيقتين في كل مرة .

8-اضيفت 90 µl من المادة الاساس (TMB) (Tetra Methyl Benzdine) الى كل الحفر وتحضن الصفيحة في درجة حرارة 37c ولمدة (15 – 30) دقيقة وتحفظ بعيدا عن الضوء.

9-تم اضافة 50 µl من محلول التوقف (2m Sulfuric acid) الى كل الحفر فيتغير اللون من الازرق الى الاصفر .

10- قراءة امتصاصية العينات على طول موجي (450) نانوميتر بعد خمس دقائق من اضافة محلول التوقف. (Talaro, 2005) كما في شكل (3- 4).



شكل (3– 4) طريقة عمل البين الابيضاضي (IL-10 و IL-6) .

3-4-التحليل الاحصائي . Statistical analysis

اجري التحليل الاحصائي باستخدام برنامج الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية (statistical package for social sciences) ذي الاصدار رقم 22 فيما يتعلق بالمتغيرات ذات الصيغة الوصفية فقد تم وصفها بصيغة العدد والنسبة المئوية وتمت المقارنة باستخدام اختبار مربع كاي اما بالنسبة للمتغيرات ذات الصيغة العددية فقد تم وصفها باستخدام المعدل والانحراف المعياري للمعدل وتمت المقارنة بين المجاميع باستخدام اختبار t-test بين مجموعتين او اختبار ANOVA اثناء المقارنة بين اكثر من مجموعتين ، استخدم اختبار معامل الارتباط لإيجاد مقياس العلاقة المحتملة بين متغيرين(Levesque, 2007)

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4-النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1-عينات الدراسة

جمعت عينات الدراسة من مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال و العيادة الخارجية لمستشفى بعقوبة التعليمي وشملت 510 امراة كانت 350 عينة دم للكشف عن حاملي الضد المناعي IgG , IgM عن طريق اختبار مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) في مختبر الصحة العامة في بعقوبة ، وكذلك تم اخذ 160عينة دم للنساء الطبيعيات كمجموعة سيطرة.

اجريت هذه الدراسة للفترة من شهر أيلول لعام 2015 ولغاية شباط 2016 وتم تقسيم العينات على اربع مجاميع مجموعة النساء المقبلات على الزواج وتضم 110 عينة وبنسبة 31.43%. ومجموعه النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا وتضم 110 عينة وبنسبة 31.43%. ومجموعة الحوامل ذات الاسقاطات وتضم 130 عينة وبنسبة 37.14%. اما مجموعة السيطرة فتضم 160 عينة وبنسبة 31.4% كما مبينة في الجدول رقم (4-1).

جدول (4-1-أ) اعداد النماذج المستخدمة في الدراسة الحالية

نوع الحالة	NO	%
المقبلات على الزواج	110	%31.43
النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا	110	%31.43
الحوامل ذات الاسقاطات	130	%37.14
مجموع المرضى الكلي	350	%87.5

جدول (4-1-ب) اعداد النماذج المستخدمة في الدراسة الحالية

نوع الحالة	NO	%
مجموع المرضى الكلي	350	%68.6
مجموعة السيطرة	160	%31.4
المجموع الكلي للنماذج	510	%100

4-2-انتشار الضد المناعي CMV-IgG لعينات الدراسة

جدول (4-2) الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgG للدراسة الحالية

نوع الحالة	Total		IgG Positive		IgG Negative		P value
	NO	%	NO	%	NO	%	
المقبلات على الزواج	110	31.43	74	67.27	36	32.73	0.931 NS
النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا	110	31.43	105	95.45	5	4.55	0.034*
الاسقاطات	130	37.14	125	96.15	5	3.85	0.047*
مجموعة السيطرة	160	100	110	68.8	50	31.2	

*= يوجد فرقٍ معنوي $P \leq 0.05$ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

NS= لا يوجد بفرقٍ معنوي $P \geq 0.05$ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان اعلى نسبة للضد المناعي ال CMV-IgG في النساء الحوامل ذات الاسقاطات اذ بلغت 125 حالة وبنسبة 96.15% مع وجود فرقٍ معنوي $P \leq 0.05$ واقل نسبة اصابة في النساء المقبلات على الزواج اذ بلغت 74 حالة وبنسبة 67.27% مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P > 0.05$ ، اما النساء ذات الحمل الطبيعية ظاهريا فسجلت 105 حالة وبنسبة 95.45% مع وجود فرقٍ معنوي $P \leq 0.05$ عند مقارنتهم مع

مجموعة السيطرة. في حين سجلت مجموعة السيطرة 110 حالة وبنسبة 68.8%. كما في الجدول (4-2) اعلاه.

جاءت هذه النتائج متوافقة مع الدراسة التي اجراها الباحث Yeroh واخرون في نيجيريا عام 2014 لـ363 عينة من النساء الحوامل فوجد معدل انتشار الضد المناعي IgG هو 94.8%. (Yeroh *et al*., 2014)

وكذلك متوافقة لدراسة في كركوك للباحث Hassan واخرون في عام 2014 لـ838 عينة 547 من النساء ذات الاسقاطات وكان معدل وجود الضد IgG هو 94.2% و291 لنساء ذات الحمل الطبيعي وكان معدل وجود الضد IgG 93.8% (Hassan *et al*., 2014). وغير متوافقة مع دراسة اخرى اجريت في سوريا لـ Barah. عام 2012 لـ316 عينة من النساء لطالبات في الجامعة السورية فوجد معدل انتشار الضد IgG هو 74%. (Barah, 2012). وايضا لا تتوافق مع دراسة اجريت في لندن للباحث Abdel hamid واخرون في عام 2011 حيث وجدوا ان معدل انتشار الضد المناعي IgG هو 33.3 % (Abdel hamid *et al*., 2011)

وايضا لم تتفق مع دراسة اجريت في ليبيا للباحث Abusetta واخرون عام 2013 وجدوا ان معدل انتشار الضد IgG في النساء ذات الاسقاطات هو 75.1% .(Abusetta *et al*., 2013)

ويعود هذا الاختلاف المتباين في نسب معدل انتشار الضد IgG يعكس التباين في المستوى الثقافي والاجتماعي والاقتصادي او يعود الى عدد العينة المأخوذة. ان ظهور الضد IgG يدل على اصابة قديمة او مزمنة تم حصولها قبل الحمل وهي من الاسباب الاكثر شيوعا

للتشوهات الخلقية الناتجة من الاصابة داخل الرحم نتيجة انتقال الفايروس الى الجنين عبر المشيمة والتسبب في اصابة الجنين (AL-Jurani, 2014).

ان ازدياد الحاجة لنقل الدم في اثناء العمليات الجراحية او اثناء الحمل والولادة من الاسباب الشائعة لازدياد معدل انتشار المصلي لـ (CMV). وان العديد من الدراسات والبيانات تدعم انتقال الـ(CMV) خلال عملية نقل الدم من المتبرعين(Akinbami *et al*., 2011 ; Matos *et al*., 2009).

4-3-انتشار الضد المناعي CMV-IgM للفايروس المضخم للخلايا لعينات الدراسة

جدول(4-3) الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM في الدراسة الحالية

نوع الحالة	Total		IgM Positiv		IgM Negative		P value
	NO	%	NO	%	NO	%	
المقبلات على الزواج	110	31.43	3	2.72	107	97.23	0.923^{NS}
النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا	110	31.43	7	6.36	103	93.64	0.022*
الاسقاطات	130	37.14	9	6.92	121	93.8	0.026*
مجموعة السيطرة	160	100	4	2.5	56	97.5	

NS= لا يوجد بفرقٍ معنوي $P \geq 0.05$ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

*= يوجد فرقٍ معنوي$P \leq 0.05$ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان اعلى نسبة الاصابة بالفايروس المضخم للخلايا للضد المناعي IgM في النساء ذات الاسقاطات اذ بلغت 9 حالات وبنسبة 6.92% مع وجود فرقٍ معنوي $P \leq 0.05$ ، اما مجموعة الحمل الطبيعي ظاهريا فبلغت 7 حالات موجبة وبنسبة

6.36% وبفرقٍ معنوي $P \leq 0.05$, في حين سجلت النساء المقبلات على الزواج 3 حلات وبنسبة 2.72% مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P > 0.05$ مقارنة مع مجموعة السيطرة , اما مجموعة السيطرة فسجلت 4 حالات وبنسبة 2.5%. كما مبين في الجدول (4-3).

اوضحت النتائج الحالية المبينة في الجدول (4-3) ان تقارب النسب الموجبية للضد المناعي CMV IgM لمجموعتي النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا والنساء ذات الاسقاطات هي 6.36% , 6.92% على التوالي , وهذا يدل على ان الاصابة الحادة للفايرس بين المجموعتين اعلاه ليس لها دور في حدوث الاسقاط وهذا ماثبته الطب المسند بالدليل في الكلية الملكية البريطانية للنسائية والتوليد (Regan and Jivraj, 2001 ; Regan *et al*., 2011)

جاءت هذه النتائج متوافقة مع الدراسة التي اجراها كل من Abdurahman و Hama في السليمانية/العراق عام 2013 لـ 120عينة من النساء ذات الحمل الطبيعي فوجد معدل وجود الضد المناعي IgM هو6% (Hama and Abdurahman, 2013).

وكذلك مع الدراسة التي اجراها الباحث المشهداني والجنابي في الانبار عام 2008 لـ 230 لنساء ذات الاسقاطات فوجد معدل انشاء الضد المناعي IgM هو6.1%. (Al-Mishhadani and Al-Janabi, 2008).

وفي دراسة اخرى في ماليزيا عام 2007 للباحث Saraswathy واخرون لـ125 عينة من النساء الحوامل حيث وجد ان معدل موجبية الضد المناعي IgM هو7.2%. (Saraswathy *et al*., 2011)

تتفق ايضا مع الدراسة التي اجريت في ديالى لـ186 عينة لنساء المقبلات على الزواج فوجد ان معدل انتشار الضد المناعي IgM هو1.6 % (Khudir and Molan, 2014)

وهذا يدعم مصدر الكلية الملكية البريطانية للنساء والتوليد (Regan *et al*., 2011 ; Regan and Jivraj, 2001).

نلاحظ في هذه الدراسات انخفاض معد انتشار الضد IgM لـ CMV مقارنة بالضد IgG لـCMV. ويرجع ذلك الى حقيقة ان الضد المناعي IgM يختفي من الدم بعد الاصابة، كذلك عند اخذ العينة قد يكون المصاب في المرحلة المزمنة وليس الحادة (Babayo *et al*., 2014).

ولا تتفق مع دراسة اجريت في سوريا للباحث Barab لـ316 عينة لطالبات الجامعة في سوريا فوجد ان معدل انشار الضد المناعي IgM هو 25.5% (Barah, 2012)

وايضا لا تتفق مع دراسة اجريت في الهند Madanial , Berpy حيث تم جمع 354 عينة من النساء الحوامل فوجد معدل انتشار الضد المناعي IgM هو 22.03% وهو مرتفع مقارنة مع نتائج الدراسة الحالية وقد يعود السبب لكون اغلب فئات المجتمع الهندي هم ذات مستويين اقتصادي واجتماعي متدني بالاضافة الى ازدحام السكن في المدن الهندية. (Berry and Madan, 2012).

وان انتشار الضد المناعي IgM في النساء الحوامل وغير الحوامل يعزى الى قابلية النساء ذات المصول السالبة في الحمل للاصابة الاولية بالفايروس المضخم للخلايا (CMV) او اعادة التنشيط نتيجة لضعف المناعة. وان 6.36% من النساء الحوامل مصابات بالاصابة الاولية وبذلك فان هناك خطرا كبيرا للاصابة الخلقية بسبب العدوى الاولية للامهات الامر الذي يؤدي الى اصابة الجنين فيما يقارب 40 % من الحالات (Adler, 2015).

4-4-العينات الموجبة للأضداد المناعية CMV(IgG, IgM) وحسب الفئات العمرية

في الدراسة الحالية تتراوح اعمار النساء الحاملات والمصابات بفايروس المضخم للخلايا (CMV) بين 15-30 سنة و موزعة حسب الفئات العمرية كما موضح في الجداول (4-4) و(4-5).

جدول (4-4) الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgG وحسب الفئات العمرية.

نوع الحالة	Total	النتيجة	الفئة العمرية			P value
			20-15	25-21	30-26	
المقبلات على الزواج	110	IgG Positive	38	27	8	0.575 NS
		%	63.33	72.97	61.54	
		IgGNegative	22	10	5	
		%	36.67	27.03	38.46	
الاسقاطات	130	IgG Positive	22	50	53	0.989 NS
		%	95.65	96.15	96.36	
		IgG	1	2	2	
		%	4.35	3.85	3.64	
النساء ذات الحمل الطبيعية ظاهريا	110	IgG Positive	28	48	29	0.829 NS
		%	96.55	96.00	93.55	
		IgG	1	2	2	
		%	3.45	4.00	6.45	

NS= لا يوجد فرقٍ معنوي $P > 0.05$

جدول 4-5 الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM وحسب الفئات العمرية.

نوع الحالة	NO	النتيجة	الفئة العمرية			P value
			20-15	25-21	30-26	
المقبلات على الزواج	110	IgM Positive	1	1	1	0.481 NS
		%	1.67	2.70	7.69	
		IgM Negative	59	36	12	
		%	98.33	97.30	92.31	
الاسقاطات	130	IgM Positive	1	3	5	0.689 NS
		%	4.35	5.77	9.09	
		IgM Negative	22	49	50	
		%	95.65	94.23	90.91	
النساء ذات الحمل الطبيعية ظاهريا	110	IgM Positive	4	1	2	0.117 NS
		%	13.79	2.00	6.45	
		IgM Negative	25	49	29	
		%	86.21	98.00	93.55	

NS= لا يوجد فرقٍ معنوي $P > 0.05$

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان وجود الضد المناعي IgG في النساء المقبلات على الزواج في الفئة العمرية 15-20 سنة بلغت 38 حالة وبنسبة 63.33%. والفئة العمرية 21-25 سنة سجلت اعلى نسبة اذ بلغت 27 حالة وبنسبة 72.97%. و اخيرا سجلت الفئة العمرية 26-30 سنة اقل عددا اذ بلغت 5 حالات وبنسبة 61.54% وعدم وجود فرقٍ معنوي بين الفئات العمرية الثلاث $P > 0.05$.

اما لدى النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا فسجلت الفئة العمرية 15-20 سنة 28 حالة وهي اعلى نسبة اصابة وبنسبة 96.55%. اما الفئة العمرية 21-25 سنة فسجلت نسبة عالية للضد المناعيIgG في 48 حالة وبنسبة 96.00% في حين كانت اقل نسبة اصابة في الفئة العمرية 26-30 اذ بلغت 29 حالة وبنسبة 93.55% وبدون فرقٍ معنوي $P > 0.05$.

اما لدى النساء ذات الاسقاطات فقد سجلت اعلى نسبة اصابة في الفئة العمرية 26–30 سنة اذ بلغت 53 حالة وبنسبة 96.36% , و الفئة العمرية21–25 سنة فسجلت 50 اصابة وبنسبة 96.15%, في حين سجلت اقل نسبة اصابة في الفئة العمرية 15–20 سنة اذ بلغت 22 حالة وبنسبة 95.65%. مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P > 0.05$ كما مبين في الجدول (4–4).

اما الاصابة الحادة والتي يشار اليها بضد المناعي CMV IgM للنساء المقبلات على الزواج فقد سجلت اعلى نسبة للفئة العمرية 26–30 سنة اذ بلغت حالة واحدة وبنسبة 7.69%. فيما سجلت الفئة العمرية 21–25 سنة حالة واحدة وبنسبة 2.70% في حين سجلت اقل نسبة اصابة في الفئة العمرية 15–20 سنة اذ بلغت حالة واحدة وبنسبة 1.67%.

اظهرت النتائج ان النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا قد سجلت اعلى نسبة اصابة بالفايروس المضخم للخلايا في الفئة العمرية 15–20 سنة اذ بلغت 4 حالات وبنسبة 13.79% اما الفئة العمرية 26–30 سنة فسجلت حالتين وبنسبة 6.45%, %. و اخيرا سجلت الفئة العمرية 21–25 سنة اقل عدد اذ بلغت حالة واحدة وبنسبة 2.00%.

اما في النساء ذات الاسقاطات فقد سجلت اعلى نسبة اصابة في الفئة العمرية 26–30 سنة اذ بلغت 5 حالات وبنسبة 9.09%, في حين سجلت الفئة العمرية 21–25 سنة اذ بلغت 3 حالات وبنسبة اصابة 5.77%. اما اقل نسبة اصابة كانت في الفئة العمرية 15–20 سنة اذ بلغت حالة واحدة وبنسبة 4.35% مع عدم وجود فرقٍ معنوي بين المجاميع الثلاث $P > 0.5$ كما في الجدول (4-5).

جاءت هذه النتائج متوافقة مع الدراسة التي اجراها الباحث Yeroh واخرون في نيجيريا عام 2014 لـ330 عينة من النساء ذات الحمل الطبيعي الذي اشار الى ان ارتفاع معدل انتشار الـ CMV في الفئه العمرية 15–19 سنه وبنسبة 100%(Yeroh *et al*., 2015)

وكذلك توافقت مع الدراسة التي اجراها الباحث Ahmed في بابل عام 2013 لـ 214 عينة من النساء المجهضات , وقد اشار الى ان ارتفاع معدل انتشار CMV في الفئة العمرية اكبر من 25 سنه (Ahmed, 2013)

وكذلك مع دراسة اخرى للجنابي والمشهداني في بابل عام 2008 لـ 340 عينة وجد ان معدل انتشار الضد IgG يزداد مع التقدم بالعمر في النساء ذات الاسقاطات (Al-Mishhadani and Al-Janabi, 2008)

ولا تتوافق مع الدراسة التي اجراها الباحث Umeh واخرون في نيجيريا لعام 2015 لـ37 عينة من النساء الحوامل ذات الحمل الطبيعي واظهر ان انتشار الCMV يزداد مع التقدم في العمر اذ اظهرت ان اعلى نسبة انتشار في الفئة العمرية الاكبر من 25 (Umeh *et al*., 2015)

وتختلف مع الدراسة التي اجراها الباحث Hassan واخرون في كركوك عام 2014 لـ 547 عينة من النساء ذات الاسقاطات اذ وجد انخفاض معدل انتشار الضدات المناعية الـIgG IgM, مع التقدم بالعمر حيث كان اعلى انتشار في الفئة العمرية 15–19 سنة وبنسبة 95.6% واقل انتشار مع التقدم بالعمر وبنسبة 87% (Hassan *et al*., 2014.).

ان الانتشار المصلي لـ(CMV) بين الفئة العمرية 15–20 سنة في النساء ذات الحمل الطبيعية ظاهريا مرتفع جدا قد يعزى الى الممارسات الواسعة للرضاعة الطبيعية اثناء مرحلة

الطفولة , بالإضافة الى العلاقة بين معدلات الرضاعة الطبيعية ومراكز الرعاية النهارية للاطفال (Oldland, *et al*., 2016).

قد اثبتت الدراسة العلمية السابقة ان افرازات الاطفال المصابين بـ(CMV) وتواجدهم في مراكز رعاية الاطفال يرتبط مع زيادة خطر انتشار العدوى بين الاطفال المعافين او الى اباء هولاء الاطفال او لغيرهم من الكبار في الاسرة.(Akinbami, 2009)

ان الاتصال الوثيق وزحمة الطلاب في المدارس الابتدائية والثانوية يمكن ان يسهم في معدل انتشار الاصابة بالفايروس المضخم للخلايا (CMV). بالاضافة الى الاتصال الجنسي غير المشروع الذي يساهم في نقل الفايروس وانتشاره (Hassan *et al*., 2014 ; Staras *et al*.,2008 ; Studemeister, 2011).

اما في النساء ذات الاسقاطات فقد اظهرت النتائج ان نسبة الاصابة بـ(CMV) تزداد في الفئة العمر (25–30) ولكلا الصنفين IgG, IgM.

حيث ترتبط الاصابة المتكررة مع تغيرات في النظام المناعي وتشير الى انخفاض في وظائف الحماية واحداث تغيرات في المجاميع الفرعية للخلايا اللمفاوية , وان الاصابة المزمنة لـ(CMV) التي تسبب تحفيز استجابة مناعية كبيرة والتي تضم نسبة كبيرة من الخلايا اللمفاوية التائية التي تعرض خصوصية عالِية لـ(CMV) , وان هذا التضخم الهائل للخلايا التائية والارهاق يؤدي الى الهرم وشيخوخة خلايا T cell والحد من قدرة الجهاز المناعي لوظائف الحماية (Taylor-Robinson and Chapman, 2015).

ان اثر الشيخوخة المناعية على الخصائص الوظيفية وتكاثر الخلايا اللمفاوية التائية المتخصصة لـ(CMV) في المضيف يجعله اقل كفائة في السيطرة على اعادة التنشيط ال-(CMV) ، وان اعادة التنشيط الفايروس المضخم للخلايا سوف يحث كوابح مناعية اضافية

لان تضاعف الفايروس يحدث في خلايا النظام المناعي مثل (كريات الدم متعددة الانوية Polymorphonuclear leukocytes), مما يؤدي الى تعطيل وظائف الخلايا وان التقدم في السن يؤدي الى تراكم ملحوظ للخلايا التائية السامة Tcell CD8 المعطلة وظيفيا والمتخصصة لـ(CMV) مع انخفاض وظيفة الاستجابة الفورية مما يؤدي الى التشيخ المناعي Immunosenescence (Pawelec, 2014).

4-5-عينات الدراسة الحاملين للضدات المناعية CMV(IgG,IgM) وحسب السكن

جدول (4-6) الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعي CMV-IgM وحسب السكن

نوع السكن	TOTAL		IgM Positive		IgM Negative		P value
	NO	%	NO	%	NO	%	
الريف	203	58	10	4.93	193	95.1	0.662 NS
المدينة	147	42	9	6.12	138	93.9	
المجموع الكلي للنماذج	350						

NS= لا يوجد فرقٍ معنوي P > 0.05

جدول (4-7) الحالات الموجبة والسالبة للضد المناعيIgG- CMV وحسب السكن

نوع السكن	TOTAL		IgG Positive		IgG Negative		P value
	NO	%	NO	%	NO	%	
الريف	203	58	178	87.68	25	12.3	0.144 NS
المدينة	147	42	136	92.52	11	7.5	
المجموع الكلي للنماذج	350						

NS= لا يوجد فرقٍ معنوي P > 0.05

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان اعلى انتشار للضدين المناعية IgG ، IgM لـ (CMV) في مركز المدينة اذ بلغت 136 ، 9 وبنسبة 92.52% , 6.12% على التوالي في حين بلغ معدل انتشاره في الريف 178 ، 10 وبنسبة 87.68% , 4.93% على التوالي مع عدم وجود فرقٍ معنوي P> 0.05. وكما في الجداول (4-6) و(4-7) اعلاه.

ان نتائج الدراسة جاءت متوافقة مع النتائج التي اجراها الباحث خلف واخرون في بغداد عام 2012 لـ 180 عينة من النساء ذات الاسقاطات فوجد ان اعلى نسبة انتشار للضدات المناعية IgM وIgG للفايرس لدى النساء ذات الاسقاطات في المدينة 58.8% مقارنة بسكان الريف 41.2% (Khalf *et al*., 2012).

وكذلك في دراسة اجريت في العراق لـ 300عينة لنساء ذات الاسقاطات فوجد ان معدل انتشار الضدات المناعية IgM وIgG للفايرس لدى النساء ذات الاسقاطات في المدينة 51.0% اما في الريف 49.0% (Jasim *et al*., 2011). وكذلك مع الباحث Bagheri في ايران لـ 240 عينة من النساء الحوامل وذات الاسقاطات فوجد ان معدل انتشار الضدات المناعية IgG، IgM للفايرس في المدينة 67.1% والريف 3.4% (Bagheri *et al*., 2012). وكذلك مع دراسة لـ 92 من النساء الحوامل في ديالى فوجد ان معدل انتشار الضدات المناعية IgG وIgM للفايرس في المدينة 58.6% و في الريف41.3% (AL-Jurani, 2014).

وكذلك مع الباحث العزاوي في بغداد عام 2012 لـ 161 عينة من مصل النساء المقبلات على الزواج فوجد ان معدل انتشار الضدات المناعية IgG ، IgM للفايرس في المدينة 84.5% ,93.75% والريف15.5%, 6.25% على التوالي (Al-azzawi, 2012)

ولا تتوافق مع الدراسة التي اجراها الباحث المشهداني والجنابي في الانبار عام 2008 لـ340 عينة مقسمة الى مجموعتين ، مجموعة الاسقاطات وتضم 230 عينة ومجموعة الحوامل الطبيعية وتضم 110 عينة فوجد معدل انتشار الضد IgG في المدينة 85.2% وفي الريف 93.7%. ومعدل انتشار الضد IgM في المدينة 0.00% والريف 2.8% (Al-Mishhadani and Al-Janabi, 2008)

وقد اوضحت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة انتشار الاصابة الفايروسية في المدينة اكبر او اعلى مقارنة بسكان الريف. ان سكان المركز اكثر عرضة للملوثات بسبب وجودالمصانع وزيادة التلوث وازدحام السكان مما يؤدي الى تدني مستوى النظافة الصحية .(AL-Jurani, 2014)

4-6-مستوى الحركيات الخلوية في المصل Serum Level of Cytokines

4-6-1-نماذج الدراسة

تم اختيار 88 عينة من المجموع الكلي للعينات قيد الدراسة والموجبة للضد المناعي IgG لقياس مستوى (IL6, IL10) في المصل وتم تقسيمها على اربع مجاميع:-

المجموعة الاولى:- النساء المقبلات على الزواج وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73%.

المجموعة الثانية:- النساء النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73%.

المجموعة الثالثة:- النساء ذات الاسقاطات وتضم 28 عينة وبنسبة 31.82.

المجموعة الرابعة:- عينات السيطرة وتضم 20 عينة وبنسبة 22.73%.

4-6-2-قياس مستوى البين الابيضاضي (IL-6) في المصل لمجاميع الدراسة:-

جدول (4-8) مقارنة (IL-6) مع مجاميع الدراسة الحالية .

نوع الحالة	Total		IL-6		P value
	NO	%	Mean	SD	
المقبلات على الزواج	20	22.73	12.5	4.25	0.075^{NS}
النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا	20	22.73	15.40	6.77	0.01^{**}
الاسقاطات	28	31.82	23.23	7.89	0.001^{***}
مجموعة السيطرة	20	22.73	10.27	5.66	
المجموع الكلي للنماذج	88				

NS = لا يوجد فرقٍ معنوي$P > 0.05$.
***= يوجد فرقٍ معنوي عالٍ جدا $P \leq 0.001$
** = يوجد فرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.01$.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع مستوى البين الابيضاضي (IL-6) في مصل النساء الحاملات للضد المناعي CMV-IgG حيث كان اعلى نسبة لدى النساء ذات الاسقاطات 23.23 ± 7.89 pg/ml وبفرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.001$, النساء ذات الحمل الطبيعي وبنسبة 15.4±6.77 pg/ml وبفرقٍ معنوي $P \leq 0.001$. واقل ارتفاع في النساء المقبلات على الزواج وبمستوى 12.5 ±4.25 pg/ml مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P > 0.05$. وذلك عند مقارنتهم مع مجموعة السيطرة 10.27 ± 5.66 pg/ml وكما مبينة في الجدول رقم (4-8).

ان نتائج الدراسة جاءت متوافقة مع النتائج التي اجراها الباحث Lissauer في جنوب برمنغهام عام 2010 لـ134 عينة من النساء ذات الحمل الطبيعي فوجد ارتفاع تركيز IL-6 في

النساء المصابات بال CMV وبنسبة 2.4±7.4 pg/ml مقارنة مع مجموعة السيطرة الاصحاء وبنسبة 2.7±6.9 pg/ml (Lissauer, 2012). وكذلك مع الباحث Ailian واخرون في الصين عام 2000 لـ56 عينة من النساء ذات الاسقاطات فوجد ارتفاع تركيز IL-6 في النساء المصابات بالـ CMV مقارنة مع مجموعه السيطرة الاصحاء. (Ailian *et al*, 2000). كذلك مع الباحث Turner واخرون في بريطانيا عام 2010 لـ 158 عينة من المقبلات على الزواج فوجد ارتفاع تركيز IL-6 في النساء المصابات بالـ CMV مقارنة مع مجموعة الاصحاء .(Turner *et al*, 2014)

وقد اكدت الدراسات السابقة ارتفاع IL-6 في النساء المقبلات على الزواج نتيجة لاصابة مجموعة متنوعة من الخلايا المناعية. وان العديد من الخلايا في جميع انحاء الجسم يمكن ان تنتج IL-6 بما في ذلك الخلايا المناعية ، الخلايا الشحمية ، وخلايا العضلات .(Bennett *et al*., 2012)

اضافة الى ارتباط ارتفاع IL-6 مع زيادة اعداد خلايا CD8 T cell نتيجة للاصابة الفايروسية.(Turner et al, 2014)

نلاحظ في الدراسة الحالية ارتفاع ملحوظ في مستوى IL-6 في النساء ذات الاسقاطات نتيجة لاصابة المشيمة والاغشية التي تحيط بالجنين حيث ترتبط العدوى مع زياده تعبير الارومه الغاذية المشيمية ل IL-6 وان الزياده المفرطة في افراز IL-6 تؤدي الى تاثير تثبيطي لافراز هورمون الاستروجين والاستراديول المهمين في توازن Th1/Th2 , مما يؤدي الى الاجهاض. وبذلك فان IL-6 مؤشر مهم للاصابة الفايروسة لدى النساء مع تشوه الجنين.

.(Robinsona & Kleina , 2012 ; Gupta& Chia, 2015)

4-6-3-قياس مستوى البين الابيضاضي (IL-10) في المصل لمجاميع الدراسة

جدول (4–9) مقارنة (IL-10) مع مجاميع الدراسة الحالية .

نوع الحالة	Total		IL-10		P value
	NO	%	Mean	SD	
المقبلات على الزواج	20	22.73	15.50	4.34	0.561^{N}
النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا	20	22.73	6.56	3.04	0.03^{*}
الاسقاطات	28	31.82	5.00	2.01	0.003^{**}
مجموعة السيطرة االالاصحاء	20	22.73	22.65	30.20	
المجموع الكلي للنماذج	88				

NS = لا يوجد فرقٍ معنوي $P > 0.05$

* = يوجد فرقٍ معنوي $P \leq 0.05$

** = يوجد فرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.01$

تبين نتائج الدراسة الحالية انخفاض مستوى البين الابيضاضي IL-10 في مصول النساء الحاملات للضد المناعي CMV-IgG لدى النساء ذات الاسقاطات 5.00 ±2.01 pg/ml وبفرقٍ معنوي عالٍ $P \leq 0.003^{**}$ مقارنة مع النساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا وبنسبة 3.04±6.56 pg/ml وبفرقٍ معنوي $P \leq 0.03^{*}$. اما في النساء المقبلات على الزواج وبمستوى 15.50 ± 4.34 pg/ml مع عدم وجود فرقٍ معنوي $P > 0.05$,.وذلك عند مقارنتهم مع مجموعة السيطرة 22.65±30.20 pg/ml وكما مبينة في الجدول (4–9).

ان نتائج الدراسة جاءت متوافقة مع النتائج التي اجراها الباحث Lissauer في جنوب برمنغهام عام 2010 لـ134 عينة فوجد انخفاض تركيز IL-10 في النساء ذات الحمل الطبيعي وبنسبة 10.4±0.0 pg/ml مقارنة مع مجموعة الاصحاء وبنسبة 13.5±0.0 pg/ml

(Lissauer, 2012). وكذلك مع الباحث Aboul enien واخرون في مصر عام 2006 لـ 60 عينة مقسمات الى 20 عينة لنساء العقيمات و20 عينة لنساء ذات الاسقاطات و20 عينة لنساء الاصحاء فوجد انخفاض تركيز IL-10 في النساء ذات الاسقاطات وبنسبة 38.7±12.21 pg/ml مقارنة مع مجموعة السيطرة وبنسبة 78.5±16.9 pg/ml (Aboul enien *et al*., 2006). وكذلك مع الباحث Trazonkowski واخرون لـ 154 عينة من النساء المقبلات على الزواج فوجد انخفاض تركيز IL-10 في النساء المصابات بالفايروس المضخم للخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة الاصحاء (Trazonkowski *et al*., 2003)

ان اصابة الفايروس المضخم للخلايا يعيق مسارات نضج وتمايز الخلايا المناعية نتيجة لاصابتها مثل الخلايا الشجيرية Dendritic cell (DC) بالاضافة الى اعاقة قدرتها في افراز الحركيات الخلوية مثل IL-10 , واعاقة تكاثر الخلايا اللمفاوية التائية Tcell , وهي احد الاستراتيجيات المهمة التي يستعملها الفايروس في حث الكوابح المناعية وتعايش الفايرس وكمونة في المضيف (Frascaroli *et al*., 2006).

خلال الحمل وربما نتيجة ضعف النضام المناعي قد يتسبب في اعادة تنشيط الفايروس او نتيجة اصابة حديثة للجسم مما يؤدي استجابة مناعية وتحفيز الحركيات الخلوية الموالية للالتهاب (Th1) مثل IL-1 and TNFα وهي حركيات خلوية مضره للحمل مما تؤدي استجابة التهابية وتنخر المشيمة , بالاضافة الى دورها في تثبيط الحركيات الخلوية المضادة للالتهاب (Th2) مثل IL10 (Feliciano et al., 2014).

ومن جانب اخر فان الفايروس يتسبب في اصابة المشيمة مما يؤدي الى اصابة غير مباشرة للجنين , ربما من خلال التقلبات المناعية الناتجة عن ضعف المشيمة وانخفاض انتاج IL-10 من قبل الخلايا الساقطة مما يؤدي الى الاجهاض.(Aboul enien et al., 2006).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات Conclusions

اوضحت نتائج الدراسة الحالية ماياتي:-

1- الشيوع المصلي العالِي لـCMV IgG لدى النساء الحوامل والاسقاطات في محافظة ديالى.

2- كشفت الدراسة ان النساء ايجابية المصل لـ CMV IgM في سن الانجاب , وان الانتقاله الى الجنين في اثناء الولادة او بعد الولادة قد يؤدي الى حدوث تشوهات خلقية.

3- من خلال نتائج الدراسة الحالية وجد ان موجبية الضد المناعي CMV IgM بالنسبة للنساء ذات الاسقاط المتكرر والنساء ذات الحمل الطبيعي ظاهريا كانت متقاربة وهذا يدل الى عدم اهمية الاصابة بال CMV للاسقاطات المتكررة وهذا ماثبته الطب المسند بالدليل في الكلية الملكية البريطانية للنسائية والتوليد.

4- انخفاض معدل انتشار CMV IgM بين النساء الحوامل , لان فترة وجوده قليلة خلال الاصابة الاولية او الحاده.

5- ارتفاع مستوى البين الابيضاضي (IL-6) وانخفاض مستوى البين الابيضاضي (IL-10) في مصل النساء الحاملات للضدات المناعي للفايروس.

التوصيات Recommendation

1- استخدام طرائق وتقنيات متطورة للتحري عن فايروس CMV مثل سلسلة متعدد البوليمر PCR او استخدام تقنية جهاز VIDAS

2- اجراء اختبارات مسحية دورية للنساء الحوامل لغرض الكشف المبكر عن الاصابة بفايروس CMV فضلا عن الاصابات الفايروسية الاخرى التي لها تاثير على صحة الام والجنين مثل: الاصابة بفايروس الحصبة Rubella وفايروس EBV وفايروسات HBV,HCV.

3- اعداد برامج توعية للنساء حول طرق انتقال الفايروس المضخم للخلايا

4- ادراج فحص التحري عن فايروس CMV-IgM ضمن الفحوصات المختبرية التي تجرى للمتزوجين الجدد وفي مراكز تبرع الدم.

5- استخدام مضاد الفايروس في علاج الحالات الحادة للعدوى.

6- دراسة التباين الوراثي للجينات المشفرة للبين الابيضاضي السادس والعاشر لدى النساء الحوامل المصابات بالفايروس المضخم للخلايا.

المصادر

References

المصادر العربية

العبادي, فاضل عباس منشد., و الغزي, سجا جبار خلف., (2013). دراسة تشخيصية لطفيلي المقوسة الكونيدية Toxoplasma Gondii والفايروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus في النساء الحوامل والمجهضات في محافظة ذي قار. مجلة كلية التربية للعلوم الصرفة , المجلد.3, العدد.1, ص.70-94

محمد, مريم كامل, محمد, غنيمة صادق و توفيق, محمد شفيق., (2009). اختبار قابلية الخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي على التحول والانقسام باستخدام التحفيز المشطر PHA في الاشخاص المصابين بالـ Cytomegalovirus. مجلة بغداد للعلوم, مجلد.7, العدد.1, ص ص.1-7

الحمودي, حيدر عبد الحسين(2015). *علم الفيروسات البشرية* (المجلد الاولى). العراق - البصرة: شركة الغدير للطباعة والنشر المحدودة.,193ص

المصادر الاجنبية

Adler, S.P., (2015). Prevention of Maternal–Fetal Transmission of Cytomegalovirus. EBioMedicine, Vol.2, No.9, pp. 1027–1028.

Al-Baiati, H.A.M., Muhsin, M.A., and Jabbar, R.N., (2014). Seroprevalence of Human CytomegaloVirus (HCMV) in aborted women in Baghdad province. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, Vol.3, No.2, PP. 97-102.

AL-Jurani, A.H.H., (2014). Seroprevalence of Anti- Cytomegalovirus IgM , IgG antibodies among pregnant women in Diyala province. Diyala Journal for Pure Sciences, Vol.10, No.2, pp.83-87.

Abusetta, A. M., Gamal, M. A. B., and Ben Saed, F. A., (2013). Incidence of *cytomegalovirus* infection among blood at Tripoli city, Libya. J. Am. Sci, Vol.9, No.11, pp 6-11.

Acharya, D., Shrestha, S., Bogati, B., Sherchan, J. B., Karki, P., Yadav, A., Madhup, S.K., and Tuladhar, N. R., (2013). Immune status in infection by cytomegalovirus in women with bad obstetric history. International Journal of Infection and Microbiology, Vol.2, No.1, pp.3-6.

Adler, S.P and Nigro, G., (2013). Prevention of Maternal-Fetal Transmission of Cytomegalovirus. Clinical Infectious Diseases, 57(S4) , pp.189-192

Ahmed, Z.K., (2013). Seroprevalence of Cytomegalovirus (CMV) in Women with Pregnancy Associated Problem. Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences , Vol.21, No.6, pp.2104-2107.

Al-azzawi, R.H.M.,(2012). Seroprevalence of Cytomegalovirus infection in Pre-Marital Women in some Baghdad hospitals. Iraqi Journal of Science, Vol. 53, No. 1, pp.40-45.

Arai,Y., Tsuchida,T., Kosugi, I., Kawasaki, H., Meguro, S., Kinoshita, M., Baba, S., Maeda, M., Shinmura,Y., Tsutsui,Y., and Iwashita,T., (2012). Effects of intrapulmonary viral tropism and cytokine expression on the histological patterns of cytomegalovirus pneumonia, Pathology International, Vol.62, No.9, pp. 628–639.

Abdel-Hamid, S.E., Abdei-Wahab, K.S.E., Saleh, L.H., Davis, G.E., Hastie, L., and Booth., J.C., (2011). Comparative Epidemiology of Infection with Human Cytomegalovirus in Cairo and South London. International Journal of Virology, Vol.7, No.3, pp116-122.

Al-Dabbagh, K. A., (2011). Detection of toxoplasma gondii IgM and cytomegalovirus IgM antibodies among blood donors in Mosul. Irq J Pharm, Vol. 11, No. 2, pp.85-87.

Akinbami,A.A., Rabiu, K.A., Adewunmi, A.A., Wright, K.O., Dosunmu, A.O., Adeyemo, T.A., Adediran.A., Osunkalu, V.O., (2011). Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies amongst normal pregnant women in Nigeria. International Journal of Women's Health , Vol.3,pp. 423–428.

Al-Shimmery, M.N., Al-Hilaly, H.A., and AI-khafaji, A.A., (2011). Seroprevalence of cytomegalovirus and toxoplasmosis in cases of miscarriages women in Al-Diwaniyah province. QMJ Vol.7, No.11, PP.160-168.

Al-Khafaji, A.H., and Al-Zubaidi, K.I., (2010). Seroprevalence of Cytomegolovirus Infection among Aborted Women in Thi-Qar Governorate. J.Thi-Qar Sci. Vol.2, No.3, pp.20-26.

Azarpira, N., Haghighi, A.B., Pourjafar, M., and Shariat, A., (2010). Interleukin 10 Gene Polymorphism in Iranian Patients with

Multiple Sclerosis. Acta Neurologica Taiwanica, Vol. 19, No. 2, pp.107-111.

Al-Mishhadani, J.I., Al-Janabi, A.U., (2008). Toxoplasmosis and Cytomegalovirus Infection among Aborted Women in Al-Anbar Governorate. Al-Anbar Medicine Journal, Vol.6, No.1, pp.88-97.

Aboul Enien, W.M., Azzam, A.Z, Karkour, T.A., Abou Khedr, N.A., Rizk, N.G., (2006). Cytomegalovirus and the expression of immunological markers in reproductive failure. Middle East Fertility Society Journal, Vol.11, No.2, pp.119-126.

AiLian, Y., FengXue,Z., and QingYu, H., (2000). Correlation of serum cytokine and TORCH infection with recurrent spontaneous abortion. Chinese Journal of Zoonoses, Vol.16, No.4, pp.44-46

Beltran, P. M.J., and Cristea, I.M., (2015).The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. HHS Public Access, pp.1-26.

Berrien-Elliott,M.M, Wagner,J.A, Fehniger,T.A.,(2015). Human Cytokine-Induced Memory-Like Natural Killer Cells.J Innate Immun Vol.7,pp.563–571.

Burke, H.G., Heldwein, E.E., (2015). Crestal structure of human cytomegalovirus glycoprotein B. PLoS Pathog, Vol.11, No.10, pp.1-21.

Babayo, A., Thairu, Y., Nasir, I.A., and Baba, M.M., (2014). Serological Evidence and Sociodemographic Risk Factors of Recent Cytomegalovirus Infection in Pregnant Women Attending a Tertiary Hospital in Maiduguri, Nigeria. J Med Microbiol Infec Dis, Vol.2, No.2, pp.49-55.

Babon, J.J., Nicola, N.A., (2012).The biology and mechanism of action of suppressor of cytokine signaling.Growth Factors, Vol. 30, No. 4, pp.207-19.

Bagheri, L., Mokhtarian, H., Sarshar, N., and Ghah-ramani, M., (2012). Seroepidemiology of Cytomegalovirus Infection during Pregnancy in Gonabad, East of Iran: A Cross-Sectional Study. Journal of Research in Health Sciences, Vol. 12, No.1, pp. 38-44.

Barah,F., (2012). Prevalence of herpes simplex types 1 and 2, varicella zoster virus, cytomegalovirus, and immunoglobulin G antibodies among female university students in Syria. Saudi Med J 2012; Vol. 33 (9): 990-994.

Bennett, J.M., Glaser, R., Malarkey, W.B., Beversdorf, D.Q., Peng, J., and Kiecolt-Glaser, J.K., (2012). Inflammation and Reactivation of Latent Herpesviruses in Older Adults. Brain Behav Immun, Vol.26, No.5, pp.739–746.

Berry, V., and Madan, L.A.L., (2012). Primary Cytomegalovirus infection During Pregnant **.** international Journal of Life Science and Pharma Research, Vol. 2, No. 2, pp.1-3.

Brown, J.C., and Newcomb, W.W., (2011)."Herpesvirus Capsid Assembly: Insights from Structural Analysis". Current Opinion in Virology,Vol.1, No.2, pp.142-149.

Becke, A,. Aue, S., Thomas, D., Schader, S., Podlech, J., Bopp, T., Sedmak, T., Wolfrum, U., Plachter, B.,and Reyda, S., (2010). Optimized recombinant dense bodies of human cytomegalovirus efficiently prime virus specific lymphocytes and neutralizing antibodies without the addition of adjuvant. Vaccine, 28. Elsevier Ltd, pp.6191–6198.

Chen , J. X. ; Tuo , Q. ; Liao , D. F. and Zeng , H. (2012). Inhibition of protein tyrosine phosphatase improves angiogenesis via enhancing Ang - Tie-2Signaling in diabetes . *Exp. Diab. Res* .,8(3) : 56-59.

Crough,T., and Khanna, R., (2009). Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. Clinical Microbiology Reviews, Vol.22, No.1, pp.76-98.

Christidou, A., Zambeli, E., Mantzaris,G., (2007). Cytomegalovirus and Inflammatory Bowel Disease: pathogenicity, diagnosis and treatment, Annals of Gastroenterology, Vol. 20, No.2, pp.110-115.

Chen, J. X., Tuo , Q., Liao , D. F., and Zeng , H., (2000). Inhibition of protein tyrosine phosphatase improves angiogenesis via enhancing Ang - Tie-0Signaling in diabetes . Exp. Diab. Res., Vol. 8, No. 1, pp. 34-39.

Daher, S., Shulzhenko, N., Morgun, A., Mattar, R., Rampim, G.F., Camano, L., and DeLima, M.G., (2003). Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. Journal of Reproductive Immunology, Vol. 58, No. 1, pp.69-77.

Elenkov, I.J., (2008). Neurohormonal-cytokine interactions: Implications for inflammation, common human diseases and well-being. Neurochemistry International, Vol. 52, PP. 40–51.

Frascaroli, G., Varani,S., Mastroianni, A., Britton, S., Gibellini, D., Rossini, G., Landini, M.P., and Soderberg-Naucler, C., (2006). Dendritic cell function in cytomegalovirus-infected patients with mononucleosis. Journal of Leukocyte Biology, Vol.79, pp.932-940.

Griffiths, P., Baraniak, I,. and Reeves. M., (2015). The pathogenesis of human cytomegalovirus. Journal of Pathology, Vol.235, pp.288-297.

Gupta, M.K., and Chia, S., (2013). Ovarian Hormones: Structure, Biosynthesis, Function, Mechanism of Action, and Laboratory

Diagnosis in Flacone, T,. and Huard,W.W., Clinical Reproductive Medicine and Surgery, 1-31,Second edition, Springer New York.

Gibson, W., (2008). Structure and Formation of the Cytomegalovirus Virion. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp.187-204.

Hanley, P. J., and Bollard, C. M., (2014). Controlling cytomegalovirus: helping the immune system take the lead.Viruses, Vol.6, No.6, pp.2242-2258.

Hassan. H.M.M., Alsamarai, A.M., Aljumaili, Z.K.M,.and Alobaidi, A.H., (2014). Association Between Cytomegalovirus Infection and Bad Obstetric Outcomes in Women from Kirkuk. International Journal of Public Health Science (IJPHS), Vol.3, No.1, pp.29-42.

Hetzenecker, S.E.G., (2014). Human Cytomegalovirus Cell Entry in Primary Fibroblasts. Thesis degree of phD. University of Regensburg, 121p.

Hama, S.A., and Abdurahman, K.J.,(2013). Human Cytomegalovirus IgG and IgM Seropositivity among Pregnant Women in Sulaimani City and Their Relations to the Abortion Rates. Journal of Biological Sciences, Vol.5, No.4, pp.161-167.

Hecking, M., Werzowa, J., Haidinger, M., Hörl, W.H., Pascual, J., Budde, K., Luan, F.L., Ojo, A., Vries, A.P. J. D., Porrini, E., Pacini, G,. Port,F. K., Sharif, A., and Säemann, M.D., (2013). Novel views on new-onset diabetes after transplantation: development, prevention and treatment. Nephrol Dial Transplant (NDT), pp.1-15.

Hamdan, H.Z., Abdelbagi, I.E., Nasser, N.M., and Adam, I., (2011). Seroprevalence of cytomegalovirus and rubella among pregnant women in western Sudan. Virology Journal, Vol.8, No.217,pp1-4.

Hwang, E.S., Zhang,Z,. Cai,H., Huang,D.Y., Huong,S.M., Cha,C.Y., and Huang,S.H., (2009). Human Cytomegalovirus IE1-72 Protein Interacts with p53 and Inhibits p53-Dependent Transactivation by a Mechanism Different from That of IE2-86 Protein, Journal of Virology, Vol. 83, No. 23, pp.12388–12398.

Ho, M., (2008). The history of cytomegalovirus and its diseases. Med Microbiol Immunol, Vol. 197, pp.65–73.

Hanshaw, J.B., Dudgeon, J.A., Marshall, W.C., (1985). Viral diseases of the fetus and newborn. 2 Edition, Philadelphia, WB. Sauders Co .308P.

Isaacson, M.K., Juckem, L.K., Compton, T., (2008). Virus entry and innate immune activation. Curr Top Microbiol Immunol, 325, pp.85–100.

Johansson, I., (2014). Cytomegalovirus infection in Heart and Lung Transplant Patients with Focus on Long-term-outcome. Department of infection Diseases Institute of Biomedicine Sahlgrenska Academy at university of Gothenburg, 74p.

Jawetz, E., Melink, J.L., and Adelberg, E.A., (2013).Virology in : Medical Microbiology 26th edition, United States. McGraw-Hill Companies, 879p.

Jasim, M., Majeed, H.A., and Ali, A.I., (2011). Performance of Serrologiical Diagnosis of TORCH Agents in Aborted versus non aborted Women of Waset province in Iraq. Tikrit Medical Journal, Vol. 17, No.2, pp141-147.

Jones , S.A., (2005). Directing transition from innate to acquired immunity: Defining a role for IL-6. Journal of Immunology, Vol. 175, No. 6 , pp.3463-3468.

Krömmelbein, A.E., Wiebusch, L., Schiedner, G., Büscher, N., Sauer, C., Florin, L., Sehn, E., Wolfrum, U., and Plachter, b., (2016).

Transformed Amniotic Fluid Cells Support Human Cytomegalovirus Replication. Viruses(MDPI), Vol. 8, No. 37, pp.1-20.

Khudir, M.k., and Molan, A., (2014). Seroprevalence of cytomegalovirus among healthy students at Diyala University, Diyala, Iraq. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, Vol.9, No.1, pp.59-61.

Kotton, C.N, Kumar, D., Caliendo, A.M, Angela, M., Åsberg, A., Chou, S., Danziger-Isakov, L., and Humar, A., (2013). Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. Transplantation, Vol .96, NO.4 , pp.333-360.

Kramer, T., and Enquist, L. W., (2013). Directional spread of alphaherpesviruses in the nervous system.Viruses, Vol.5,No.2, pp.678-707.

Kwon, Y., Kim, J., Kim, J.H., and Hwang, E.S., (2013). Cytoplasmic Translocation of p53 by Human Cytomegalovirus Infection. Journal of Bacteriology and Virology, Vol. 43, No. 4, pp.297 – 306.

Khalf, M.S., Ahmad, D.W., and Ibraheem, K.A., (2012). The Seroprevalence of IgM Among Iraqi Aborted Women Infected with Human Cytomegalovirus. THE IRAQI POSTGRADUATE MEDICAL JOURNAL VOL.11, NO.1, PP.123-129.

Kim, C.S., (2010). Congenital and perinatal cytomegalovirus infection ,Korean Journal of Pediatrics Vol. 53, No. 1, pp.14-20.

Kalejta, R.F., (2008). Functions of human cytomegalovirus tegument proteins prior to immediate early gene expression. Curr. Top. Microbiol. Immunol, Vol.325, pp.101–116.

Kamali-Sarvestani, E., Kiany, S., Gharesi-Fard, B., and Robati, M., (2006). Association study of IL-10 and IFN-γ gene polymorphisms in Iranian women with preeclampsia. Journal of reproductive immunology, Vol. 72, No. 1, pp.118-126.

Lachmann, R., (2013). *Analysis of CMV-specific T cell responses and CMV-associated changes in the ageing human immune system*. Thesis degree of phD Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät I, 131p.

Leurez-Ville, M., Sellier, Y., Salomon, L.J., Stirnemann, J.J., Jacquemard, F., Ville, Y., (2013).Prediction of fetal infection in cases with cytomegalovirus immunoglobulin M in the first trimester of pregnancy: a retrospective cohort.Clin Infect Dis 2013; Vol.56, No.10, pp.1428-1435.

La Rosa, C., and Diamond, D. J., (2012). The immune response to human CMV. *Future virology*, Vol.*7*, No.3,pp.279-293.

Laufer-Perl, M., Shnell, M., Dekel, M., Shapiro, M., and Guzner-Gur, H., (2012). Acute Cytomegalovirus Infection in an Immune-Competent Host: An Atypical Presentation.IMAJ , Vol .14 , pp.397-399.

Lissauer, D.M., (2012). The Biological and Clinical Ssignificance of The Maternal Immune Response to Fetal Nntigens . Thesis degree of phD. University of Birmingham, 275 p.

Levesque, R. (2007) . SPSS Programming and Data Management , 4th ed . Chicago , pp:522.

Mesquida, M., Leszczynska. A., Llorenç, V., and Adán, A., (2014). Interleukin-6 blockade in ocular inflammatory diseases. Clinical and Experimental Immunology, Vol. 176, pp. 301–309

Musa, A.M ., Taura, D.W,. Mukhtar, M.D., Koki, Y.A., Adamu, S., (2014). Studies on Cytomegalovirus Infection among HIV

Positive Patients Attending Infectious Diseases Hospital, Kano, Greener Journal of Epidemiology and Public Health, Vol. 2,No.1, pp.032-036.

Manicklal, S., Emery,V.C., Lazzarotto, T., Boppana, S.B., Gupta, R.K., (2013). The "Silent" Global Burden of Congenital Cytomegalovirus, Clinical Microbiology Reviews,Vol. 26, No.1, pp.86-102.

Momin , N., Telisinghe, P.U., Chong, V.H., (2011). Cytomegalovirus colitis in immunocompetent patients, Singapore Med J, Vol. 52, No.9, pp.170-172.

Matos, S.B., Meyer, R., Lima, W.F.M., (2010). Seroprevalence of Cytomegalovirus infection among healthy blood donors in Bahia State, Brazil. Revista Brasileira de Hematologia eHemoterapia , Vol.3, No.1, pp.1516-8484.

Mettenleiter, T. C., Keil, G. M., & Fuchs, W. (2008). Molecular biology of animal herpesviruses. Animal Viruses: Molecular Biology, Vol.12, 531p.

Moretta, A., Marcenaro, E., Parolini, S., Ferlazzo, G., Moretta, L., (2008). NK cells at the interface between innate and adaptive immunity. Cell Death Differ, Vol.15, No.2, pp.226-233 .

Malm, G., and Engman, M.L., (2007). Congenital cytomegalovirus infections.Semin Fetal Neonatal Med.12, pp.9-154.

Mocarskies, S.T., and Pass, R.F. Cytomegalovirus. In: Fields virology 5th Ed. Lippincot Williams and Wilkins Eds Knipe D.M, Howley P.M. 2007, 2702p.

Meier, J., Lienicke, U., Tschirch , E., Kru¨ger, D.H., Wauer, R.R., and Pro¨sch,S., (2005). Human Cytomegalovirus Reactivation during Lactation and Mother-to-Child Transmission in Preterm Infants. Journal of Clinical Micrology, Vol. 43, No. 3 , pp. 1318–1324.

Matalka, K.Z., (2003). The effect of estradiol, but not progesterone, on the production of cytokines in stimulated whole blood, is concentration-dependent. Neuroendocrinology Letters, Vol.24, No.3/4, pp.185-191.

Makhseed, M., Raghupathy, R., Azizieh, F., Omu, A., Al-Shamali, E., and Ashkanani, L., (2001). Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. Human Reproduction, 16(10), pp.2219-2226.

Minder, W.H., (1953). Die Aetiologie der Cytomegalia infantum .Schweiz Med Wochenschr, in Alizi, S.M.H., (2002). Study of Cytomegalovirus infection in immunocompromised patients, Thesis degree of Msc. University of Mustansiriya, 107p

Neirukh, T., Qaisi, A., Saleh, N., Abu Rmaileh, A., Abu Zahriyeh, E., Qurei, L., Dajani, F., Nusseibeh, T., Khamash, H., Baraghithi, S., and Azzeh, M., (2013). Seroprevalence of *Cytomegalovirus* among pregnant women and hospitalized children in Palestine. BMC. Infectious Diseases, Vol.13, No.528, pp.1-7.

Odland, M.L., Strand, K.M., Nordbø, S.A., Forsmo, S., Austgulen,R., and Iversen, A., (2013). Changing patterns of cytomegalovirus seroprevalence among pregnant women in Norway between 1995 and 2009 examined in the Norwegian Mother and Child Cohort Study and two cohorts from Sør-Trøndelag County: a cross-sectional study. BMJ Journals, Vol.3, No.9, pp.1-8.

Ouedraogo, A. S., Yameogo, J. T., Poda, G. E., Kientega, Y., and Ouedraogo Traore, R. (2012). [Prevalence of anti-CMV antibodies in blood donors in Ouagadougou (Burkina Faso)]. Med Sante Trop, Vol.22, No.1, pp.107-109.

Pandey,M., Pant, S., Pande,R.C., Singh,K.P., and Gupta, H., (2014). Prevalence of Cytomegalovirus infection among HIV sero-

positive patients – Case Study from North India, International Journal of Innovation and Scientific Research, Vol. 11 No. 1, pp.48-52.

Pass, R.F., and Anderson, A., (2014). Mother-to-Child Transmission of Cytomegalovirus and Prevention of Congenital Infection. Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society, Vol. 3, Supp.l 1, pp.S2–S6.

Pawelec, G. (2014). Immunosenenescence: role of cytomegalovirus. Experimental gerontology, Vol.54, pp.1-5.

Poole, E., Wills, M., and Sinclair, j., (2014). Human Cytomegalovirus Latency: Targeting Differences in the Latently Infected Cell with a View to Clearing Latent Infection, New Journal of Science, pp.1-10.

Penkert, R.R., and Kalejta, R.K., (2011). Tegument protein control of latent herpesvirus establishment and animation, Herpesviridae, pp.1-20.

Pass, R.F., Zhang, C., Evans, A., Simpson, T., Andrews, W., Huang, M., Corey, L., Hill, J., Davis, E., Flanigan, C., and Cloud, G., (2009). Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection. N Engl J Med; Vol.360, pp.1191–1199.

Pass, R.F., Fowler, K.B., Boppana, S.B., Britt, W.J.,and Stagno, S. (2006). Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. Journal of clinical virology. Vol.35, No.2, pp.216-220.

Pass, R.F.,(2002). Cytomegalovirus Infection, Pediatrics in Review ;23;163, pp.163-172.

Requião-Moura, L.R., Matos, A.C., Pacheco-Silva, A., (2015). Cytomegalovirus Infection in Renal Transplanation Clinical

Aspects,Management and the Perspectives. Einstein, Vol.13, No. 1, pp.142-148.

Reyda, S., Tenzer, S., Navarro, P., Gebauer, W., Saur, M., Krauter, S., Büscher, N., and Plachtera, B., (2014). The Tegument Protein pp65 of Human Cytomegalovirus Acts as an Optional Scaffold Protein That Optimizes Protein Uploading into Viral Particles. Journal of virology, Vol. 88, No. 17 , pp.9633–9646.

Roxby, A.C., Atkinson, C., Asbjornsdottir, K., Farquhar, C., Kairie, J.N., Drake, A.L., Wald, A., Boeckh, M., Richardson, B., Emery, V., John-Stewart, G., Slyker, J.A., (2014). Maternal valacyclovir and infant cytomegalovirus acquisition: a randomized controlled trial among HIV-infected women. PLoS ONE; Vol.9, No.2, pp.1-7.

Ramanan, P., and Razonable, R.R., (2013). Cytomegalovirus Infections in Solid Organ Transplantation: A Review.Infect Chemother, Vol.45, No.3, pp.260-271.

Robinson, D.P., and Klein, S.L., (2012). Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. Horm Behav, Vol.62, No.3, pp.263–271.

Roth, S.J., (2012). Detection of phocine herpesvirus 1 in seals from populations in different environments. Thesis degree of phD. University of Berlin, 70 p.

Regan, R., Backos, M., and Rai, R., (2011). The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First-trimester and Second-trimester Miscarriage, Green–top Guideline No. 17, pp. 1-18.

Regan, L.,and Jivraj, S., (2001). Infection and pregnancy loss. In:MacLean AB,Regan L,Carrington D, editors. Infection and pregnancy. London:RCOG Press;.pp. 291–304.

Salvoni, G., Fagioli, G., Domenella, D., Falciani, V., Ragnini, M., Perozzi, D., Nalmodi, E., Pandolfi, R., and Piani, M., (2014).

Cytomegalovirus Serological Screening in Blood Donors. Central Regional Virology Laboratory and Molecular Biology of Ancona Hospital Regional Department of Transfusion Medicine Marche Region – Italy,p.1.

Solidoro, P., Costa, C., Libertucci, D., Delsedime, L., Boffini, M., Ricc, D., Bucca, C., Cavallo, R., and Rinaldi, M., (2014). CMV management in lung transplant recipients. Shortness of Breath, Vol.3, No.3, ,pp.114-125.

Srinivasan, A., Wang, C., Srivastava, D.k., Burnette, K,. Shenep, J.L,. Leung, W., and Hayden, R.T., (2014). Timeline, Epidemiology, and Risk Factors for Bacterial, Fungal, and Viral Infections in Children and Adolescents after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, National Institutes of Health, pp.1-19.

Saraswathy, T.S, AZ-Uihusna, A., Asshikin, R.N., Suriani, S., and Zainah, S., (2011). Seroprevalence of Cytomegalovirus infection in Pregnant Women and associated role in obstetric complications: a preliminary study.Southeast Asian J Trop med public Health, Vol 42, No.2, pp.320-322

Snydman, D.R., Limaye, A.P., Potena, L., and Zamora, M.R., (2011). Update and review: state-of-the-art management of cytomegalovirus infection and disease following thoracic organ transplantation. Transplantation proceedings, Vol.43, No.3, pp.1-17.

Sohlberg, E. (2011). Innate immune responses in cord blood, and the influence of pathological pregnancy. Thesis degree of M.SC. University of Stockholm, Sweden, 57p

Studemeister, A., (2011). Cytomegalovirus Proctitis: A Rare and Disregarded. Sexually Transmitted Diseases, Vol.38, No.9, pp.876-878.

Sabat, R., Grütz, G., Warszawska, K., Kirsch, S., Witte, E., Wolk, K., and Geginat, J., (2010). Biology of interleukin-10. Cytokine & growth factor reviews, Vol. 21, No. 5, pp.331-344.

Staras, S., Flanders, W.D., Dollard, S.C., Pass, R.F., McGowan, J.E., Cannon, M.J., (2008).“Influence of sexual activity on cytomegalovirus seroprevalence in the United States, 1988-1994”, Sexually transmitted diseases, Vol.35, No.5, pp.472-479.

Taylor-Robinson, A.W., and Chapman, J., (2015) Immunosenescence in Humans: Changes to the Aged T Lymphocyte Population in Response to Persistent Cytomegalovirus Infection. Journal of Immunology and Infectious Diseases ., Vol.2, No.2, pp.1-11.

Tuama, A. M., (2015). Most Common Causes of Repeated Abortion in Women in Naseriya. Medical Journal of Babylon, Vol. 12, No. 2, pp.329-334.

Turner, J.E., Campbell, J.P., Edwards, K.M., Howarth, L.J., Pawelec,G., Aldred, S., Moss , P., Drayson, M.T., Burns, V.E., and Bosch, J.A., (2014). Rudimentary signs of immunosenescence in Cytomegalovirus-seropositive healthy young adults, AGE, Vol.36, No.1, pp.287–297.

Tomtishen, J. P. I. (2013). Cytomegalovirus Tegument Proteins and the Development of Novel Antiviral Therapeutics., pp.111-131

Tomtishen, J. P., (2012). Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). Virology Journal, Vol.9, No1, PP1-8.

Tabatabaee, M., and Tayyebi, D., (2009). Seroepidemiologic study of human *cytomegalovirus* in pregnant women in Valiasr hospital of Kazeroon, Fars, Iran . j. Maternal-fetal Neonatal. Med. Vol. 22, pp.517-521.

Terhune, C., Torigoi, E,. Moorman, N., Silva, M., Qian, Z., Shenk, T and Yu, D., (2007). Human Cytomegalovirus UL38 Protein Blocks Apoptosis. Journal of Virology, Vol. 81, No. 7, pp. 3109–3123.

Talaro, K.P.(2005). Immunization and Immune Assays In : Foundations in Microbiology Basic principles. Fifth edition ,Nev York, McGraw Hill, pp: 490– 491.

Trzonkowski, P., Mysliwska, J., Szmit, E., Wieckiewicz, J., Łukaszuk, K., Brydak, L.B., Macha, M., Macha, M., Mysliwski, A., (2003). Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination.an impact of immunosenescence. Vaccine, Vol.21, pp.3826–3836

Umeh, E.U., Onoja, T.O., Aguoru, C.U., and Umeh, J.C., (2015). Seroprevalence of Cytomegalovirus Antibodies in Pregnant Women, Benue State, Nigeria. Journal of Infectious Diseases & Therapy, Vol.3, No.5, pp.1-5

Vivier ,E., Raulet, D.H., Moretta, A., Caligiuri, M.A., Zitvogel, L., Lanier, L.L., Yokoyama, W.M., and Ugolini, S., (2011). Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. Science, Vol.331, No.6013, pp.44–49.

Vazques–Lombardi , R., Roome , B., Christ , D., (2010). Molecular Enginecringof the rapeutic cytokines . J. Antibody, ,pp. 204 – 230

Wiley, J., and Sons., (2016).When prevalence of infection may not directly reflect the burden of disease, Reviews in Medical Virology, 26, pp. 2–3.

Wills, M.R., Poole, E., Lau, B., Krishna, B., and Sinclair, J.H., (2015). The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies?. Cellular & Molecular Immunology, Vol.12, No2, pp.128–138

Wang, X., (2013). The function of M4 protein in vitro and in vivo.A thesis degree of phD. University of Edinburgh, 243p.

Walia, G.K., (2008). Mukhopadhyay R, Saraswathy KN, Puri M and Chahal S.M.S.Immuno-Molecular Etiology of Recurrent Pregnancy Loss and the Anthropological Perspective. International Journal of Human Genetics, 8(1-2), pp.227-235.

Wilkinson, G.W., Tomasec, P., Stanton, R.J., Armstrong , M., Prod'homme, V., Aicheler, R., McSharry, B.P., Rickards, C.R., Cochrane, D., Llewellyn-Lacey, S., Wang, E.C.Y., Griffin, C.A., and Davison, A.J., (2008). Modulation of natural killer cells by human cytomegalovirus. Journal of Clinical Virology, Vol .41 ,No. 3, pp.206–212.

Yeroh, M., Aminu, M., and Musa, B.O.P., (2015). Seroprevalence of Cytomegalovirus Infection Amongest Pregnant Women in Kaduna State Nigeria. African Journal of Clinical and Expermental Microbiology, Vol.16, No.1, pp.37-44.

Yinon,Y., Farine, D., and Yudin, M.H., (2010). Cytomegalovirus Infection in Pregnancy.SOGC Clinical Practice Guideline, No(240), pp.348-354.

مصادر الانترنيت

Cohen, M.,(2014). Cytomegaloviral infections (CMV). Retrived june,2014,from,http://www.pathologyoutlines.com/topic/cnscmv.html

Jones, R., (2010). human-cytomegalovirus-genome-cloned, in https://bluesci.wordpress.com/2010/10/05/humancytomegalovirus-genome-cloned/

Abstract

The human cytomegalovirus (CMV) is one of the common viral infection worldwide that causes a lifelong subclinical infection in healthy adults and represent a major causes of congenital infections.

This study aimed to determine anti-CMV IgG , IgM antibodies rates among women in Diyala province and determine the level of concentration of IL6, IL10 and their role in immune response.This study was carried out on 350 women attended to AL Battol Teaching Hospital for maternity and Children in Baqubah-Diyala , and outpatient clinic in Baqubah Teaching Hospital. In addition to 160 samples Naturalist women as control group. During the period from September 2015 to February 2016.

The selected women were divided into many group including 130 samples from aborted women , 110 samples from normal pregnant women and 110 samples from pre- marital women. The women age in the study were ranged between 15-30 years.

Anti- CMV IgG and IgM antibodies were assayed by ELISA technique using (ELISA - Human , Germany) at the Public Health Laboratory Baqubah.

the results showed that the anti-CMV IgG , IgM antibodies rates among pregnant women was (95.45%) and (6.36%) respectively which is statistically significant $P \leq 0.05$, and in aborted women was (96.15%), (6.92%) respectively which is statistically significant $P \leq 0.05$, pre-marital women was (67.27%) and (2.72%) respectively but it was statistically non- significant $P > 0.05$, While the control group recorded a rate of 68.8% , 2.5%, respectively.

88 samples was selected from the total number of samples in the current study with anti-CMV IgG antibodies seropositivity, for measurement of the level of (IL6 and IL10) in women and using the ELISA technique also. The included 28 samples from aborted women and 20 samples from normal pregnant women and 20 samples from pre-marital women in addition to 20 samples from women samples as control group.

The results of interleukin-6 were high in women serum with CMV infection, the concentration in aborted women was (23.23±7.89)pg/ml which is statistically significant $P < 0.001$.

Also it was high in normal pregnant women was (15.4± 6.77)pg/ml which was statistically significant $P < 0.03$, also it was high in pre-marital women was (12.5± 4.25)pg/ml but it was statistically non-significant , when compared with the control group level (12.5± 4.25) pg/ml.

The results of interleukin -10 were reduced in women serum with CMV infection , where the concentration in aborted women was (5.00±2.01)pg/ml which was statistically significant $P < 0.003$, also it was high in normal pregnant women was (3.04± 6.56) pg/ml and was statistically significant $P < 0.001$, also it was high in pre- marital women (12.5± 4.25) pg/ml but it was statistically non-significant , when compared with the control group.

The study revealed a common higher serum antibody immune for CMV IgG in pregnant women and miscarriage in Diyala province. And positive serum antibody immune CMV IgM of childbearing age. By the results of the current study we found that positive antibody immune CMV IgM For women with recurrent miscarriages and women with normal pregnancy ostensibly was close and this shows the lack - importance of the infection by CMV on recurrent Miscarriage. this was Confirmed by

Medicine predicate with evidence in the British Royal College for Women and obstetrics.

The high level of Interleukin (IL-6) and the low level of Interleukin (IL-10) in Carriers women Serum for antibody immune to the virus. And that the imbalance in the concentration of Interleukin (IL-6, IL-10) may lead to the events of Miscarriage in women pregnant.

الملاحق

Appendixes

ملحق (1)

استمارة استبيان

رقم العينة :

الاسم الثلاثي الكامل:-

العمر :-

الجنس:-

العنوان

القضاء: الناحية: القرية: المحلة:

أقرب نقطة دالة:

نوع العينة

نساء مقبلات على الزواج:-

حمل طبيعي:-

نساء ذات اسقاطات:- عدد الاسقاطات:-

ملحق (2)

اقرار شخصي

اني الموقع ادناه ( ) لا مانع لدي من اخذ نموذج من دمي لغرض اجراء البحث اعلاه.

التوقيع

Republic Of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Diyala/ College of Science

Department of Biology

Serological and immunological study of cytomegalovirus infection among group of women with normal pregnancy and recurrent miscarriage in Diyala province

A thesis submitted to

College of Science as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

M.Sc.in Biology/ Microbiology

By

Noor- Alhuda Sadoon Jassim

B.Sc. Biology, 2007

Supervised by

Prof. Dr. Mohammed Khaleefah Khudhair

Doctor of microbiology/Medical Virology

Dr. Mazin Razooqi Mohammed

Consultant Hematologist

M 2017 **H 1438**