دراسة وراثية خلوية للمصابات بالعقم وقلة الخصوبة في محافظة القادسية

حيدر عيال مطر
كلية الطب / جامعة القادسية

الخلاصة: Abstract

تهدف الدراسة الحالية الى الكشف عن بعض العوامل المسببة للعقم في نساء محافظة القادسية اذ تم تحديد نسبة العقم في المحافظة في عينة عشوائية ولمدة اربعة سنوات (2003 – 2007) وقد ازدادت النسبة تدريجياً خلال تلك الفترة وقد حددت نسبة العقم الاولي 73.6% والعقم الثانوي 26.4 % لعينة الدراسة التي شملت (110)امرأة عينة عشوائية للنساء والمصابات بالعقم والمراجعات لمركز العقم في مستشفى الولادة والاطفال في مدينة الديوانية و(30 أمرأة) كعينة سيطرة وتم تحديد الفئات العمرية للنساء المصابات بالعقم وقد كانت اعلى نسبة هي ضمن الفئة العمرية (25- 29) سنة وتليها (30 – 34) سنة .

وتمت دراسة الهيئة الكروسومية لعينة الدراسة اذ درست الانحرافات الكروموسومية العددية ووجدت حالتي تبرقش كروموسوم الجنس فقط (45,X0) بنسبة 9.1 % وحالة (XXX,47) بنسبة 13.33 % من خلايا الدم .اما بالنسبة للانحرافات الكروموسومية التركيبية فلم تسجل هناك أي اضطرابات كروموسومية لدى تلك العينة ، وتمت دراسة التبادل الكروماتيدي الشقيقي ووجدت فروق معنوية

($P \leq 0.05$) بين كلا العينتين العقم الاولي (6.7) والثانوي (6.9) على التوالي مقارنة مع عينة السيطرة (3.9) وأظهرت الانوية الصغيرة فرقاً معنوياً بين عينتي العقم والسيطرة ($P \leq 0.05$)

المقدمة Introduction

يعد العقم من المشاكل الصحية المهمة حيث يخلق مشاكل نفسية واقتصادية وعائلية للنساء العقيمات (Hill, 1998) والمدى الواسع من التغاير لمستوى ونمط عدم الخصوبة يعتمد على جوهر السبب ، شاملاً بذلك العوامل البيولوجية كالانحرافات الكروموسومية والتشوهات الخلقية ، اما عدم الخصوبة المكتسب فيشمل التغاير الجغرافي كالإصابات الجرثومية والعوامل البيئية (insler and Lunenfeld,1994) وتلك العوامل تؤثر على صحة الجهاز التكاثري الأنثوي وقدرته على أنجاب الأطفال الأصحاء من اغلب مشاكل صحة الجهاز التكاثري مثل العقم والإجهاض (Tabilbzadeh et . al , 2000).

ان العامل الوراثي هو من العوامل المهمة التي تسبب حدوث منع الحمل او حدوث الإسقاطات المتكررة وبالنتيجة حدوث العقم حيث أشارت الكثير من البحوث والدراسات إلى حدوث حالات الإسقاطات المتكررة نتيجة التشوهات الكروموسومية سواء العددية ام التركيبية في الأجنة المجهضة (Regan et.al,2003) .

ومن اجل الوقوف على الأسباب المؤدية للعقم لدى النساء تهدف هذه الدراسة الى دراسة وراثية خلوية اذ صممت استمارة استبيانيه للتعرف على طبيعة العوامل البيئية المحيطة بكل واحدة علاقته بصحة الجهاز التكاثري وخصوصاً ما تعرض له البلد في الاونة الاخيرة من أحداث كثيرة خلال مدة زمنية قصيرة نسبياً حيث ان للعمليات العسكرية تأثير سلبي على البيئة منذ حقبة الثمانينات ولحد ألان هذا ما أشار إليه الركابي (2005).

المواد وطرائق العمل Material and Methods

تم انجاز جميع متطلبات التحليلات الوراثية الخلوية لدم المصابات بالعقم في مختبرات المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية ومختبرات وزارة العلوم والتكنلوجيا ، اجريت الدراسة في محافظة القادسية على مجموعة من النساء والمراجعات لمستشفى الولادة والاطفال التعليمي في الديوانية للمدة من 2006/9/1 الى 2007/10/1 وقد تم ملئ استمارة البحث لمعلومات تخص كل مريضة مبينة في الملحق الموضح طياً وكانت اعمارهن تتراوح بين 18 – 45 سنة وقسمت النساء التي شملتهن الدراسة الى مجموعة السيطرة (30 امراة) ومجموعة العقيمات(110 امراة) . وقسمت العقيمات الى مجموعتين حسب نوع العقم بأستشارة الطبيبة المسؤولة عن وحدة العقم الى مجموعة النساء ذوات العقم الأولي (81 أمرأة) وذوات العقم الثانوي(29 أمراة) ، تم سحب (10 ملم) من الدم الوريدي لكل من النساء العقيمات والسيطرة باستخدام محقنة نابذة Disposable syringe ، تم وضع (2) مل من الدم المسحوب في انابيب بلاستيكية (5) مل حاوية على مادة مانعة للتخثر الهيبارين Lithium heparine ثم تنقل الأنابيب البلاستيكية المحتوية على الدم باستخدام الصندوق المبرد Cool box إلى المختبر لغرض أجراء الفحص الوراثي الخلوي حيث تم الزرع باسرع وقت ممكن بحيث لا يتعدى (24) ساعة بعد ذلك يتم اضافة (8) مل من الدم في أنابيب بلاستيكية (10) مل وتترك لمدة (30) دقيقة بحيث تتكون الخثرة ثم فصلها بجهاز النبذ المركزي بسرعة (3000) دورة بالدقيقة لمدة (5) دقائق ثم سحب المصل وتوزيعه على (3) أنابيب ابندروف Ependroff tubes ويتم ترقيم النموذج وكتابة اسم المريضة وتاريخ السحب لكل مريضة وتحفظ النماذج في درجة حرارة 20- م لحين اجراء الفحوصات اللازمة.

تتم عملية الزرع تحت ظروف معقمة جدا داخل الكابينة المعقمة Laminar air flow لمنع التلوث حيث تضـاف (7 – 10) قطرات دم إلى أنبوبة الوسـط الزرعي RBMI المحضـر سـابقاً ثم يتم اضـافة (0.3) مل من محلول PHA ويتم حسـاب التوقيت للحصـــاد بعد إغلاق الأنبوبة إغلاقا محكماً وتخلط محتويات الأنبوبة جيداً وبهدوء ويتم رج الانابيب مرة واحدة على الاقل كل (24 ساعة) خلال مدة الحضن بعدها يتم ايقاف الخلايا في الطور الاستوائي بأستخدام محلول الكولجسين المحضر سابقاً قبل انتهاء مدة الحضـن لمدة (10) دقائق يضـاف (0.1) من محلول الكولجسـين وتكمل فترة الحضـن الى (72) سـاعة بدرجة حرارة (37 م) ثم يتم اخراج انابيب الزرع من الحاضنة وتوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة (1500) دورة / دقيقة ولمدة (10) دقائق ، يتم خلط الراسـب باسـتخدام الخلاط الكهربائي Vortex ثم يضـاف اليه محلول كلوريد البوتاسـيوم (0.075) مولاري الدافئ بدرجة حرارة (37 م) تدريجياً قطرة قطرة الى الراسـب مع التحريك المسـتمر والمزج ، بعد انتهاء الحضـن نجري عملية التثبيت (المثبت المحضـر آنيا) تصـبغ بعدها الشـرائح الزجاجية (Stock Solution) ثم تفحص الشـرائح الزجاجية بواسـطة المجهر الضوئي Light microscope من نوع Olympus ch3 باستخدام العدسة الشيئية (X10) .
وتم تحضير الانوية الصغيرة Micronuclei حسب طريقة (Fenech , Morley ,1995) .

النتائج والمناقشة Results and discussion

يتبين من الجدول (1) الفئات العمرية للنساء المصابات بالعقم وقد كانت اعلى نسبة هي ضمن الفئة (25 – 29) سنة وهي نتيجة متوقعة لان هذه الفئات العمرية هي التي يحدث فيها الزواج للاناث في مجتمعنا ولذلك تظهر نسـبة الاصـابة بالعقم فيها عالية وتليها (35- 39) سـنة والسـبب هو عمر النسـاء يعد احد العوامل المهمة في تقييم حالة العقم ومعالجتها هذا لان خصـوبة المرأة تقل بعد عمر (35) سنة اما في عمر (42) سنة يكون من الصعوبة حصول الحمل طبيعياً (Arlond , 2000)

جدول (1) توزيع العينة المرضية حسب العمر

العمر بالسنوات	النساء العقيمات	
	العدد	%
20 فما فوق	8	7.3
24 -20	15	13.6
29 – 25	28	25.5
34 – 30	24	21.8
39 – 35	25	22.7
40 فما فوق	10	9.1
المجموع	110	%100

اجري تحليل الهيئة الكروموسومية لـ (100) عينة اعطت (68) حالة منها نتائج جيدة اذ كانت كروموسومات واضحة وبصـورة يمكن من خلالها تحديد التغيرات فيها ومثلت نسـبة النجاح (61.8 %) من المجموع الكلي للعيان المأخوذة وكانت هذه النسـبة التي تم الحصـول عليها هي اعلى مما سـجلته (الدليمي ، 2000) وكانت النسـبة (55 %) درسـت التغييرات العددية والتركيبية لكروموسومات النساء المصابات بالعقم ومقارنتها مع مجموعة السيطرة (الشكل -1) وتم استخدام طريقة التحزيم G- Banding فمن مجموع (68) نموذج دم للمصـابات بالعقم وقلة الخصـوبة وجدت حالتين فقط تبرقش كروموسـومات الجنس وهي حالة (45,X 0) بنسبة (9.1) وحالة تبرقش (47 , XXX) بنسبة (13.33) من خلايا الدم ، ان المصابة بحالة (45 , X 0) البالغة من العمر (34) سـنة كان نوع العقم لديها اولي وتوجد حالة عقم في عائلتها وهي خالتها وكانت دورتها الحيضـية غير منتظمة قبل الزواج ،اما بالنسـبة للتغيرات التركيبية فلم تسـجل أي اضـطرابات كروموسـومية تركيبية .لقد اشـار Gekas وجماعته (2001) إلى ضـرورة إجراء فحص الوراثة الخلوية للنسـاء المصـابات بالعقم والمرشـحات للعلاج بطريقة ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) من خلال الاحصـــائيات التي توصـــل اليها وجد تكرار التشـــوهات الكروموسومية في النساء وكذلك وجد (2.08) % (21 من 1012) تشوهات كروموسومية (28) حالة تبرقش كروموسوم الجنس وقد توصلت نتائج دراسات مشابهة اليها (Jorde , et.al , 2000; Brooker , 200) اذ بلغت(2.77) % ، (2.5) % على التوالي .

اما بالنسبة للتشوهات العددية والتركيبية فلم تكن هناك حالة تذكر في عينة النساء المصابات بالعقم وهذه الدراسة لاتتفق مع ما توصل اليه (مطر ، 2005) حيث وجد ان هناك تشوهات كروموسومية مختلفة لعينة النساء الاصحاء في مجتمع الديوانية وذلك بسبب قلة العينة المدروسة ،ان نسبة حدوث تبرقش كروموسومات الجنس لاترتبط بعمر المرأة (Mesched,et.al,1998) وقد وجد انها تمثل نسبة عالية بالنسبة للانحرافات في النسبة المدروسة .

توضح الهيئة الكروموسومية لانثى طبيعية XX , 46

يتضح من الجدول(2) ان متوسط معامل الانقسام للعقم الاولي (2.65 ± 0.28) والثانوي (2.54± 0.41) ولم يظهر أي فروق معنوية مع عينة السيطرة (2.44± 0.25) وبهذا فانه لا توجد علاقة بين معامل الانقسام والعقم الاولي والثانوي

اما بالنسبة للتبادل الشقيقي فقد كان المتوسط لعينة العقم الاولي(6.7 ± 0.2) والثانوي (6.9 ± 0.2) الذي اظهر فروقاً معنوية ($p\leq0.05$) بالمقارنة مع عينة السيطرة (3.9 ±0.14) وقد وجد ان متوسط معامل الانوية الصغيرة في عينة العقم الاولي ($0.006\pm 1\times10^{-4}$) والثانوي ($0.005\pm 1\times10^{-4}$)وقد اظهر فروقاً معنوية ($p\leq0.05$) بالمقارنة مع عينة السيطرة ($0.003\pm 1\times10^{-4}$) . تعتبر هذه النتيجة مؤشراً على عامل التلوث والتي تتفق مع عدد من الدراسات التي تناولت بيئة العراق حيث اشار (الطه، 1994) الى ان الملوثات البيئية لها تأثير سلبي وتراكمي على صحة الانسان وتكاثره.

جدول (2) يوضح علاقة معامل الانقسام والتبادل الكروماتيدي الشقيقي والانوية الصغيرة بالعقم الاولي والثانوي

المتوسط الحسابي للمعاملات	متوسط العقم الاولي ، المتوسط الحسابي	العقم الثانوي	السيطرة	الاحتمالية
معامل الانقسام (MI)	2.65±0.28	2.54±0.41	2.44±0.25	غير معنوية
التبادل الكروماتيدي الشقيقي SCEs	6.7 ± 0.2	6.9±0.2	3.9±0.14	$p\leq0.05$
الانوية الصغيرة (MN)	$0.006\pm 1\times10^{-4}$	$0.005\pm 1\times10^{-4}$	$0.003\pm 1\times10^{-4}$	$p\leq0.05$

المصادر العربية :

- الدليمي ، شمم مفلح فارس ، (2000) دراسة كروموسومية ومايكروبية لحالات الاجهاض في الانسان. رسالة ماجستير . كلية العلوم / جامعة بغداد .
- الطه ، سلمى عبد الحافظ ،(1994) . العلاقات الرئيسية بين التأثيرات الصحية الخطيرة وبين التعرض لملوثات البيئة الكيمياوية والاشعاعية . الذروة العلمية حول بيئة العراق ما بعد الحرب ، جمعية حماية وتحسين البيئة العراقية ، بغداد . 141 كانون الاول 1994 .
- مبارك ، حسن ريسان ، 2005 ، تاثيرات التلوث الاشعاعي على زيادة نسب الاصابات السرطانية والتشوهات الخلقية لسكان محافظة ذي قار ، مجلة القادسية للعلوم الصرفة ، المجلد (10) العدد (2) ص 108 – 120 .
- مطر ، حيدر عيال . (2005) تردد التشوهات الكروموسومية في الاشخاص الاصحاء ، مجلة القادسية للعلوم الصرفة ، المجلد (10) العدد (4) ،ص122- 127 .

REFERENCES

- Arlond . (2000) . Gynaecology by ten teachers . 17 ed . New yourk p . 84 .

- Fenech , M .(2005) .The in vitro micronucleus technique Mutation Research 455 , 81 – 95 .

- Fenech , M. and Morley , A . (1995) . Measurement of microuncle inLymphocytes .Mutat. Res . ; 147-29-36

- Gekas , J ; Thepot , F. ,Turlean , C . ; Siffror , J . P . Dadoune J . P ; Braiult , S . ; Rio , M ; Bouralillon , G . ; Wasles , R . and the association des cytogenetic langue francaise . (2001) . chromosomal Factors of infertility in candidate couples for ICSI . Human Reproductive , Vol . 16 , No . 1,28 – 90 .

- Hill , J . A . (1998) . Evidence of Embryo and trophoblast-toxic cellular immune response (s) in women with recurrent spontaneous abortion .A.M.J abstet . Gynecol . 166 : 1044-52
- Insler , V . and Lunenfeld , B.(1994) .infertility : madle and female , 2nd edn .Churchill living stone , London : 3-7.

- Jorde , L.b.; Carey , J . ; C.; Bamshad , M.J.and white , R.L.(2000) Medical genetic , Second edition mosby.Inc.P.128 .

- Meschede , D.,Lemcke,B.;H.M.;Geyter , C.D.; Nieschlag , E . and Horst , J . (1998) . Non-reproductive heritable disorders in infertile comples and their first degree relative . Hum Reprod Jul , 15 (7) :

- Regan , L . ; Backos , M . J .R . Bender , A.r ; Braude , P .R. and Li , T . (2003) . The investigation and treatment of Coupks with recurrent miscarriage . Royal college of abstericieams and Gynecologists , Guideline No .17 P 3- 13 .

-TabibZadeh. , H.S;Mason, J.M.;shea, w.;Cai,Y.imurray , M.J and lessey , b.(2000) .Dysregulated expression of ebaf , anovel molecular defect in the endometria of patients with infertility .J-clin .Endocrinol .Metab .Jul ; 85 (7) : 2526-36 .

Cytogenetic Study in infertile Women in AL-Qadisiyah Government

Hayder A .Muter
College of medicine

Abstract

The aim of this study is to the reveal some causes factors for infertility for four years (2003-2007) , The present research found gradually evaluation in percentage of infertility And limited ratio of primary infertility (73 .6 %) , and secondary infertility (26 . 4 %) for study samples which are (110) women random samples for infertility women and collected from dilveary for children hospital in Diwaniyah city , and 30 women as control sample .
This study shows the high percentage of infertile women found between age (25 – 29) years and (30 -34) years . also studied Karyotype for samples , Numerical chromosomal abnormalities were Mosaic sex chromosome (45,X0) in percent (9.1.%.) and (XXX , 47) in per.(13.33%) from blood cells , structural chromosomal abn. were not record any case in studied samples , in addition to study of sister chromatide exchange was significant deference ($p \leq 0.05$) between primary infert .(6.7) and second infertility(6.9) in comparate with control sample (3.9) .
The result of micranucles test were siginificant deferences ($p \leq 0.05$) .

(الملحق)
استمارة البحث

اسم المريضة :
العمر :
المهنة :
السكن :
العنوان السابق :
هل عانيت سابقاً من حالة اجهاض او اسقاط :
هل عانيت من امراض اخرى :
تاريخ الزواج :
هل تناولت عقاقير او أي علاج اخر :
التدخين نعم لا

ملاحظة : يرجى التعاون معنا لاكمال متطلبات البحث
والتأكد من صحة المعلومات ايضاً