

تأثيرات المستخلصات الايثانولية لنبات الكبر على الاستجابة المناعية الخلطية في الفئران المعاملة بالافلاتوكسين B1

إسراء عدنان شاكر*، عبد علي ذاكر** وعبد الوهاب بدويي حسين***

*وزارة التربية

**كلية العلوم/ جامعة الأنبار

***كلية الطب البيطري/ جامعة الفلوجة

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى إنتاج سموم الافلاتوكسين B1 من فطر اسبرجلس فلافس ودراسة تأثيرها على الاستجابة المناعية الخلطية، وذلك بقياس تراكيز الامينوكلوبينات IgE, IgM, IgG, IgA وقياس تراكيز المتممات C3, C4 في الفئران المعاملة بالافلاتوكسين B1. إذ أظهرت نتائج التحليل النوعي HPLC قابلية عزلات فطر اسبرجلس فلافس المعزولة من مصادر غذائية شرائح البطاطا والمعكرونة والحب الأحمر والشامية والبنديق والذرة والبقول السوداني وعزلة من السمك على إنتاج الافلاتوكسين B1 وينسب متفاوتة إذ سجلت عزلة فطر الاسبرجلس فلافس المعزولة من الفول السوداني أعلى معدلات لإنتاج الافلاتوكسين B1 إذ بلغت 213760.28 جزء بالمليون. استخدم 40 من ذكور الفئران البيض قسمت إلى ثمانية مجاميع أعطيت ثلاث مجاميع سموم الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعد ساعتين أعطيت المستخلصات الايثانولية الخام والفينولات والقلويدات بتركيز 250 ملغم/ مل وأعطيت المجموعة الرابعة فقط سموم الافلاتوكسين B1 أما المجاميع الثلاث الأخرى أعطيت فقط المستخلصات الايثانولية أما المجموعة الأخيرة أعطيت المحلول الملحي. أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع معنوي في تراكيز الامينوكلوبينات المناعية IgM, IgG, IgA في الفئران التي أعطيت المستخلص الخام بعد إعطائها الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون إذ بلغت أعلى معدلات تراكيز IgM, IgG, IgA (139.06، 3223.80، 339.66) ملغم/ 100 مل على التوالي. مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 التي بلغت تراكيز IgM, IgG, IgA (20.23، 108.66، 25.30) ملغم/ 100 مل على التوالي. وكذلك سجلت نتائج دراستنا ارتفاعاً معنوياً في تركيز IgE إذ بلغت 22 وحدة دولية في الفئران التي أعطيت المستخلص الخام بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون مقارنة بالسيطرة الموجبة التابعة إذ بلغت 2.83 وحدة دولية. أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع معنوي في تراكيز المتممات C3, C4 في الفئران التي جرعت بالمستخلصات الخام والفينولات والقلويدات بعد ساعتين من إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 إذ بلغت أعلى معدلات تراكيز C3, C4 (279.33، 132.20) ملغم/ 100 مل على التوالي في الفئران التي أعطيت المستخلص الخام بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 إذ بلغت تراكيز المتمم C3, C4 (17.50، 12) ملغم/ 100 مل على التوالي. نستنتج من الدراسة ان لنبات الكبر له تأثيرات منشطة مناعيا في الفئران.

الكلمات المفتاحية: المستخلصات الايثانولية، نبات الكبر، الاستجابة المناعية الخلطية، الفئران، الافلاتوكسين B1

E-mail: aaass.bv43@gmail.com

Received: 4-11-2018

Accepted: 23-12-2018

The effects of capparitis spinosa ethanol extracts on humoral immune responses in mice treated with aflatoxin B1

Asraa Adnan Shaker^{*}, Abid Ali Thaker^{**} and Abdalwahab Bdewi Hussain^{***}

^{*}Ministry Education

^{**}College of Sciences/ University of Anbar

^{***}College of Veterinary Medicine, University of Fallujah

Abstract

The results of this investigation had demonstrated the production of aflatoxins from *Aspergillus flavus* and study effects on humoral immune by measuring the concentrations of immunoglobulins IgA, IgG, IgM, IgE and measurement of concentrations of the complements C3, C4 in mice with treated of Aflatoxin B1. The results of qualities analysis HPLC showed the ability of isolation of *Aspergillus flavus* from chips, macroni, red sun flower, shamia, hazelnut, corn and peanut and isolate from fish to produce aflatoxin with different rate. The isolation of *Aspergillus flavus* which isolated from peanuts recoded the highest rate of production of aflatoxin B1 which it reached to (213760.28) ppm. 40 male mice were used experimentation they divided into eight groups. Three groups of mice were gave aflatoxin B1 56.3 ppm and after 2 hours treated by ethanolic extracts crude phenol and alkaloid in 250 mg/ ml while the fourth group was given aflatoxin B1 only, while the fifth, sixth and seventh groups were treated with ethanolic extracts only and the eight group was given control groups PBS. The results of study showed a significant increase in concentrations immunoglobulins IgA, IgG, IgM in the mice that dosage of extracts crude after gave aflatoxin B1 56.3 ppm it reached the highest concentration of IgA, IgG, IgM (139.06, 3223.80, 339.66) mg/ 100 ml respectively compared with positive control that gave aflatoxin only it reached IgA, IgG, IgM (20.23, 108.66, 25.30) mg/ 100 ml respectively. The results of the study also recoded a significant increase in the IgE concentration of 22 IU in mice that gave the crude extract after giving aflatoxin B1 with concentrations of 56.3 ppm compared to positive control of 2.83 IU. The results of the study showed a significant increase in concentration of complements C3, C4 in mice that dosage ethanolic extracts crude phenols and alkaloid after two hours gave aflatoxin B1. The highest concentration of C3, C4 (279.33, 132.20) mg/ 100 ml respectively in mice that gave crude extract after given aflatoxin B1 in compared with positive control that gave aflatoxin B1 only it reached concentrations C3, C4 (12, 17.50) mg/ 100 ml respectively. We concluded of that caper plant has immune stimulatory effects in mice.

Keyword: ethanol extracts, capparitis spinose, immune responses, mice, aflatoxin B1

المقدمة

يمثل تلوث الأغذية والأعلاف بالفطريات والسموم الفطرية تهديداً للعديد من الدول النامية ولاسيما تلك التي تفتقر إلى ظروف الخزن الجيدة، وتعد مصدر قلق كبير جداً (1)، وأطلق مصطلح القاتل الصامت (Silent killers) على السموم الفطرية. وتسبب السموم الفطرية حالات التسمم في اللبائن وأنواع من الطيور. ويعد الأفلاتوكسين من أكثر أنواع السموم الفطرية المسببة لتلوث الأغذية، والافلاتوكسينات هي مركبات الأيض الثانوي Secondary metabolic (2، 3). وهو ينتج من الفطرين *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus flavus*. وتوجد أربعة أنواع من الأفلاتوكسين وهي: AFB1، AFB2، AFG1، AFG2 تنتج كلاً من AFB2 و AFB1 بواسطة الفطر *A. flavus* في حين تنتج الأنواع AFG1، AFG2 من كلا الفطرين *A. parasiticus*، *A. flavus*. وتعد جزيئة الأفلاتوكسين B1 ذات سمية عالية جداً، ولقد صنفت الوكالة المحلية للبحث والسرطان

IARC افلاتوكسين B1 الأول في إحداه سرطان الكبد (4، 5، 6). من التأثيرات الأخرى للتسمم بالافلاتوكسين المزمع هي إضعاف وظائف الجهاز المناعي للجسم، عن طريق اختزال فعالية الخلايا للمفاوية التائية T-cell أو بسبب انخفاض الامينوكلوبيينات المناعية IgA, IgG, IgM في الطيور وانخفاض المتممات Complements في الدجاج (7). وبذلك فان وظائف الجهاز المناعي تتأثر سلباً بزيادة الإصابة بالافلاتوكسين وبهذا فإن الافلاتوكسين B1 يثبط الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية وبالتالي يجعل الأفراد أكثر عرضة للإصابة بالأمراض والجراثيم والطفيليات (8). ومن أجل المساهمة العملية في التحري عن فعالية مستخلصات الكبد في درء أو معالجة الافلاتوكسين B1 كان هدف الدراسة هو قياس تراكيز الكلوبولينات المناعية IgM, IgG, IgA, IgE. وكذلك قياس تراكيز المتممات C3, C4.

المواد وطرائق العمل

استخدم 40 من ذكور الفئران البيض من البيت الحيواني التابع لكلية الطب/ جامعة النهدين إذ وضعت في كلية العلوم/ جامعة الأنبار أقفاص فرشت بالنشارة وجهزت الحيوانات بالطعام والماء يومياً مع تغيير النشارة يومياً وكانت بعمر 5-6 أسابيع ووزن (20-35) غم. قسمت إلى ثمانية مجاميع أعطيت ثلاث مجاميع سموم الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعد ساعتين أعطيت المستخلصات الايثانولية الخام والفينولات والقلويدات بتركيز 250 ملغم/مل وأعطيت المجموعة الرابعة فقط سموم الافلاتوكسين B1 أما المجاميع الثلاث الأخرى أعطيت فقط المستخلصات الايثانولية واعتبرت سيطرة موجبة أما المجموعة الأخيرة أعطيت المحلول الملحي. حصل على دم الفئران بواسطة قطع الوريد العنقي ووضع الدم في أنابيب معقمة حاوية على مادة مانع التجلط الهيبارين ثم نبذ بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق وبعدها سحب المصل ووضع في أنابيب ابندروف معقمة ووضع في درجة حرارة -20 م° لحين الاستعمال. جمعت 10 مواد من مصادر غذائية مختلفة وهي شرائح البطاطا العراقي وشرائح البطاطا الإيراني والشامية والمعكرونة والحب الأحمر والبندق والذرة والبقول السوداني ودوار الشمس وعزلة من السمك وواقع ثلاث عينات لكل مادة ووزن 150 غم لغرض الحصول على عزلات فطر *Aspergillus flavus* المنتج للافلاتوكسين (9).

نقلت عينات المواد الغذائية إلى مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة- كلية العلوم/ جامعة الأنبار وقطعت إلى قطع صغيرة 5 ملم وعقمت سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم بتركيز 2% لمدة دقيقتين. تم غسلها بالماء المقطر المعقم، ثم وضعت على أوراق الترشيح للتخلص من الماء وزرعها في أطباق بلاستيكية قطرها 8 سم تحوي وسط SDA وذلك بوضع أربع قطع من المادة الغذائية على بعد 3 سم عن حافة الطيف وقطعة خامسة في وسط الطبق وكررت العملية ثلاث مرات (مكررات) لكل مادة غذائية ثم حضنت الأطباق تحت درجة حرارة 25 ± 2 لمدة أسبوع وبحسب الطريقة المذكورة في (10، 11). ثم نقيت العزلات الفطرية باتباع طريقة النقل المتتالي للمستعمرات الفطرية على الوسط الزراعي نفسه بعدها شخصت اعتماداً على صفاتها المظهرية والمجهريه بحسب الطريقة المذكورة في (12).

- الكشف عن قدرة عزلات فطر *A. flavus* على إنتاج الافلاتوكسين باستخدام محلول الأمونيا: تم الكشف عن قدرة عزلات فطر *A. flavus* بحسب ما ورد في (13).
- تحضير المزارع الفطرية: استعمل الوسط الطبيعي المكون من الأرز 50 غم مضافاً إليه 25 مل من الماء المقطر في دورق سعته 250 مل وعقم هذا الوسط بدرجة حرارة 121 م° لمدة 20 دقيقة في جهاز الموصدة بعد ذلك زرعت كل عزلة من عزلات الفطر النقية على هذا الوسط لمعرفة إنتاجها لسموم الافلاتوكسين وعمل لكل عزلة 3 مكررات ثم حضنت المزارع الفطرية في درجة حرارة 28 م° لمدة 17 يوماً.

- مضاعفة إنتاج الأفلاتوكسين B1: استعملت الطريقة الواردة من قبل (14)، وتم قياس الأفلاتوكسين B1 بواسطة جهاز HPLC.
 - استخلاص الأفلاتوكسين من المزارع الفطرية: استعملت الطريقة المذكورة في (15) وتم الكشف عن الأفلاتوكسين بواسطة جهاز HPLC.
 - الكشف عن الأفلاتوكسين بواسطة جهاز HPLC: تم الكشف عن الأفلاتوكسين في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا باستخدام جهاز HPLC استعملت في هذه الطريقة جهاز نوع Shimadzu Lc-2010 AHT.
 - جمع النبات وتصنيفه: جمع نبات الكبر طازجاً من منطقة أبو غريب حدائق كلية الزراعة/ جامعة بغداد ومن منطقة خان ضاري في الشهر الخامس والشهر التاسع لسنة 2016، وصنف من قبل الدكتورة سكيبة عباس عليوي كلية العلوم/ جامعة بغداد والدكتور محمد عثمان موسى كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة الأنبار. نقلت عينات أوراق نبات الكبر إلى مختبر كلية العلوم/ جامعة الأنبار، غسلت بشكل جيد باستخدام الماء العادي والماء المقطر، نشرت على أوراق في مكان بعيد عن الضوء المباشر وذو تهوية جيدة مع التقليب المستمر. طحنت الأوراق بمطحنة كهربائية وعبئت في حاويات معقمة وذات سداد محكم وحفظت في مكان بارد بعيد عن الضوء المباشر.
 - تحضير مستخلصات نبات الكبر: تم تحضير المستخلصات (الخام، الفينولي، الفلويدي) لنبات الكبر حسب الطرائق المذكورة في (16).
 - فحص الأجسام المضادة.
 - التقدير الكمي لمستوى أضداد الكلوبولينات المناعية (IgA, IgM, IgG, IgE) وبروتينات نظام المتمم (C3, C4) في المصل: باستعمال طريقة Single Radial Immuno Diffusion الانتشار المناعي الشعاعي المفرد في الهلام، إذ تم استعمال العدة المجهزة من شركة LTA الإيطالية على وفق تعليمات الشركة المجهزة.
 - قياس تراكيز الأجسام المضادة IgE: استعمل جهاز Cobase 411 من شركة Roch الألمانية والذي يعمل بتقنية Electrochemiluminescence (ECL) وبالألية Automation. من خلال وضع (10) مايكروليتر من المصل في الجهاز وتظهر النتائج بعد 45 دقيقة.
 - التحليل الإحصائي: استعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) وجرى تحليل بيانات بحسب برنامج الإحصائي الجاهز (SAS, 2010) (17) وقورنت متوسطات المعاملات لكل صفة باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan (1955) (18) لتحديد معنوية فروق بين متوسطات.
- النتائج والمناقشة**
- عزل وتشخيص فطر اسبرجلس فلافس *Aspergillus flavus*.**
- الصفات المزرعية: تم تشخيص الفطر *Aspergillus flavus* من خلال الصفات المزرعية بظهور مستعمرات خضراء شعاعية نمت على الوسط سابرويد أكار Sabrouard agar وصل النمو إلى حافة الطبق بعد مرور أسبوع من حضنها بحرارة 28 م° إذ يظهر السطح العلوي للطبق بلون أخضر (شكل 1)، وأما السطح السفلي (مقلوب الطبق) فكان بلون أصفر (شكل 2).



شكل (1) نمو فطر *A. flavus* في وسط سابرويد SDA بدرجة حرارة 25 م لمدة أسبوع (يظهر بلون الأخضر)



شكل (2) مقلوب الطبق تظهر بلون ذهبي

- الصفات المجهرية **Microscopic characteristics**: تم تحضير العديد من الشرائح وصبغت بصبغة اللاكتوفينول Lactophenol cotton blue إذ ظهر غزلاً فطرياً مقسماً يبرز منه حوامل كونيديية شعاعية مستندقة ذات جدران سميكة تنتهي بحويصلات بيضوية الشكل مغطاة بالكامل بصف واحد من التراكيب القارورية تحمل كل واحدة منها على قمته سلسلة من الكونيدات الكروية المشوكة (شكل 3) وهذه الصفات تطابق تماماً الصفات الطبيعية للنوع *A. flavus* بحسب المفتاح التصنيفي الخاص لجنس اسبرجلس فلافس (10، 19).



شكل (3) فطر *A. flavus* مصبوغة بصبغة Lactophenol cotton blue يوضح رأس كونيدي Conidial head (40 x)

الكشف عن سموم الافلاتوكسينات.

- الكشف عن سموم الافلاتوكسينات باستخدام محلول الأمونيا: بينت نتائج الكشف الكيميائي باستخدام وسط جوز الهند والأمونيا قدرة عزلات فطر *A. flavus* المعزولة من الفول السوداني والشامية والحب الأحمر وشرائح البطاطا العراقي وشرائح البطاطا الإيراني والذرة والمعرونة والبندق والسمك على إنتاج الافلاتوكسين B1 من خلال تغيير لون المستعمرة من اللون الشفاف إلى اللون الوردي أو اللون الوردي الغامق في حين كانت عذلة فطر الاسبرجلس فلافس المعزولة من دوار الشمس غير منتجة للافلاتوكسين B1 إذ لم يتغير لون المستعمرة جدول (1). تتباين السلالات الفطرية في قدرتها على إفراز الافلاتوكسين فبعضها قد يفرز سموم الافلاتوكسين B1 وبعضها لا يفرزه (13)، اعتماداً على نوع السلالة الفطرية (20). إن تقنية استخدام الكشف بواسطة الأمونيا عن الافلاتوكسين B1 هي تقنية سريعة (21).

جدول (1) قدرة عزلات الفطر *A. flavus* على إنتاج الافلاتوكسين B1 باستعمال محلول الأمونيا

| رقم المادة | المادة الغذائية | مصدرها | القدرة على إنتاج الافلاتوكسين |
|------------|-----------------|----------|-------------------------------|
| 1. | الفول السوداني | الصين | + |
| 2. | شامية | العراق | + |
| 3. | حب أحمر | العراق | + |
| 4. | شرائح بطاطا | إيراني | + |
| 5. | ذرة | البرازيل | + |
| 6. | معرونة | تركيا | + |
| 7. | شرائح بطاطا | العراق | + |
| 8. | بندق | لبنان | + |
| 9. | عذلة من السمك | العراق | + |
| 10. | دوار الشمس | الإمارات | - |

- الكشف عن الافلاتوكسينات باستخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC: أظهرت نتائج الدراسة جدول (2) التحليل النوعي باستخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC قدرة العزلات (1-9) على إنتاج الافلاتوكسين B1 وينسب متفاوتة إذ أعطت عذلة فطر الاسبرجلس فلافس المعزولة من الفول السوداني وأعلى إنتاج للافلاتوكسين B1 إذ بلغت (213760.28 جزء بالمليون) تلتها عزلات الفطر المعزولة من الذرة والمعرونة إذ بلغت (0.3117، 1.0185) جزء بالمليون على التوالي. في حين سجلت عذلة فطر الاسبرجلس فلافس المعزولة من البندق أقل إنتاج للافلاتوكسين B1 إذ بلغت (0.0693 جزء بالمليون). وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحث (22) الذي وجد أن عذلة فطر الاسبرجلس فلافس المعزولة من الفول السوداني أعطت أعلى تركيز للافلاتوكسين B1. وكذلك تتفق نتائجنا مع الباحث (23) الذي حصل على التركيز 386000-415000 ملغم/كغم من الافلاتوكسين B1 من عذلة واحدة من فطر الاسبرجلس فلافس والتي نمت في أربعة أوساط زرعية من الأرز. استنتج الباحث (24) أن 37% من سلالات فطر الاسبرجلس فلافس منتجة للافلاتوكسين B1، إذ لوحظ أن هذه السلالات لها قدرة عالية على إنتاج الافلاتوكسين B1 في حبوب الأرز في ظروف مثالية. إذ حصل على الافلاتوكسين B1 بتركيز 124101 ملغم/كغم عند قياسه بجهاز HPLC وعند تنمية مزرعة فطر الاسبرجلس فلافس المتممة للافلاتوكسين في الأرز. ولقد أشارت دراسات أخرى إلى أن عزلات فطر الاسبرجلس فلافس من الذرة لها قدرة عالية على إنتاج الافلاتوكسين B1 (9). لقد أثبتت العديد من الدراسات أن الأرز هو واحد من أفضل المواد لإنتاج

الافلاتوكسين B1 بواسطة الاسبرجلس فلافس (25). وكذلك سجلت نتائج دراستنا الحالية الحصول على الافلاتوكسين من عزلات الفطر المعزولة من شرائح البطاطا الإيراني والحب الأحمر والشامية وعزلة السمك والحبس العراقي إذ بلغت (0.1137، 0.1140، 0.2460، 0.2625، 0.2931) جزء بالمليون على التوالي وهذا يتفق مع (26، 27، 28).

جدول (2) قدرة عزلات الفطر *A. flavus* على إنتاج الافلاتوكسين B1 باستخدام تقنية HPLC

| المادة الغذائية | مصدرها | كمية الافلاتوكسين B1 مقدره جزء بالمليون |
|-----------------|----------|---|
| القول السوداني | الصين | 213760.28 |
| شامية | العراق | 0.2460 |
| حب أحمر | العراق | 0.1140 |
| شرائح بطاطا | إيران | 0.1137 |
| ذرة | البرازيل | 0.3117 |
| معكرونة | تركيا | 1.0185 |
| شرائح بطاطا | العراق | 0.2931 |
| بندق | لبنان | 0.0693 |
| عزلة السمك | العراق | 0.2625 |
| دوار الشمس | الإمارات | 0 |

- نتائج فحص الأجسام المضادة: أظهرت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في معدلات إنتاج الأجسام المضادة IgE, IgG, IgM, IgA في المجموعات التي أعطيت المستخلصات الايثانولية لنبات الكبر بعد إعطائها الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون إذ بلغت اعلى معدلات تراكيز IgM, IgG, IgA (139.06، 3223.80، 339.66) ملغم/ 100 مل على التوالي في الفئران التي جرعت المستخلص الخام بتركيز 250 ملغم/ مل بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 مقارنة بمجموعة السيطرة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 إذ بلغت تراكيز IgM, IgG, IgA (20.23، 108.66، 25.30) ملغم/ 100 مل على التوالي.

في حين بلغت معدلات الأجسام المضادة IgM, IgG, IgA (109.63، 2979.53، 132.43) ملغم/ 100 مل على التوالي في الفئران التي أعطيت المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل بعد إعطائها الافلاتوكسين B1 مقارنة بالسيطرة الموجبة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1.



شكل (4) الانتشار المناعي المفرد للأجسام المضادة نوع IgG في الفئران المجرعة بالافلاتوكسين B1 ثم أعطيت مستخلصات نبات الكبر

أما المجموعة التي أعطيت المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 فبلغت معدلات تراكيز الأجسام المضادة IgM, IgG, IgA (133.13، 2826.37، 109.56) ملغم/ 100 مل على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1. (جدول 3)

جدول (3) تأثير التجريع بالمستخلصات الايثانولية لنبات الكبر على معدلات تراكيز إنتاج الأجسام المضادة نوع IgA, IgM, IgA ملغم/ 100 مل في الفئران المعاملة بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 (جزء من المليون)

| معدلات تراكيز الأجسام المضادة ملغم/ 100 مل | | | المعاملات |
|--|-------------------------|-------------------------|---|
| IgM | IgG | IgA | |
| 339.66 ± 7 c | 3223.80 ± 69.48 a | 139.06 ± 0.84 a | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الخام |
| 132.43 ± 3.14 d | 2979.53 ± 43.22 c | 109.63 ± 0.97 bcd | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 133.13 ± 1.93 d | 2826.37 ± 21.49 a | 109.56 ± 3.62 bcd | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 25.30 ± 1.99 f | 108.66 ± 4.39 j | 20.23 ± 2.97 f | السيطرة الموجبة أعطيت فقط الافلاتوكسين بتركيز 56.3 جزء بالمليون |
| 95.36 ± 4.95 e | 233.16 ± 14.05 i | 91.46 ± 1.88 de | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الخام بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 140.63 ± 26.75 d | 296.83 ± 7.53 gh | 94.56 ± 12.46 de | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 123.13 ± 7.30 d | 344.23 ± 23.73 g | 83.96 ± 5.96 e | سيطرة أعطيت فقط المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 127 ± 3.11 d | 162.50 ± 13.10 ij | 96.80 ± 10.26 de | سيطرة سالبة أعطيت فقط المحلول الملحي PBS |

تشير الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات ($P < 0.05$)

وهذا يتفق الباحث (29) الذي لاحظ ارتفاع معيار الأجسام المضادة Antibody titer في الدجاج الذي أعطي المستخلص الزيتي لنبات *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 في الغذاء مقارنة بمجموعة السيطرة التي أعطيت فقط سموم الافلاتوكسين B1 (30). أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدلات إنتاج الأجسام المضادة IgE في المجموعات التي أعطيت المستخلصات الايثانولية الخام والفينولات والقلويدات بعد إعطائها الافلاتوكسين B1. إذ بلغت أعلى معدلات تراكيز IgE 22 وحدة دولية في المجموعة التي أعطيت المستخلص الخام بعد إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 مقارنة بمجموعة السيطرة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 إذ بلغت تراكيز IgE 2.83 وحدة دولية. (جدول 4)

جدول (4) تأثير التجريع بالمستخلصات الايثانولية لنبات الكبر على معدلات تراكيز إنتاج الأجسام المضادة نوع IgE وحدة دولية في الفئران المعاملة بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 (جزء من المليون)

| معدل تراكيز الأجسام المضادة IgE وحدة دولية | المعاملات |
|--|---|
| 22 ± 1.38 a | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الخام |
| 6.03 ± 0.08 de | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 5.73 ± 0.14 de | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 2.83 ± 0.16 e | السيطرة الموجبة أعطيت فقط الافلاتوكسين بتركيز 56.3 جزء بالمليون |
| 7.03 ± 0.55 de | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الخام بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 7.20 ± 0.75 de | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 8.05 ± 9.72 b | سيطرة أعطيت فقط المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 5 ± 0.28 de | سيطرة سالبة أعطيت فقط المحلول الملحي PBS |

تشير الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات ($P < 0.05$)

ولقد عزى سبب ذلك إلى المكونات الكيميائية الفعالة في المستخلص من مركبات الفينولات والتي تعمل على حماية الخلايا وبفعليته المضادة للأكسدة، وسجل الباحث (31) ارتفاعاً في معدلات الأجسام المضادة IgG, IgM في مجاميع الجرذان المعاملة بكريات الدم الحمراء للأغنام والمركب الكيميائي سايكلوفوسفاميد Cyclophosphamide وبعدها عولجت بالمستخلص الميثانولي للأجزاء الهوائية لنبات الكبر (32). وهذا يتوافق مع دراسة الباحث (33) الذي وجد أن نبات الكبر من النباتات الطبية المعدلة للمناعة (المنشطة). كذلك سجلت نتائج دراستنا انخفاضاً معنوياً في معدلات تراكيز الأجسام المضادة IgM, IgG, IgA في مجموعة السيطرة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون ولم تعط مستخلصات نبات الكبر.

وهذا يتفق مع نتائج الباحثين (34، 35، 36) إذ يعمل الافلاتوكسين B1 على تثبيط الجهاز المناعي وكبح الاستجابة المناعية الخلطية وخفض تراكيز الأجسام المضادة IgA, IgE, IgM, IgG (37).

- تأثير التجريع بالافلاتوكسين B1 والمستخلصات الايثانولية لنبات الكبر على معدلات تراكيز المتمم C3 و C4 في الفئران البيض: سجلت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في معدلات تراكيز المتمم C3, C4 في المجموعة التي أعطيت المستخلص الايثانولية الخام والفينولات والقلويدات بعد إعطائها الافلاتوكسين B1. إذ بلغت أعلى معدلات تراكيز C4, C3 (132.20، 279.33) ملغم/ 100 مل على التوالي. في المجموعة التي أعطيت المستخلص الخام بتركيز 250 ملغم/ مل بعد ساعتين من إعطائها سموم الافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون. مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة التي أعطيت فقط الافلاتوكسين B1 إذ بلغت تراكيز C3, C4 (12، 17.50) ملغم/ 100 مل على التوالي. (جدول 5) شكل (5). وهذا يتفق مع الباحثين (38) الذين أثبتوا أن المنتجات النباتية تعمل على إزالة سموم الافلاتوكسين B1 (39، 40). في حين سجلت نتائج الدراسة الحالية انخفاضاً معنوياً ($P > 0.05$) في معدلات تراكيز المتمم C3, C4 في مجاميع السيطرة التي أعطيت فقط سموم الافلاتوكسين B1 وهذا بسبب ارتباط الافلاتوكسين B1 مع الأنزيمات التي تستخدم في عمليات البدء والاستساخ والترجمة لبناء البروتينات إذ يتداخل مع مركبات البيورينات Purines مما يؤدي إلى تكوين مركبات إضافية مع DNA وبالتالي يثبط تخليق mRNA وبالتالي يثبط تخليق البروتينات وهذا ربما يفسر انخفاض بروتينات المتممات (8، 41).

جدول (5) تأثير التجريع بالمستخلصات الايثانولية لنبات الكبر على معدلات تراكيز المتممات C3, C4 في الفئران البيضاء المعاملة بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 (جزء من المليون)

| معدلات تراكيز المتممات C4, C3 ملغم/ 100 مل | | المعاملات |
|--|-----------------------|---|
| C4 | C3 | |
| 132.20 ± 1.07 a | 279.33 ± 4.84 a | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الخام |
| 87.23 ± 4.32 c | 229.40 ± 2.32 d | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 84.36 ± 2.42 c | 147.36 ± 4.82 g | فئران جرعت بالافلاتوكسين B1 بتركيز 56.3 جزء بالمليون وبعدها أعطيت المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 12 ± 0.63 e | 17.50 ± 1.21 j | السيطرة الموجبة أعطيت فقط الافلاتوكسين بتركيز 56.3 جزء بالمليون |
| 115.03 ± 2.96 b | 118.33 ± 4.70 i | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الخام بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 108.96 ± 3.54 b | 230.66 ± 1.88 d | سيطرة أعطيت فقط المستخلص الفينولي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 66.53 ± 2.27 d | 136.66 ± 3.27 h | سيطرة أعطيت فقط المستخلص القلويدي بتركيز 250 ملغم/ مل |
| 71.66 ± 6.11 d | 176.56 ± 3.30 c | سيطرة سالبة أعطيت فقط المحلول الملحي PBS |

تشير الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات ($P < 0.05$)



شكل (5) الانتشار المناعي المنفرد بروتين المتمم نوع C3 عند التجريع بالافلاتوكسين B1 ومستخلصات نبات الكبر.

المصادر

1. Makun, H. A.; Anjorin, S. T.; Moronfoye, B.; Adejo, F. O.; Afolabi, O. A.; Fagbayibo, G.; Balogun, B. O. & Surajudeen, A. A. (2010). Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria. *Afr. J. Food Sci.*, 4(4): 127- 135.
2. McCullum, C.; Tchounwou, P.; Ding, L. S.; Liao, X. & Liu, Y. M. (2014). Extraction of aflatoxins from liquid foodstuff samples with polydopamine-coated superparamagnetic nanoparticles for HPLC-MS/MS analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 62(19):4261-4267.
3. Zhang, C.; Selvaraj, J. N.; Yang, Q. & Liu, Y. (2017). A survey of aflatoxin-producing *Aspergillus* sp. from peanut field soils in four agroecological zones of China. *Toxins(Basel).*, 9(1): 40.
4. Fernández-Cruz, M. L.; Mansilla, M. L. & Tadeo, J. L. (2010). Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. *J. Adv. Res.*, 1(1):113- 122.
5. Kensler, T. W., Roebuck, B. D.; Wogan, G. N. & Groopman, J. D. (2011). Aflatoxin: a 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicol. Sci.*, 120 (Suppl. 1) :S28-S48.
6. Jiang, M.; Peng, X.; Fang, J.; Cui, H.; Yu, Z. & Chen, Z. (2015). Effects of Aflatoxin B1 on T-Cell Subsets and mRNA Expression of Cytokines in the Intestine of Broilers. *Int. J. Mol. Sci.*, 16 (4): 6945- 6959.
7. Ertekin, O.; Pirincci, S. S. & Ozturk, S. (2016). Monoclonal IgA Antibodies for Aflatoxin Immunoassays. *Toxins (Basel)*, 8(5): 148.
8. Bbosa, G. S.; Kitya, D.; Lubega, A.; Ogwal-Okenga, J.; Anokbonggo, W. W. & Kyegombe, D. B. (2013). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body system. InTech: Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects. PP. 239- 265.
9. حسن، مؤيد سلمان. (2015). دراسة قابلية بعض عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على إنتاج سموم الافلاتوكسين الملوثة لبعض المحاصيل المحلية. مجلة الفرات للعلوم الزراعية. 7 (4): 161- 167.
10. Watanabe, T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Second Edition, CRC Press LLC.
11. Hedayati, M. T.; Pasqualotto, A. C.; Warn, P. A.; Bowyer, P. & Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153(Pt 6): 1677-1692.

12. Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Science and Business Media, London, New York.
13. العبودي، سارة عبد الكريم مخيف؛ الحسيني، ابتهاج معز عبد المهدي وعبيد، حسين جاسم. (2015). عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم الأفلاتوكسين B1 من بعض الأغذية المحلية في أسواق محافظة بابل. مجلة جامعة بابل. العلوم الصرفة والتطبيقية، 23 (3): 925-938.
14. هاشم، عبد الكريم جاسم؛ علي، وصال هشام والقيسي، مهدي ضمد. (2008). التأثير التثبيطي للمستخلص الزيتي لنبات القرفة (*zeylanicum Cinnamomum*) في نمو وانتاج الأفلاتوكسين B1 من للفطر *Aspergillus flavus*. المجلة العراقية للعلوم، 49 (1): 74-85.
15. Moreau, C. (1974). Moisissures toxiques dans L' alimentation. E. D. Masson Et Cie. Paris 2eme edition. P. 471.
16. Harborne, J. B. & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry, 55(6): 481-504.
17. SAS. (2010). Statistical analysis system. User's Guide. Statistical. Version 9th ed. SAS. Inst. Inc. Cary N. C., USA.
18. Duncan, D. (1955). Multiple range and multiple F-test. Biometrics, 11: 1-24.
19. Williams-Wood ward, J. (2001). Simplified Fungi Identification Key. The University of Georgia, College of Agriculture and Environmental Sciences.
20. فحطان، فتحي عبد الله. (2002). الكشف عن سموم أفلا B1 B2 وسم الأوكرا A في الذرة الصفراء وبعض منتجاته. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/ جامعة بغداد.
21. Abbas, H. K.; Weaver, M. A.; Zablutowicz, R. M.; Horn, B. W. & Shier, W. T. (2005). Relationships between aflatoxin production and sclerotia formation among isolates of *Aspergillus* section *Flavifrom* the Mississippi Delta. Eur. J. Plant Pathol., 112(3): 283-287.
22. Rajarajan, P. N.; Rajasekaran, K. M. & Devi, N. K. A. (2013). Isolation and quantification of aflatoxin from aspergillus flavus infected stored peanuts. Indian J. Pharm. Biol. Res., 1(4):76-80.
23. Reddy, K. R. N.; Saritha, P.; Reddy, C. S. & Muralidharan, K. (2009). Aflatoxin B1 producing potential of *Aspergillus flavus* strains isolated from stored rice grains. Afr. J. Biotechnol., 8(14): 3303-3308.
24. Lai, X.; Zhang, H.; Liu, R. & Liu, C. (2015). Potential for aflatoxin B1 and B2 production by *Aspergillus flavus* strains isolated from rice samples. Saudi J. Biol. Sci., 22(2): 176- 180.
25. Reddy, K. R.; Raghavender, C. R.; Salleh, B.; Reddy, C. S. & Reddy, B. N. (2011). Potential of aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus* strains on commercially important food grains. Int. J. Food Sci. Technol., 46(1): 161-165.
26. الخلف، سما صفاء. (2011). دراسة التأثيرات السمية لأفلاتوكسين B1 و B2 في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية والنسجية المرضية لذكور الجرذ الأبيض وسبل الحد من تأثيراتها. رسالة ماجستير، كلية العلوم/ جامعة الكوفة.
27. شاكر، رنا جلال؛ تلج، كركز محمد ويديوي، أمين سلمان. (2012). عزل وتشخيص الأعفان المنتجة للسموم الفطرية من الأغذية الأكثر استهلاكاً في الأسواق العراقية. مجلة جامعة تكريت. 13 (1): 39-44.
28. الفتلاوي، إيمان عبد الواحد عبد الرحيم. (2014). دراسة جزئية لبعض الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات والمعزولة من بعض أنواع المكسرات. رسالة ماجستير، كلية العلوم للنبات/ جامعة بابل.

29. Issa, A. Y.; Volate, S. R. & Wargovich, M. J. (2006). The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. *J. Food Compos. Anal.*, 19(5): 405-419.
30. Wang, J. L.; Meng, X. I.; Lu, R.; Wu, C.; Luo, Y. T.; Yan, X.; Li, X. J.; Kong, X. H. & Nie, G. X. (2015). Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 435: 293- 300.
31. Aldehaili, F. A.; Almundarij, T. I.; Zaki, A. A. & Mousa, H. M. (2017). Immune response of rats, rabbits and chickens challenged with sheep erythrocytes and pretreated with capparid spinosa and cyclophosphamide. *Int. J. ChemTech Res.*, 10 (6): 1185- 1196.
32. Coutant, F. & Miossec, P. (2016). Altered dendritic cell functions in autoimmune diseases: distinct and overlapping profiles. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 12 (12): 703-715.
33. Anwar, F.; Muhammad, G.; Hussain, M. A.; Zengin, G.; Alkharfy, K. M.; Ashraf, M. & Gilani, A. H. (2016). *Capparis spinosa* L.: A Plant with High Potential for Development of Functional Foods and Nutraceuticals/Pharmaceuticals. *Int. J. Pharm.*, 12 (3): 201- 219.
34. Jiang, Y.; Jolly, P. E.; Preko, P.; Wang, J. S.; Ellis, W. O.; Phillips, T. D. & Williams, J. H. (2008). Aflatoxin-related immune dysfunction in health and in human immunodeficiency virus disease. *Clin. Dev. Immunol.*, 2008:790309.
35. Chen, Y. I.; Cheng, Y. W.; Tzeng, C. Y.; Lee, Y. C.; Chang, Y. N.; Lee, S. C.; Tsai, C. C.; Chen, J. C.; Tzen, J. T. & Chang, S. L. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptor activating hypoglycemic effect of *Gardenia jasminoides* Ellis aqueous extract and improvement of insulin sensitivity in steroid induced insulin resistant rats. *BMC Complement. Altern. Med.* 14:30.
36. Murphy, K. (2012). *Janeway's Immunobiology*. 8th ed., Garland Science: New York and London, PP. 161–166.
37. Kalantari, H.; Foruozandeh, H.; Khodayar, M. J.; Siahpoosh, A.; Saki, N. & Kheradmand, P. (2018). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Capparis spinosa* L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide- induced acute liver damage in mice. *J. Trad. Comp. Med.*, 8(1): 120- 127.
38. Hegazi, A. G.; Al-Guthami, F. M.; Al-Gethami, A. F. & El-Fadaly, H. A. (2017). Beneficial effects of capparid spinosa honey on the immune response of rats infected with toxoplasma gondii. *J. Pharm.*, 20 (2): 112- 118.
39. Wang, H.; Wang, H.; Shi, S.; Duan, J. & Wang, S. (2012). Structural characterization of a homogalacturonan from *Capparis spinosa* L. fruits and anti-complement activity of its sulfated derivative. *Glycoconj. J.*; 29(5-6): 379-387.
40. Livingstone, M. C.; Johnson, N. M.; Roebuck, B. D.; Kensler, T. W. & Groopman, J. D. (2017). Profound changes in miRNA expression during cancer initiation by aflatoxin B1 and their abrogation by the chemopreventive triterpenoid CDDO-Im. *Mol. Carcinog.*, 56(11): 2382–2390.
41. Livingstone, M. C.; Johnson, N. M.; Roebuck, B. D.; Kensler, T. W. & Groopman, J. D. (2017). Profound changes in miRNA expression during cancer initiation by aflatoxin B1 and their abrogation by the chemopreventive triterpenoid CDDO-Im. *Mol. Carcinog.*, 56(11): 2382-2390.