مجلة الزراعة العراقية مجلد١٣ عدد١ ص٩٤-١٠٠ كانون الثاني/٢٠٠٨

دراسة التفاعلات المناعية المشتركة بين بروتينات حليب الماعز المحلي والبقر

جاسم محمد صالح السعدي* عامر محمد علي الشيخ صالح** شعلان علوان المشايخي**

الملخص

أظهر استخدام الترحيل الكهربائي المناعي وجود تفاعلات مناعية مشتركة بين كازينات حليب الماعز والبقر تعود الى البيتاكازين، بينما لم يلاحظ وجود مثل هذه التفاعلات بين بيتالاكتوكلوبيولين والفالاكتالبومين حليب الماعز مع نظيراتها في حليب البقر. لوحظ وجود تفاعلات مناعية مشتركة قوية بين بروتينات حليب الماعز والبقر عند أجراء فحص صدمة فرط الحساسية في خنازير غينيا حيث ادى حقن حليب البقر في وريد الحيوانات المغذاة على حليب البقر الى هلاكها بنسبة ١٠٠% وكذلك كان الحال عند حقن حليب الماعز. استخدم فحص التلازن الدموي المنفعل لقياس عيارية الاجسام المضادة في مصل خنازير غينيا المغذاة حليب البقر تجاه بروتينات حليب البقر والماعز فكانت اعلى عيارية تجاه الكازين يعقبه البيتالاكتوكلوبيولين ثم الالفالاكتالبومين بالنسبة لبروتينات حليب البقر. اما بالنسبة لبروتينات حليب الماعز فقد كانت اعلى عيارية تجاه الكازين يعقبه الالفالاكتالبومين ثم البيتالاكتوكلوبيولين. وقد كانت عيارية الاجسام المضادة تجاه الفا أس كازين وكاباكازين حليب الماعز اقل من نظيراتها البقرية، بينما تشابه سلوك بيتاكازين حليب البقر والماعز.

المقدمة

يمكن تعريف فرط حساسية الاغذية بانها استجابة مناعية غير طبيعية تحدث في بعض الافراد تجاه اغذية خاصة وبشكل اكثر دقة تجاه بروتينات اغذية خاصة (١٧).

لقد بين Cordle (٥) ان المادة الغذائية كي تكون مسببة لفرط الحساسية يجب ان تكون لها القدرة على تحفيز الجهاز المناعي على احداث استجابة مناعية متخصصة وانتاج اجسام مضادة من الكلوبيولين المناعي نوع E (IgE)، وعادةً تستطيع ٢% من بروتينات الغذاء ان تمر في القناة الهضمية بدون هضم ومن ثم تمتص بشكل كامل في الامعاء محدثة استجابة مناعية تجاهها (١٦).

تباينت الاحصاءات حول عدد الاطفال الرضع المصابين بفرط حساسية تجاه بروتينات حليب البقر عالمياً، فقد ذكرت أحدى الدراسات (٦) ان هذه النسبة تبلغ ٠,٥-١٠% بينما حددت دراسة أخرى (٢١) هذه النسبة بمقدار ٠,٥-٧,٥% ، وقد اقترحت بعض الدراسات المعتمدة على تقنية الترحيل الكهربائي المناعية ان التفاعلات المناعية المشتركة بين بروتينات حليب البقر والماعز تعود بشكل رئيس الى الكازين والالفالاكتالبومين والبيتالاكتوكلوبيولين (١٠ و١٤).

ومن الناحية الاخرى سجلت العديد من الحالات السريرية التي تبين اهمية حليب الماعز بوصفه بديلاً للرضع المصابين بفرط حساسية حليب البقر (١٩)، ولكن لم تعرف حتى الآن الاسباب المناعية والميكانيكيات الحيوية التي تجعل

جزء من رسالة دكتوراه للباحث الاول.

* الكلية التقنية الزراعية – حلبجة – سليمانية، العراق.

** كلية الزراعة – جامعة بغداد – بغداد، العراق.

تاريخ تسلم البحث:نيسان/٢٠٠٥.

تاريخ قبول البحث: ك٢/٢٠٠٦.

حليب الماعز يمتلك هذه الاهمية (١٨)، فقد اشار Walker الى (٢٢) انه من بين ١٠٠ رضيع مصاب بفرط حساسية حليب البقر استطاع ٩٩ منهم ان يستهلكوا حليب الماعز دون أية مشاكل.

لهذا فقد هدف هذا البحث الى دراسة التفاعلات المناعية المشتركة بين بروتينات حليب الماعز والبقر بأستخدام تقنية الترحيل الكهربائي المناعية وفحص صدمة فرط الحساسية بأستخدام خنازير غينيا لبيان مدى ملاءمة حليب الماعز كغذاء للرضع المصابين بفرط حساسية تجاه بروتينات حليب البقر.

المواد وطرائق البحث

تم الحصول على بروتينات حليب الماعز والبقر النقية بأستخدام الطرائق التي ذكرها السعدي (٢). جهزت خنازير غينيا والأرانب من مركز الرازي للبحوث وانتاج العدد التشخيصية وشركة الكندي لانتاج اللقاحات البيطرية. غذيت الحيوانات على عليقتين خضراء ومركزة. وتم التاكد من خلو العليقة المركزة من بروتينات الحليب باستخدام اختبار الانتشار المناعي المزدوج (١٥). وضعت الحيوانات داخل اقفاص خاصة وفي درجة حرارة ٢٠-٢٥°م. استعمل ارنبان لتحضير المصل المضاد للكازينات وارنبان لتحضير المصل المضاد لبروتينات الشرش وحسب ما ذكره الطريحي (١)، اجريت عملية الترحيل الكهربائي المناعي بأستعمال الطريقة التي ذكرها السعدي (٢) والسامرائي (٣). تم احداث فرط الحساسية في خنازير غينيا تجاه بروتينات حليب البقر باستخدام الطريقة التي ذكرها McLaughlan وجماعته (١٥) وذلك بتقديم حليب البقر الخام جيد النوعية للحيوانات بدل ماء الشرب ولمدة ٣٧ يوماً وبمعدل ١٠٠-١٥٠ مل حليب لكل حيوان يومياً، مع مراعاة استبدال الحليب عدة مرات يومياً تجنباً لتطور الحموضة فيه وفي الايام ٣٨ و٣٩ من التجربة، تم تقديم ماء الشرب للحيوانات بدل الحليب. وتم سحب الدم من الحيوانات ومن القلب مباشرة في اليوم ٣٩. وفصل مصل الدم وحفظ بالتجميد، وبعد ٢٤ ساعة تم اجراء فحص صدمة فرط الحساسية Systemic anaphylaxis على الحيوانات باستخدام الطريقة التي ذكرها Boza وجماعته (٤). اجري فحص الستلازن الدموي المنفعل بين بروتينات حليب البقر والماعز ومصل دم خنازير غينيا المغذاة على حليب الأبقار حسب الطريقة التي ذكرها Garvey وجماعته (٩).

النتائج والمناقشة

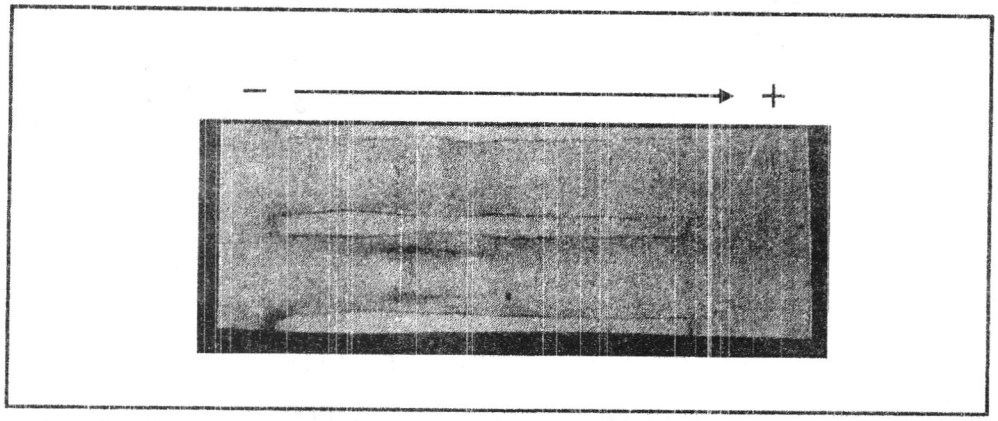
دراسة التفاعلات المناعية المشتركة بين بروتينات حليب الماعز والبقر

اجريت هذه التجربة باستخدام مصل دم الارنب المضاد لكازينات وبروتينات شرش حليب البقر. وبالاعتماد على تقنية الترحيل الكهربائي المناعي وذلك لدراسة درجة التقارب المستضدي بين بروتينات حليب الماعز والبقر.

من الشكل (١) يمكن ملاحظة وجود تفاعلات مناعية مشتركة بين كازينات حليب الماعز والبقر، إذ ظهر خطان ترسيبيان بين كازينات حليب البقر وبين المصل المضاد لكازينات البقر، الخط الترسيبي الاول كان الاكبر والاقرب الى الشق الحاوي على المصل المضاد، وهو عبارة عن الالفا أس كازين والبيتاكازين، اما الخط الترسيبي الثاني فكان اصغر من الاول واقل قرباً الى الشق الحاوي على المصل المضاد وهو يمثل الكاباكازين.

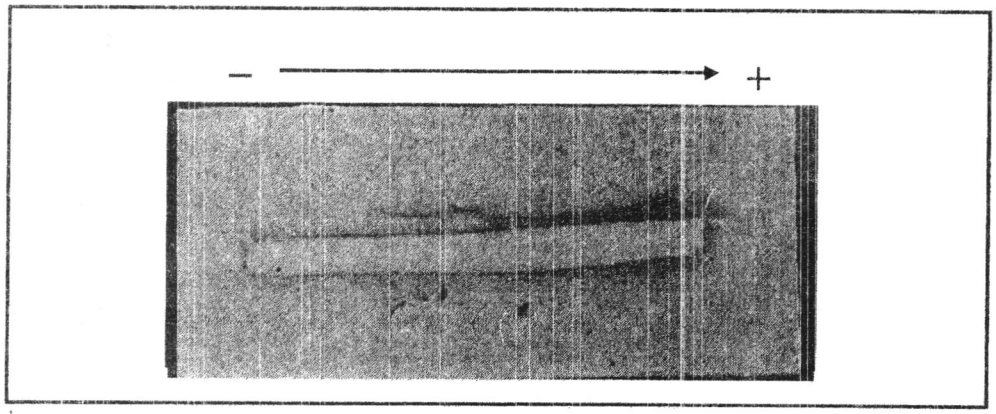
اما بالنسبة لكازينات حليب الماعز فقد اظهرت خطاً ترسيبياً واحداً مقابل حفرة وضع النموذج. وهذا الخط يمثل البيتاكازين، ولم يظهر أي خط ترسيب يمثل الالفا أس كازين او الكاباكازين، ويعود سبب ذلك الى اختلاف المحددات المستضدية لالفا أس كازين حليب الماعز عن نظيرها البقري والذي قد يعود الى اختلاف تركيب الاحماض

الامينية المكونة لكل منهما (١٣) واختلاف محتواها من الكربوهيدرات (٢٣) والفسفور (٢٠)، او قد يعود الاختلاف الى العوامل الثلاثة مجتمعة.



شكل ١: فحص الترحيل الكهربائي المناعي لكازين حليب الماعز (الحفرة العلوية) وكازين حليب البقر (الحفرة السفلية) مع المصل المضاد لكازين حليب البقر الموجود في الشقوق.

اما بالنسبة لبروتينات شرش حليب الماعز والبقر فيلاحظ من شكل (٢) ان تفاعل بروتينات شرش البقر مع المصل المضاد لها ظهر لدينا خطان ترسيبيان، الاول كان الاكبر والاسرع حركة في مجال الترحيل الكهربائي ويمثل البيتالاكتوكلوبيولين والثاني الاقل سرعة في مجال الترحيل الكهربائي يمثل الالفالاكتالبومين، ولم يظهر أي من هذين الخطين الترسيبين في حالة بروتينات شرش الماعز، إذ ظهر خط ترسيبي صغير مواز لحفرة وضع النموذج قد يعود الى الكلوبيولينات المناعية إو اللاكتوفيرين. وهذه النتيجة تتفق مع ما وجد في دراسات سابقة (١١و١٠) من عدم ظهور خط ترسيبي يمثل بيتالاكتوكلوبيولين حليب الماعز عند اجراء فحص الترحيل الكهربائي المناعي لحليب الماعز ومعاملته مع المصل المحضر ضد لبأ البقر.



شكل ٢: يبين فحص الترحيل الكهربائي المناعي لبروتينات شرش حليب الماعز (الحفرة السفلى) وبروتينات شرش حليب البقر (الحفرة العليا) مع المضاد لبروتينات شرش البقر.

دراسة فرط حساسية بروتينات حليب البقر والماعز في خنازير غينيا

استخدمت خنازير غينيا في هذه التجربة بسبب قابلية هذه الحيوانات على تطوير فرط حساسية تجاه بروتينات الحليب بمجرد شربها للحليب لمدة معينة مما يوفر ظروفاً مشابهة لظروف فرط الحساسية تجاه بروتينات الحليب في الانسان ولاسيما من ناحية التغيرات التي تحدث في تركيب بروتينات الحليب في اثناء مرورها في القناة الهضمية.

فحص صدمة فرط الحساسية العام

يلاحظ من جدول (١) ان حقن حليب البقر في وريد الحيوانات التي شربت حليب البقر الخام بدل ماء الشرب ادى الى موت جميع الحيوانات المحقونة، أي كانت نسبة الموت ١٠٠% ويعود سبب ذلك الى ارتباط بروتينات حليب البقر مع الاجسام المضادة المرتبطة على سطح الخلايا البدينة مما سبب فقدان تحبب هذه الخلايا وتحرير الوسائط الكيميائية التي تؤدي لتقلص عضلات الرئتين وموت الحيوان اختناقاً (٨)، ان هذه النتيجة هي نفسها التي وجدها عدد من الباحثين (٧) عند حقنهم حليب البقر في خنازير غينيا التي تغذت على حليب البقر.

جدول ١: نتائج فحص صدمة فرط الحساسية العام في خنازير غينيا المغذاة على حليب البقر الخام عند أجراء التحدي بحليب البقر والماعز

المادة المستخدمة للشرب	مادة التحدي	عدد الحيوانات المحقونة	عدد الحيوانات الميتة	النسبة المئوية للموت (%)
حليب بقر خام	حليب بقر خام	٤	٤	١٠٠
حليب بقر خام	حليب ماعز خام	٤	٤	١٠٠
حليب بقر خام	محلول ملحي فسلجي	٢	صفر	صفر
ماء	حليب بقر خام	٢	صفر	صفر
ماء	حليب ماعز خام	٢	صفر	صفر

أدى حقن هذه الحيوانات بحليب الماعز الخام الى موت جميع الحيوانات المحقونة، أي أن نسبة الموت كانت ١٠٠%، وهذا يعني وجود تفاعلات مناعية مشتركة بين بروتينات حليب البقر والماعز تجعل بروتينات حليب الماعز قادرة على احداث صدمة فرط الحساسية العام في خنازير غينيا المصابة بفرط الحساسية العام تجاه بروتينات حليب البقر، مما يقلل من اهمية حليب الماعز كبديل لحليب البقر في معالجة فرط الحساسية. ان النتيجة التي تم الحصول عليها اعلى من تلك التي ذكرها McLaughlan وجماعته (١٥) عند حقنهم حليب الماعز في وريد خنازير غينيا المصابة بفرط الحساسية تجاه بروتينات حليب البقر إذ ذكروا ان هذه العملية ادت الى حصول صدمة فرط الحساسية العام في ٧٠% من هذه الحيوانات. ولم يؤدِ حقن المحلول الملحي الفسلجي الى حدوث أية اضرار على الحيوانات التي شربت الحليب، كما لم يؤدِ حقن الحيوانات التي شربت الماء بحليب البقر والماعز الى أية آثار عليها.

تقدير عيارية الاجسام المضادة تجاه بروتينات الحليب في مصل دم خنازير غينيا

استخدمت طريقة التلازن الدموي المنفعل (Passive hemagglutination Test) في تقدير عيارية الاجسام المضادة تجاه بروتينات الحليب في مصل دم خنازير غينيا المصابة بفرط الحساسية تجاه حليب البقر، إذ يلاحظ من جدول (٢) وجود اجسام مضادة تجاه بروتينات الحليب في مصل دم خنازير غينيا، وقد اختلفت عيارية الاجسام المضادة باختلاف الحيوان مما يدل على ان لفردية الحيوان دور مهم في تحديد درجة الاستجابة المناعية وهذا يوافق ما وجد في دراسات سابقة (٧).

يلاحظ ان معيار التلازن بالنسبة بروتينات حليب البقر كان تجاه الكازين هو الاعلى يعقبه البيتالاكتوكلوبيولين ثم الالفالاكتالبومين ، وهذه النتيجة تؤيد ما وجد في دراسات سابقة (٧ و١٢) من ان اعلى معيار للاجسام المضادة في مصل خنازير غينيا المغذاة على الحليب كانت تجاه الكازين يعقبه البيتالاكتوكلوبيولين، ثم الالفالاكتالبومين. أما بالنسبة لاجزاء الكازين فقد كان معيار التلازن تجاه الالفا أس كازين والكاباكازين هي الاعلى يعقبها البيتاكازين.

جدول ٢: معيار التلازن الدموي المنفعل في مصل دم خنازير غينيا المغذاة على حليب البقر تجاه بروتينات حليب البقر والماعز

رقم الحيوان	معيار التلازن											
	بيتالاكتو كلوبيولين		الفالاكتا لبومين		كازين		الفا اس كازين		بيتاكازين		كاباكازين	
	بقر	ماعز	بقر	ماعز	بقر	ماعز	بقر	ماعز	بقر	ماعز	بقر	ماعز
١	٨	٢	–	–	٣٢	٨	٢	–	٤	٤	٤	٢
٢	٨	٢	٨	٤	٦٤	٨	٨	٢	٤	٤	٤	–
٣	٤	–	٤	٢	٨	٤	٤	–	–	–	٤	٢
٤	٨	٤	٢	٢	١٦	٤	٨	٢	٤	٤	٢	–
٥	٨	–	–	–	٨	٤	٤	–	٢	–	٤	٤
٦	٣٢	٤	١٦	٨	١٦	٨	٤	–	٢	٢	٢	–

يلاحظ ان اعلى معيار للتلازن بالنسبة الى بروتينات حليب الماعزكان تجاه الكازين ثم تجاه الالفالاكتالبومين يعقبه البيتالاكتوكلوبيولين. وكان معيار التلازن تجاه الفالاكتالبومين حليب الماعز اقل من نظيره البقري، وقد يعود سبب ذلك الى وجود بعض الاختلافات التركيبية بين هذين البروتينين (١٣) وكان معيار التلازن تجاه بيتالاكتوكلوبيولين حليب الماعز منخفضاً جداً مقارنة بنظيره البقري، وقد يعود ذلك الى الاختلافات التركيبية بين بروتيني حليب الماعز والبقر والتي تعود الى اختلاف تركيب احماضهما الامينية (١٣)، وهذه النتيجة تتفق مع ماذكر سابقاً من عدم تفاعل بيتالاكتوكلوبيولين الماعز مع المصل المضاد للبأ البقر (١١).

بالنسبة الى كازين الماعز كان معيار التلازن له منخفضاً بشكل واضح عن نظيره في حليب البقر، وعند اجراء الفحص على الكازينات النقية لوحظ ان الالفا أس كازين كان الاقل تفاعلاً مع المصل المضاد لبروتينات حليب البقر يعقبه الكاباكازين، اما البيتاكازين فقد تشابه سلوكه تقريباً مع بروتين حليب البقر. وهذه النتيجة تماثل النتيجة التي تم التوصل اليها عند أجراء عملية الترحيل الكهربائي المناعي، إذ تفاعل بيتاكازين الماعز مع المصل المضاد لكازين البقر ولم يظهر خط ترسيبي يمثل الالفا أس كازين والكاباكازين.

مما سبق يمكن القول ان بروتينات الحليب كانت قادرة على تحفيز الجهاز المناعي في خنازير غينيا على انتاج اجسام مضادة تجاهها، وان هذه الاجسام المضادة كانت بالاضافة لقدرتها للتفاعل مع بروتينات حليب البقر قادرة على التفاعل وبدرجات مختلفة مع بروتينات حليب الماعز، وهذه التفاعلات يمكن ان تشكل خطورة على حياة الاشخاص المصابين بفرط الحساسية تجاه حليب البقر عند استهلاكهم لحليب الماعز.

المصادر

1- الطريحي، فارس عبد الكريم حبيب (١٩٩٣). فصل بعض بروتينات المناعة المتخصصة من لبأ الابقار ودراسة تأثيرها ضد بكتريا الايشريكيا القولونية، رسالة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

2- السعدي، جاسم محمد صالح (٢٠٠٢). دراسة بروتينات حليب البقر والماعز وعلاقتهما بفرط الحساسية، اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

3- السامرائي، عبد المجيد حماد (١٩٩٧). انتاج وعزل وتوصيف بروتينات المناعة من صفار البيض المتخصصة ضد بكتريا الايشريشيا القولونية، رسالة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

4- Boza, J. J.; O. M. Augustin; A. Gil (1995). Nutritional and antigenic characterization of an enzymatic whey protein hydrolysate. J. Agric. Food Chem., 43:872.

5- Cordle, C. T. (1994). Control of food allergies using protein hydrolysates. Food Tec., Oct.,72-80.

6- Cordle, C. T.; G. Duska-McEwen; L. M. Janas; W. T. Malone and M. A. Hirsch (1994). Evaluation of the immunogenicity of protein hydrolysate formulas using laboratory animal hyperimmunization. Pediatr. Allergy Immunol., 5:14-23.

7- Devey, M. E.; K. J. Anderson; R. S. Coombs; M. J. Henschel and M. E. Coates (1976). The modified anaphylaxis hypothesis for cow death. Anaphylactic sensitization in guinea pigs fed cow's milk. Clin. Exp. Immunol., 26:542-551.

8- Frick, O. L. (1987). Immediate hypersensitivity. In: Basic and Clinical Immunology. edited by Stites, D. P.; Stobo, J. D. and Wells, J. V. 6th ed. The AVI Publishing CO, USA.

9- Garvey, J. S.; N. E. Cremer and D. H. Sussdrof (1977). Methods in Immunology, 3rd ed. W. A. Benjamin, INC. Massachusetts, USA.

10- Hanson, L. A. (1965). Acta. Paediat. Scand. Suppl. 159. 98 (cited from Park, Y. W. 1994).

11- Hanson, L. A. and H. J. Anderson (1962). Acta. Paediat. 51:509. (cited from Park, Y. W. 1994).

12- Heppell, L. M. J.; A. J. Cant and P. J. Kilshaw (1984). Reduction in the antigenicity of whey pròteins by heat treatment: A possible strategy for producing a hypoallergenic infant milk formula. Br. J. Nutr., 51:29-36.

13- Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: A review 1968-1979. J. Dairy Sci., 63:1605-1801.

14- Johke, T.; E. C. Hageman and B. L. Larson (1964). Some immunological relationships of α-lactalbumin and β-lactoglobulin in milk of various species. J. Dairy Sci., 47:28-35.

15- McLaughlan, P.; K. J. Anderson; E. M. Widdowson and R. R. A. Coombs (1981). Effect of heat on the anaphylactic-sensitising capacity of cow's milk, goat's milk and various infant formulae fed to guinea pigs. Archives of Disease in Childhood, 56:165-172.

16- Motwat, A. MCL (1987). The regulation of immune responses to dietary protein antigens. Immunology Today, 8:93-104.

17- Nordlee, J. A. and S. L. Taylor (1995). Immunological analysis of food allergens and other food proteins. Food Technology, Feb., 129-138.

18- Park, Y. W. (1994). Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. Small Ruminant Res., 14:151-157.

19- Podleski, W. K. (1992). Milk protein sensitivity and lactose intolerance with special reference to goat milk. proc. V. Intl. Conf. Goats. New Delhi, India. Vol., II, Part I. p. 610-618.

20- Singh, A. and N. C. Ganguli (1976). Chemical properties and composition of goat milk caseins. Indian J. Dairy Sci., 29:4: 298-303.

21- Wal, J. M.; H. Bernard; M. Yvon; G. Peltr; B. David; C. Creminon; Y. Frobert and J. Grassi (1995). Enzyme Immunoassay of specific human IgE to purified cow's milk allergens. Food and Agric. Immunol., 7:175-188.

22- Walker, V. B. (1965). Therapeutic uses of goat's milk in modern medicine. Br. Goat Soc. Year Book, 24-26. p. 23-31.

Zittle, C. A. and J. H. Custer (1966). Identification of the Ķ-casein among the components of whole goat milk. J. Dairy Sci., 49:788-794.

Iraqi J. Agric. Vol.13 No1 pp.94 -100 Jan./2008

STUDY OF THE IMMUNOLOGICAL CROSS-REACTIONS BETWEEN GOATS AND COWS MILK PROTEINS

J. M. S. Al-Saadi* A. M. A. Salih** S. A. Al-Mashikki**

ABSTRACT

Immunoelectrophoresis analysis showed immunological cross reactions between goat and cow milk caseins which belong to β-casein, however, no such reaction were observed between goat and cow β-lactoglobulin and α-lactalbumin.

Systemic anaphylaxis test in guinea pigs showed strong immunological reactions between goat and cow milk proteins, injection of cow milk in animal's vein, which fed on cow milk caused 100% mortality. Same results were also obtained with injection of goat milk.

Passive hemagglutination test against goat and cow milk was used to estimate antibody titer in guinea pigs serum, which fed cow's milk. The obtained results showed that the highest titer was found against casein followed by β-lactoglobulin and α-lactalbumin for cow milk proteins, while for goat milk proteins the highest titer was found against casein followed by α-lactalbumin and β-lactoglobulin. The titer of antibodies against goat α_s-casein and k-casein was lower than that for cow milk, the behavior of goat and cow β-casein was similar for both proteins.

Part of Ph.D. Thesis of the first author.

* Technical College of Agric.-Helabsha- Sulymania, Iraq.

**College of Agric.- Baghdad Univ. - Baghdad, Iraq.