

یافته‌های هیستوپاتولوژیک ناشی از مصرف غذای آلوده با گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و فلاووس

مجید اسدی^{۱*}، دکتر جعفر سلیمانی راد^۲، عبدالحسین کاظمی^۳، دکتر حمید تبریزچی^۴

۱- کارشناس ارشد بافت‌شناسی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان-۲- دانشیار گروه بافت‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز-۳- عضو هیأت علمی گروه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز-۴- دانشیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

سابقه و هدف: آسپرژیلوس فومیگاتوس و فلاووس یعنوان دو قارچ پاتوژن شناخته شده‌اند که هم، کنیدیهای آنها (هاگهای غیرجنسی) و هم متابولیت‌های تولید شده توسط آنها (میکوتوكسینها) موجب بیماری در موجودات مختلف می‌شوند. آسپرژیلوس فومیگاتوس بیشتر بر روی غلات انبار شده و آسپرژیلوس فلاووس بیشتر بر روی سبزیجات گندیده رشد نموده و میکوتوكسین ایجاد می‌کنند. این مطالعه به بررسی اثرات طولانی مدت غذای آلوده به قارچ فوق در موشهای صحرایی می‌پردازد.

مواد و روشها: در این مطالعه از موشهای صحرایی نژاد ویستان استفاده شد که به سه گروه شش‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل از غذای معمولی، گروه آزمایشی اول مدت یک ماه و گروه آزمایشی دوم مدت سه ماه از غذای آلوده به قارچ تغذیه کردند. در هر سه گروه پس از اتمام دوره آزمایش، از بافت‌های کلیه، ریه و روده نمونه برداری بعمل آمد و پس از آماده‌سازی برای مطالعه میکروسکوپی، مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: یافته‌های هیستولوژیک در گروههای استفاده کننده از غذای آلوده به قارچ عبارت بود از احتقان تنفسونها و فضاهای بین توبولی و کاهش حجم کامورولها در کلیه‌ها، گسترش ندولهای لنفاوی با تجمع سلولهای لنفاوی در پارانشیم ریه و در دستگاه گوارش نیز سلولهای لنفاوی در آستر مخاط تجمع یافته بودند.

نتیجه گیری: تغییرات فوق نشان دهنده اثرات سوء قارچهای فوق بر اعضای مختلف می‌باشد از آنجاییکه استفاده از مواد غذایی کپک زده در دامداری کاملاً مرسوم شده است، بازنگری در این امر و جلوگیری از مصرف اینگونه مواد غذایی کاملاً ضروری بنظر می‌رسد. از طرف دیگر آگاهی دادن به مردم برای خوده صحیح نگهداری از مواد غذایی جهت جلوگیری از آلودگی به قارچها مفید خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: میکوتوكسین، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، غذای کپک زده.

مقدمه

میکوتوكسینها متابولیتهاي سمی تولید شده توسط قارچها هستند که دارای اثرات سوء مختلفی بر حیوانات می‌باشند. قارچهای مولد این سموم بسیار فراوان هستند و

پژوهش‌های مختلف نشان‌دهنده اثرات ایمونوساپرسیو و محافظتی آن در جلوگیری از دیابت ملیتوس می‌باشد (۱۰ و ۹). با توجه به اهمیت میکوتوكسین‌ها و اثرات سوء ناشی از مصرف غذای کپک‌زده، هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط بین مدت زمان تغذیه با مواد غذایی آلوده و بروز عوارض ناشی از آن می‌باشد.

مواد و روشها

بمنظور بررسی اثرات سمية قارچها بر اعضای مختلف آزمایش در دو نوبت انجام و در هر نوبت تعداد ۱۸ موش صحرایی بالغ از نژاد نروژی انتخاب و به سه گروه شش تایی (یک گروه کنترل و دو گروه آزمایش) تقسیم شدند هر گروه شامل سه موش نر و سه موش ماده بود.

در گروه کنترل تغذیه موشها با استفاده از غذای فشرده (پلیت) انجام گرفت در حالی که در گروه آزمایشی اول موشها بمدت یکماه و در گروه آزمایشی دوم موشها بمدت سه ماه از غذای آلوده به قارچهای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس استفاده کردند.

غذای مورد استفاده موشهای گروه آزمایش را مفرگردو، مغز پسته و گندم تشکیل می‌داد، که قبل از آلوده شدن با قارچهای مورد نظر به روش مناسبی از آلدگی‌های میکروبی و قارچی ضدغذونی می‌گردیدند، پس از خرد نمودن آنها به میزان مناسب، با آب مقطّر مخلوط شده تا میزان رطوبت آنها به حداقل ۸٪ برسد.

در مرحله بعد با استفاده از گونه‌های خالص قارچهای موردنظر که از بخش قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی تبریز تهیه شده بودند، سوبسترا آلوده گردیده و در ظرف‌های پلاستیکی بمدت حداقل ۱۵ روز در درجه حرارت ۲۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند تا سطح آنها کاملاً کپک‌زده و آماده استفاده شوند. نتیجه کروماتوگرافی نشان‌گر وجود سه موم آفلاتوکسین B1، گلیوتوكسین و اسید هلوولیک بود که با توجه به مقدار غذای مصرفی روزانه

ایجاد می‌شوند میکوتوكسیکوز نامیده می‌شود، این بیماریها دارای مشخصات ویژه‌ای هستند، از جمله اینکه مسری نبوده و داروهای آنتی‌بیوتیک در درمان این بیماریها کم اثر یا فاقد اثر بوده، درجه سمیت آنها اغلب تحت تأثیر سن، جنس و وضعیت تغذیه‌ای میزان می‌باشد (۱)، بروز عوارض سوء ناشی از مصرف آکالولئیدهای ارگو (ارگوتیسم) (۲) و بروز اخیر میکوتوكسیکوزهای حاد و تحت حاد در فرانسه (۳) از جمله موارد قابل ذکر در ارتباط با میکوتوكسیکوزها می‌باشند.

بررسی ارتباط بین میکوتوكسینهای گونه فوزاریوم و رفتار (احتمال دخالت آنها در اختلالات رفتاری) نشان داده که تماس قبل از تولد با میکوتوكسینهای تولید شده توسط فوزاریوم می‌تواند منجر به ضایعات مختلف در CNS شود. براساس میزان میکوتوكسینها و زمان تماس، می‌تواند منحصر به ناهنجاریهای پیش از تولد بوده و یا بصورت ناهنجاریهای نورولوژیک، رفتاری و یا اختلالات مزمن در طی زندگی بروز نماید (۴).

استنشاق حاد میکوتوكسین-2 T در موشها موجب بروز علائمی مانند لرزش، لتاری و علائم دیگر شده و در نتیجه مشخص شده که سمیت ناشی از استنشاق T-2، ۵۰ برابر سمی تر از تجویز سیستمیک و حداقل ۲۰ برابر سمی تر از تزریق زیر جلدی آن است (۵). ناهنجاریهای تکاملی ناشی از اوکراتوکسین A بعنوان یک ماده نفروتوكسیک نشان داده که تکامل مغز می‌تواند بواسطه تماس با این سم دچار اختلال شود (۶-۸).

اوکراتوکسیکوزیس A تجربی در جوجه‌ها نشان داد که تزریق مقادیر بالای اوکراتوکسین A (۱mg/kg) به جوجه‌های نر و یکروزه موجب افزایش واکنش اسید فسفاتاز در سیتوپلاسم هپاتوسیتها و در فضاهای بین سلولی کبد، همراه با دئنراسیون گلیکورن هپاتوسیتها گشته درحالی که سم بمقدار (۲mg/kg) از طریق غذا منجر به بروز ضایعات مشخصی در کبد و سایر ارگانها نمی‌شود (۶). اثرات ایمونولوژیک گلیوتوكسین در

تعداد سلولهای گابلت در گروه کنترل در مقایسه با گروه آزمایش تغییر نکرده است با این وجود در روده نیز مانند ریه گسترگی و حضور فولیکول‌های لنفاوی در ناحیه آستر مخاط گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل بوضوح قابل مشاهده بود. بدیهی است در گروهی که بمدت سه ماه از غذای آلوده استفاده کرده بودند نسبت به گروهی که یکماه از غذای آلوده استفاده کرده بودند، فولیکول‌ها وسیع‌تر و فراوان‌تر بودند.

بحث

قارچها از جمله عوامل پاتوژنی محسوب می‌شوند که قادر به رشد بر روی مواد و اشیاء گوناگون (مواد غذایی، ظروف، بدن موجودات و...) می‌باشند، این عوامل بیماری‌زای خطرناک دارای گونه‌های متنوع و فراوانی بوده بطوری که گونه آسپرژیلوس آن حدوداً دارای ۱۵۰ نوع می‌باشد.

کلمه آسپرژیلوس برای اولین بار توسط فلورانتین در سال ۱۷۲۹ بکار رفت، دو نوع از شایعترین و شناخته شده‌ترین انواع آسپرژیلوس عبارتند از: آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس، این دو قارچ از دو جنبه حائز اهمیت هستند اول اینکه کنیدیهای این قارچها (هاگهای غیرجنسی) بطور مستقیم ایجاد آسپرژیلوز می‌کند (عفونت ناشی از رشد قارچ آسپرژیلوس در بدن جانداران) که این عفونت می‌تواند سیستم‌های تنفسی، قلبی - عروقی، سینوسها و اوریت را گرفتار نماید، دوم اینکه متابولیت‌های سمی تولید شده توسط این قارچها دارای اثرات سوء مختلفی بر روی موجودات زنده از جمله انسان می‌باشند.

در شرایط مناسب متابولیت‌های مختلفی با خواص فارماکولوژیک مختلف توسط این قارچها تولید می‌شود که از جمله مهمترین آنها می‌توان به آفلاتوكسین، فومیگاتوكسین، گلیوتوكسین و اسید هلوولیک اشاره نمود که اکثریت آنها نفروتوكسیک می‌باشند (۹).

میزان دریافت سومم فوق بدین قرار بود: آفلاتوكسین (۴/ $\mu\text{g/kg}$)، گلیوتوكسین ($4/\mu\text{g}$)، اسید هلوولیک ($2/\mu\text{g/kg}$) روزانه هر موش ۱۰ گرم از غذای تهیه شده را دریافت می‌کرد که بطور تقریبی ۶ تا ۸ گرم از غذای مذکور مورد استفاده قرار می‌گرفت.

پس از اتمام دوره آزمایش، موشها با استفاده از اتر بیهوش و از کلیه‌ها، ریه‌ها و روده‌های آنها نمونه‌برداری می‌شد. نمونه‌ها پس از فیکس کردن در فرمل و طی مراحل آماده‌سازی در پارافین قالب‌گیری و مقاطع ۷-۱۰ میکرومتری با استفاده H+E رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری دوربین‌دار مورد بررسی قرار گرفته و از آنها عکس تهیه می‌گردید.

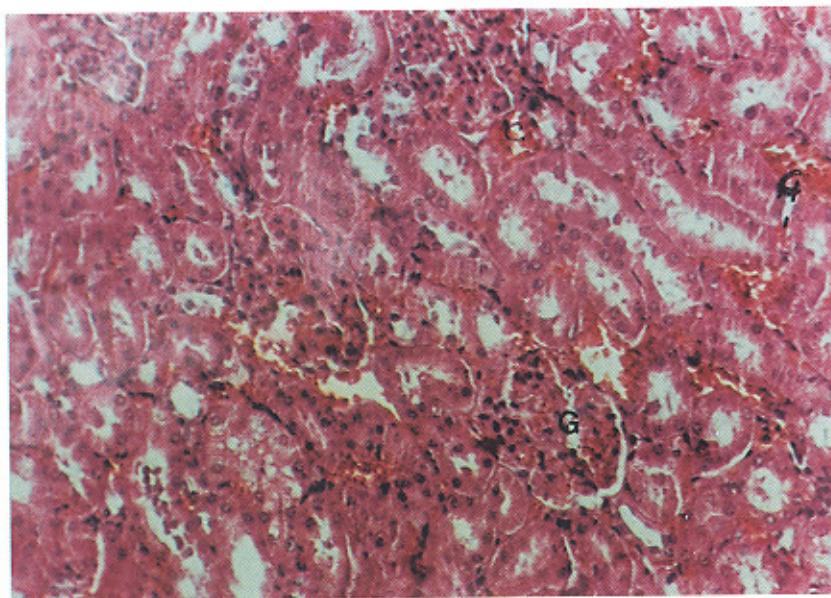
یافته‌ها

در مطالعه حاضر، مقاطع بافت‌های کلیه، ریه و روده مورد بررسی قرار گرفته که با مقایسه ساختمان آنها در گروههای کنترل و آزمایش تغییرات ایجاد شده، گزارش گردیده است. در ضمن با توجه به اینکه در هر گروه ۶ موش مورد بررسی قرار می‌گرفت، برای هر عضو مورد نظر ۱۲ لام تهیه شد و مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت.

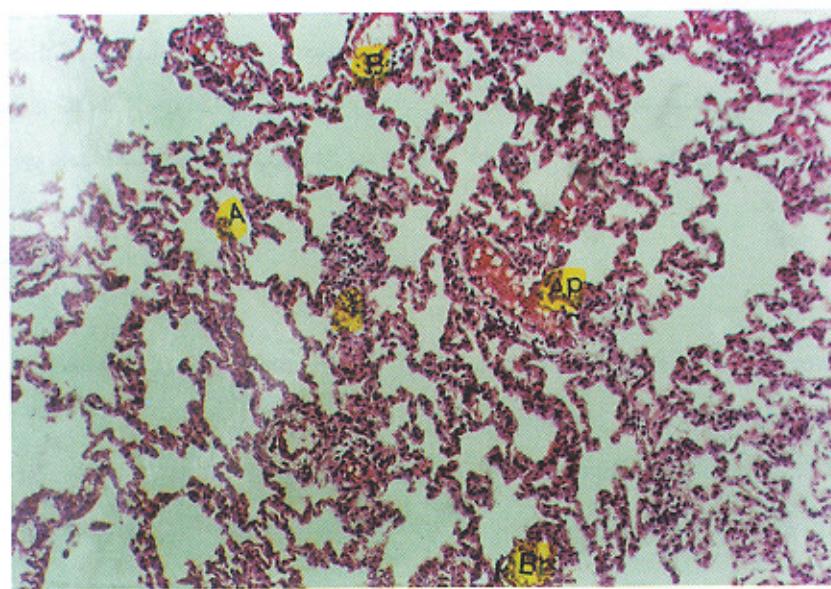
بررسی مقاطع میکروسکوپی کلیه نشان داد که گلومرول‌های کلیوی در گروه آزمایش (شکل ۱) نسبت به گروه کنترل فشرده‌تر می‌باشند. فواصل بین توبولی در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل دارای احتقان شدید بود. تغییرات فوق در گروهی که سه ماه از غذای آلوده استفاده کرده بودند نسبت به گروهی که یکماه از غذای آلوده استفاده کرده بودند، شدیدتر بود.

بررسی ریه در گروه کنترل (شکل ۲) و آزمایش نشان داد که پارانشیم ریوی در گروه‌های آزمایشی اغلب دارای ندول لنفاوی گسترده‌ای می‌باشد که این حالت در گروه کنترل مشاهده نگردید.

بررسی روده باریک با رنگ آمیزی PAS نشان داد که



شکل ۱. فتو میکروگرافی از کورتکس موش گروه آزمایشی. G: گلومرول، C: احتقان، رنگآمیزی H & E بزرگنمایی ۳۳ \times برابر.



شکل ۲. فتو میکروگرافی از بافت ریه موش گروه کنترل. AP: آلوتل، A: شریان ریوی، B: برونشیول تنفسی، L: بافت لنفاوی، رنگآمیزی H&E، بزرگ نمایی ۱۶۵ برابر.

با اینستی توجه مسئولین محترم بهداشت و دست اندر کاران
مسائل بهداشتی را به موارد ذیل جلب نمود:

- ۱- جمع آوری مواد غذایی کپک زده که به عبارتی نوعی استفاده جانبی از مواد غیر قابل مصرف (برای مصارف دامی) می باشد به هیچ وجه صحیح نبوده و می تواند مشکلات خطرناکی را متوجه جامعه انسانی نماید.
- ۲- از آنجائیکه پیشگیری همیشه بهتر و مقرن به صرفه تر از درمان بوده و از طرفی بدلیل اینکه درمان مناسبی جهت میکوتوكسیکوز در دسترس نمی باشد پس با اینستی در کلیه موارد، تهیه، تولید و نگهداری مواد غذایی مورد مصرف نکات مهم و لازم جهت جلوگیری از رشد قارچهای مختلف مدنظر قرار گرفته و دقیقاً رعایت شوند.
- ۳- امکانات لازم برای بررسیهای بیشتر و کاملتر در رابطه با تولید مواد جلوگیری کننده از رشد قارچها، پادزهر میکوتوكسینها و روشهای درمانی میکوتوكسیکوز فراهم شود.
- ۴- بالابردن سطح آگاهی عمومی جامعه در مورد خطرات استفاده از مواد غذایی کپک زده و روشهای بهتر حفظ و نگهداری مواد غذایی با اجرای برنامه های مختلف آموزشی و اطلاعیه های بهداشتی ساده، مفید خواهد بود.

بررسیهای قبلی نشان دادند که یکی از میکوتوكسینهای تولید شده توسط آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوكسین می باشد که یک سم هپاتوتوكسیک بوده و دارای اثرات سوئی بر روی بخش های مختلف بدن حیوان بویژه کبد می باشد (۱۱ و ۱۲).

در ضمن مطابق پژوهش های انجام یافته هر کدام از سه میکوتوكسین تولید شده توسط این دو نوع قارچ دارای اثرات مشخصی بر اعضاء مختلف جاندار می باشند بطور مثال وروکلوزن، سمی است که توسط آسپرژیلوس فومیگاتوس تولید شده و ترمورزا محسوب می شود (۲). نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که استفاده کوتاه مدت و طولانی مدت از مواد غذایی آلدوده می تواند منجر به بروز اثرات سوء بر اعضاء مختلف جاندار شود. از طرف دیگر، با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گرفت که آلدودگی توأم با دو نوع قارچ، قارچ های بسیار شایع در محیط زیست، باعث افزایش شدت آسیب و کوتاه شدن زمان بروز علائم در جانداران تغذیه کننده از مواد آلدوده با این قارچها می شود.

نظر باینکه استفاده از مواد غذایی آلدوده به قارچها (کپک زده) دارای اثرات مشخص و واضح سوء بر روی بافت های مختلف موجودات مصرف کننده می باشند پس

References

1. Ciegler A, Burmeister HR, Vesonder P. Poisonous fungi; Mycotoxin and mycotoxicoses, In: Fungi pathogenic for human and animals. Howard H and Howard H, chap10 1978; pp: 702-6.
2. Steyn PS, Vleggaar R. Tremorgenic Mycotoxins. Forschr Chem Org Naturst 1985; 48: 1-80.
3. Le Bars J, Le Bars P. Recent acute and subacute mycotoxicoses recognised in france Vet Res France 1996; 27 (4-5): 383-94.
4. Schoental R. Fusarial mycotoxin and behaviour: possible implications for psychiatric disorder. BR J Psychiatry 1985; 146: 115-119.
5. Creasia DA, Thurman JD, Jones LJ, et al. Acute inhalation toxicity of T-2 mycotoxin in mice. Fundam Appl Toxicol 1987; 8(2): 230-5.

6. Kozaczynski W. Experimental ochratoxicosis A in chickens; Histopathological and histochemical study. *Arch Vet Pol* 1994; 34 (3-4): 205-19.
7. Creppy EE, Baudrimont I, Bettcher AM. Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A a food contaminant. *Bordeaux* 1995; 82(83): 869-77.
8. Fukui Y, Hoshino K, Kameyama Y. Developmental abnormalities of mouse cerebellum induced by intracisternal injection of ochratoxin A in neonatal period. *Exp Neurol* 1987; 98(1): 54-66.
9. Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. In vitro and in vivo effects of gliotoxin a fungal metabolite efficacy against dextran sodium sulfate - induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2000; 45(12): 2327-36.
10. Liu H, Jackman S, Driscoll H, Larsen B. Immunologic effects of gliotoxin in rats: mechanisms for prevention of autoimmune diabetes mellitus. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30(40): 360-78.
11. Norman G. Clinical aspect of liver diseases caused by industrial and environmental toxins In: *Hepatology*. Zakin and Boyer (eds) 1982; 1: 402-6.
12. Shen HM, et al. Aflatoxin B1-induced peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 127(1): 145-50.