

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

مجید اسدی<sup>۱\*</sup>، دکتر جعفر سلیمانی راد<sup>۲</sup>، عبدالحسین کاظمی<sup>۳</sup>، دکتر حمید تبریزی<sup>۴</sup>

- 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 تارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز ۴- دانشیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

**سابقه و هدف:** آسپرژیلوس فومیگاتوس و فلاووس بعنوان دو قارچ پاتوژن شناخته شده‌اند که هم، کندیهای آنها (هاگهای غیرجنسی) و هم متابولیت‌های تولید شده توسط آنها (میکوتوکسین‌ها) 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 میکوتوکسین ایجاد می‌کنند. این مطالعه به بررسی اثرات طولانی مدت غذاهای آلوده به قارچ فوق در موشهای صحرایی می‌پردازد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه از موشهای صحرایی نژاد ویستار 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 نمونه‌برداری بعمل آمد و پس از آماده‌سازی برای مطالعه میکروسکوپی، مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** یافته‌های هیستوپاتولوژیک در گروه‌های استفاده کننده از غذای آلوده به قارچ عبارت بود از احتقان نفرون‌ها و فضاهای بین توبولی و کاهش حجم گلومرول‌ها 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.

**نتیجه‌گیری:** تغییرات فوق نشان دهنده اثرات سوء قارچ‌های فوق بر اعضای مختلف می‌باشد از آنجائیکه 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 نحوه صحیح نگهداری از مواد غذایی جهت جلوگیری از آلودگی به قارچ‌ها مفید خواهد بود.

**واژه‌های کلیدی:** میکوتوکسین، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، غذای کپک زده.

### مقدمه

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

در شرایط مناسب ترکیباتی با خواص فارماکولوژیک و ساختمانی متفاوت تولید می‌کنند. بیماری‌های ناشی از این متابولیت‌ها که یا در اثر تماس و یا خوردن سهوی سم

پژوهشهای مختلف نشان‌دهنده اثرات ایمنوساپرسیو و محافظتی آن در جلوگیری از دیابت ملیتوس می‌باشد (۹۱۰). با توجه به اهمیت میکوتوکسین‌ها و اثرات سوء ناشی از مصرف غذاهای 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 سمی 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 مغز گردو، مغز پسته و گندم تشکیل می‌داد، که قبل از آلوده شدن با قارچهای مورد نظر به روش مناسبی از نظر آلودگی‌های میکروبی و قارچی ضدعفونی می‌گردیدند، پس از خرد نمودن آنها به میزان مناسب، با آب مقطر مخلوط شده تا میزان رطوبت آنها به حداقل ۸۰٪ 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 کپک زده و آماده استفاده شوند. نتیجه کروماتوگرافی نشانگر وجود سموم آفلاتوکسین B1، گلیوتوکسین و اسید هلوولیک بود که با توجه به مقدار غذای مصرفی روزانه

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

بررسی ارتباط بین میکوتوکسینهای گونه فوزاریوم و رفتار (احتمال دخالت آنها در اختلالات رفتاری) نشان داده که تماس قبل از تولد با میکوتوکسینهای تولید شده توسط فوزاریوم می‌تواند منجر به ضایعات مختلف در CNS شود. براساس میزان میکوتوکسینها 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 میکوتوکسین T-2 در موشها موجب بروز علائمی مانند لرزش، لثاری و علائم دیگر شده و در نتیجه مشخص شده که سمیت ناشی از استنشاق T-2، ۵۰ برابر سمی‌تر از تجویز سیستمیک و حداقل ۲۰ برابر سمی‌تر از تزریق زیر جلدی آن است (۵). ناهنجاریهای تکاملی ناشی از اوکراتوکسین A بعنوان یک ماده نفروتوکسیک 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 (۱ mg/kg) به جوجه‌های نر و یکروزه موجب افزایش واکنش اسید فسفاتاز در سیتوپلاسم هپاتوسیتها و در فضاها بین سلولی کبد، همراه با دژنراسیون گلیکوژن هپاتوسیتها گشته درحالی که سم بمقدار (۰/۲ mg/kg) از طریق غذا منجر به بروز ضایعات مشخصی در کبد و سایر ارگانها نمی‌شود (۶). اثرات ایمنونولوژیک گلیوتوکسین در

تعداد سلولهای گابلت در گروه کنترل در مقایسه با گروه آزمایش تغییر نکرده است با این وجود در روده نیز مانند ریه گستردگی 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 وسیع تر و فراوان تر بودند.

### بحث

قارچها از جمله عوامل پاتوژنی محسوب می شوند که قادر به رشد بر روی مواد و اشیاء گوناگون (مواد غذایی، ظروف، بدن موجودات و...) می باشند، این عوامل بیماریزای خطرناک دارای گونه های متنوع و فراوانی بوده بطوری که گونه اسپرژیلوس آن حدوداً دارای ۱۵۰ نوع می باشد.

کلمه اسپرژیلوس برای اولین بار توسط فلورانتین در سال ۱۷۲۹ بکار رفت، دو نوع از شایعترین و شناخته شده ترین انواع اسپرژیلوس عبارتند از: اسپرژیلوس فومیگاتوس و اسپرژیلوس فلاووس، این دو قارچ از دو جنبه حائز اهمیت هستند اول اینکه کتیدیهای این قارچها (هاگهای غیرجنسی) بطور مستقیم ایجاد اسپرژیلوز می کند (عفونت ناشی از رشد قارچ اسپرژیلوس در بدن جانداران) که این عفونت می تواند سیستم های تنفسی، قلبی - عروقی، سینوسها و اوریت را گرفتار نماید، دوم اینکه متابولیت های سمی تولید شده توسط این قارچها دارای اثرات سوء مختلفی بر روی موجودات زنده از جمله انسان می باشند.

در شرایط مناسب متابولیت های مختلفی با خواص فارماکولوژیک مختلف توسط این قارچها تولید می شود که از جمله مهمترین آنها می توان به آفلاتوکسین، فومیگاتوکسین، گلیوتوکسین و اسید هلوولیک اشاره نمود که اکثریت آنها نفروتوکسیک می باشند (۹).

میزان دریافت سموم فوق بدین قرار بود: آفلاتوکسین ( $4\text{ mug/kg}$ )، گلیوتوکسین ( $4\text{ mug/kg}$ )، اسید هلوولیک ( $2/4\text{ mug/kg}$ ) روزانه هر موش ۱۰ گرم از غذای تهیه شده را دریافت می کرد که بطور تقریبی ۶ تا ۸ گرم از غذای مذکور مورد استفاده قرار می گرفت.

پس از اتمام دوره آزمایش، موشها با استفاده از اتر بیهوش و از کلیه ها، ریه ها و روده های آنها نمونه برداری می شد. نمونه ها پس از فیکس کردن در فرمل و طی مراحل آماده سازی در پارافین قالب گیری و مقاطع ۷-۱۰ میکرونی با استفاده H+E رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری دوربین دار مورد بررسی قرار گرفته و از آنها عکس تهیه می گردید.

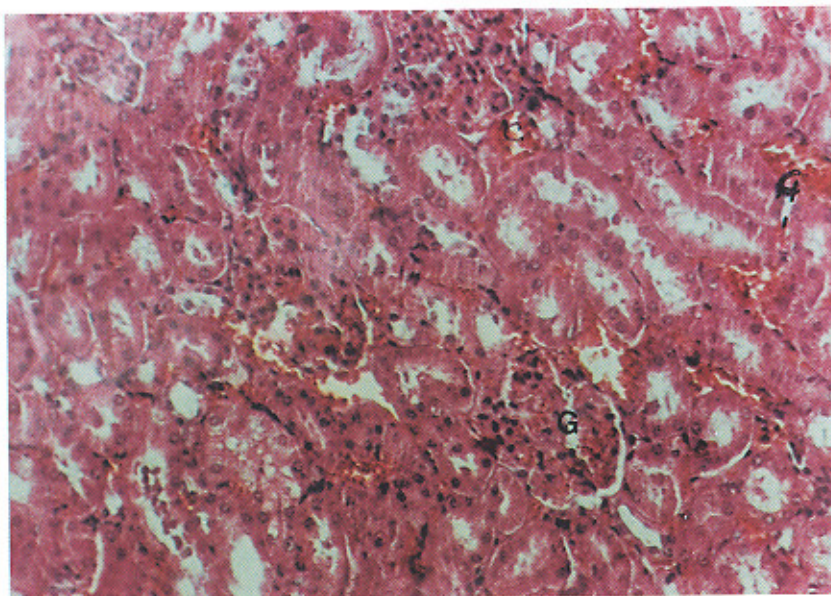
### یافته ها

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

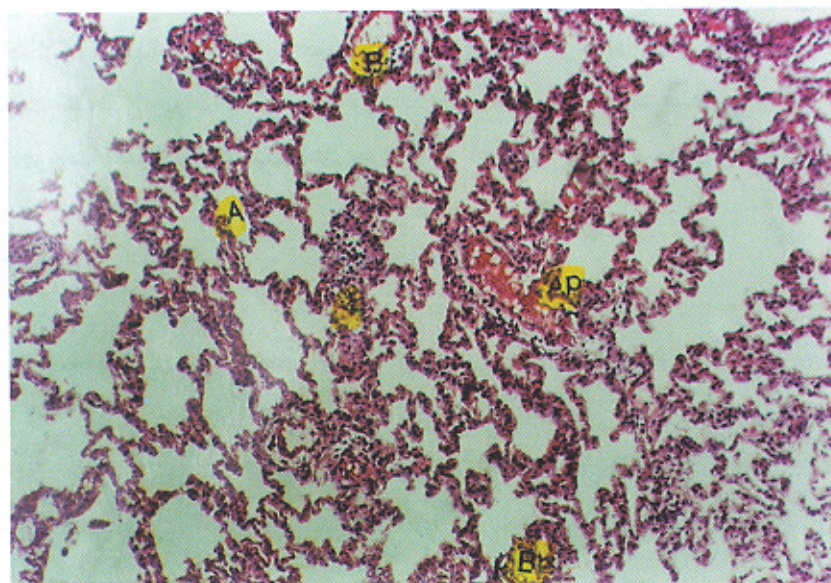
بررسی مقاطع میکروسکوپی کلیه نشان داد که گلوبول های کلیوی در گروه آزمایش (شکل ۱) نسبت به گروه کنترل فشرده تر می باشند. فواصل بین توبولی در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل دارای احتقان شدید بود. تغییرات فوق در گروهی که سه ماه از غذای آلوده استفاده کرده بودند نسبت به گروهی که یکماه از غذای آلوده استفاده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

بررسی ریه در گروه کنترل (شکل ۲) و آزمایش نشان داد که پارانشیم ریوی در گروه های آزمایشی اغلب دارای ندول لنفاوی گسترده ای می باشد که این حالت در گروه کنترل مشاهده نگردید.

بررسی روده باریک با رنگ آمیزی PAS نشان داد که



شکل ۱. فتومیکروگرافی از کورتکس موش گروه آزمایشی. G گلومرول، C احتقان، رنگ‌آمیزی H & E بزرگنمایی ۳۳۰ برابر.



شکل ۲. فتومیکروگرافی از بافت ریه موش گروه کنترل. A آلئول، AP شریان ریوی، B برونشیول، RB برونشیول تنفسی، L بافت لنفاوی، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ نمایی ۱۶۵ برابر.

بایستی توجه مسئولین محترم بهداشت و دست‌اندرکاران مسائل بهداشتی را به موارد ذیل جلب نمود:

۱- جمع آوری مواد غذایی کپک‌زده که به عبارتی نوعی استفاده جانبی از مواد غیر قابل مصرف (برای مصارف دامی) می‌باشد به هیچ وجه صحیح نبوده و می‌تواند مشکلات خطرناکی را متوجه جامعه انسانی نماید.

۲- از آنجائیکه پیشگیری همیشه بهتر و مقرون به صرفه‌تر از درمان بوده و از طرفی بدلیل اینکه درمان مناسبی جهت میکوتوکسیکوز در دسترس نمی‌باشد پس بایستی 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 میکوتوکسینها و روشهای درمانی میکوتوکسیکوز فراهم شود.

۴- بالا بردن سطح آگاهی عمومی جامعه در مورد خطرات استفاده از مواد غذایی کپک‌زده و روشهای بهتر حفظ و نگهداری مواد غذایی با اجرای برنامه‌های مختلف آموزشی و اطلاعیه‌های بهداشتی ساده، مفید خواهد بود.

بررسیهای قبلی نشان دادند که یکی از میکوتوکسینهای تولید شده توسط آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین می‌باشد که یک سم هپاتوتوکسیک بوده و دارای اثرات سوئی بر روی بخشهای مختلف بدن حیوان بویژه کبد می‌باشد (۱۱ و ۱۲).

در ضمن مطابق پژوهشهای انجام یافته هر کدام از سموم تولید شده توسط این دو نوع قارچ دارای اثرات مشخصی بر اعضاء مختلف جاندار می‌باشند بطور مثال وروکلوژن، سمی است که توسط آسپرژیلوس فومیگاتوس تولید شده و ترمورزا محسوب می‌شود (۲).

نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که استفاده کوتاه مدت و طولانی مدت از مواد غذایی آلوده می‌تواند منجر به بروز اثرات سوء بر اعضاء مختلف جاندار شود. از طرف دیگر، با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که آلودگی توأم با دو نوع قارچ، قارچ‌های بسیار شایع در محیط زیست، باعث افزایش شدت آسیب و کوتاه شدن زمان بروز علائم در جانداران تغذیه کننده از مواد آلوده با این قارچها می‌شود.

نظر باینکه استفاده از مواد غذایی آلوده به قارچها (کپک زده) دارای اثرات مشخص و واضح سوء بر روی بافت‌های مختلف موجودات مصرف‌کننده می‌باشند 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 Natrst 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, Betbder 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. Expneurol 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.