مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

التغيرات النسجية المرضية للمنتجات الايضية الثانوية للفطر *Aspergillus fumigatus* المعزول من حبوب العدس في كبد ذكور الفئران البيض .

عدنان وحيد البديري بهيجة عبيس حمود الخالدي

كلية الطب /جامعة القادسية

الخلاصة :

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة التأثيرات النسجية المرضية التي تسببها النواتج الايضية الثانوية للفطر *Aspergillus fumigatus* المعزول من حبوب العدس في ذكور الفئران البيض. أظهرت النتائج أن نسبة تلوث حبوب العدس بالفطريات هي 80 % وان نسبة التلوث بالفطر *Asp.fumigatus* هي 61 % ودرس تأثير المنتجات الايضية الثانوية للفطر *Asp.fumigatus* في نسيج الكبد للفئران البيض باستخدام ثلاث مجاميع ، الأولى عوملت براشح الفطر أعلاه والمجموعتين الثانية والثالثة استخدمت كمجاميع سيطرة وتشير النتائج إلى إن هذه المنتجات سببت تأثيرات مرضية واضحة في نسيج الكبد للحيوانات المعاملة بها تمثلت هذه التغيرات بحصول احتقان في الجيوب الكبدية في الكبد ،حدوث احتقان في الأوعية الدموية ،تجمع الألياف الكولاجينية ،تجمع بؤري لخلايا التهابية في نسيج الكبد، تنخر خلايا الكبد وظهور انويه الخلايا صغيرة وذات صبغة داكنة ثم فقدان الكبد لتركيبه الطبيعي وإحلال الفجوات الدهنية محل الخلايا الكبدية في حين لم تظهر أي تأثيرات في معاملتي السيطرة(A وB) .

حددت قيم معامل الجريان النسبي(R*f*) Relative flow للنواتج الايضية للفطر تحت الأشعة فوق البنفسجية عند الموجة 365 نانوميتر ،تبين وجود تسعة مركبات منفصلة لكل منها معامل جريان نسبي و صفات لونية مميزة ،وان خمسة من هذه المركبات والتي تحمل معامل انتشار 0.14، 0.40 ،0.49 ،0.61 و0.97 هي Fumigaclavine –c، Verruculogen، Aurasperone –C، Oxidized gliotoxin وReduced gliotoxin على التوالي قد تم تحديدها في دراسات سابقة ،في حين إن الأربعة المتبقية والتي تحمل معامل انتشار نسبي (0.66 ، 0.69 ،0.92 ، 0.99) لم تحدد بعد طبيعتها الكيميائية والفيزيائية ولم تدرس لحد الآن تأثيراتها المرضية في الحيوانات المختبرية .يستنتج من الدراسة الحالية ان حبوب العدس الملوثة بالفطر *Asp.fumigatus* سببت تاثيرات مرضية واضحة في نسيج الكبد للحيوانات المختبرية .

المقـدمة -:

يتعرض الإنسان والحيوان على حد سواء لمخاطر السموم الفطرية ويعد الغذاء الطريق الرئيس الذي يتعرض من خلاله الإنسان والحيوان للسموم الفطرية ولم يكن النمو الفطري مشكلة صحية حتى اكتشفت السموم الفطرية حيث أصبح تواجد الفطريات في الغذاء يمثل خطرا كبيرا يهدد صحة المستهلك لما يسببه من مخاطر صحية تؤدي بالمستهلك إلى حصول مضاعفات صحية خطرة .(28) .
أن السموم الفطرية هي عائلة من المركبات البيولوجية والتي تنتجها مجموعة من الفطريات لها القدرة على إنتاج مركبات أيضية ثانوية Secondary metabolites نشطة بايولوجيا عندما تنمو على بيئة مناسبة لها (6) فهي سموم غير أنتيجينية بمعنى خلو تركيبها الجزيئي من المكونات التي تدفع الجسم الحي لتكوين أجسام مضادة لها ،وأغلبها سام للإنسان والحيوان والنبات والكائنات الحية الدقيقة ،ويطلق على النواتج السامة للإنسان والحيوان السموم الفطرية (Mycotoxins) وعلى عمليات التسمم الناتجة التسمم الفطري ((Mycotoxicosis) .(23) .
بصورة عامة تصل السموم الفطرية إلى طعام الإنسان والحيوان اما بصورة مباشرة عن طريق تلوث الغذاء أو الطعام المقدم بالفطريات المنتجة لهذه السموم حيث تشجع المادة الغذائية نمو الفطر سواء أثناء مراحل الإنتاج المختلفة أو أثناء نقلها أو في فترة التخزين، أو قد يكون التلوث غير مباشر نتيجة تلوث مكونات المادة الغذائية بالسم الفطري، ويكون ذلك بتغذية الإنسان على منتجات حيوانية ناتجة من حيوانات سبق تغذيتها على أعلاف ملوثة بالسموم الفطرية والطريق الثاني هو الأكثر خطورة. يمكن أن تنتج هذه السموم في الحقل قبل الحصاد أو بعد الحصاد وأثناء تخزين المواد الغذائية المختلفة. ونتيجة لنمو الفطريات فإنها تقوم بعمليات التمثيل الغذائي وتنتج السموم الفطرية حيث يزداد معدل نموها بتوفر ظروف بيئية مناسبة مثل: زيادة نسبة الرطوبة، التخزين الرديء ، وجود وفرة من الأوكسجين و عند حدوث ضرر ميكانيكي للأغذية إثناء جني المحصول او عند نقل الأغذية من مكان لآخر (16). تعد السموم الفطرية من أقوى السموم

المعروفة والتي تسبب إمراضا خطيرة بتراكيز ضئيلة تصل إلى اقل من 10 جزء من البليون ،ويرجع السبب في قوة السموم الفطرية إلى أنها مقاومة للحرارة لدرجة يصعب إتلافها بواسطة المعاملات الحرارية التقليدية المستخدمة في الطهي ،والسبب الثاني أنها تنتشر بسرعة من مستعمرات الفطر إلى الأغذية (عبد القادر وجماعته ،2002) لذلك فان إزالة الأجزاء المصابة بالفطر من الأغذية كما يفعل الكثير من الناس لايؤدي إلى التخلص الكامل من السموم الفطرية المتكونة في هذه الأغذية (20).

يوجد العديد من الأجناس الفطرية مثل *Aspergillus sp* ،*Penicillum sp* ،*Fusarium sp* و *Alternaria sp* وغيرها التي لها القدرة علي إفراز سموم فطرية مختلفة. ويعد الفطر *Aspergillus sp* من أهم الأجناس الفطرية أعلاه ،إذ تنتج بعض أنواع هذا الجنس مثل *Asp.flavus* ،*Asp .parasitica* و *Asp. niger* سموم فطرية مختلفة لها تأثيرات مسرطنة في بعض أنواع الحيوانات ومنها الافلاتوكسينات التي تسبب أنواعا مختلفة من السرطانات مثل سرطان الكبد (19) كما تسبب أنواع مختلفة من الفطر *Aspergillus* كثيرا من الإضرار الاقتصادية والصحية وتتمثل بإتلاف الحبوب كالذرة الصفراء والحنطة والشعير والحمص والعدس وغيرها من المنتجات الغذائية الأخرى وتسبب بعض أنواعه إمراضا مختلفة للإنسان والحيوان ويطلق عليها مجتمعة اسم الإمراض الاسبيرجيللية (Aspergillosis) وهي تصيب الرئة وتشبه إعراضها إعراض التدرن الرئوي ،وتظهر هذه الإعراض بكثرة على الطيور ولكنها تصيب الماشية والأغنام وتصيب الإنسان أيضا وتتطفل بعض أنواع هذا الجنس على بشرة الإنسان مسببة لها إمراضا مختلفة (2). وبالنظر لما تسببه السموم الفطرية من مخاطر عند وجودها في الأغذية فقد تم القيام بهذه الدراسة التي تهدف إلى: عزل الفطر *Asp.fumigatus* من حبوب العدس المتوافرة في الاسواق المحلية والتعرف على التغيرات النسجية في كبد ذكور الفئران البيض الناتجة من تاثير المنتجات الايضية الثانوية للفطر أعلاه كذلك التشخيص الأولي للمركبات الايضية الثانوية باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography) (TLC).

المواد وطرائق العمل :-

1 – عزل الفطر *Aspergillus fumigatus* من حبوب العدس.

تم جلب عينات من حبوب العدس المتوافرة في الاسواق المحلية في مدينة الديوانية /محافظة القادسية . عقمت الحبوب سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم وبتركيز (2 %) ولمدة 5 دقائق ،غسلت بعدها بالماء المعقم ثم زرعت في اطباق بتري معقمة وحاوية على وسط البطاطا والدكستروز – Patato –Dextrose Agar (PDA)) المضاف إليه 250 ملغم /لتر من مضاد التتراسايكلين لمنع نمو البكتريا ،حيث وضعت خمس بذور في كل طبق ،حضنت الاطباق بدرجة حرارة (25 ± 2) مْ ولمدة سبعة ايام (5). وبعد انتهاء مدة الحضن تم تنقية عزلات الفطر *Asp .fumigatus* وابعاد كافة الفطريات الاخرى التي تظهر في الطبق وبالاعتماد على الصفات التشخيصية المظهرية التي ذكرها (9) وأعيدت عملية التنقية عدة مرات بنقل قرص من كل مستعمرة وزرعه في طبق (PDA) جديد.ثم أكد التشخيص بدراسة الصفات المجهرية باستخدام صبغة اللاكتوفينول الزرقاء(Lactophenol blue) إذ اعتمدت الصفات التي ذكرها (15) والتي تمثلت بطبيعة الغزل الفطري(Mycelium) بكونه مقسم اوغير مقسم ،متفرع اوغير متفرع .كذلك لون وابعاد وطبيعة الحوامل الكونيدية وشكل الابواغ ولونها وقطرها وشكل الحويصلة وحجمها ولونها وطبيعة التراكيب الفاليدية .

2 . استخلاص المنتجات الايضية الثانوية الخام من عزلة الفطر *Asp.fumigatus*. باستخدام المذيبات العضوية .

لغرض التحري عن قدرة الفطر أعلاه على إنتاج السموم الفطرية تم تهيئة (5)دوارق زجاجية سعة 500 مل وأضيف لكل دورق 250 مل من وسط مستخلص الخميرة السائل وبعد تعقيمها وتبريدها لقح الوسط الزرعي في أربعة دوارق منها بأقراص من عزلة الفطر أعلاه في حين ترك الدورق الخامس بدون تلقيح كمجموعة سيطرة. حضنت جميع الدوارق بدرجة حرارة 25 مْ لمدة (14) يوم و بعد انتهاء مدة الحضن اضيف 50 مل من الكلوروفورم لكل دورق ،ثم مزجت المزرعة الفطرية بالخلاط الكهربائي مع التسخين بدرجة حرارة 40 مْ ،بعدها رشح المستخلص باستعمال أوراق ترشيح (Milliporefilter) 0.22 تحت التفريغ وتم التخلص من الكلوروفورم بالتبخير .ثم اذيب الراسب في 10 مل من اسيتات الاثيل Ethyl Acetate (EA) المضاف اليه 10 مل من اوكسلات البوتاسيوم (1 عياري)،تم ضبط pH المحلول الى 2 باستخدام حامض الهيدروليك المركز (HCL). تجزا المحلول وأنفصل إلى طبقتين هما طبقة اوكسالات البوتاسيوم وطبقة حامضية هي خلات الاثيل ،اضيف الى الطبقة الحامضية حجم مماثل من الكلوروفورم ثم عدلت pH الى 10 باضافة بيكاربونات الصوديوم (NaHCO3) (1 عياري).بعد ذلك تجزأ الخليط الى طبقتين الاولى مائية والثانية كلوروفورميةمحملة بالمنتجات الايضية الثانوية لعزلة الفطر ،اعيد استخلاص المنتجات الايضية الثانوية 3 مرات من الطبقة الحامضية ،استبعدت الطبقات المائية وجمعت الطبقات الكلوروفورمية وغسلت بالماء المقطر ثلاث مرات (باضافة حجم لحجم).بخر الكلوروفورم باستخدام جهاز التبخير تحت التفريغ ،ثم جفف الراسب من خلال سلفات الصوديوم اللامائي وباستخدام Oven بدرجة حرارة 40 مْ ،اعيدت هذه العملية عدة مرات لحين الحصول على 1 غم من المنجات الايضية الثانوية . حفظت المادة الناتجة في قنينة معقمة ومعتمة لحين استخدامه في التجارب اللاحقة (17).

3. تأثير المنتجات الايضية الثانوية الخام المفروزة من قبل الفطر *Asp.fumigatus* على أنسجة الكبد في ذكور الفئران البيض.

درست طبيعة تأثير المنتجات الايضية الثانوية في أنسجة الكبد من خلال تهيئة 48 ذكر من الفئران البيض ذات الأعمار المتماثلة قسمت إلى ثلاثة مجاميع كل مجموعة ضمت 16حيوان وعوملت كما يأتي:

أ-المجموعة الأولى: تم معاملتها بالنواتج الايضيه للفطر وبأربعة جرع هي 10 ،20 ،40 ،80 مايكروليتر/كغم من وزن الجسم وذلك بتجريعها عن طريق الفم وبواقع أربعة حيوانات لكل جرعة.

ب-المجموعة الثانية:عوملت الحيوانات بالوسط الزرعي مستخلص الخميرة السائل بدون أي نمو وبنفس الجرع والأسلوب المشار إليه في الفقرة أ.واعتبرت معاملة سيطرة أولىA.

ج- المجموعة الثالثة: أعطيت الحيوانات الماء المقطر فقط وبنفس الجرع والأسلوب المشار إليه في الفقرة أ.واعتبرت معاملة سيطرة ثانية B.

تم تجريع جميع الحيوانات بجرعة واحده تركت لمدة أسبوعين وتم خلال هذه المدة متابعتها يومياً وملاحظه حركتها وتغذيتها بعد انتهاء المدة المقررة تم التضحية بالحيوانات بعد أن خدرت بمادة الكلوروفورم وشرحت عن طريق فتح التجويف البطني ثم أخذت اكباد الحيوانات المشرحة وحفضت في الفورمالين10 % لمدة 48 ساعة لدراسةالتغيرات النسجية فيها وتبعا لطريقة (8) .

4. فصـــل وتشـــخيص المنتجـات الايضـــية الثـانويـة الخـام المفروزة من قبل الفطر *Asp fumigatus*.باسـتخدام تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin Chromatography Layer (TLC).

اجـري سـريان للمـواد الايضـية الخـام المنتجـة مـن قبـل الفطـر أعـلاه علـى صـفائح زجاجيـة مطليـة بمـادة السـليكا (G. F.250) ذات سـمك 0.5 سـم ، حيـث أخـذ 0.1 غـم مـن المسـحوق الـذي تـم الحصـول عليـه فـي (الفقـرة 2) وأذيـب فـي 3 مـل مـن كحـول الميثـانول . بعـدها تـم اخـذ 0.1 مـل مـن المحلـول بواسـطة أنبوبـة شـعرية نظيفـة لـم يسـبق اسـتعمالها مـن قبـل ووضـعت هـذه الكميـة علـى هيئـة بقـع علـى صـفيحة TLC وبمسـافة 2 سـم مـن الحافـة السـفلية للصـفيحة، ثـم وضـعت هـذه الصـفائح فـي المحلـول العضـوي والمكـون حجميـا مـن (1 :4 :5) مـن كـل مـن Toluene :Acetate :Formic acid علـى التـوالي (13) ثـم قرئـت النتـائج بتعـريض الصـفائح للأشـعة فـوق البنفسـجية عنـد الموجـة 365 نـانومتر،ثم حسـب معامـل الجريـان النسـبي R*f* (Relative Flow) للمركبـات المفصولة بحسب المعادلة التي ذكرها (28) وكالاتي :

$$\text{معامل الجريان النسبي } (Rf) = \frac{\text{المسافة التي تقطعها البقعة}}{\text{المسافة التي يقطعها المذيب}} \times 100$$

النتائج والمناقشة -:

أظهـرت نتـائج الدراسـة أن نسـبة تلـوث حبـوب العـدس بالفطريـات هـي 100 % وان نسـبة التلـوث بـالفطر *Asp.fumigatus* هـي 61 % وان هـذه النسـبة عاليـة جـدا تسـتدعي انتبـاه السـيطرة النوعيـة إذ إن وجـود الفطريـات فـي المـادة الغذائيـة ولاسـيما الفطريـات المنتجـة للسـموم يشـكل مشـاكل صـحية تهـدد حيـاة المسـتهلك بـالخطر (1). مـن جانـب اخـر وجـد ان الصـفات المظهريـة والمجهريـة لعـزلات الفطـر *Asp.fumigatus* أنهـا مطابقـة تمامـا للمواصـفات التـي ذكرهـا (9، 15) والتـي تخـص الفطـر المـدروس وفيمـا يتعلـق بالتـأثيرات النسجية المرضـية للمنتجـات الايضـية الثانويـة التـي ينتجهـا الفطـر فقـد لـوحظ أنهـا سـببت تـأثيرات واضـحة فـي نسـيج الكبـد للحيوانـات المعاملـة بهـا حيـث اختلفـت عـن التركيـب النسـجي للكبـد فـي مجـاميع السـيطرة A وB الـذي لـم يلاحـظ فيـه أي تـاثيرات مرضـية (صـورة 1). تفاوتـت التـأثيرات حسـب كميـة الجرعـة المعطـاة إذ أنهـا ازدادت بزيـادة الجرعـة فقـد أدت الجرعـة 10 مـايكروليتر /كغـم مـن وزن الجسـم إلـى احتقـان الجيبانيـات (اشـباه الجيـوب Sinusoids)فـي الكبـد (صـورة 2) ،فـي حـين سـببت الجرعـة 20 مـايكروليتر /كغـم احتقـان للأوعيـة الدمويـةVascular congestion ، تجمـع الأليـاف الكولاجينيـة وتجمـع بـؤري لخلايـا التهابيـة Focal aggregate Ofinflammatory cells فـي نسـيج الكبـد صـورة (3).كمـا تسـببت الجرعـة 40 مـايكروليتر /كغـم فـي إحـداث تـأثيرات اشـد مـن الجـرعتين السـابقتين تمثلـت بحصـول احتقـان الأوعيـة الدمويـة، تنخرNecrosis فـي خلايـا الكبـد وظهـور انويـه الخلايـا صـغيرة ومصـبوغة بشـدة Intensely stained صـورة (4). وعنـد زيـادة الجرعـة إلـى 80 مـايكروليتر /كغـم فإنهـا أدت إلـى حصـول تـأثيرات تفـوق فـي شـدتها الجـرع الـثلاث الأولـى إذ تمثلـت هـذه التـأثيرات بفقـدان الكبـد لتركيبـه الطبيعـي وإحـلال الفجـوات الدهنيـة محـل الخلايـا الكبدية وهو نوع من أنواع التنخر.صورة (5).

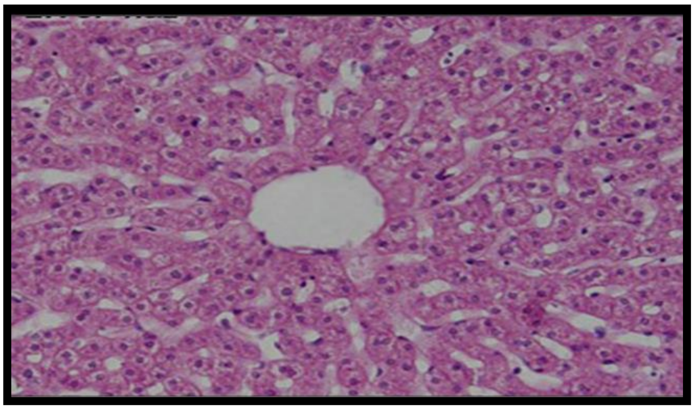
اتضـح مـن نتـائج الدراسـة الحاليـة إن المنتجـات الايضـية الثانويـة للفطـر *Asp .fumigatus* تحتـوي علـى سـموم فطريـة لهـا تـأثيرات علـى نسـيج الكبـد إذ سـبق وأن وصـفت مثـل هـذه التغيـرات فـي حـالات التعـرض للسـموم

الفطرية المدروسة ،فقد لاحظ (7،1) أن تجريع الفئران البيضاء بافلاتوكسين M1 وافلاتوكسين B1 أدى إلى حصول نزف Hemorrhage في الأوعية الدموية في الكبد ، تحلل الخلايا وموتها وظهور الفجوات الدهنية في الكبد ،كذلك ضمور الأوعية الدموية وحصول نزف في بعضها ،وهذه التأثيرات مشابهه تقريبا للتأثيرات التي لوحظت في كبد الفئران المجرعة بالنواتج الايضية للفطر *Asp.fumigatus* في الدراسة الحالية ،وكما هو معروف فان الفطر المذكور لم ينتج سموما تعرف بالافلاتوكسينات وإنما ينتج أربعة أنواع من المركبات هي Gliotoxin، Fumigaclavine ، c– Aurasperone و Verruculogen. عرفت هذه المركبات بتأثيراتها المثبطة للمناعة وتحث تكوين الجذور الحرة والسايتوكاينات وتثبط تكوين الخلايا الظهارية Epithelial cells كذلك تلعب دور تثبيطيا لعمل الخلايا اللمفاوية ويعد الجليوتوكسين Gliotoxin اشد هذه المركبات تأثيرا ولكن لم يسجل لهذه المركبات أي دور في أحداث تأثيرات نسيجية عند تجريعها للحيوانات المختبرية وليس لها أي دور في أمراضية الفطر *Asp.fumigatus* (11) وفي نفس الاتجاه تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي قام بها (14)الذي توصل من خلال اختبار بايولوجي على خنازير غينيا إن لهذا الفطر القابلية على إنتاج مركبات سامة تسببت في إحداث تأثيرات ملفتة للنظر في أنسجة الكلى والأمعاء كما توصل (4) إلى إن للفطر *Asp .fumigatus* القابلية على إنتاج سموم فطرية لها تأثيرات على نسبة إنبات الحمص .

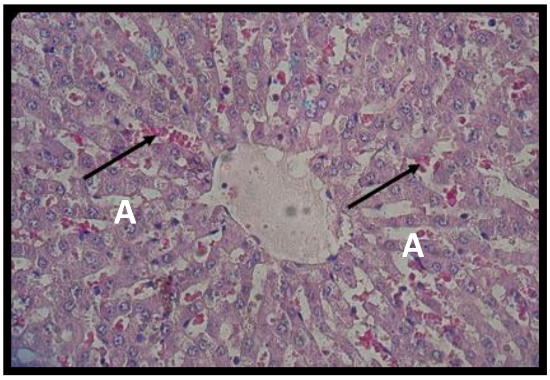
أن التغيرات النسجية المرضية التي لوحظت في الكبد قد تعزى إلى ان الفطر المدروس له القابلية على إفراز سموم فطرية لها القابلية على الارتباط بالغشاء البلازمي إذ أدت إلى فقدان خاصية النفاذية الاختيارية له مما يسبب نضوح الماء من خلايا الكبد وتحللها ،إذ يعد الكبد الموضع الرئيس الأول لايض المواد بصورة عامة وهذا ماذكره (26) كذلك يمكن تفسير هذه التغيرات في ضوء دراسة قام بها (22) حول تأثير سموم الافلاتوكسين على نسيج الكبد في الفئران البيض ،حيث أشار إلى إن تحلل خلايا الكبد للحيوانات المعاملة قد يعود سببه الى ارتباط السموم الفطرية بالحامض النووي مما يؤدي إلى تحلل الرايبوسومات التي تقوم بتصنيع البروتين في خلايا الكبد مما يؤدي الى موتها ،اما ظهور الانوية باللون الداكن فقد يعود إلى تكثف الكروماتين داخل النواة نتيجة تأثره بالسموم الفطرية ،إذ ثبت إن لهذه السموم تأثيرات واضحة على DNA الخلايا (29).

قد يعود سبب تاثيرات المنتجات الايضية الثانوية الى حصول زيادة في عملية تزنخ الدهون، كماتؤدي المركبات الثانوية الناتجة من تحول بعض السموم الفطرية داخل الجسم الى رفع مستوى بيروكسيد الدهن في الكبد Hepatic lipid peroxide وان زيادة عملية تزنخ الدهون المتواجدة في الاغشية الخلوية قد يؤدي الى حصول فقدان في سلامة الاغشية وبالتالي حصول التحلل الخلويCell lysis (24).يحصل التحطم التاكسدي في الخلايا او الانسجة عندما يتجاوز تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة (OH وO2)القابلية المضادة للاكسدة في الخلايا نتيجة الى الانخفاض الواضح في مستويات المواد المضادة للاكسدة اللانزيمية (مثل فيتامين C وEو الكتاليزو بيروكسيد الكلوتاثايون) والتي قد تحطمها السموم اوترتبط معها مسببة هذا النقص فيها وبالتالي التاثير على الخلية (27).

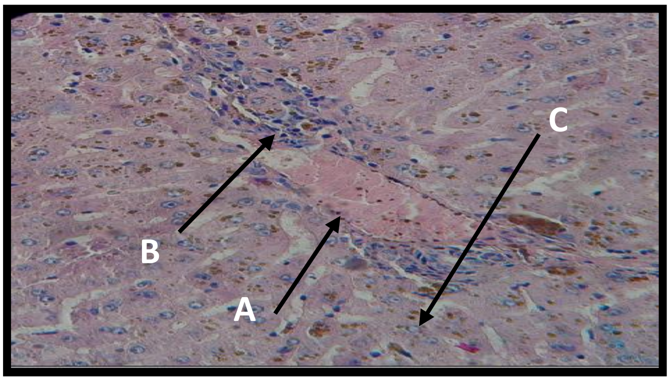
من جهة أخرى قد تؤثرالمنتجات الايضية للفطر على ايض الكاربوهيدرات في الكبد،و تعمل على زيادة الكلايكوجين في الكبد والذي يسبب تعطيل في وظيفة الكبد عند تجمعه وقلة استخدامه (10)، كذلك قد يعود سبب النزف الدموي في الانسجة نتيجة لنزف الاوعية الدموية وخروج الخلايا المكونة للدم الى الانسجة بعملية النضح ويعد خروج هذه الخلايا الصفة السائدة للالتهاب (18).اما تجمع الخلايا اللمفاوية داخل الانسجة الكبدية يمكن اعتباره اشارة للاستجابة المناعية وذلك نتيجة التعرض للمنتجات الايضية للفطر.اما التنخر فقد يعود سببه الى تاثير هذه المركبات على الغشاء الخلوي لخلايا الانسجة مما يؤدي الى تلفها وزيادة نضوحية الغشاء الخلوي وخروج الانزيمات الى خارج الخلايا (12).



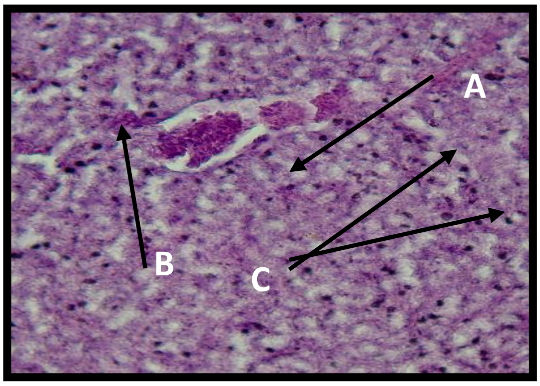
صورة(1). مقطع عرضي في كبد طبيعي للفئران في مجموعة السيطرة (E&H 400X)



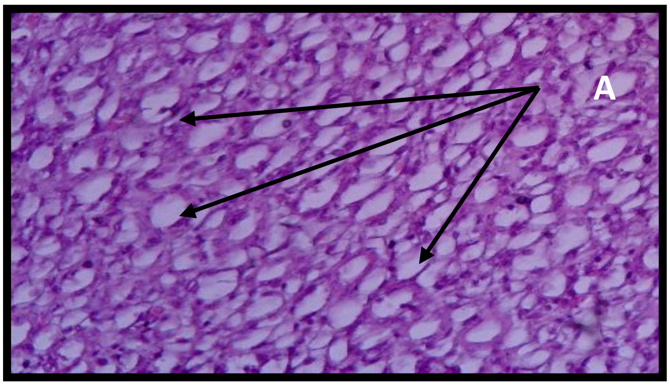
صورة (2). مقطع عرضي في كبد الفئران المعاملة بـ 10 مايكروليتر /كغم من النواتج الايضبة الثانوية للفطر يظهر احتقان الجيوب الكبدية(A). (E&H 400X)



صورة(3). مقطع عرضي في كبد الفئران المعاملة بـ 20 مايكروليتر /كغم من النواتج الايضبة الثانوية للفطر يظهر احتقان الأوعية الدموية (A)، تجمع الالياف الكولاجينية (B).وتجمع بؤري لخلايا التهابية (C). (E&H 400X)



صورة(4). مقطع عرضي في كبد الفئران المعاملة بـ 40 مايكروليتر /كغم من النواتج الايضبة الثانوية للفطر يظهر احتقان الأوعية الدموية (A)، تنخر خلايا الكبد (B). ظهور انويه الخلايا صغيرة وداكنة (C).)&H 400X)



صورة(5). مقطع عرضي في كبد الفئران المعاملة بـ 80مايكروليتر /كغم من النواتج الايضبة الثانوية للفطر يظهر اختفاء التركيب الطبيعي للكبد واستبداله بالفجوات الذهنية (A). (E&H 400X)

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

فصل وتشخيص المنتجات الايضية الخام تقنية (TLC).

عند تحديد قيم معامل الجريان للمنتجات الايضية للفطر تحت الأشعة فوق البنفسجية عند الموجة 365 نانوميتر ،تبين وجود تسعة مركبات منفصلة لكل منها معامل انتشار وصفات لونية مميزة.جدول(1). وتشير النتائج في الجدول نفسه الى وجود تقارب في معامل الانتشار واللون للمركبين في البقعتين 5 و6 على ألواح السليكا جل مما يدل على وجود تقارب بينهما في التركيب الكيمائي وهذا مالاحظه (21) الا ان (1) أشار إلى إن المنتجات الايضية الثانوية للفطر *Asp.fumigatus* تحتوي على عشرة مركبات مختلفة في معامل انتشارها . وقد يعزى هذا الاختلاف الى الظروف المختبرية التي أجريت فيها التجربة الحالية والتي من الممكن إن يكون لها تأثير في إنتاج الفطر للمنتجات الايضية ،أوقد يكون حصل تداخل بين عدد من المركبات ، او ان عزلة الفطر حدثت فيه تحورات جينية سببها حدوث طفرات وراثية نتيجة للعوامل البيئية .و تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (1) في وجود المركبات التي تحمل معامل الانتشار 0.14، 0.40، 0.49، 0.61 و0.97 وان هذه المركبات هي Fumigaclavine –c، Verruculogen، Aurasperone –C، Oxidized gliotoxinو Reduced gliotoxin على التوالي وهذا ماتوصل أليه أيضا(2008) Colin *et al.*, ولكن لم تحدد طبيعة المركبات الأربعة الأخرى ولم تحظ بأي دراسة سابقة لمعرفة تأثيراتها على الكائن الحي وحسب مامتوفر من دراسات حول هذا الموضوع الآ إن المركبات التي تم الإشارة إليها في الدراسة الحالية والمذكورة أعلاه عرفت بتأثيراتها المثبطة للجهاز المناعي فقط ولكن لم تسبب أي تأثيرات على المستوى النسيجي للحيوانات المجرعة بها حسب ماذكره (11) وهذا يقود إلى الاستنتاج بان التأثيرات التي حدثت في نسيج الكبد للحيوانات المجرعة بالنواتج الايضية الخام للفطر المدروس قد يعود سببها الى المركبات الأربعة الأخرى المتبقية التي لم تحدد طبيعتها بعد ،فقد تكون هذه المركبات ذات خواص سمية أكثر شدة من المنتجات الايضية الخام اوربما اقل حدة ،ويمكن دراسة تأثيراتها كلا على حدة فضلا عن تحديد طبيعتها الفيزياوية والكيماوية في دراسات مستقبلية لاحقة .

جدول (1) قيم معامل الجريان النسبي للمركبات النقية في المنتجات الايضية الثانوية للفطر *Asp.fumigatus*

رقم البقعة	معامل الانتشار	لون البقعة
1	0.14	ازرق
2	0.40	اصفر
3	0.49	بني
4	0.61	بنفسجي
5	0.66	برتقالي محمر
6	0.69	برتقالي
7	0.92	ازرق
8	0.97	بنفسجي
9	0.99	بني

يمكن الاستنتاج من نتائج الدراسة الحالية إن تلوث حبوب العدس بالفطريات هو من الأمور التي يجب الاهتمام بها ويجب تفعيل دور السيطرة النوعية في هذا الاتجاه لما تسببه المنتجات الايضية لهذه الفطريات من مخاطر صحية على حياة المستهلك .ومن الملفت للانتباه ان اغلب السموم الفطرية تقاوم درجة الحرارة المستخدمة في الطهي وهذا يعني ان درجة حرارة الغليان لاتعد وسيلة للحد من تاثيرات السموم الفطرية في الاغذية الاساسية (28).

المصادر :-

1 -الحازمي ،ناصر عطية ،صالح بن محمد القري والسيد فهيم السيد طه .(2011).التغيرات النسيجية المرضية في كبد وكلى الفئران البيضاء المتغذية على البان ملوثة بالافلاتوكسين M1 .مجلة السعودية للعلوم البايولوجية .15 (3):61 - 68 .

2 -الشكري ،مهدي مجيد .(1991).اساسيات الفطريات وامراضها النباتية.مطابع دار الحكمة للطباعة والنشر ،جامعة بغداد –وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . صفحة 369 .

3 -عبد القادر ،رمضان ،سالم عمر الفرجاني ويحيى خميس .(2011).وضع الغذاء المستهلك من حيث الاضافات الغذائية والملوثات في ليبيا .المختار للعلوم التطبيقية _العدد الثامن.

4 -العيد ،دهيمات ،زهير بوزيان ،قاسم شاوش نور الدين ،بلعيدي عبد الحكيم ووداد عبد العزيز .(2010).تاثير المنتجات الايضية للفطر *Asp.fumigatus* في انبات بعض بذور الحمص .مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ،المجلد (25)العدد (1):95 -106 .

5 -ميخائيل ،سمير وتركي بيدر .(1982).امراض البذور.دارالكتب للطباعة والنشر ،جامعة الموصل.

6 -نديم ،علي عبد المجيد .(2010).السموم الفطرية .مركز التحاليل والدراسات التطبيقية البيطرية . ،كلية الطب البيطري ،قسم الحيوان /جامعة طنطا .

7-Areeji ,F.;Wad,I.; Saloniemi ,H.;James ,T.A.;Sarri ,S.P.(2011). Significance of apoptosis and its relationship to antioxidants after ochratoxin A administration in mice .J.Pharmaceut .Sci,3(3):281-291.

8-Bancroft,J.D.and Stevens, A.(1982) Theory and Practice of histological technique. Churchill Living stone, New York.pp,117.

9-Bhutta ,A. and Ahmed (1989) Seed –brone fungal pathogens of maize in pakistan .Journal of science industrially research,32:107-109.

10-Chinoy,N.J.;Joseph,R.;Sequeira.E.andNarayana,M.V.(2009). Effect of mycoyoxins on the muscle and liver of albino rats. India.J.Environ.Toxicol., 1:129 -134.

11-Colin ,G.;Mitchell ,J.;Kenneth,D.(2011). Diffusible companent from the spore surface of the fungus ***Aspergillus fumigatus*** which inhibit the macrophage oxidative burst is distinct from gliotoxin and other hyphal toxins.Thorax ,52:796-801**.**

12-Collee,J.G,;Fraser,A.G.;Marmion,B.P.and Simmons, A. (1996) .Practical Medical Microbiology.14th ed .Churchill Livingstone, London.pp.:106-716.

13-Davis ,N.D.;Diener ,V.B.; and Elurid ,D.W. (1966) Production of aflatoxin B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in semi synthetic medium .Appl.Microbiol.14:378-380.

14-Dehimat ,L.(2011). Aflatoxicosis of the liver in the guinea pigs .428:629-630.

15-Dorthy ,E.T.;and Christensen .(2010) *Aspergillus fumigatus* anew species in the *Aspergillus ochraceus* groups .Mycologia .78(3):475-477.

16-Fung ,F. R.(2008) Health effects of mycotoxins :atoxicological over view .J.Toxicol.Clin.42:217-234.

17-Kirksy ,J.W. and Colle ,R.T.(1977). Serming for toxins production fungi .Mycopathologia .Mycologia Application .54:2921-2925.

18-MacSween,R.W.M.and Whaley,K.(1992). Murices textbook of pathology.13th. ed.London.Great Britain in hard back,Edward Arnold.

19-Mori ,T.;Matsumura ,M.;Yamada ,K. ; Irie ,S.;Oshimi ,K.;Suda ,K.;Oguri ,T. and Ichinoe ,M.(1998). Systemic aspergillosis caused by an aflatoxin producing strain *A.flavus* .Med.Mycol.36:107-112.

20-Ranganna, S.(2011). Manual of analysis of fruit and vegetable products .MC. Graw –Hill office .New York.

21-Robert ,A.,Samson ,E.S.; Hoekatra.(2010). Introduction to fungi comtrol .Cultures .Institutes of the Royal Netherland Academy of Arts and Sciences .

22-Sahaphong ,S.;Toskulkao ,C. and Glinsukon ,T.(1992). Enhanced hepatotoxicity of aflatoxin B1 in the rat by ethanol ,ultra structural changes .Toxicol .Lett .61(1):89 -98.

23-Taem,R..(2011). General aspects of mycotoxin .In:Hosogaix ,Matsumoto .M.(eds).Mycotoxin .Tokyo.71.

24-Toukukao ,H.M.;and Glinsukon ,D.B.(1988). Some effects of mycotoxins on physiological parameters and liver ,Oxidative stress and inflammation .Ann.Rev.25:151-174.

25-Trucksess, M. W., and Tang, Y.(2001) Solid phase extraction method for patulin in apple juice and unfiltered apple juice, p. 205-213. In :M. W. Trucksess and A. F. Pohland (ed.), Mycotoxin protocols. Humana Press, Totowa, N.J.Pp:25-78.

26-Uchihara ,T.;Tanaka ,J.;Funata ,N.;Arai ,K. and Hattori ,T.(2010) Influences of intracellular inclusion on nuclear size –morphometric study on pontine neurons of neuronal intracellular inclusion disease cases .Acta .Neuropathol.105(2);103-108.

27-Verma,R.J.(2004). Aflatoxin cause DNA damage. Int.J. Hum. Genet .4:231-236.

28-Werny,J.H.;Phillips ,T.D.;Jack ,P.E.;Stiles ,J.K.; Jone ,G.M. and Aggarwal ,D.(2010).Human aflatoxicosis in developing countries .areview of toxicology ,exposure,potential health consequences and interventions .Am.J.Clin .Nutr .80 :1106-1122.

29-Yu,Y.D.(2011). Mechanism of aflatoxin B1 inhibition of rat hepatic nuclear RNA synthesis ,J.Biol.Chem.252:3245 -3251.

Histopathological changes of secondary metabolites of *Aspergillus fumigatus* isolated from *Lens culinaris* grains in albino mice.

Adnan ,W.AL-Bideri Baheeja ,A.AL-Khalidi

College of Medicine-University of Al-Qadisiya

Abstract:-

The study aimed to elucidate the effects caused by secondry metabolites of *Aspergillus fumigatus* that isolated from *Lens culinaris* grains in albino mice. The results showed that percentage of *Lens culinaris* grains contaminated by fungi was 80 % and percentage of contamination by *Aspergillus fumigatus* was 61%.Three groups of animals were used in this study. The first group treated by secondry metabolites of above fungi ,the second and third group used as controls groups .The results showed that these products caused considerable pathogenic effects in liver tissue of treated animals including congestion of liver sinuses ,vascular congestion , collagen fibers aggregate and Focal Aggregate of Inflammatory cells in liver tissue ,necrosis of liver cells , small nuclei intensely stained ,lost of normal structure of liver and replacement of liver cells by fatty vacuoles ,while there were no effects in control groups(A and B).

The determination of relative flow (R*f*) of secondary metabolic products of fungi by ultra violate in wave 365nm ,showed that there were nine separated compounds each of one had differential color characters. Five from these compounds which had (R*f*) 0.14.40,0.49,0.61,0.97 Fumigaclavine –c ,Verruculogen ,A urasperone –c ,Oxidized gliotoxin and Reduced gliotoxin respectively were determined in previous studies ,while the four compounds which had (R*f*)(0.66,0.69,0.92,0.99) were not determined their physical and chemical nature and also their pathogenic effects in laboratory animals .The precent study concluded that contaminated *Lens culinaris* grains caused sever pathogenic effects in laboratory animals. .