مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ٤٠٤/هفته‌ی چهارم آذر ماه ١٣٩٥

تاریخ دریافت: ۳۹۵/۶/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۸

ارزیابی مقایسه‌ای سطح ادراری آفلاتوکسین M1 در افراد مبتلا به Hepatitis C Virus (HCV) و افراد سالم

امین سلطانپور[۱]، پروین دهقان[۲]، محمدهادی شفیق اردستانی[۳]، عباسعلی عسگری[۴]، سحر سلطانپور[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آفلاتوکسین‌ها، متابولیت ثانویه‌ی گونه‌های سکشن فلاوی (Aspergillus section flavi) می‌باشند. آفلاتوکسین B1، (AFB1 یا Aflatoxin B1) هپاتوکارسینوژن، تراتوژن و موتاژن است. آفلاتوکسین M1 (AFM1)، فرم هیدروکسیله شده‌ی AFB1 است. با توجه به اثرات تخریبی کبد در اثر هپاتیت و آفلاتوکسین، این مطالعه با هدف ارزیابی میزان میانگین سطح ادراری AFM1 در دو گروه افراد سالم (گروه شاهد) و مبتلایان به ویروس هپاتیت C (HCV یا Hepatitis C virus) (گروه مورد) انجام گرفت.

روش‌ها: از ۷۱ فرد مبتلا به HCV و ۷۱ فرد سالم نمونه‌ی خون و ادرار گرفته شد. نمونه‌ی ادرار به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) از نظر میزان AFM1 مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ی خون از نظر آنزیم‌های Serum glutamic-oxaloacetic transaminase (SGOT)، Serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT)، آلکالن فسفاتاز، بیلی‌روبین توتال و بیلی‌روبین دایرکت بررسی شد.

یافته‌ها: ۲۹/۵۷ درصد از افراد گروه مورد و ۱۹/۵۷ درصد از افراد گروه شاهد در ادرار خود دارای AFM1 بودند. میانگین AFM1 افراد مبتلا به HCV، معادل ۲/۴۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و میانگین AFM1 موجود در ادرار گروه شاهد ۱/۶۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج به دست آمده از سطح AFM1 در دو گروه دارای تفاوت معنی‌داری بود (P = ۰/۰۵۰). غلظت سرمی SGPT و آلکالن فسفاتاز در افراد گروه مورد دارای AFM1 بیشتر از افراد فاقد AFM1 بود و این تفاوت غلظت معنی‌دار بود (P = ۰/۰۱۲). غلظت سرمی SGOT، بیلی‌روبین توتال و بیلی‌روبین مستقیم در دو گروه پیش‌گفته تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: وجود AFB1 در مبتلایان به HCV ممکن است سبب تسریع پیشرفت بیماری مزمن کبدی گردد. از این رو، پیشنهاد می‌گردد با اصلاح الگوی مصرف مواد غذایی، از مصرف آفلاتوکسین‌ها جلوگیری گردد و در نتیجه، از سرعت پیشرفت فرم مزمن بیماری کاسته شود.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین M1، Hepatitis C virus، بیماری کبدی، اختلالات عملکردی کبد

ارجاع: سلطانپور امین، دهقان پروین، شفیق اردستانی محمدهادی، عسگری عباسعلی، سلطانپور سحر. **ارزیابی مقایسه‌ای سطح ادراری آفلاتوکسین M1 در افراد مبتلا به Hepatitis C Virus (HCV) و افراد سالم.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۴): ۱۲۸۱-۱۲۷۵

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه‌ی گونه‌های سکشن فلاوی (Aspergillus section flavi) می‌باشند (۱). این دسته از قارچ‌ها، آلوده کننده‌های غذایی به ویژه در ذرت و بادام زمینی در کشورهای فقیر می‌باشند. انواع طبیعی آفلاتوکسین‌ها شامل AFB1 (آفلاتوکسین B1)، AFB2، AFG1 و AFG2 می‌باشند که AFB1 فراوانی، خاصیت سمی و کارسینوژنی بیشتری دارد (۲). به طور تخمینی، حدود ۵/۵-۴/۵ میلیارد نفر در سطح دنیا در معرض مصرف این توکسین‌ها می‌باشند (۳). همچنین، حدود ۲۵ درصد از محصولات کشاورزی دنیا آلوده به این توکسین‌ها می‌باشند (۴).

آفلاتوکسین‌ها در انسان موجب مسمومیت حاد و یا مزمن می‌شوند. آن‌ها دارای اثرات کارسینوژن، موتاژنیک و تراتوژنیک هستند. اصلی‌ترین اثرات مزمن آفلاتوکسین‌ها، ایجاد انواع سرطان به ویژه سرطان کبد می‌باشد (۵).

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴- دانشجوی دکتری، گروه مدیریت خدمات بهداشتی و درمانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۵- دانشجوی کارشناسی پرستاری، دانشکده‌ی پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: پروین دهقان
Email: dehghan@med.mui.ac.ir

اگر چه مولکول اصلی آفلاتوکسین بی‌ضرر می‌باشد، خانواده‌ی سیتوکروم P450 آن را به محصولات واسطه‌ی الکتروفیلیک تبدیل می‌کنند که موتاژن و کارسینوژن می‌باشند (۷-۶).

AFM1 و AFM2 محصول هیدروکسیله شدن AFB1 و AFB2 می‌باشند که در شیر و محصولات لبنیاتی یافت می‌شوند (۸). AFB1 بعد از مصرف خوراکی به همراه مواد غذایی آلوده به آسپرژیلوس فلاووس به طور مؤثر جذب و متابولیزه می‌شود و از طریق مدفوع و ادرار دفع می‌گردد. علاوه بر AFB1 جذب شده، متابولیت‌های آن نیز از ادرار دفع می‌شوند. این در حالی است که مدفوع، یکی از راه‌های دفع AFB1 جذب نشده و نیز جذب شده‌ای است که از طریق ترشحات صفراوی به درون مدفوع ریخته می‌شود. مطالعات بر روی مدل حیوانی نشان می‌دهد که در حالت‌های طبیعی، ۵۰ درصد از دز AFB1 وارد شده بلافاصله از فضای دئودنال روده‌ی کوچک جذب می‌شود (۱۰-۹) و از طریق خون پورتال کبدی وارد کبد می‌گردد (۱۱-۱۰). AFB1 در کبد و به میزان کمتری در کلیه تغلیظ می‌شود (۱۲).

همچنین، در خون ورید مزانتریک به صورت Free AFB1 و یا متابولیت محلول در آب دیده می‌شود (۱۰). به نظر می‌رسد که اعضای خانواده‌ی آنزیمی سیتوکروم P450 (CYPs یا Cytochromes P450) مسؤول متابولیسم آفلاتوکسین‌های جذب شده می‌باشند (۱۴-۱۳). این آنزیم‌ها، AFB1 را به مشتقات متغیر دیگر شامل آفلاتوکسین M1، آفلاتوکسین Q1 و نیز متابولیت‌های تغلیظ شده‌ی آفلاتوکسین (آفلاتوکسیکول) اکسیده می‌کنند. این متابولیت‌ها، کمی غیر فعال‌تر می‌باشند و بدون متابولیسم بیشتر، به درون ادرار دفع می‌شوند و یا با کونژوگه شدن با گلوکورونیل صفرا به درون مدفوع دفع می‌گردند (۱۰). Aflatoxin B1- N7- guanine منجر به ویژگی جهش‌زایی در ژن‌های وابسته به کانسر می‌شود (۱۶-۱۵).

HCV، یک تهدید بزرگ برای سلامتی در دنیا می‌باشد که حدود ۱۷۵ میلیون نفر به آن آلوده‌اند (۱۸-۱۷). حداقل ۶ ژنوتیپ اصلی HCV تا کنون شناخته شده است که هر کدام از دیگری ۳۵-۳۰ درصد نوکلئوتید تفاوت دارد (۱۹، ۱۷). نشان داده شده است که ژنوتیپ ۴ ویروس HCV در خاورمیانه و آفریقا شیوع بیشتری دارد (۲۰). تخمین سازمان بهداشت جهانی از بروز عفونت HCV در دنیا، حدود ۲ درصد می‌باشد (۲۱). با وجود این، بروز آن در نقاط مختلف دنیا متفاوت است. به نظر می‌رسد که شیوع عفونت HCV در ایران کمتر از ۱ درصد باشد (۲۲-۲۱).

Hepatocellular carcinoma (HCC)، سومین عامل شایع مرگ و میر مرتبط با سرطان در دنیا می‌باشد (۲۳). اگر چه به طور کلی، بروز HCC در کشورهای در حال توسعه بیشتر است، اما در دهه‌ی گذشته، بروز آن در کشورهای توسعه یافته نیز دو برابر شده است (۲۵-۲۴). افزایش بروز HCC در کشورهای پیشرفته، وابسته به عواملی نظیر افزایش عفونت‌های HCV و استئاتوهپاتیت (کبد چرب) است که بروز آن‌ها در اروپا و آمریکا رو به رشد می‌باشد (۲۶). اگر چه برآورد شده است که هپاتیت ویروسی، عامل بیش از ۹۰ درصد موارد HCC در سراسر دنیا می‌باشد، اما عوامل متعددی نیز با HCV و HBV (Hepatitis B virus) اثر سینرژیسم دارند (۲۷). آفلاتوکسین‌ها نیز یک عامل مشخص شده برای HCC در کشورهای کمتر توسعه یافته با آب و هوای گرم و مرطوب است (۲۸). در مدل حیوانی، وجود پروتئین‌های HCV به همراه AFB1، منجر به افزایش بروز نئوپلازی‌های کبدی به صورت مشخص شده است (۱۶).

با وجود این که اثر سینرژیسم بین AFB1 و HBV در مطالعات مختلفی بررسی گردیده است، اما این ارتباط بین آفلاتوکسین و بیماری پیشرفته‌ی کبدی مثل سیروز یا هپاتوکارسینوما در بیماران مبتلا به HCV هنوز به درستی مشخص نشده است. در مطالعه‌ای که در تایوان صورت گرفته است، ارتباط بین HCV و آفلاتوکسین بررسی شد و مشاهده شد که سطوح آفلاتوکسین با بیماری پیشرفته‌ی کبدی در افرادی که Anti HCV positive می‌باشند، مرتبط است (۲۹). همچنین، سطح آفلاتوکسین شاید با فیبروز پیشرفته‌ی کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن مرتبط باشد (۲۹).

لازم به ذکر است که در کشورهای توسعه یافته، تولید مواد غذایی تحت کنترل و نظارت است و مراحل کنترل کیفیت مواد غذایی به صورت کامل و با صرف هزینه‌ی زیاد صورت می‌گیرد و قانون در مورد رعایت آن به صورت سخت‌گیرانه اجرا می‌گردد (۳۰). این در حالی است که در کشورهای در حال توسعه، به دلیل این که انجام مراحل کنترل کیفیت تولید مواد غذایی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد و از طرفی، چون مواد غذایی سنتی در سطح زیاد تولید می‌شوند، اجرای قانون در مورد کنترل تولید مواد غذایی مشکل است و میزان حد مجاز سم آفلاتوکسین در مواد غذایی مصرف شده رعایت نمی‌شود (۳۱). بالاترین سطح مجاز آفلاتوکسین B1 در مواد غذایی آلوده به قارچ انسان و حیوان بر اساس استاندارد بین‌المللی ایران، ۱۵-۵ نانوگرم در گرم در مواد غذایی مختلف می‌باشد. این در حالی است که بالاترین میزان مجاز مجموع انواع آفلاتوکسین‌ها در این مواد غذایی بین ۵۰-۵ نانوگرم در گرم می‌باشد. همچنین، بالاترین میزان مجاز آفلاتوکسین M1 در شیر و محصولات لبنی بر اساس این استاندارد، ۰/۵-۰/۰۲ نانوگرم در گرم در انواع محصولات لبنی می‌باشد (۳۲). همچنین، بالاترین سطح مجاز آفلاتوکسین B1 در مواد غذایی انسان و حیوان بر اساس استاندارد اروپا از سال ۲۰۱۰ به بعد، بین ۱۲-۲ نانوگرم در گرم در مواد غذایی مختلف و بیشترین میزان

مجاز مجموع انواع آفلاتوکسین‌ها در این مواد غذایی بین ۱۵-۴ نانوگرم در گرم می‌باشد (۳۳).

با توجه به این که هر دو عامل AFM1 و HCV خطر ابتلا به HCC را افزایش می‌دهند، این مطالعه با هدف ارزیابی میزان میانگین سطح ادراری AFM1 در دو گروه شاهد (سالم) و مورد (مبتلایان به HCV) انجام گرفت.

روش‌ها

پس از شناسایی بیماران مبتلا به هپاتیت C با همکاری متولیان امر در ثبت و نظارت بر درمان آن‌ها در استان چهارمحال و بختیاری، فرم رضایت‌نامه جهت ورود به مطالعه تنظیم شد. افراد مورد مطالعه، تعداد ۷۱ بیمار مبتلا به HCV (گروه مورد) و تعداد ۷۱ فرد سالم از نظر HCV (گروه شاهد) بودند.

شرکت کنندگان در گروه سنی ۵۳-۲۳ سال بودند. بیماری همه‌ی افراد گروه مورد در طول دو سال گذشته به روش Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) شناسایی شده و به روش Real time polymerase chain reaction (Real time PCR) تأیید شده بود و همچنین، این بیماران در مرحله‌ی مزمن بیماری قرار داشتند. عدم ابتلای افراد شرکت کننده در گروه شاهد به روش ELISA که آزمایش غربالگری تشخیص HCV است، مشخص شده بود.

در مرحله‌ی بعد، از کلیه‌ی افراد مورد مطالعه به میزان حداقل ۱۵ سی‌سی ادرار صبحگاهی جمع‌آوری گردید. همچنین، از هر نفر به میزان ۳ سی‌سی نمونه‌ی خون لخته گرفته شد. نمونه‌ی خون اخذ شده، بلافاصله از نظر سطح آنزیم‌های کبدی بررسی و نتایج به دست آمده ثبت گردید. همچنین، نمونه‌ی ادرار اخذ شده تا زمان انجام آزمایش ELISA از نظر بررسی سطح آفلاتوکسین M1 در فریزر با دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۴).

پس از جمع شدن همه‌ی نمونه‌های مورد نیاز، ادرارهای فریز شده در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ذوب شدند و سپس، با شتاب ۳۵۰۰ دور در دقیقه جهت جداسازی ذرات معلق سانتریفیوژ گردیدند و لایه‌ی بالایی نمونه جهت انجام مراحل بعدی جدا گردید.

اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 به روش ELISA

در این مرحله، بر طبق دستورالعمل موجود در کیت هر کدام از استانداردها و نمونه‌ها به نسبت ۱:۲۰ با آب مقطر رقیق شدند. یک هولدر از چاهک‌های Non- coated برای هر نمونه و استاندارد قرار داده شد. یک هولدر از چاهک‌های Antibody coated microtiter wells نیز به صورت معادل در نظر گرفته شد. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر درون هر Mixing well ریخته شد و سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از هر استاندارد و نمونه‌ی رقیق شده به Mixing wellهای حاوی بافر اضافه و حداقل سه بار مخلوط گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات هر Mixing well به Antibody coated microtiter wells منتقل و به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. محتویات هر چاهک دور ریخته و به تعداد سه مرتبه با بافر PBST (Phosphate buffered saline/Tween) شستشو داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه به هر Antibody coated microtiter wells اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان، سه بار با بافر PBST شستشو داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا، به هر چاهک اضافه و پس از پوشانده شدن با کاور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده با تناوب و سرعت یکسان نسبت به اضافه کردن سوبسترا درون هر چاهک اضافه گردید. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه، از اضافه کردن متوقف کننده با طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه ELISA reader خوانده شد.

جهت اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1 از کیت Aflatoxin M1 ELISA Kit for Urine (Sigma- Aldrich ,USA) استفاده گردید. همچنین، جهت یکسان‌سازی نتایج به دست آمده از آزمایش‌های کبدی (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد.

داده‌های مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری χ^2 (جهت مقایسه‌ی داده‌های کیفی و اسمی بین دو گروه) و t (جهت مقایسه‌ی داده‌های کمی بین دو گروه) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

۲۱ نفر (۲۹/۵۷ درصد) از افراد شرکت کننده در گروه مورد و ۱۴ نفر (۱۹/۵۷ درصد) از افراد گروه شاهد در ادرار خود دارای مقادیری از آفلاتوکسین M1 بودند. داده‌های به دست آمده در این مطالعه، از توزیع طبیعی برخوردار بودند (P = ۰/۱۷۵). برای آزمودن معنی‌داری تفاوت میانگین داده‌ها از آزمون آماری Independent t استفاده و مشاهده شد که بین سطوح آفلاتوکسین M1 در دو گروه شاهد و مورد تفاوت معنی داری وجود داشت (P < ۰/۰۵۰). میانگین آفلاتوکسین موجود در افرادی که در گروه مورد دارای مقادیری از آفلاتوکسین M1 بودند، ۲/۴۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر (۳/۳۰۴-۲/۰۰۱) بود (جدول ۱). همچنین، میانگین آفلاتوکسین M1 در گروه شاهد ۱/۶۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر (۲/۱۵۶-۱/۲۲۲) به دست آمد.

در میان نتایج به دست آمده از آزمایش‌های انجام شده با استفاده از آزمون Independent t بین سطوح SGPT در دو گروه دارای AFM1 و بدون AFM1 تفاوت معنی‌داری وجود داشت

(P = ۰/۰۱۲). همچنین، بین سطوح آلکالن فسفاتاز در دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری بود (P = ۰/۰۰۲)، اما در نتایج به دست آمده از سه آزمایش دیگر (BILD یا Bilirubin direct، BILT یا Bilirubin total و SGOT) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۱. مقادیر آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده در دو گروه مورد و شاهد

گروه	آفلاتوکسین M1 (pg/ml)		
	بیشینه	کمینه	میانگین
مورد	۳/۳۰۴	۲/۰۰۱	۲/۴۵
شاهد	۲/۱۵۶	۱/۲۲۲	۱/۶۶

بحث

مطالعات زیادی بر روی اثر سینرژیسم بین AFB1 و HBV انجام شده و اثر سینرژیسم این دو عامل بر روی کبد به اثبات رسیده است (۳۷-۳۵)، اما مطالعات بسیار کمتری در جهت بررسی ارتباط بین AFB1 و HCV صورت گرفته است. با این وجود، در مطالعه‌ای که بر روی نقش آفلاتوکسین‌ها و بیماری هپاتیت C در بیماری پیشرفته‌ی کبدی در تایوان صورت گرفت، مشاهده شد که نسبت آفلاتوکسین B1/ آلبومین به ویژه در افرادی که دارای کبد سخت‌تر می‌باشند، در همه‌ی افراد و همچنین، در مبتلایان به هپاتیت C افزایش داشته است. یافته‌های این مطالعه، نشان داده است که آلودگی با آفلاتوکسین شاید با بیماری پیشرفته‌ی کبدی در بیماران مبتلا به نوع مزمن هپاتیت C در ارتباط باشد (۲۹).

در مطالعه‌ی پیش‌گفته، از اندازه‌گیری آفلاتوکسین/ آلبومین در سرم برای نشان دادن میزان آلودگی با آفلاتوکسین استفاده شد. اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 در ادرار که در مطالعه‌ی حاضر مورد استفاده قرار گرفته است، این امکان را فراهم می‌سازد که بتوان بر روی نحوه‌ی هیدروکسیله شدن آفلاتوکسین B1 در کبد نیز بررسی‌هایی انجام داد و تخمینی از اثر بیماری هپاتیت C بر روی این عمل به دست آورد. در صورتی که در مطالعه‌ی پیش‌گفته، تنها بر روی اثر حضور هم‌زمان دو عامل آفلاتوکسین و هپاتیت C تمرکز شده است.

در مطالعه‌ای دیگر، سطح آفلاتوکسین M1 در خون مبتلایان به HCV به روش High performance liquid chromatography (HPLC) بررسی شده است. بر اساس نتایج به دست آمده در آن مطالعه، سطح آفلاتوکسین M1 در افرادی که تیتر بالای HCV دارند، در مقایسه با افراد سالم به عنوان گروه شاهد بیشتر بوده است. هر چند که افراد با تیتر متوسط HCV، سطوح پایین‌تری از آفلاتوکسین M1 را داشتند (۱۷). در نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر نیز نتایج مشابهی در مورد سطح آفلاتوکسین در بیماران مبتلا به هپاتیت C و گروه شاهد به دست آمد. این در حالی است که بر اساس نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که عملکرد کبد در مبتلایان به هپاتیت C در هیدروکسیله کردن آفلاتوکسین B1 و تبدیل آن به آفلاتوکسین M1 دچار اختلال نبوده، بلکه شاید نقش بهداشت غذایی بیماران مبتلا به HCV در بالاتر بودن سطح آفلاتوکسین M1 مؤثر بوده است.

میانگین سطح SGPT که آزمایش اختصاصی‌تری جهت سنجش عملکرد کبد در میان سایر آزمایش‌های غربالگری است، در بین مبتلایان به هپاتیت C که دارای مقادیری از آفلاتوکسین M1 بودند و آن دسته از مبتلایان به هپاتیت C که فاقد آفلاتوکسین M1 بودند، تفاوت معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۱۶). از این رو، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ممکن است حضور هم‌زمان این دو عامل (آفلاتوکسین M1 و HCV) در انسان سبب افزایش سطح این آنزیم در کبد شود.

همچنین، با توجه به این که میانگین سطح آنزیم آلکالن فسفاتاز در دو گروه مورد دارای آفلاتوکسین M1 و مورد فاقد آفلاتوکسین M1 نیز دارای تفاوت معنی‌داری بوده است (P = ۰/۰۰۱)، این تفاوت موجب تقویت این موضوع می‌گردد که حضور هم‌زمان این دو عامل ممکن است سبب تسریع پیشرفت بیماری مزمن کبدی گردد. بنابراین، احتمال می‌رود که با اصلاح الگوی مصرف مواد غذایی، از مصرف مواد آلوده به آفلاتوکسین‌ها و پیشرفت سریع فرم مزمن بیماری هپاتیت C جلوگیری شود.

جدول ۲. میانگین غلظت آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت C دارای Aflatoxin M1 (AFM1) و فاقد AFM1 در ادرار

نوع آزمایش	AFM1 (-)	AFM1 (+)	طبیعی	مقدار P
SGPT (U/L)	۳۹/۰۰	۷۰/۱۲	< ۴۱	۰/۰۱۲
SGOT (U/L)	۳۳/۲۱	۴۳/۰۰	< ۳۷	۰/۰۶۰
آلکالن فسفاتاز (U/L)	۱۰۱/۳۳	۲۹۳/۰۱	۸۰-۳۰۶	۰/۰۰۲
بیلی‌روبین توتال (mg/dl)	۱/۰۱	۱/۰۰	۰/۱-۱/۲	۰/۰۰۱
بیلی‌روبین دایرکت (mg/dl)	۰/۱۸	۰/۲۲	< ۰/۲	۰/۰۶۳

AFM1: Aflatoxin M1; SGPT: Serum glutamic-pyruvic transaminase; SGOT: Serum glutamic-oxaloacetic transaminase

در پایان، می‌توان نتیجه گرفت با توجه به این که میانگین آفلاتوکسین M1 در ادرار مبتلایان به HCV بیشتر است و در نتیجه کبد عملکرد مناسبی در هیدروکسیله کردن آفلاتوکسین B1 و تبدیل آن به آفلاتوکسین M1 انجام می‌دهد، پس ممکن است علت بالاتر بودن میانگین آفلاتوکسین M1، بیشتر بودن مصرف سم آفلاتوکسین B1 در رژیم غذایی روزانه به علت سطح پایین بهداشت مواد غذایی در مبتلایان به هپاتیت باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۴۵۷۲ مصوب در دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. بدین‌وسیله، از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری این دانشگاه جهت حمایت از اجرای این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filtenborg O. Introduction to food-borne fungi. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 1995.
2. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2002; 82: 1-556.
3. Kew MC. Aflatoxins as a cause of hepatocellular carcinoma. J Gastrointestin Liver Dis 2013; 22(3): 305-10.
4. Strosnider H, Azziz-Baumgartner E, Banziger M, Bhat RV, Breiman R, Brune MN, et al. Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. Environ Health Perspect 2006; 114(12): 1898-903.
5. Ricordy R, Cacci E, ugusti-Tocco G. Aflatoxin B 1 and Cell cycle perturbation. In: Preedy VR, Watson RR, editors. Reviews in food and nutrition toxicity. Boca Raton, FL: CRC Press; 2005.
6. Wild CP, Hasegawa R, Barraud L, Chutimataewin S, Chapot B, Ito N, et al. Aflatoxin-albumin adducts: a basis for comparative carcinogenesis between animals and humans. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5(3): 179-89.
7. Kensler TW, Qian GS, Chen JG, Groopman JD. Translational strategies for cancer prevention in liver. Nat Rev Cancer 2003; 3(5): 321-9.
8. Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. Carcinogenesis 2010; 31(1): 71-82.
9. Coulombe RA, Jr., Sharma RP. Clearance and excretion of intratracheally and orally administered aflatoxin B1 in the rat. Food Chem Toxicol 1985; 23(9): 827-30.
10. Mykkanen H, Zhu H, Salminen E, Juvonen RO, Ling W, Ma J, et al. Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N7-guanine) in young Chinese males. Int J Cancer 2005; 115(6): 879-84.
11. Wilson R, Ziprin R, Ragsdale S, Busbee D. Uptake and vascular transport of ingested aflatoxin. Toxicol Lett 1985; 29(2-3): 169-76.
12. Wogan GN, Edwards GS, Shank RC. Excretion and tissue distribution of radioactivity from aflatoxin B1-14-C in rats. Cancer Res 1967; 27(10): 1729-36.
13. Essigmann JM, Croy RG, Bennett RA, Wogan GN. Metabolic activation of aflatoxin B1: patterns of DNA adduct formation, removal, and excretion in relation to carcinogenesis. Drug Metab Rev 1982; 13(4): 581-602.
14. Forrester LM, Neal GE, Judah DJ, Glancey MJ, Wolf CR. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B1 metabolism in human liver. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87(21): 8306-10.
15. Foster PL, Eisenstadt E, Miller JH. Base substitution mutations induced by metabolically activated aflatoxin B1. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80(9): 2695-8.
16. Jeannot E, Boorman GA, Kosyk O, Bradford BU, Shymoniak S, Tumurbaatar B, et al. Increased incidence of aflatoxin B1-induced liver tumors in hepatitis virus C transgenic mice. Int J Cancer 2012; 130(6): 1347-56.
17. El-Shahat EA, Swelim MA, Mohamed AF, Abdel-Wahhab MA. correlation study between aflatoxin M1 and hepatitis C virus in Egyptian patients with chronic liver disease. World J Med Sci 2012; 7(4): 224-31.
18. Hnatyszyn HJ. Chronic hepatitis C and genotyping: the clinical significance of determining HCV genotypes. Antivir Ther 2005; 10(1): 1-11.
19. Sharma SD. Hepatitis C virus: molecular biology and current therapeutic options. Indian J Med Res 2010; 131: 17-34.
20. Nguyen MH, Keeffe EB. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6. Clin Gastroenterol Hepatol 2005; 3(10 Suppl 2): S97-S101.
21. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. Lancet Infect Dis 2005; 5(9): 558-67.
22. Alavian Sm, Adibi P, Zali Mr. Hepatitis C virus in Iran: epidemiology of an emerging infection. Arch Iran Med 2005; 8(2): 84-90.
23. Njei B, Rotman Y, Ditah I, Lim JK. Emerging trends in hepatocellular carcinoma incidence and mortality. Hepatology 2015; 61(1): 191-9.
24. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2012; 142(6): 1264-73.
25. Altekruse SF, McGlynn KA, Reichman ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005. J Clin Oncol 2009; 27(9): 1485-91.

26. Jepsen P, Vilstrup H, Tarone RE, Friis S, Sorensen HT. Incidence rates of hepatocellular carcinoma in the U.S. and Denmark: recent trends. Int J Cancer 2007; 121(7): 1624-6.
27. London WT, Evans AA, McGlynn K, Buetow K, An P, Gao L, et al. Viral, host and environmental risk factors for hepatocellular carcinoma: a prospective study in Haimen City, China. Intervirology 1995; 38(3-4): 155-61.
28. Abdel-Wahab M, Mostafa M, Sabry M, el-Farrash M, Yousef T. Aflatoxins as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Egypt, Mansoura Gastroenterology Center study. Hepatogastroenterology 2008; 55(86-87): 1754-9.
29. Chen CH, Wang MH, Wang JH, Hung CH, Hu TH, Lee SC, et al. Aflatoxin exposure and hepatitis C virus in advanced liver disease in a hepatitis C virus endemic area in Taiwan. Am J Trop Med Hyg 2007; 77(4): 747-52.
30. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am J Clin Nutr 2004; 80(5): 1106-22.
31. Khoshpey B, Farhud D, Zaini F. Aflatoxins in Iran: nature, hazards and carcinogenicity. Iran J Public Health 2011; 40(4): 1-30.
32. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Food and feed-mycotoxins: maximum tolerated level (ISIRI 5925). Tehran, Iran: ISIRI; 2001. p. 3-20. [In Persian].
33. Vandercamme G. New EU aflatoxin levels and sampling plan. Gain report number: E50018 [Online]. [cited 2010 Sep 3]; Available from: URL: http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/New%20EU%20Aflatoxin%20Levels%20and%20Sampling%20Plan_Brussels%20USEU_EU-27_3-9-2010.pdf
34. Mason S, Hajimohammadi B, Ehrampoush M, Khabiri F, Soltani M. A survey on relationship between diet and urinary excretion of aflatoxin M1: a screening pilot study on Iranian population. J Food Qual Hazards Control 2015; 2(2): 66-70.
35. Lereau M, Gouas D, Villar S, Besaratinia A, Hautefeuille A, Berthillon P, et al. Interactions between hepatitis B virus and aflatoxin B(1): effects on p53 induction in HepaRG cells. J Gen Virol 2012; 93(Pt 3): 640-50.
36. Wild CP, Montesano R. A model of interaction: aflatoxins and hepatitis viruses in liver cancer aetiology and prevention. Cancer Lett 2009; 286(1): 22-8.
37. Sun Z, Lu P, Gail MH, Pee D, Zhang Q, Ming L, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. Hepatology 1999; 30(2): 379-83.

Journal of Isfahan Medical School Received: 22.08.2016

Vol. 34, No. 404, 4th Week, December 2016 Accepted: 09.10.2016

Comparative Study of the Urinary Level of Aflatoxin M1 in Patients with Hepatitis C Virus (HCV) and Healthy People

Amin Soltanpour[1], Parvin Dehghan[2], Mohammad Hadi Shafigh-Ardestani[3], Abbasali Asgari[4], Sahar Soltanpour[5]

Original Article

Abstract

Background: Aflatoxins are the secondary metabolites produced by the flavi section of Aspergillus. Aflatoxin B1 (AFB1) is hepatocarcinogen, teratogen and mutagen. Aflatoxin M1 (AFM1) is the hydroxylated metabolite of AFB1. The liver protects the body by lowering the toxicity of AFB1 to form different hydroxylates like AFM1. According to the synergistic effect of hepatitis and also AFB1 as the parent molecule of AFM1, the main purpose of this study was to assess the relationship between the mean levels of AFM1, in the hepatitis-C-virus (HCV)-positive patients compared to healthy individuals.

Methods: After the tests of liver function enzymes, the level of AFM1 was measured and compared in the urine sample of 71 patients with HCV and 71 healthy individuals. The AFM1 of urine samples were tested using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Besides, the levels of serum glutamic-oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT), alkaline phosphatase, total bilirubin and direct bilirubin were assessed in the blood samples.

Findings: The urine of 29.7% of HCV-positive patients and 19.71% of healthy individuals consisted of some amount of AFM1. The mean level of AFM1 was 2.45 and 1.66 pg/ml in patients and controls, respectively; which was significantly different (P = 0.005). The mean levels of SGPT and alkaline phosphatase were significantly more among HCV-positive patients with AFM1 compared to those without AFM1 (P = 0.012). But, there was not any significant difference between the mean levels of SGOT and total and direct bilirubin between the HCV-positive patients with and without AFM1.

Conclusion: The mean levels of SGPT and Alkaline phosphatase, which are more exclusive to survey of liver function, were significantly different between HCV-positive patients with and without AFM1. Consequently, progression of the chronic liver disease is caused by the existence of AFB1 in HCV-positive patients; therefore, the reduction of AFM1 via improving the food consumption pattern can prevent this progression.

Keywords: Aflatoxin M1, Hepatitis C virus (HCV), Liver dysfunctions

Citation: Soltanpour A, Dehghan P, Shafigh-Ardestani MH, Asgari A, Soltanpour S. **Comparative Study of the Urinary Level of Aflatoxin M1 in Patients with Hepatitis C Virus (HCV) and Healthy People.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(404): 1275-81.

1- MSc Student, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
4- PhD Student, Department of Health Service Management, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
5- Student, Department of Nursing, School of Nursing, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Parvin Dehghan, Email: dehghan@med.mui.ac.ir