مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره سی و چهار، شماره یک، فروردین۱۴۰۵
تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۰۳/۰۶
تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۶/۲۴

بررسی میزان مایکوتوکسین های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در نمونه‌های جفت انسانی (پلاسنتا) در بیمارستان‌های شهر تهران

فریبا دست‌برهان*[۱]، میترا حیدری نصرآبادی[۱]

مقاله پژوهشی

مقدمه: نقش محوری جفت در سلامت مادر در دوران بارداری و رشد جنین مستلزم درک تهدیدات بالقوه، مانند مایکوتوکسین‌ها - متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها است که به دلیل تأثیر نامطلوب آن‌ها بر سلامت حیوانات و انسان‌ها شناخته می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی میزان مایکوتوکسین‌های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در نمونه‌های جفت انسانی در بیمارستان‌های شهر تهران است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع توصیفی ـ تحلیلی بوده است و تعداد پنج جفت با رعایت معیارهای ورود و خروج از زایمان طبیعی و سزارین در بیمارستان های تهران تهیه شد، بلافاصله تحت استخراج قرار گرفتند و با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ارزیابی شدند. هم‌چنین، در این مطالعه سطوح بیان ژن‌های GIGYF2، EIF4E2 و EIF4G1 بررسی شد.

نتایج: نتایج وجود غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین(0/009) B1 تا ۰/۰۴۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را نشان داد در حالی‌که زیرالنون در هیچ یک از نمونه‌ها وجود نداشت. تفاوت‌های مشخصی در بیان ژن‌های GIGYF2، EIF4E2، EIF4G1 بین دو گروه آلوده و غیرآلوده به آفلاتوکسین مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: حضور آفلاتوکسین در جفت انسان تایید شد، در حالی‌که زیرالنون تشخیص داده نشد. تغییرات قابل توجه در بیان ژن‌های GIGYF2، EIF4E2، EIF4G1 بین دو گروه، کاربرد بالقوه آن‌ها را به عنوان نشانگرهای تشخیصی برای قرار گرفتن در معرض آفلاتوکسین نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: مایکوتوکسین، آفلاتوکسین B1، زیرالنون، پلاسنتا، GIGYF2، EIF4E2، EIF4G1

IR.IAU.VARAMIN.REC.1400.052

ارجاع: دست‌برهان فریبا، حیدری نصرآبادی میترا . **بررسی میزان مایکوتوکسین های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در نمونه‌های جفت انسانی (پلاسنتا) در بیمارستان‌های شهر تهران.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۵؛ ۳۴ (۱): ۵۱-۹۸۴۱.

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۴۵۶۹۸۲۹، پست الکترونیکی: fborhan206@gmail.com، صندوق پستی :۸۹۱۶۹۵۵۳۱۳

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

مقدمه

جفت و سلامت آن در سلامت بارداری مادر و رشد و نمو جنین بسیار حیاتی است. این اندام اکسیژن، تغذیه جنین و تصفیه مواد زائد تولید شده توسط آن را در طول دوران بارداری بر عهده دارد. هم‌چنین نقش مهمی در تولید هورمون های بدن و محافظت از جنین در برابر باکتری‌ها و عفونت‌ها ایفا می‌کند (۱). جفت جنین عضوی است که فقط در زمان بارداری در بدن مادر ایجاد می‌شود و در دیواره داخلی رحم یا آندومتر قرار می‌گیرد و بعد از زایمان هم از رحم خارج می شود. جفت سبب ارتباط مادر و جنین می‌شود. در واقع کاربرد جفت جنین رساندن مواد مغذی و اکسیژن به‌وسیله بند ناف به جنین است و مواد زائد را از جنین گرفته و تصفیه می‌کند و مسئول نگهداری، پشتیبانی و تسهیل کننده رشد جنین است (۲). مایکوتوکسین‌ها به‌عنوان یکی از بارزترین مواد سمی شناخته شده است که بهداشت عمومی بسیاری از انسان‌های جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها به علت اثرات سرطان‌زایی و ایجاد مسمومیت حاد از اهمیت بیشتری برخوردار هستند (۳,۴). آفلاتوکسین‌ها Aflatoxinسموم قارچی طبیعی هستند که از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس فلاووس Aspergill flavus، اسپرژیلوس پارازیتیکوس A.parasiicus و آسپرژیلوس نومیوس A. nomius منشأ می‌گیرند (۵,۶). انسان و حیوانات از دو طریق عمده در معرض آفلاتوکسین ها قرار می‌گیرند: (الف) خوردن مستقیم غذاهای آلوده به آفلاتوکسین یا خوردن فراورده های حیوانی که خوراک دام آلوده به آن بوده است. ب) با استنشاق ذرات گرد و غبار آفلاتوکسین‌ها به‌ویژه AFB1 در صنایع و کارخانه‌ها (۷,۸). علائم بالینی اولیه مسمومیت کبدی ناشی از آفلاتوکسین شامل تب، درد عضلانی و بی‌اشتهایی است که بعد استفراغ، درد شکم و هپاتیت را به دنبال دارد. آفلاتوکسین با غلظت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم اثر حاد مسمومیت کبدی دارد. با این‌حال مسمومیت حاد نادر و استثنایی است (۹). مقادیر بسیار کمتر و به‌خصوص مصرف متداوم آفلاتوکسین نیز باعث سمیت کبدی می‌گردد. ضایعات حاد کبد مثل تغییرات چربی، ادم ریوی، لرزش عضلانی، کما، تشنج و مرگ همراه با ادم مغز و درگیری اندام‌هایی نظیر کبد، کلیه و قلب می‌باشد. آفلاتوکسین B1 از عوامل تراتوژنیک موتاژنیک و یکی از قوی‌ترین ترکیبات سرطان‌زا است (۱۰,۱۱). از میان ۱۸ نوع مختلف آفلاتوکسین شناخته شده، آفلاتوکسین B1 توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer (IARC در گروه A عوامل سرطان‌زا قرار گرفته است. در این میان سمیت آفلاتوکسین B1 بیش از انواع دیگر می‌باشد (۱۲,۱۳). آفلاتوکسین B1 قابلیت مهار سیستم ایمنی، جهش‌زایی، ایجاد ناهنجاری‌های جنینی و سرطان‌زایی دارد. زیرالنون یک ماده سمی از گروه مایکوتوکسین‌ها است (۱۴). زیرالنون (Zearalenone) به دلیل داشتن خواص لیپوفیلیک و غیر یونیزه بودن درPH فیزیولوژیک غشا، از طریق انتشار غیر فعال از غشاهای بیولوژیکی عبور می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که زیرالنون پس از تجویز خوراکی، نسبتاً به سرعت جذب می‌شود و ممکن است در خلال جذبش، به‌وسیله بافت روده و احتمالاً در انسان متابولیزه شود (۱۵). زیرالنون‌ها ترکیباتی غیراسترووییدی هستند که به‌وسیله قارچ‌های فوزاریوم ساخته می‌شوند. این ترکیبات از نظر شیمیایی جزو لاکتون های β رسورسیلیک اسید محسوب می‌شوند و می‌توانند با اختیارکردن کنفورماسیونی که بسیار شبیه هورمون ۱۷ بتااسترادیول و سایر استروژن‌های طبیعی است، به گیرنده‌های استروژنی متصل شوند. بر این اساس، زیرالنون‌ها قادر به بروز تغییراتی در دستگاه تولیدمثلی حیوانات آزمایشگاهی و حیوانات اهلی می‌باشند که تحت عنوان سندرم استروژنیک شناخته می‌شود. هم‌چنین شواهدی از توان تومورزایی زیرالنون در انسان به‌دست آمده است و به‌نظر می‌رسد که این مایکواستروژن، می‌تواند تکثیر سلولی و ایجاد سرطان را در بافت‌های هدف استروژن‌ها از جمله اندومتر و سرویکس تحریک کند. تاکنون چندین مورد اپیدمی نیز از اثرات جنسی زیرالنون در بعضی از کشورها گزارش گردیده است که رشد زود هنگام غدد پستانی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

(تلارک زودرس) و ژنیکوماستی در نوجوانان را درپی داشته است. یکی از مشخصات زیرالنون و سایر سموم فوزاریومی، بالا بودن مقدار حجم انتشار است، که نشان دهنده توزیع گسترده این سموم در بدن می‌باشد (۱۶). این سموم در گروه C عوامل سرطان زا قرار می‌گیرد. زیرالنون با مصرف غذای آلوده وارد بدن میشود. این مایکوتوکسین بعد از ورود به بدن خود را به مایعات بدن مانند شیر مادران, خون و ادرار می‌رساند (۱۷). زیرالنون در کل تأثیرات منفی عمده‌ای در تولید مثل زنان دارد. این تاثیرات شامل کاهش ترشح غدد پستانی، ناباروری و کاهش میل جنسی است و تولد نوزاد مرده را افزایش می‌دهد (۱۸). درسال‌های اخیر وجود مایکوتوکسین در مواد غذایی مورد توجه پژوهش‌گران بوده است. آن چه که کمتر به آن پرداخته شده است توجه به حضور آن در اعضای بدن انسان است، به این نحو که آیا مصرف غذاهای الوده به مایکوتوکسین‌ها سبب آلوده شدن اعضای بدن می‌شود یا خیر. آفلاتوکسین B1 و زیرالنون به‌عنوان یکی از شاخص‌ترین مایکوتوکسین‌ها برای این مطالعه در نظر گرفته شدند. بنابراین ضرورت ایجاب می‌کند که پژوهش‌هایی در خصوص اندازه‌گیری مقدار مایکوتوکسین‌های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در جفت انسان صورت گیرد تا بتوان به سوال اصلی تحقیق که ایا مایکوتوکسین‌های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در نمونه‌های جفت انسانی (پلاسنتا) وجود دارند یا خیر پاسخ داد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی ـ تحلیلی است که بر روی جفت‌های جمع‌آوری شده از مادران زایمان کرده در بیمارستان‌های تهران انجام شد. معیار ورود شامل زایمان بدون عارضه بود و معیارهای خروج شامل استفاده از سیگار در طی دوران حاملگی، استفاده از مشروبات الکلی در طی دوران حاملگی، ابتلا به بیماری‌های زمینه‌ای، گیاه‌خوار بودن و بروز زردی در نوزاد در نظر گرفته شد. جفت‌ها بلافاصله پس از زایمان طبیعی و سزارین تهیه گردید و تمامی مادران قبل از نمونه‌برداری از روند کار مطلع شده و رضایت‌نامه کتبی آنان اخذ شد.

آماده سازی جفت: بافر کربس-رینگر فسفات همراه با هپارین حداکثر ۱۰ دقیقه پس از تولد نوزاد به عروق بند ناف تزریق می‌شود. نمونه به‌دست آمده سانتریفوژ شده تا RBC ها جدا شده, در ابتدا، برای حذف کردن گلبول‌های قرمز، از بافر شستشو در دمای ۴ استفاده می‌شود. بافت شستشو داده شده، به قطعات بسیار ریز تقسیم می‌شود. این قطعات، به یک لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شده و محتویات فالکون برای به‌دست آوردن عصاره جفت سانتریفوژ و در دمای ۸۰ درجه زیر صفر نگه‌داری می‌شود (۱۹).

HPLC–FLD: ابتدا استاندارد مایکوتوکسین‌ها تهیه شد. در این بخش فاز متحرک (آب، استونیتریل و متانول) به نسبت ۶۰، ۳۰، ۱۰ تهیه می‌شود و سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم شد. برای تشخیص فلورسانس زیرالنون، تهیج و نشر به‌ترتیب ۲۷۴ و ۴۴۰ نانومتر تنظیم شده و این طول موج برای آفلاتوکسین ۳۶۰ و ۴۴۰ بود. نمونه‌های خون به‌دست آمده با نسبت ۵۰/۵۰ با فازمتحرک مخلوط شده و پس از هموژنیزاسیون و سپس سانتریفوژ شدن ۲۰ میکرولیتر از آن با دور ۴۰۰۰ در دقیقه به دستگاه تزریق شد. در (جدول ۱) مشخصات HPLC ذکر شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرم‌افزار Chromeleon Version برای به‌دست آوردن منحنی‌های مورد استفاده قرار گرفت (۱۹,۲۰). برای اعتباربخشی به نتایج، کالیبراسیون با ۵ غلظت مختلف انجام می‌شود و R2 باید کمتر از ۰/۹۹ باشد که خطی بودن نتایج را به ما نشان دهد.

صحت: این مؤلفه با استفاده از تعیین میزان بازیافت (Recovery) محاسبه می‌شود. سه غلظت از نمونه‌های اسپایک شده در سه تکرار، به دستگاه High-Performance Liquid Chromatography HPLCتزریق می‌شود. بازیافت از طریق محاسبه درصد میزان غلظت مایکوتوکسین‌ها به استاندارد آن‌ها به‌دست آمد. محدوده قابل‌قبول این مولفه ۷۰ تا ۱۲۰ درصد است (۲۱).

دقت: درصد انحراف‌معیار نسبی RSD هم در دو صورت inter day (سه روز متوالی) و intra day (یک روز) محاسبه شد. به منظور بررسی دقت در یک روز، نمونه های اسپایک شده در سه نوبت به دستگاه تزریق شد. هم‌چنین به منظور

CC BY-NC 4.0

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]
[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

بررسی دقت در ۳ روز پی در پی، سه نمونه اسپایک شده تهیه شده و در سه نوبت به دستگاه HPLC تزریق می‌شود. محاسبات این دو مولفه در نرم‌افزار اکسل انجام گرفت. محدوده قابل‌قبول این مولفه زیر ۲۰ درصد است (۲۱).

حساسیت، حد تشخیص (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ): کمترین غلظتی که در یک ماتریکس قابل تشخیص است ولی به دقت قابل اندازه‌گیری نمی‌باشد به عنوان LOD شناخته می‌شود و کمترین غلظتی که با دقت و صحت قابل قبول، قابل اندازه‌گیری می‌باشد به‌عنوان LOQ تعریف می‌شود. برای تعیین LOD و LOQ از نسبت سیگنال به نویز استفاده می‌شود. نسبت ۱:۳ برای تعیین LOD و نسبت ۱:۱۰ برای تعیین LOQ به‌کار می‌رود (۲۲).

آماده سازی نمونه‌ها: برای استخراج ۵۰۰ گرم جفت در ۱/۵ لیتر از بافر فسفات سدیم 0.01 مولار با PH=8 در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده و نمونه‌ها همگن شدند. پس از سانتریفیوژ در 10000 rpm به مدت ۳۰ دقیقه مایع رویی که عصاره نامیده می‌شود به‌دست آمده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود و با افزودن اسید استیک pH روی ۴/۵ تنظیم شد. پس از ۳۰ دقیقه سکون، رسوب خارج شد. مایع رویی دارای PH=۴/۵ جمع‌آوری شد و PH آن با افزودن NaOH به ۷/۵ تنظیم شد. این مایع رویی سپس از طریق یک فیبر توخالی فیلتر شد و سپس مایع جمع‌آوری شده از فیلتر، دوباره با کاغذ صافی فیلتر شد. سپس نمونه‌ها (عصاره) برای سنجش میزان آفلاتوکسین و زیرالنون مورد آزمایش قرار گرفتند.

انجام آنالیز HPLC: -استاندارد Aflatoxin با غلظت 1µg/ml با متانول تهیه و 100µl از آن به دستگاه تزریق گردید. استاندارد Zearalenone با غلظت 1mg/ml با متانول تهیه و 100ul از آن به دستگاه تزریق شد.

مطالعات مولکولی

خون‌گیری از افراد: در پژوهش حاضر نمونه‌های افراد سالم بلافاصله پس از نمونه‌گیری در لوله‌های خون‌گیری EDTA دار، به آزمایشگاها انتقال داده شده و RNA از آن‌ها استخراج شد. نمونه‌های افراد دارای آفلاتوکسین پس از نمونه‌گیری در کلینیک بلافاصله در ظرف یخ خشک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و حدوداً ۵۰ دقیقه بعد مورد سانتریفیوژ و استخراج RNA قرار گرفتند.

استخراج RNA: در پژوهش حاضر استخراج RNA از نمونه‌های خونی به روش ستونی و با استفاده از کیت استخراج RNA با کاتالوگ نامبر k0731 شرکت fermentase-Thermoscientific ساخت کشور لیتوانی و مطابق با پروتکل شرکت سازنده انجام شد. برای تعیین میزان غلظت RNA حاصل از استخراج هر نمونه، از دستگاه نانودراپ (Bio-RAD550, USA) استفاده شده است که میزان جذب نمونه در طول موج ۲۶۰nm، غلظت RNA نمونه‌ها را مشخص می‌کند. به منظور طراحی پرایمرها توالی FASTA یا همان کتابخانه cDNA ژن‌ها از وب سایت NCBI استخراج شد. سپس توسط نرم‌افزارهای oligo7 و primer3 طراحی پرایمر صورت گرفت. سرانجام پس از اصلاح دستی پرایمر با استفاده از نرمافزارهای نامبرده نتیجه در وب سایت NCBI در قسمت BLAST بررسی شد تا اختصاصیت و اتصال پرایمر مورد تایید قرار بگیرد. پرایمرهای GIGYF2، EIF4E2, EIF4G1 به‌دست آمده برای ۳ ژن هدف و ژن رفرنس GAPDH مورد استفاده قرار گرفت. در (جدول ۲) اطلاعات پرایمرها لیست شده است. در (جدول۳،۴) محتویات مواد واکنش Real Time PCR و دمای انجام آن ذکر شده است.

نتایج

کالیبراسیون: نمودار کالیبراسیون بر اساس شش غلظت (0.5, 10, 125, 250, 500,1000 µg/L) رسم شد. بر اساس این نمودار LLOQ به میزان ۰/۵ µg/L و ULOQ به میزان 1000 µg/L به‌دست آمد. شیب خط به‌دست آمده بالاتر از ۰/۹۹ بود که نشان از خطی بودن ان بود.

اعتباربخشی: طبق (جدول ۶، ۵) سه غلظت مختلف از آفلاتوکسین مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان درصد بازیافت (Recovery) در غلظت ۸۰ برابر۹۷ درصد بود که نشان از درصد بازیافت مناسب روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین بود.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

میزان درصد RSD هم در Inter-day برابر ۲/۱ و در Intra-day برابر ۶/۲ بود. میزان درصد بازیافت (Recovery) در غلظت ۲۰۰ برابر ۱۰۲ درصد بود که نشان از درصد بازیافت مناسب روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین بود. میزان درصد RSD هم در Inter-day برابر ۱/۹ و در Intra-day برابر ۸/۴ بود. میزان درصد بازیافت (Recovery) در غلظت ۴۰۰ برابر ۹۸ درصد بود که نشان از درصد بازیافت مناسب روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین بود. میزان درصد RSD هم در Inter-day برابر ۳/۱ و در Intra-day برابر ۸/۷ بود. در اعتباربخشی زیرالنون هم مشخص شد که درصد بازیافت در نمونه‌های اسپایک شده از ۹۲ تا ۱۰۷ متغیر بود. میزان درصد RSD هم در Inter-day از ۱/۲ تا ۲/۹ و برای RSD در Intra-day از ۱/۷ تا ۸/۹ بوده است.

نتایج HPLC: با توجه به روش ذکرشده نمونه‌ها و استانداردها به ترتیب به دستگاه HPLC تزریق شدند و نتایج در (جدول ۷) آورده شده‌اند. با توجه به اینکه زمان خروج آفلاتوکسین۶/۷۳۸ دقیقه و زمان خروج زیرالنون ۶/۴۹۶ دقیقه می‌باشد نتایج ذکر شده‌اند.

مقایسه بیان ژن در گروه ازمون و کنترل

آنالیز RNA- آنالیز کمی RNA: آنالیز کمی RNA از طریق دستگاه اسپکتروفوتومتر و با با اندازه‌گیری جذب در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد. نتایج غلظت چند نمونه از RNA ها در (جدول ۷) آمده است

درصد بیان ژن‌ها: نتایج بیان ژن‌های *GIGYF2*، *EIF4E2* و *EIF4G1* در نمونه‌های آزمون و شاهد نشان‌دهنده تفاوت‌های معناداری در میزان بیان این ژن‌ها است. در (جدول۹ ،۸)، میزان بیان ژن در نمونه‌های آزمون به ۴۵ درصد رسیده، در حالی‌که در گروه شاهد تنها ۱۰ درصد از نمونه‌ها این ژن را بیان کرده‌اند که نشان‌دهنده افزایش فعالیت این ژن در گروه آزمون است. در ادامه درصد بیان ژن *EIF4E2* در گروه آزمون ۵۰ درصد گزارش شده است، در حالی‌که در گروه شاهد این میزان تنها ۴ درصد بوده است. این تفاوت نشان‌دهنده تأثیرات قابل‌توجه شرایط آزمایشی بر بیان این ژن است. هم‌چنین، میزان بیان ژن *EIF4G1* در گروه آزمون ۴۰ درصد و در گروه شاهد ۲۰ درصد گزارش شده است که این نیز بیانگر تأثیر شرایط آزمون بر افزایش بیان این ژن است.

جدول ۱: مشخصات HPLC در طی مطالعه

Mobile Phase	MPA: Methanol, MPB: Acetonitrile and MPC: Acetic Acid 0.1%
Column	C18 150*4.6
Flow Rate	1 ml/min
Column Temperature	40 C
Wave Length	The excitation and emission wavelengths were 360 and 455 for aflatoxins, and 276 and 460 for ZEA
Run Time	20 min

جدول ۲: پرایمرها

Reverse primer (5'→3')	Forward primer (5'→3')	ژن
GGAAGACAGTGCTGCTTTCTGC	AACGACTGACCAGGCAGCAAGA	GIGYF2
CCTCCTTCTTGCTCTGGTCTT	TGGCATCCTGAAGAGTGCTAC	EIF4E2
GCTTGTTGATGGTCTCCTTGA	GAGGAGATCGAGTACCTGGA	EIF4G1

CC BY-NC 4.0

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]
[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

جدول ۳: محتویات مواد واکنش Real Time PCR

Maxima SYBR green/Rox qPCR master mix(2x)	12.5 µl
Forward primer	1µl /0.3 µM
Reverse primer	1µl /0.3 µM
Template DNA	5 µl /100ng/ul
Water, nuclease free	To 25µl
Total volume	25µl

جدول ۴: برنامه دمایی واکنش Real time PCR براساس پروتکل کیت شرکت Thermofisher-fermentase برای چهار ژن مورد بررسی

Step	Temperature	Time	Number of cycles
Initial denaturation	95 c	10 min	1
Denaturation	95 c	15 s	40
Annealing	59c	30 s	40
Extension	72 c	30 s	40

سپس بر اساس سیکل‌های آستانه (Ct) به دست آمده از نمونه‌های افراد بیمار و نرمال و متد فافل نمونه‌های بیمار و سالم با یکدیگر مقایسه شدند.

جدول ۵: اعتباربخشی آفلاتوکسین

µg. L-1	Recovery	RSD%Inter-day	RSD%Intra-day
۸۰	۹۷	۲.۱	۶.۲
۲۰۰	۱۰۲	۱.۹	۸.۴
۴۰۰	۹۸	۳.۱	۸.۷
۰ کنترل	۰	۰	۰

جدول ۶: اعتباربخشی زیرالنون

µg. L-1	Recovery	RSD%Inter-day	RSD%Intra-day
۸۰	۱۰۷	۱.۲	۷.۱
۲۰۰	۹۲	۱.۳	۷.۲
۴۰۰	۹۳	۲.۹	۸.۹
۰ کنترل	۰	۰	۰

جدول ۷: نتایج حاصل از تزریق نمونه‌ها و استانداردها (ND: Not Detected)

Sample name	RT		Peak Area		Concentration(µg/ml)	
	Aflatoxin	Zearalenone	Aflatoxin	Zearalenone	Aflatoxin	Zearalenone
Aflatoxin	6.738	ND	17420	ND	1.000	0.000
Zearalenone	ND	6.496	ND	4201	0.000	1000
1	ND	ND	ND	ND	0.000	0.000
2	6.667	ND	730	ND	0.042	0.000
3	ND	ND	ND	ND	0.000	0.000
4	6.850	ND	390	ND	0.022	0.000
5	6.907	ND	164	ND	0.009	0.000

CC BY-NC 4.0

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]
[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

جدول ۸: نتایج اندازه‌گیری غلظت RNA

نمونه	۲۶۰ نانومتر	۲۸۰ نانومتر	نسبت ۲۶۰/۲۸۰	غلظت ug/mL
خون گروه آزمون	۰.۸۰۱	۰.۵۶۵	۱.۴۱۸	۱۶۰۲
خون شاهد	۱.۱۴۳	۰.۷۸۹	۱.۴۴۹	۲۲۸۶

جدول ۹: درصد بیان ژن در نمونه‌های آزمون و شاهد. ۴۵ درصد نمونه های ازمون ژن *GIGYF2* را بیان کردند.

	GIGYF2 (%)	*EIF4G1* (%)	*EIF4E2* (%)
شاهد	۱۰	۲۰	۴
آزمون	۴۵	۴۰	۵۰

بحث

جفت و سلامت آن در سلامت بارداری مادر و رشد و نمو جنین بسیار حیاتی است. این اندام اکسیژن، تغذیه جنین و تصفیه مواد زائد تولید شده توسط آن را در طول دوران بارداری بر عهده دارد. هم‌چنین نقش مهمی در تولید هورمون های بدن و محافظت از جنین در برابر باکتری‌ها و عفونت‌ها ایفا می‌کند (۱). مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه و سمی قارچ‌ها با وزن مولکولی کم (در حدود ۷۰۰ دالتون) می‌باشند که اثراتی منفی بر سلامت حیوان و انسان می‌گذارند. ۶ خانواده عمده مایکوتوکسین‌ها عبارتند از آفلاتوکسین‌ها، تریکوتسن‌ها، فومونیسین‌ها، زیرالنون، اوکراتوکسین ها، و آلکالوئیدهای ارگوت. مایکوتوکسین‌های دیگری نیز وجود دارد اما این ۶ دسته بیش از سایرین تشخیص داده و مطالعه شده‌اند (۲۶-۲۳). در بین مایکوتوکسین‌ها، ۱۴ نوع سرطانزا وجود دارد که در این میان آفلا توکسین‌ها از نظرقدرت سرطانزایی قویتر از سایرین می‌باشند (۲۷). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) برای اندازه‌گیری و پایش آفلاتوکسین و زیرالنون از دقت و صحت بالایی برخوردار است. نمودار کالیبراسیون ترسیم‌شده بر اساس شش غلظت مختلف، خطی بودن مناسبی را با ضریب همبستگی بالاتر از ۰/۹۹ نشان داد که بیانگر کارایی و قابلیت اعتماد این روش در محدوده غلظتی وسیع از ۰/۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر است. تعیین LLOQ در سطح ۰/۵ میکروگرم بر لیتر و ULOQ در سطح ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر، حساسیت و محدوده دینامیکی مطلوب روش را تأیید نمود. اعتبارسنجی روش نیز نشان داد که درصد بازیافت در غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین در محدوده ۹۷ تا ۱۰۲ درصد قرار دارد که بیانگر دقت بالای استخراج و اندازه‌گیری است. هم‌چنین مقادیر RSD در دو سطح بین‌روزی و درون‌روزی همگی کمتر از ۱۰ درصد بودند که حاکی از تکرارپذیری و دقت بالای آزمون است. در خصوص زیرالنون نیز درصد بازیافت در محدوده ۹۲ تا ۱۰۷ و درصد خطای نسبی در محدوده قابل قبول قرار داشت که نشان‌دهنده قابلیت اعتماد این روش برای اندازه‌گیری همزمان هر دو مایکوتوکسین است. از نظر آنالیز ژنتیکی، نتایج این مطالعه افزایش قابل توجهی در بیان ژن‌های GIGYF2، EIF4E2 و EIF4G1 در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد نشان داد. به‌طور مشخص، بیان ژن GIGYF2 در گروه آزمون به ۴۵ درصد رسید، در حالی‌که در گروه شاهد تنها ۱۰ درصد مشاهده شد. این یافته می‌تواند بیانگر نقش این ژن در پاسخ سلولی به استرس ناشی از مواجهه با مایکوتوکسین‌ها باشد، چرا که GIGYF2 در مسیرهای تنظیمی مرتبط با ترجمه و بقا سلولی نقش دارد. افزایش بیان EIF4E2 نیز در گروه آزمون با ۵۰ درصد در مقایسه با ۴ درصد در گروه شاهد مشاهده شد که می‌تواند بیانگر القای مکانیسم‌های جایگزین ترجمه تحت شرایط استرس باشد. EIF4E2 به‌عنوان یکی از فاکتورهای آغازگر ترجمه شناخته می‌شود که در شرایط هیپوکسیک و استرسی فعال می‌شود و افزایش بیان آن در حضور مایکوتوکسین‌ها می‌تواند پاسخی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

تطابقی برای حفظ سنتز پروتئین‌های ضروری در شرایط آسیب‌زا باشد. از سوی دیگر، ژن EIF4G1 که نقش محوری در سازماندهی کمپلکس آغازگر ترجمه دارد، در گروه آزمون ۴۰ درصد بیان داشت در حالی‌که در گروه شاهد این میزان ۲۰ درصد بود. این یافته نشان می‌دهد که افزایش بیان EIF4G1 می‌تواند راهبردی برای تقویت توانایی سلول در شروع ترجمه و مقابله با اختلالات ناشی از مواجهه با سموم قارچی باشد. ترکیب این داده‌ها نشان می‌دهد که مواجهه با مایکوتوکسین‌ها نه تنها اثرات قابل اندازه‌گیری در سطح شیمیایی و تحلیلی دارند، بلکه مسیرهای مولکولی و تنظیمی سلول را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. افزایش بیان ژن‌های مرتبط با فرآیند آغاز ترجمه نشان می‌دهد که سلول‌ها تلاش می‌کنند تا از طریق تنظیم مسیرهای پروتئینی و ترجمه‌ای بر اثرات آسیب‌زای آفلاتوکسین و زیرالنون غلبه کنند. این موضوع اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا نشان‌دهنده وجود یک پاسخ سازشی در سطح مولکولی است که می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی برای ارزیابی مواجهه با مایکوتوکسین‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر به بررسی میزان مایکوتوکسین‌های آفلاتوکسین B1 و زیرالنون در نمونه‌های جفت انسانی (پلاسنتا) در بیمارستان‌های شهر تهران پرداخته شد. در این مطالعه پس از جمع‌آوری نمونه‌های استاندارد؛ حضور، عدم حضور و میزان مایکوتوکسین‌های مورد بررسی به روش HPLC بررسی گردید و سپس میزان بیان ژن‌های *EIF4G1, EIF4E2, GIGYF2* با آزمون ریل تایم مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر مشخص شد که آفلاتوکسین در جفت انسان وجود دارد اما زیرالنون در هیچ نمونه وجود نداشت. هم‌چنین نتایج بیان ژن‌های *EIF4G1, EIF4E2, GIGYF2* تغییرات معناداری را بین گروه‌های سالم و بیمار نشان داد. بنابراین این ژن‌ها را با بررسی‌های بیشتر می‌توانند به عنوان مارکری در تشخیص بهتر نمونه‌های دارای آفلاتوکسین استفاده شده و نیز برای ارزیابی وجود آن‌ها به‌عنوان بیومارکر به‌کار رود.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از رساله کارشناسی ارشد، نویسنده اول مقاله (فریبا دست برهان) است.

حامی مالی: ندارد

تعارض در منافع: وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

کد اخلاقی مربوط به این مطالعه IR.IAU.VARAMIN.REC.1400.052دریافت شده است.

مشارکت نویسندگان

در ارائه ایده، خانم دکتر حیدری در طراحی مطالعه، خانم دست برهان در جمع‌آوری داده‌ها و ر تجزیه و تحلیل داده‌ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

References:

1- Burton GJ, Jauniaux E. ***What Is The Placenta?*** American Journal of Obstetrics and Gynecology 2015; 213(4): S6. e1-S6. e4.

2- Ragusa A, Svelato A, Santacroce C, Catalano P, Notarstefano V, Carnevali O, et al. ***Plasticenta: First Evidence of Microplastics in Human Placenta*** Environ Int 2021; 146: 106274.

3- Haque MA, Wang Y, Shen Z, Li X, Saleemi MK, He C. ***Mycotoxin Contamination and Control Strategy in Human, Domestic Animal and Poultry: A Review***. Microb pathog 2020; 142: 104095.

4- Safavizadeh V, Shayanfar A, Ansarin M, Nemati M. ***Assessment of the Alternaria Mycotoxin Tenuazonic Acid in Fruit Juice Samples***. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences 2020; 9(6): 1162-5.

5- Savić Z, Dudaš T, Loc M, Grahovac M, Budakov D, Jajić I, et al***. Biological Control of Aflatoxin in Maize Grown in Serbia.*** Toxins 2020; 12(3): 162.

6- Safavizadeh V, Mogaddam MRA, Farajzadeh MA, Mojkar M, Moore MD, Nokhodchi A, et al. ***Descriptions in Toxicology, Interactions, Extraction, And Analytical Methods of Aflatoxins; A 10-Year Study Performed In Iranian Foodstuffs***. International J Environmental Analytical Chemistry 2023; 103(3): 701-11.

7- Bbosa GS, Kitya D, Lubega A, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW, Kyegombe DB. ***Review of the Biological and Health Effects of Aflatoxins on Body Organs and Body Systems.*** Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects 2013; 12: 239-65.

8- Safavizadeh V, Arabkhani P, Mojkar M, Shyrina D, Nemati M. ***Application of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction to Determine Aflatoxin B1 in Tomato Paste Samples.*** JNFS2021; 6(1): 24-30.

9- Yu J, Hennessy DA, Wu F. ***The Impact of Bt Corn on Aflatoxin-Related Insurance Claims in the United States***. Scientific Reports 2020; 10(1): 1-10.

10- Marshall H, Meneely JP, Quinn B, Zhao Y, Bourke P, Gilmore BF, et al. ***Novel Decontamination Approaches and their Potential Application for Post-Harvest Aflatoxin Control.*** Trends in Food Science & Technology 2020; 106: 489-96.

11- Safavizadeh V, de Oliveira CAF, Nekoukar Z, Aman Mohammadi M, Tognon G, Moore MD. ***Aflatoxin B1 in Imported Cinnamon Consumed in the Yazd Province of Iran***. Food Addit Contam Part B Surveill. 2022; 15(1): 52-5.

12- Wu L, Zhou M, Wang Y, Liu J. ***Nanozyme and Aptamer-Based Immunosorbent Assay for Aflatoxin B1***. J Hazard Mater 2020; 399: 123154.

13- Safavizadeh V, Mojkar M. ***A Survey on the Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Samples in Bafq and Bahabad City.*** J Food Safety and Hygiene 2019; 5(3): 175-78.

14- Safavizadeh V, Mogaddam MRA, Farajzadeh MA, Mojkar M, Moore MD, Nokhodchi A, et al. ***Descriptions in Toxicology, Interactions, Extraction, And Analytical Methods of Aflatoxins; A 10-Year Study Performed in Iranian Foodstuffs.*** International Journal of Environmental Analytical Chemistry 2020: 1-11.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

15- Rai A, Das M, Tripathi A. ***Occurrence and Toxicity of a Fusarium Mycotoxin, Zearalenone***. Crit Rev Food Sci Nutr 2020; 60(16): 2710-29.

16- Caglayan MO, Şahin S, Üstündağ Z. ***Detection Strategies of Zearalenone for Food Safety: A Review***. Crit Rev Anal Chem 2022; 52(2): 294-313.

17- Ropejko K, Twarużek M. ***Zearalenone and Its Metabolites—General Overview, Occurrence, And Toxicity***. Toxin 2021; 13(1): 35.

18- Gupta RC, Mostrom MS, Evans TJ. **Zearalenone**. In: Gupta RC, editor. Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles. 3rd ed. Academic Press; 2018: 1055-63.

19- Partanen HA, El-Nezami HS, Leppänen JM, Myllynen PK, Woodhouse HJ, Vähäkangas KH. ***Aflatoxin B1 Transfer and Metabolism in Human Placenta.*** Toxicological Sciences 2010; 113(1): 216-25.

20- Li X, Zhao L, Fan Y, Jia Y, Sun L, Ma S, et al. ***Occurrence of Mycotoxins in Feed Ingredients and Complete Feeds Obtained from the Beijing Region of China***. J Anim Science and Biotechnology 2014; 5(1): 37.

21- Prendes LP, Fontana AR, Merín MG, D Amario Fernández A, Bottini R, Ramirez ML, et al**.** ***Natural Occurrence and Production of Tenuazonic Acid in Wine Grapes In Argentina***. Food Sci Nutr 2018; 6(3): 523-31.

22- Krummenauer A, Dias P, Veit H, editors**.** ***Determining the LOD and LOQ in Steel Alloys Analysis Using NITON Spectrometer***. J Phys: Conf Ser; 2021: 1826.

23- Al-Jaal BA, Jaganjac M, Barcaru A, Horvatovich P, Latiff A. ***Aflatoxin, Fumonisin, Ochratoxin, Zearalenone And Deoxynivalenol Biomarkers In Human Biological Fluids: A Systematic Literature Review, 2001–2018.*** Food Chem Toxicol 2019; 129: 211-28.

24- Chain EPoCitF, Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, et al. ***Risk Assessment of Aflatoxins in Food.*** EFSA Journal 2020; 18(3): e06040.

25- Elaridi J, Bassil M, Kharma JA, Daou F, Hassan HF. ***Analysis of Aflatoxin M1 in Breast Milk and Its Association with Nutritional And Socioeconomic Status of Lactating Mothers in Lebanon***. J Food Prot 2017; 8(10): 1737-41.

26- Verma R. ***Aflatoxin Cause DNA Damage.*** International Journal of Human Genetics 2004; 4(4): 231-6.

27- Agriopoulou S, Stamatelopoulou E, Varzakas T. ***Advances in Occurrence, Importance, And Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods***. Foods 2020; 9(2): 137.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

CC BY-NC 4.0

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 34| NO 1 | Apr 2026

Received: 27 May 2025
Accepted: 15 Sep 2025

Investigation of the Levels of Mycotoxins Aflatoxin B1 and Zearalenone in Human Placenta Samples in Hospitals in Tehran City

Fariba Dastborhan[*1], Mitra Heidari Nasrabadi[1]

Original Article

Introduction: The placenta plays a crucial in maintaining maternal health during pregnancy and supporting fetal development, making it important to understand potential threats such as mycotoxins - secondary metabolites of fungi, which are known for their adverse effects on animal and human health. Therefore, the aim of this study was to investigate the levels of mycotoxins Aflatoxin B1 and Zearalenone in human placenta samples collected from hospitals in Tehran City.

Methods: This descriptive-analytical study included five placental samples that were obtained according to the defined inclusion and exclusion criteria from both vaginal and cesarean deliveries in hospitals in Tehran City. The samples were collected immediately after delivery and analyzed using high-performance liquid chromatography (HPLC). In addition, this study also examined the expression levels of the GIGYF2, EIF4E2, and EIF4G1 genes.

Results: The results indicated that aflatoxin B1 (0.009 to 0.042) was detected at varying concentrations ranging from0.009 to 0.042 µg/mL, while zearalenone was absent in all samples. Furthermore, there were significant differences in the expression levels of the GIGYF2, EIF4E2, and EIF4G1 genes between the aflatoxin-exposed and non-exposed groups.

Conclusion: The presence of aflatoxin in human placenta was confirmed, while Zearalenone was not detected. The significant changes in the expression of GIGYF2, EIF4E2, EIF4G1 genes between the two groups indicate their potential use as diagnostic markers for aflatoxin exposure.

Keywords: Mycotoxin, Aflatoxin B1, Zearalenone, Placenta, GIGYF2, EIF4E2, EIF4G1.

Citation: Dastborhan F, Heidari Nasrabadi M. **Investigation of the Levels of Mycotoxins Aflatoxin B1 and Zearalenone in Human Placenta Samples in Hospitals in Tehran City.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2026; 34(1): 9841-51.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-19]

[DOI: 10.18502/ssu.v34i1.21525]

[1]Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 09134569829**, email:** fborhan206@gmail.com

CC BY-NC 4.0