مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۴، ۲۸۸ - ۲۸۱

تغییرات آسیب‌شناسی و فراساختاری کلیوی جوجه‌های گوشتی نژاد راس در مسمومیت با کلرید کادمیوم

سعید حصارکی [۱] محمد جواد قراگزلو [۲*] جمیله سالار آملی [۳] سعید بکایی [۴] عباس جواهری وایقان [۵]

۱) گروه پاتولوژی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران - ایران.
۲) گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه علوم پایه، بخش سم شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۴) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۵) گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان - ایران.

(دریافت مقاله: ۱ شهریور ماه ۱۳۸۷ ، پذیرش نهایی: ۲۷ خرداد ماه ۱۳۸۸)

چکیده

کادمیوم به‌عنوان یک فلزسنگین محیط زندگی حیوانات وگیاهان راآلوده نموده واثرات زیان‌آوری برسلامت وبهزیستی در موجودات زنده می‌گذارد. در مطالعه حاضر جوجه به‌عنوان یک مدل حیوانی جهت تحقیق اثرات‌سمی کادمیوم بر کلیه بکار برده‌شده است. تعداد ۸۴ قطعه جوجه یک روزه نژاد راس ازیکی ازمراکزصنعتی پرورش طیور خریداری وبه‌طور تصادفی در ۴گروه۲۱ قطعه‌ای در قفس استاندارد توزیع‌شدند. همه پرندگان در خلال تجربه به‌طور آزاد به‌آب وغذا دسترسی داشتند. گروه‌های مورد مطالعه برحسب میزان کادمیوم اضافه‌شده به جیره‌آنها به‌گروه‌های‌شاهد (گروه یک)، ppm ۲۵ (گروه دو)، ۵۰ (گروه‌سه) و ۱۰۰ (گروه چهار) کادمیوم دسته بندی‌شدند. رشد، وزن بدن و وضعیت کلیه‌ها در تعداد ۷ جوجه از هرگروه طی روزهای ۱۴، ۲۸ و ۴۲ بررسی وپس ازکالبدگشایی وزن کلیه‌ها مورد ارزیابی قرارگرفت. در ادامه نسبت وزن‌آنها به وزن بدن ×۱۰۰ محاسبه‌شد. نمونه‌های بافتی جمع‌آوری‌شده ازگروه‌ها و زمان‌های مختلف پس از انجام مراحل مختلف پاساژ بافتی، قالبگیری، برش و رنگ‌آمیزی با استفاده از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن مطالعه‌شدند. نتایج مکتسبه با استفاده ازآزمون‌های آنالیزواریانس دوطرفه وآزمون توکی مورد ارزیابی قرارگرفتند. برطبق نتایج بدست‌آمده تاثیر منفی کادمیوم در رشد بدن وکلیه‌ها با دوز وزمان دریافت کادمیوم رابطه مستقیم دارد. ضایعات کلیوی درگروه ۳ و ۴ که ppm ۵۰ و ۱۰۰ کادمیوم دریافت کردند بسیارشدیدتر ازکلیه‌گروه ppm ۲۵ (گروه دو) بود. بیشترین ضایعات در کلیه‌های گروه ۴ که ppm ۱۰۰ کادمیوم دریافت نموده بودند درسن چهل ودوروزگی دیده می‌شد. به‌طور کلی تورم، تغییرات دژنراتیو، نکروزوآپوپتوزسلول‌های پوششی لوله‌های ادراری، حضورسیلندرهای هیالن ونقص در تشکیل کامل بافت لنفاوی کلیوی در هیستوپاتولوژی دیده می‌شد. براین اساس میتوان نتیجه‌گرفت که غلظت‌های بالای کادمیوم رژیم غذایی موجب صدمات کلیوی ازطریق تخریب گلومرولی ولوله‌ای آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، کلیه، جوجه گوشتی.

مقدمه

از لحاظ زمین شناسی کادمیوم عنصر کمیابی در سراسر جهان می‌باشد با این وجود به‌صورت پراکنده میزان آن از لحاظ واحد در میلیون (ppm)در بعضی از لایه‌های زمینی بیش از مناطق دیگر است. نیمه عمر کادمیوم در بدن بسیار طولانی و حدود ۲۰ سال است. این نیمه عمر طولانی بیانگر ماندگاری آن دربدن ودرنتیجه فرار از مکانیسم‌های سم‌زدایی است. جذب روده‌ای غذاهای حاوی کادمیوم یکی از راه‌های آلودگی است که می‌تواند ۳۰ میکروگرم در روز کادمیوم را وارد بدن نماید. محیط اسیدی مجاری گوارش به جذب کادمیوم از طریق مولکول‌هایی به نام مولکول‌های مشترک عبوردهنده پروتون - فلزکمک می‌نماید. این مولکول‌ها درسطح انتروسیت‌ها حضور دارند(۱۴). Garcia و همکارانش در سال ۱۹۹۶، در بررسی خود درخون و بافت‌های ۱۱۸ پرنده که در حومه مدیترانه در اسپانیا زندگی می‌کردند گزارش نمودند که کلیه اولین ارگان جهت تجمع کادمیوم می‌باشد(۵). Bernard و همکارانش درسال ۱۹۹۲ نشان دادند که کادمیوم باعث آسیب گلومرولی و عبور آنیون‌ها ازسد تصفیه‌ای آن می‌شود. این امر آلبومینوری را توجیه می‌نماید(۱). EL-Sebai درسال ۱۹۹۴، در تحقیق خود در خروس‌های یک ساله با تجویز ppm ۱۰۰ و ۱۵۰ کلرورکادمیوم به مدت ۶ هفته گزارش نمودند که کادمیوم سبب کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی نسبت به گروه شاهد شده است(۴). Karmakarو همکاران در سال ۱۹۹۸ پس از تزریق دوزهای بالایی از کلرید کادمیوم به مدت ۴۵ روز به موش‌ها اعلام کردند که مواجهه با دوزهای بالای کادمیوم باعث افزایش وزن بدن این حیوانات نمی‌شود ولی وزن کبد و کلیه‌ها را در آنها افزایش می‌دهد(۷). Robert و همکارانش در سال ۱۹۹۸ با تزریق ۰/۶mg/kg کادمیوم به زیرپوست رت‌های نر و با بررسی کبد و کلیه و اندازه‌گیری میزان سم در آنها نتایج جالبی بدست آوردند. در این تحقیق ضایعات آسیب شناختی شدید در کلیه‌ها دیده شد ولی کبد میزان کمتری از سم را در خود نشان می‌داد. طبق نظر این محققین کادمیوم موجود در کبد بیشتر بشکل متصل به متالوتیونین و کادمیوم موجود در کلیه‌ها بیشتر به‌صورت آزاد شده از متالوتیونین بود که ضایعات شدیدتر کلیه‌ها را توجیه می‌کرد(۹).

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۶۹۲۳۰۹۵-۰۲۱ نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: mjavad@ut.ac.ir

www.SID.ir

Haneef و همکارانش در سال ۱۹۹۸ تاثیرات کادمیوم را از لحاظ تغییر میزان عملکرد کلیه‌های بز و هیستوپاتولوژی آن‌ها بررسی نمودند. در هیستوپاتولوژی هر دو ضایعه نکروز و آپوپتوز پوشش لوله‌های ادراری قابل مشاهده بود(۶). Stoycho و همکاران در سال ۲۰۰۳ ادعا کردند که کادمیوم آثار هیستوپاتولوژیک بارزی را در کبد، کلیه و ریه گوسفند ایجاد می‌کند. نکروز، آپوپتوز، فیبروز، پرخونی و ایجاد سیلندرهای هیالن پروتئینی از جمله آثار کلیوی عنوان شده توسط این محققین می‌باشد(۱۰).

مواد وروش کار

تعداد ۸۴ قطعه جوجه یک روزه نژاد راس از گله مرغ مادر عاری از MG، MS، SG و SP متعلق به شرکت مرغ مادر زربال تهیه و به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۲۱ قطعه‌ای در ۴ قفس (هر قفس ۲۱ جوجه) به‌صورت اتفاقی توزیع شدند و به‌طور آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. جوجه‌ها در شرایط روشنایی ۲۴ ساعته قرار داشته و درجه حرارت محل نگهداری آنها در حد اپتیمم و ۲۷ درجه سانتیگراد بود. آب آشامیدنی جوجه‌ها از آب آشامیدنی شهری (میزان کادمیوم آن زیر آستانه جداسازی) تامین شده بود. تمام گروه‌های تحقیق از جیره‌های غذایی پایه پیش دان (تا ۲۱ روزگی) و پس دان (تا پایان دوره) که ویژگی‌های آن در جدول ۱و۲ آورده شده است (۹۴، NRC) تغذیه نمودند و گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میزان کادمیوم اضافه شده به جیره آنها به گروه‌های شاهد (گروه یک)، ppm ۲۵ (گروه دو)، ppm ۵۰ (گروه سه) و ppm ۱۰۰ (گروه چهار) کادمیوم دسته‌بندی شدند. جهت ارزیابی رشد و وزن بدن و کلیه‌ها تعداد ۷ جوجه از هر گروه در روزهای چهارده، بیست و هشت و چهل و دو به‌طور اتفاقی انتخاب و وزن‌کشی شده و پس از کالبدگشایی، وزن کلیه‌ها نیز به‌وسیله ترازوی حساس مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس نسبت درصد وزن آنها به وزن بدن محاسبه شد.

مشخصات گروه‌های تحقیق: حیواناتی که فقط از غذای پایه (جدول ۱،۲) بدون افزودن کلرور کادمیوم تغذیه شدند در گروه شاهد (گروه یک) قرار گرفتند. در صورتیکه ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ سی سی از محلول ppm ۱۰۰۰ کادمیوم به یک کیلوگرم غذای پایه جوجه‌ها اضافه شده بود به ترتیب در گروه ۲، ۳ و ۴ قرار داده شدند.

۲- آزمایش‌های آسیب‌شناسی: پس از اتمام کالبدگشایی، نمونه‌های لازم از کلیه‌ها برداشت و بخشی از آنها در فرمالین بافر ده درصد برای مطالعه هیستوپاتولوژی و بخشی دیگر در گلوتار آلدهاید ۲/۵ درصد به منظور مطالعه فراساختاری با میکروسکوپ الکترونی پایدار شدند. نمونه‌های ارسالی بعد از تهیه مقطع به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و سپس مورد بررسی ریزبینی قرار گرفتند(۲).

۳- درجه بندی(Scoring)ضایعات کلیه‌ها بقرار زیر می‌باشد: درجه صفر- عدم حضور هیچ‌گونه ضایعه هیستوپاتولوژیک. درجه۱- عدم مشاهده تا وجود نکروز پراکنده بسیار اندک، حضور سلول‌های آپوپتوتیک ۱-۳ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰× و وجود تعداد ناچیزی انکلوزیون پروتئینی در همین شان‌ها. درجه۲- مشاهده نکرز پراکنده اندک، حضور سلول‌های آپوپتوتیک ۳-۶ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰× و وجود تعداد فراوانی انکلوزیون پروتئینی. درجه۳- مشاهده نکروز پراکنده فراوان، حضور سلول‌های آپوپتوتیک بیش از ۶ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰× و وجود تعداد فراوانی انکلوزیون پروتئینی. در آنالیز اطلاعات برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم افزار SPSS-۱۵ استفاده شد. تجزیه و تحلیل حداکثر خطای قابل قبول کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($p<0/05$). در این حالت از آنالیز واریانس دو طرفه و مقایسه چند گانه توکی استفاده شده است.

نتایج

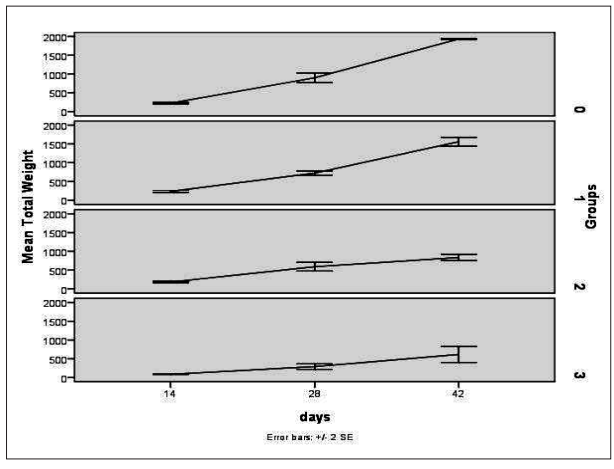
مشاهدات بالینی: در طی دوره پرورش، گروه شاهد و گروه ppm ۲۵، از رشد کافی برخوردار بودند. در گروه ppm ۵۰ از اواسط دوره پرورش اختلال در رشد بدن، عدم رشد کافی تاج و ریش کاملاً مشهود بود. از هفته چهارم به بعد بیش از نود درصد جوجه‌های گروه ppm ۱۰۰ تاج و ریش و مخاطات رنگ پریده داشتند که در شش هفتگی این یافته‌ها واضح‌تر و چشمگیرتر بودند.

تغییرات وزن بدن: تغییرات وزن بدن در گروه‌های مختلف و در روزهای مختلف در جدول ۳ و نمودار ۱ نشان داده شده است. اثر متقابل زمان و دوز در میانگین وزن گروه‌های مختلف معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$). در هفته دوم اختلاف گروه شاهد و ppm ۲۵ با گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ معنی‌دار می‌شود ($p<0/05$). در ۲۸ روزگی اختلاف وزن بدن بین گروه شاهد و گروه ppm ۵۰ معنی‌دار بود ($p<0/05$)، در حالی‌که هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه ppm ۲۵ با گروه شاهد و گروه ppm ۵۰ مشاهده نگردید. همچنین در این روز بین گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$). در چهل و دو روزگی نیز اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه ۲۵ و نیز بین ppm ۲۵ با گروه‌های ppm ۵۰ و ۱۰۰ دیده می‌شود ($p<0/05$). هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه ppm ۵۰ با گروه ppm ۱۰۰ مشاهده نمی‌گردد. نمودار ۱ نشان می‌دهد که هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، از رشد مورد انتظار بدن کاسته می‌شود. به‌طوری که در گروه ppm ۱۰۰ به‌شدت از میزان رشد بدن کاسته شده است.

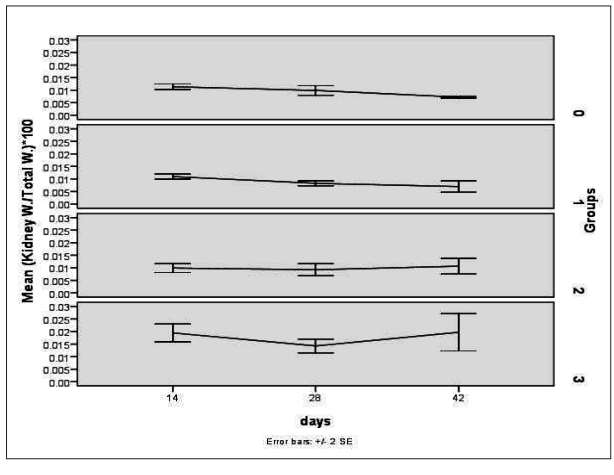
تغییرات وزن کلیه‌ها: تغییرات وزن کلیه‌ها در گروه‌های مختلف و در روزهای مختلف در جدول ۴ و نمودار ۲ نشان داده شده است. اثر متقابل زمان و دوز در میانگین وزن گروه‌های مختلف بسیار معنی‌دار می‌باشد ($p<0/01$).

در هفته دوم اختلاف گروه شاهد و ppm ۲۵ با گروه ppm ۵۰ و ppm ۱۰۰ معنی‌دار می‌شود ($p<0/01$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه ppm ۵۰ با گروه ppm ۱۰۰ وجود دارد ($p<0/01$). ولی هیچ اختلاف

www.SID.ir



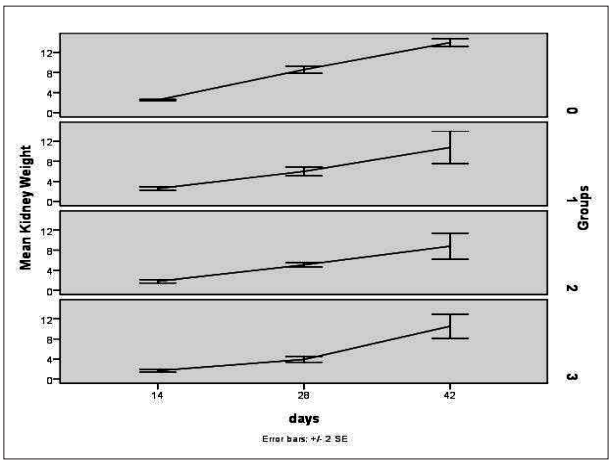
نمودار۱- تغییرات میانگین وزن کل بدن جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.



نمودار۳- تغییرات میانگین نسبت وزن کلیه‌ها به وزن بدن (درصد) جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.

معنی‌داری بین گروه شاهد و ppm ۲۵ دیده نمی‌شود. در بیست و هشت روزگی اختلاف وزن گروه شاهد نسبت به ppm ۲۵، ppm ۵۰ وppm ۱۰۰ معنی‌دار است($p<۰/۰۱$). ولی بین ppm ۲۵ و ppm ۵۰ هیچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه ppm ۵۰ با گروه ppm ۱۰۰ وجود ندارد. در چهل و دو روزگی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های شاهد وppm ۲۵، ppm ۲۵ وppm ۵۰ ونیز ppm ۵۰ وppm ۱۰۰ دیده نمی‌شود و فقط گروه شاهد با ppm ۵۰ اختلاف معنی‌دار دارند($p<۰/۰۵$). نمودار۲ نشان می‌دهد که در گروه شاهد و گروه‌های ppm ۲۵ وppm ۵۰ هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، از رشد مورد انتظار کلیه‌ها کاسته می‌شود. ولی در مورد ppm ۱۰۰ این طور نیست. به‌طوری که در این گروه رشد نسبی کلیه‌ها را شاهد هستیم (جدول ۴ و نمودار۲).

تغییرات درصد وزن کلیه‌ها به کل بدن: تغییرات درصد وزن کلیه در گروه‌های مختلف و در روزهای مختلف در جدول۵ نشان داده شده است. اثر متقابل زمان و دوز در میانگین درصد وزن کلیه‌های گروه‌های مختلف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۱$). در چهارده، بیست و هشت و چهل و دو



نمودار۲- تغییرات میانگین وزن کلیه جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.

روزگی اختلاف درصد وزن کلیه‌های گروه شاهد، ppm ۲۵ وppm ۵۰ در قیاس با ppm ۱۰۰ معنی‌دار است($p<۰/۰۱$). اختلاف درصد وزن کلیه‌های گروه‌های شاهد، ppm ۲۵ وppm ۵۰ در قیاس با یکدیگر معنی‌دار نیست. نمودار ۳ نشان می‌دهد که هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، نسبت درصد کلیه به کل بدن بیش از حد انتظار افزایش یافته است. در گروه ppm ۱۰۰ این نسبت بشدت افزایش می‌یابد.

مشاهدات ماکروسکوپی: عدم تناسب رشد گروه ppm ۵۰ نسبت به گروه شاهد و گروه ppm ۲۵ از هفته دوم رفته رفته آشکار شد. در این گروه از اواسط دوره پرورش اختلال در رشد بدن، عدم رشد کافی تاج و ریش کاملاً مشخص بود. در طول تجربه هیچ‌گونه علائمی از اختلال حرکتی و تورم در مفاصل جوجه‌ها مشاهده نشد. جوجه‌های گروه ppm ۱۰۰ از ۷ روزگی اختلاف رشد خود را نسبت به گروه شاهد و گروه‌های ppm ۲۵ و ۵۰ نشان داده بودند و از هفته دوم این اختلاف کاملاً آشکار شد. از هفته چهارم به بعد بیش از ۹۰ درصد جوجه‌های این گروه تاج و ریش و مخاطات رنگ پریده داشتند. در تمام جوجه‌های گروه ppm ۱۰۰ در شش هفتگی عدم رشد کافی تاج و ریش و پرها واضح بود و تاج و ریش و مخاطات رنگ پریده داشتند. باستثنای کلیه‌ها در ظاهر هیچ تغییر پاتولوژیکی در ارگان‌های مختلف دیده نشد. کلیه‌ها در روز بیست و هشتم در گروه ppm ۱۰۰ متورم بود که در چهل و دو روزگی این تورم شدیدتر و با کانون‌های خونریزی اکیموز همراه شد. این تغییرات در گروه ppm ۵۰ از شدت کمتری برخوردار بود.

مشاهدات میکروسکوپی: تغییرات بافت کلیه‌ها شامل سلول‌های اپیتلیال نکروزه با پیکنوز هسته، افزایش ائوزینوفیلی سیتوپلاسم، کاریورکسی و از دست رفتن هسته سلول‌های پوششی بخصوص لوله‌های پروکزیمال در گروه ppm ۱۰۰ از همان هفته دوم در جوجه‌ها دیده شده و در ۴۲ روزگی بیشترین شدت خود را نشان داد. در حالیکه چنین تغییراتی در گروه ppm ۲۵ تا پایان دوره (۶ هفته) هم مشاهده نشد. تغییرات دژنراتیو در گروه ppm ۵۰ از ۱۴ روزگی آشکار شد و با گذشت زمان بر شدت آن افزوده

www.SID.ir

جدول۱- فرمول جیره غذایی مورد مصرف در تغذیه جوجه‌های شاهد

نوع جیره / اجزاء جیره	جیره پیش دان یا starter (۰-۲۱روزگی) ٪	جیره پس دان یا finisher (۲۲-۴۹روزگی) ٪
ذرت	۶۲/۵۹	۶۸/۷۶
کنجاله سویا	۲۷/۸۵	۲۳/۸۳
پودر ماهی	۶/۰۰	۴/۰۰
منوکلسیم فسفات	۱/۱۰	۰/۹۵
صدف	۱/۵۰	۱/۵۲
متیونین	۰/۱۹	۰/۱۷
نمک	۰/۲۷	۰/۲۷
پرمیکس مواد معدنی +ویتامین	۰/۵۰	۰/۵۰
جمع	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰

گشت. در روز چهاردهم در جوجه‌های گروه ppm ۲۵ و ۵۰ هیچ‌گونه تغییرات آسیب شناسی قابل ذکری مشاهده نگردید (درجه صفر). در جوجه‌های گروه چهارم با این‌که در کلیه‌ها هیچ‌گونه تغییرات واضحی دیده نشد ولی انکلوزیون‌های پروتئینی بیش از حد طبیعی (گروه شاهد) در مجاورت و درون سیتوپلاسم سلول‌های لوله‌ها افزایش حاصل نموده بود. همچنین تعداد و تراکم تجمعات لنفوئیدی طبیعی بود.

درسن بیست و هشت روزگی در مقایسه با چهارده روزگی در گروه ppm ۲۵ و ۵۰ تجمعات لنفوئیدی موجود در کلیه‌ها به‌طور طبیعی بیشتر شده بود. پر خونی ضعیف، سلول‌های نکروتیک اندک و آپوپتوز پراکنده در سلول‌های پوششی لوله‌های کلیه‌ها مشاهده گردید. تجمعات لنفوئیدی در گروه ppm ۱۰۰ دیده نشد. از لحاظ درجه بندی ضایعات کلیوی از نوع خفیف یا درجه یک ارزیابی شد.

درسن چهل و دو روزگی در گروه کنترل و ppm ۲۵ بافت کلیه‌ها طبیعی بود و تعداد و تراکم تجمعات لنفوئیدی در مقایسه با بیست و هشت روزگی چشمگیر بود. در گروه ppm ۱۰۰ پرخونی، وجود لوله‌های کلیوی نابالغ، تورم و تغییرات دژنراتیو در پوشش لوله‌های ادراری به‌ویژه لوله‌های پروکزیمال، وجود سیلندرهای هیالن (گاهی اجسام سرخ آبی شبیه اجسام آمیلاسه) در لومن لوله‌های جمع کننده و دیستال (تصویر۲)، نکروز سلولی و آپوپتوز (تصویر۳،۴) در اپیتلیوم مفروش کننده لوله‌های ادراری، وجود تعداد قابل توجهی انکلوزیون‌های پروتئینی در مجاورت و درون سیتوپلاسم سلول‌های پوششی لوله‌های پروکزیمال مشاهده گردید (تصویر۱). این تغییرات در گروه ppm ۵۰ خفیف‌تر بود. تعداد و تراکم تجمعات لنفوئیدی در بافت کلیه در گروه ppm ۵۰ در مقایسه با گروه‌های دیگر کمتر و در گروه ppm ۱۰۰ هیچ‌گونه بافت لنفوئیدی قابل ذکری مشاهده نگردید. در گروه اخیر تغییرات دژنراتیو اپیتلیوم پوششی لوله‌های مبتلا با تورم، وجود واکوئل‌ها، هسته‌های دارای هستک

جدول۲- برخی دیگر از ویژگی‌های جیره غذایی مورد مصرف در تغذیه جوجه‌های شاهد و تحت گروه.

نوع جیره / اجزاء. جیره	جیره پیش دان (۰-۲۱روزگی) ٪	جیره پس دان (۲۲-۴۹روزگی) ٪
انرژی قابل متابولیسم	۲۸۷۲/۰ Kcal/kg	۲۹۳۸/۰۰ Kcal/Kg
پروتئین خام	۲۰/۸۷	۱۸/۴۶
لیزین	۱/۱۸۸	۰/۹۹۸
متیونین	۰/۵۸۲	۰/۵۱۲
متیونین + سیستئین	۰/۹۲۵	۰/۸۲۵
کلسیم	۱/۰۰	۰/۹۰
فسفر قابل دسترس	۰/۵۰۰	۰/۴۲۱
سدیم	۰/۱۶۰	۰/۱۵

بزرگ (تصویر۱)، جدا شدن سلول‌های پوششی از غشاء پایه، تجمع مایع ادم و انکلوزیون‌های پروتئینی ما بین غشاء پایه و سلول پوششی لوله‌های ادراری (تصویر۳) مشخص می‌گردید. سلول‌های آپوپتوتیک در مقایسه با سایر گروه‌ها فراوانتر بود و از نظر میکروسکوپیک دارای کروماتین با استقرار حاشیه‌ای و چسبیده به غشاء هسته و اجسام آپوپتوتیک به‌شکل قطعات سیتوپلاسمی حاوی تکه‌های هسته یا بدون آن بودند. برخی از تغییرات فراساختاری در آزمایش میکروسکوپ الکترونی نشان داده شده است (تصویر۵). سلول پوششی لوله ادراری تغییرات آپوپتوتیک شامل حاشیه نشینی، و تراکم کروماتین، حضور واکوئل‌های بزرگ داخل سیتوپلاسمی، افزایش بارز لیزوزم‌ها و تغییر در ساختمان میتوکندری (تصویر۵) را نشان می‌دهد. از لحاظ درجه بندی کلیه‌های گروه شاهد و ppm ۲۵ فاقد تظاهرات پاتولوژیک بودند. در حالی که کلیه‌های گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ از درجه به ترتیب ۲ و ۳ رنج می‌بردند.

بحث

در طی این تحقیق که ۴۲ روز به طول انجامید، ۸۴ جوجه در گروه‌های شاهد، ppm ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ به‌طور کامل دوره پرورش را سپری نمودند. در بررسی وضعیت سلامتی جوجه‌های گوشتی در تماس با کادمیوم پارامترهایی از جمله تغییرات رشد کلی بدن و رشد کلیه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آقای Teshfam و همکارانش در سال ۲۰۰۵ ضمن تجویز مقادیر ppm صفر، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ از نمک کلرور کادمیوم از طریق جیره غذایی به جوجه‌های گوشتی نژاد راس، دریافتند که رشد بدن در گروه ppm ۵ به صورتی که از لحاظ آماری معنی‌دار نیست افزایش یافته است. این در حالی است که در گروه ppm ۵۰ و بالاتر به صورتی که از لحاظ آماری معنی‌دار بود کاهش نشان داد. ایشان با استناد به تغییرات خمل‌های روده در غلظت‌های بالایی از کادمیوم کاهش رشد وزن بدن جوجه‌ها را توجیه نمودند (۱۱). Karmakar و همکاران در سال ۱۹۹۸ پس از تزریق دوزهای

www.SID.ir

جدول ۳- آماره‌های مربوط به وزن کل بدن جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب گروه‌های گروهی کادمیوم و زمان در بخش آسیب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سال ۱۳۸۵. حروف هماهنگ روی میانگین‌ها بر عدم اختلاف معنی‌داری در هر جدول و حروف نا هماهنگ حاکی از اختلاف معنی دار در سطح اعلام شده در ستون p- value دارد.

سن(روز)	نوع گروه(غلظت کادمیوم PPm)	تعداد	میانگین (گرم)	خطای معیار	حداقل(گرم)	حداکثر(گرم)	p value
۱۴	شاهد	۷	۲۲۴/۵۷^{a}	۹/۹۰	۱۸۰/۰۰	۲۵۰/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۲۳۶/ ۵۷^{a}	۱۳/۹۸	۱۶۱/۰۰	۲۶۳/۰۰	
	۵۰	۷	۱۸۳/۱۴^{b}	۹/۸۰	۱۴۵/۰۰	۲۱۶/۰۰	
	۱۰۰	۷	۸۷/۴۳^{c}	۲/۷۷	۷۹/۰۰	۹۸/۰۰	
۲۸	شاهد	۷	۹۰۰/۷۱^{a}	۶۵/۱۱	۵۶۵/۰۰	۱۱۱۰/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۷۲۴/۰۰^{ab}	۲۷/۴۵	۶۱۱/۰۰	۸۰۹/۰۰	
	۵۰	۷	۵۹۱/۱۴^{b}	۵۸/۳۸	۲۹۱/۰۰	۷۲۹/۰۰	
	۱۰۰	۷	۲۹۲/۰۰^{c}	۳۵/۷۷	۱۸۸/۰۰	۴۲۹/۰۰	
۴۲	شاهد	۷	۱۹۳۳/۵۷^{a}	۶/۴۰	۱۹۰۳/۰۰	۱۹۵۲/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۱۵۵۸/۱۴^{b}	۵۹/۲۰	۱۳۵۰/۰۰	۱۸۰۲/۰۰	
	۵۰	۷	۸۳۵/۷۱^{cd}	۴۲/۱۸	۶۳۰/۰۰	۹۴۰/۰۰	
	۱۰۰	۷	۶۱۴/۴۳^{d}	۱۰۵/۰۱	۳۸۳/۰۰	۱۱۷۰/۰۰	

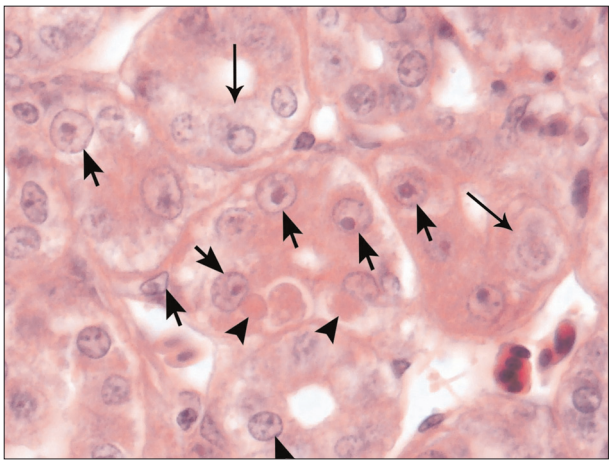
جدول ۴- آماره‌های مربوط به وزن کلیه‌های جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب گروه‌های گروهی کادمیوم و زمان در بخش آسیب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سال ۱۳۸۵. حروف هماهنگ روی میانگین‌ها بر عدم اختلاف معنی‌داری در هر جدول و حروف نا هماهنگ حاکی از اختلاف معنی دار در سطح اعلام شده در ستون p- value دارد

سن(روز)	نوع گروه(غلظت کادمیوم PPm)	تعداد	میانگین (گرم)	خطای معیار	حداقل(گرم)	حداکثر(گرم)	p- value
۱۴	شاهد	۷	۲/۵۲^{a}	۰/۰۷	۲/۲۳	۲/۷۸	p<۰/۰۱
	۲۵	۷	۲/۵۸^{a}	۰/۱۸	۲/۰۰	۲/۳۰	
	۵۰	۷	۱/۷۹^{b}	۰/۱۷	۱/۰۹	۲/۴۴	
	۱۰۰	۷	۱/۶۸^{c}	۰/۱۴	۱/۱۱	۲/۱۴	
۲۸	شاهد	۷	۸/۵۷^{a}	۰/۳۶	۷/۲۴	۹/۹۷	p<۰/۰۱
	۲۵	۷	۵/۹۹^{b}	۰/۴۴	۴/۸۳	۸/۲۹	
	۵۰	۷	۵/۰۷^{bc}	۰/۲۱	۴/۴۳	۵/۸۲	
	۱۰۰	۷	۳/۹۲^{c}	۰/۲۷	۳/۰۸	۵/۰۰	
۴۲	شاهد	۷	۱۳/۹۷^{a}	۰/۳۷	۱۲/۴۴	۱۵/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۱۰/۷۷^{ab}	۱/۶۱	۱/۴۰	۱۴/۴۷	
	۵۰	۷	۸/۷۹^{b}	۱/۳۰	۱/۸۸	۱۲/۵۶	
	۱۰۰	۷	۱۰/۵۳^{ab}	۱/۲۰	۵/۶۰	۱۴/۲۵	

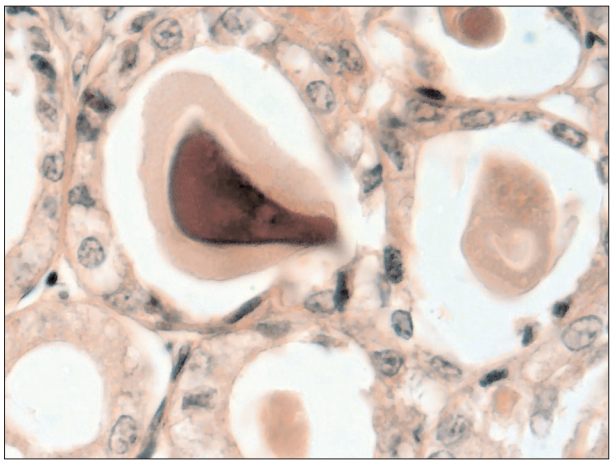
بالایی از کلرید کادمیوم به مدت ۴۵ روز به موش‌ها اعلام کردند که مواجهه با کادمیوم باعث افزایش وزن کبد و کلیه موش‌ها می‌شود. این محققان همچنین ارتباط مستقیم پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و داخل سلولی سلول‌های کبدی و کلیوی را در اثر تجویز کلرید کادمیوم اثبات کرده و نشان دادند که در ۱۵ روزگی ۱۰۸ درصد، ۳۰ روزگی ۱۵۷ درصد و در ۴۵ روزگی ۲۳۷ درصد نسبت به گروه شاهد بر میزان پراکسیداسیون ناشی از کادمیوم چربی‌های سلولی افزوده می‌گردد (۷).

Yong Li و همکارش در سال ۲۰۰۷ ضمن تجویز مقدار ۳۰µmol/kg

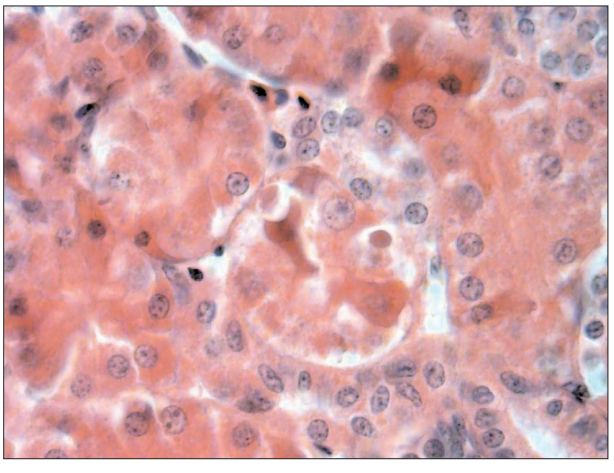
www.SID.ir



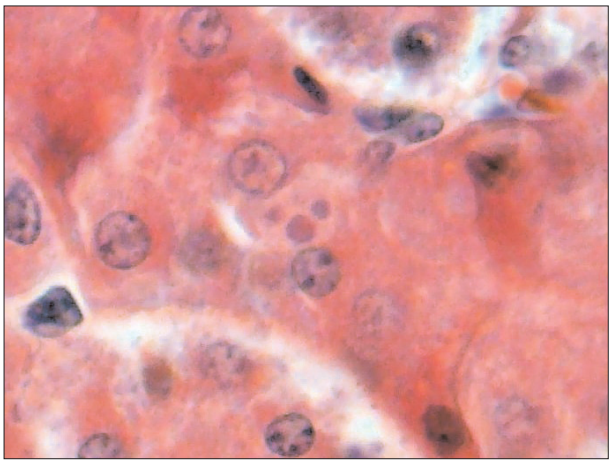
تصویر۱- مقطع رنگ‌آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. هسته‌های دارای هستک بزرگ دال بر نوزایش جهت جبران سلول‌های از دست رفته(پیکان) می‌باشند. تورم سلولی(پیکان طویل) و انکلوزیون‌های پروتئینی(سر پیکان) در سیتوپلاسم سلول‌های پوشش لوله‌های پروکزیمال دیده می‌شوند (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ۶۵۰×).



تصویر۲- مقطع رنگ‌آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. اتساع لوله‌ها و حضور سیلندرهای هیالن (شبیه اجسام آمیلاسه) در داخل لوله‌های دیستال و جمع کننده دیده می‌شوند. (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ۶۰۰×).



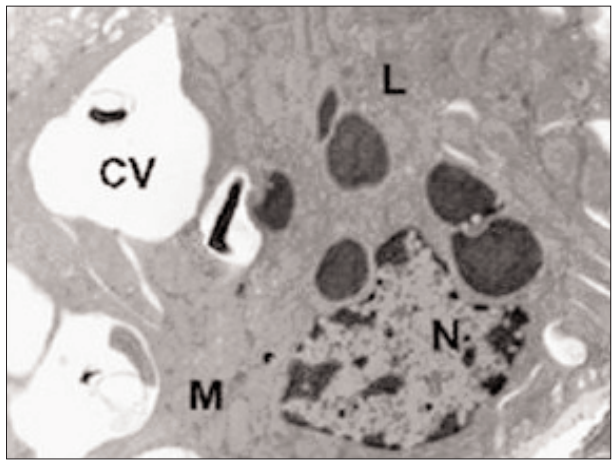
تصویر۳- مقطع رنگ‌آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. نکروز و جدا شدن سلول‌های پوششی از غشاء پایه، تجمع مایع ادم و انکلوزیون‌های پروتئینی ما بین غشاء پایه و سلول پوششی لوله‌های ادراری (وسط تصویر). (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰۰×).



تصویر۴- مقطع رنگ‌آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. اجسام آپوپتوتیک (وسط تصویر) در پوشش لوله‌های پروکزیمال دیده می‌شوند. (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰۰×).

استات کادمیوم به مدت ۷ روز به موش‌ها کاهش مشهودی در وزن بدن آنها مشاهده کردند(۱۲). Bokori در سال ۱۹۹۶، با تجویز مقادیر مختلف کادمیوم از نمک سولفات کادمیوم به مدت حداکثر ۶۸ روز در جوجه‌های گوشتی، مشاهده نمود که در دوز ppm ۲۵ وزن متوسط جوجه‌ها بدون معنی‌دار بودن آماری کمی از شاهد بالاتر شد ولی در سایر دوزها (ppm ۳۰۰ و ۶۰۰) کاهش رشد داشتند(۳). دراین تحقیق از هفته دوم کاهش رشد گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ شروع می‌گردد که نشان دهنده تأثیر زود هنگام کادمیوم در کاهش رشد بدن است. در هفته چهارم بین گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ نیز اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p<0/05$)، که نشان دهنده تأثیر کاهنده‌تر رشد دوز ppm ۱۰۰ است. در هفته ششم تأثیر کاهنده دوز ppm ۲۵ نیز دیده شد. البته در گروه ppm ۱۰۰ به شدت از میزان رشد بدن کاسته شده بود. در بررسی کلیه‌ها از هفته دوم کاهش رشد در گروه‌های ppm ۵۰ و ۱۰۰ با شدیدتر بودن ضایعات در گروه اخیر آغاز می‌گردد. در بیست و هشت روزگی کاهش وزن کلیه‌ها در همه گروه‌ها دیده می‌شود. در ۴۲ روزگی افزایش وزن در گروه ppm ۵۰ و ppm ۱۰۰ دال بر متورم بودن کلیه‌ها به خصوص در مورد ppm ۱۰۰ است. همچنین در صد وزن کلیه‌ها به وزن بدن به خصوص در دوزهای ppm ۵۰ و ppm ۱۰۰ افزایش دارد. که در گروه ppm ۱۰۰ این نسبت به شدت افزایش می‌یابد. Bernard و همکارانش در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که کادمیوم باعث آسیب گلومرولی و عبور آنیون‌ها از سد تصفیه‌ای آن می‌شود. این امر آلبومینوری و سیلندرهای هیالینی ایجاد شده را توجیه می‌نماید(۱). Bernard و همکارانش در سال ۱۹۸۸ با بررسی اثرات کادمیوم و استامینوفن روی کلیه موش‌ها بیان داشتند که تجویز استامینوفن شدت آسیب ناشی از نفروتوکسیسیتی کادمیوم

www.SID.ir



تصویر ۵- عکس میکروسکوپ الکترونی از سلول پوششی لوله ادراری تغییرات آپوپتوتیک شامل پیکنوز، حاشیه نشینی، و تراکم کروماتین (N) مشخص می‌باشد. حضور واکوئل‌های سطحی بزرگ(CV) داخل سیتوپلاسمی، افزایش بارز لیزوزم‌ها (L) و تغییر در ساختمان میتوکندری (M)×۷۴۵۰.

را افـزایـش مـی‌دهـد (۲). Haneef و هـمکارانش در سال ۱۹۹۸ تـأثیـرات کـادمـیـوم را از لـحـاظ تـغـیـیـر مـیـزان عـملـکـرد کلیـه‌هـای بـز و هـیـستوپاتولوژی آنها بررسی نمودند. در هیستوپاتولوژی هر دو ضایعه نکروز و آپوپتوز پوشش لوله‌های ادراری قابل مشاهده بود(۶). Stoycho و همکاران در سال ۲۰۰۳ ادعا کردند که کادمیوم آثار هیستوپاتولوژیک بارزی را در کبد، کلیه و ریه گوسفند ایجاد می‌کند. نکروز، آپوپتوز، فیبروز، پرخونی و ایجاد سیلندرهای هیالن از جمله آثار کلیوی و نکروز، آپوپتوز، فیبروز و پرخونی از آثار کبدی عنوان شده توسط این محققین می‌باشد (۱۰). از جمله آثار مشاهده شده در کلیه‌های جوجه‌های تحت مطالعه ما افزایش انکلوزیون‌های پروتئینی احتمالاً ناشی از تورم سلولی تا ایجاد دژنرسانس واکوئولار یا گرانولار فراوان در سیتوپلاسم و بین سلول‌ها بود. با وجود این‌که این پروتئین‌ها در گروه شاهد در دو، چهار و شش هفتگی مشاهده می‌گردد ولی در گروه‌های تحت تجویز کادمیوم با گذشت زمان و دوز تجویزی بسیار افزایش می‌یابد. در کلیه‌های گروه شاهد تجمعات لنفوئیدی طبیعی با تراکم طبیعی دیده شد که با افزایش سن بر تعداد آنها افزوده گشته است. تجمعات لنفوئیدی در گروه ppm ۱۰۰ در سن چهار هفتگی و در گروه ppm ۵۰ و ۱۰۰ در سن شش هفتگی در کلیه‌ها دیده نشد. این امر دال بر تاثیرات شدید کادمیوم بر تکامل سیستم ایمنی در این ارگان است (۸). Haneef در بررسی خود روی مسمومیت بزها با کادمیوم اظهار داشت که سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری بویژه لوله‌های پروگزیمال و دیستال متورم و تغییرات دژنراتیو را نشان داده و به علت این تورم فضای داخلی لوله‌ها محو شده بود (۶). در تحقیق ما چنین ضایعاتی در گروه‌های ppm ۵۰ و ۱۰۰ در روز چهل و دوم دیده شد. همچنین انکلوزیون‌های پروتئینی فراوان تر از ۲۸ روزگی در سیتوپلاسم و بین سلول‌های کلیوی گروه‌های ppm ۵۰ و ۱۰۰ قابل مشاهده بود. بعلاوه سلول‌های نکروتیک و آپوپتوتیک به خوبی مشهود بود. این تغییرات در روز چهاردهم دیده نمی‌شد ولی در روز بیست و هشتم کمی و در روز چهل و دوم بسیار مشهود بود. در مطالعه ما فیبروز و هیالینی شدن گلومرول‌ها وجود نداشت. علیرغم این‌که در دوز ppm ۲۵ (گروه ۲) حتی بعد از گذشت ۴۲ روز ضایعات میکروسکوپی آشکاری مشاهده نگردید، لکن با توجه به ویژگی‌های تجمعی کادمیوم می‌توان انتظار داشت که با سپری شدن زمان، تغییرات کلیوی حتی در این دوز نیز آشکار گردد.

References

1. Bernard, A., Lauwerys, R, Amor A. O. (1992) Loss of glomerular polyanion correlated with albuminura in experimental cadmium nephropathy. Arch. Toxicol. 66: 272-278.
2. Bernard, A. M., de Russis, R., Amor, A. O. (1988) Potentiation of cadmium nephrotoxicity by acetaminophen. Arch. Toxicol. 62:29l-294.
3. Bokori, J. (1996) Complex study of the physiological role of cadmium. IV, effects of prolonged dietary exposure of broiler chickens to cadmium. Acta Vet. Hung. 44:57-74.
4. EL-Sebai, A. (1994) Physiological and biochemical parameters in chicken exposed to cadmium. Anim. Physiol. Biochem. 435-440.
5. Garcia-Frenands, A. (1996) Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 30: 252-258.
6. Haneef, S. S., Swarup, D., Dwivedi, S. K, . Dash, P. K. (1998) Effects of concurrent exposure to lead and cadmium on renal function in goats. Small Rum. Res. 28:257-261.
7. Karmakar, R., Malay, C. (1998) Cadmium-induced time-dependent oxidative stress in liver of mice: a correlation with kidney. Environ. Toxicol. Pharmacol. 6: 201-207.
8. Luster, M. I., (1993) Risk assessment in immunotoxicology: II. relationship between immune and host resistance test. Fundam. Appl. Toxicol. 21: 71-82.

www.SID.ir

9. Robert, A., Goyer, C., Miller, R., Shi-ya Zhu., Winona Victery. (1993) Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2: 232-244.
10. Stoycho, D., Stoev, N., Grozeva, R., Simeonov, I., Borisov, H., Hubenov, Y., Nikolov, M., Saneva, T., Lazarova, S. (2003) Experimental cadmium poisoning in sheep. Exp. Toxicol. Pathol. 55: 309-314.
11. Teshfam, M., Gharagozlou, M. J., Salaramoli, J., Hassanpour, H. (2005) Morphological alteration of the small intestine mucosa following oral administration of cadmium in broiler chicken. J. Appl. Anim. Res. 29: 65-68.
12. Yong, Li., Sung-Chul, Lim. (2007) Cadmium induced apoptosis of hepatocytes is not associated with death receptor-related caspase-dependent pathways in the rat. Toxicol. Appl. pharm. 24: 231-234.

Archive of SID

www.SID.ir

HISTOPATHOLOGICAL AND ULTRASTRACTURAL CHANGES OF KIDNEYS IN RESPONSE TO CADMIUM CHLORIDE TOXICITY IN BROILER CHICKENS

Hesaraki, S. [1], Gharagozlou, M. J. [*2], Salar Amoli, J. [3], Bokaee, S. [4], Javaheri Vaighan, A. [5]

[1]*Department of Veterinary Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Tehran - Iran.*

[2]*Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.*

[3]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.*

[4]*Department of Food Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.*

[5]*Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Semnan, Semnan - Iran.*

(Received 12 August 2007 , Accepted 17 June 2008)

Abstract:

Cadmium as a heavy metal has some detrimental effects on the health of living organisms. The aim of the present inventigation was to study the effects of cadmium induced toxicity on the kidney in a broiler chicken model. Eighty four one day-old male Ross breed broiler chickens were obtained from a commercial poultry farm and randomly divided into four groups. While control (group 1) took no cadmium, groups 2, 3 and 4 received a ration of 25, 50 and 100 ppm cadmium ($CdCl_2$) per day, respectively. At days 14, 28 and 42 seven birds were sacrificed and their kidneys were examined with both light microscope and transmission electron microscope. Data were statistically analyzed using 2- way ANOVA. Kidney lesions in the groups 3 and 4 were more severe than the group 2. Severity of kidney lesions showed both time and dose dependent manner increase so that all birds in groups 3 and 4 had severe kidney lesions. These groups received 50 and 100 ppm cadmium a day. Renal histopathology showed swelling, degenerative changes, necrosis and apoptosis in tubular epithelium as well as presence of hyaline casts and lack of kidney lymphoid tissue formation. It can be concluded that higher concentrations of dietary cadmium can induce kidney lesions in chickens through glomerular and tubular damages.

Key words: cadmium, kidney, chicken.

***Corresponding author's email: mjavad@ut.ac.ir, Tel:021-66923095, Fax: 021-66933222**

www.SID.ir