

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

سعید حصارکی<sup>۱</sup> محمد جواد قراگزلو<sup>۲\*</sup> جمیله سالارآملی<sup>۳</sup> سعید بکایی<sup>۴</sup> عباس جواهری وایقان<sup>۵</sup>  
 (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 سم‌شناسی 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 فلز سنگین محیط زندگی حیوانات و گیاهان را آلوده نموده و اثرات زیان‌آوری بر سلامت و بهزیستی در موجودات زنده می‌گذارد. در مطالعه حاضر جوجه به‌عنوان یک مدل حیوانی جهت تحقیق اثرات سمی کادمیوم بر کلیه بکار برده شده است. تعداد ۸۴ قطعه جوجه یک روزه نژاد راس از یکی از مراکز صنعتی پرورش طیور خریداری و به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۲۱ قطعه‌ای در قفس استاندارد توزیع شدند. همه پرندگان در خلال تجربه به‌طور آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میزان کادمیوم اضافه‌شده به جیره آنها به گروه‌های شاهد (گروه یک)، ۲۵ ppm (گروه دو)، ۵۰ (گروه سه) و ۱۰۰ (گروه چهار) کادمیوم دسته‌بندی شدند. رشد، وزن بدن و وضعیت کلیه‌ها در تعداد ۷ جوجه از هر گروه طی روزهای ۱۴، ۲۸ و ۴۲ بررسی و پس از کالبدگشایی وزن کلیه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه نسبت وزن آنها به وزن بدن  $100 \times$  محاسبه شد. نمونه‌های بافتی جمع‌آوری شده از گروه‌ها و زمان‌های مختلف پس از انجام مراحل مختلف پاساژ بافتی، قالبگیری، برش و رنگ‌آمیزی با استفاده از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی ترانس می‌شین مطالعه شدند. نتایج مکتسبه با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون توکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر طبق نتایج بدست آمده تاثیر منفی کادمیوم در رشد بدن و کلیه‌ها با دوز و زمان دریافت کادمیوم رابطه مستقیم دارد. ضایعات کلیوی در گروه ۳ و ۴ که ۵۰ و ۱۰۰ ppm کادمیوم دریافت کردند بسیار شدیدتر از کلیه‌های گروه ۲۵ ppm (گروه دو) بود. بیشترین ضایعات در کلیه‌های گروه ۴ که ۱۰۰ ppm کادمیوم دریافت نموده بودند در سن چهل و دو روزگی دیده می‌شد. به‌طور کلی تورم، تغییرات در نرادیوس، نکروز و آپتوز سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری، حضور سیلندرهای هیالین و نقص در تشکیل کامل بافت لنفاوی کلیوی در هیستوپاتولوژی دیده می‌شد. بر این اساس میتوان نتیجه گرفت که غلظت‌های بالای کادمیوم رژیم غذایی موجب صدمات کلیوی از طریق تخریب گلوامرولی و لوله‌ای آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، کلیه، جوجه گوشتی.

باعث آسیب گلوامرولی و عبور آنیون‌ها از سد تصفیه‌ای آن می‌شود. این امر آلومینوری را توجیه می‌نماید (۱). EL-Sebai در سال ۱۹۹۴، در تحقیق خود در خروس‌های یک ساله با تجویز ۱۰۰ و ۱۵۰ کلرور کادمیوم به مدت ۶ هفته گزارش نمودند که کادمیوم سبب کاهش میزان فیلتراسیون گلوامرولی نسبت به گروه شاهد شده است (۴). Karmakar و 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 ۰/۶ mg/kg کادمیوم به زیر پوست رت‌های نرو 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).

## مقدمه

از لحاظ زمین‌شناسی 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 در بدن و در نتیجه 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 عبور دهنده پروتون - فلز کمک می‌نماید. این مولکول‌ها در سطح انتروسیت‌ها حضور دارند (۱۴). Garcia و همکارانش در سال ۱۹۹۶، در بررسی خود در خون 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 در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که کادمیوم



۳-۱ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی  $\times 400$  و وجود تعداد ناچیزی انکلوژیون پروتئینی در همین شان‌ها. درجه ۲- مشاهده نکروز پراکنده اندک، حضور سلول‌های آپوپتوتیک ۳-۶ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی  $\times 400$  و وجود تعداد فراوانی انکلوژیون پروتئینی. درجه ۳- مشاهده نکروز پراکنده فراوان، حضور سلول‌های آپوپتوتیک بیش از ۶ سلول در میانگین شمارش بین ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی  $\times 400$  و وجود تعداد فراوانی انکلوژیون 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 ۲۵ ppm، از رشد کافی برخوردار بودند. در گروه ۵۰ ppm 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 ۱۰۰ ppm 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 در روزهای مختلف در جدول ۳ و نمودار ۱ نشان داده شده است. اثر متقابل زمان و دوز در میانگین وزن گروه‌های مختلف معنی دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ). در هفته دوم اختلاف گروه شاهد و ۲۵ ppm با گروه ۵۰ و ۱۰۰ ppm معنی دار می‌شود ( $p < 0/05$ ). در ۲۸ روزگی اختلاف وزن بدن بین گروه شاهد و گروه ۵۰ ppm معنی دار بود ( $p < 0/05$ )، در حالی که هیچ اختلاف معنی داری بین گروه ۲۵ ppm با گروه شاهد و گروه ۵۰ ppm مشاهده نگردید. همچنین در این روز بین گروه ۵۰ و ۱۰۰ ppm نیز اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p < 0/05$ ). در ۴۱ و ۵۰ روزگی نیز اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و گروه ۲۵ و ۱۰۰ ppm معنی داری بین گروه ۵۰ ppm با گروه ۱۰۰ مشاهده نمی‌گردد. نمودار ۱ نشان می‌دهد که هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، از رشد مورد انتظار بدن کاسته می‌شود. به طوری که در گروه ۱۰۰ ppm به شدت 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 معنی دار می‌باشد ( $p < 0/01$ ).

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

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 و روش کار

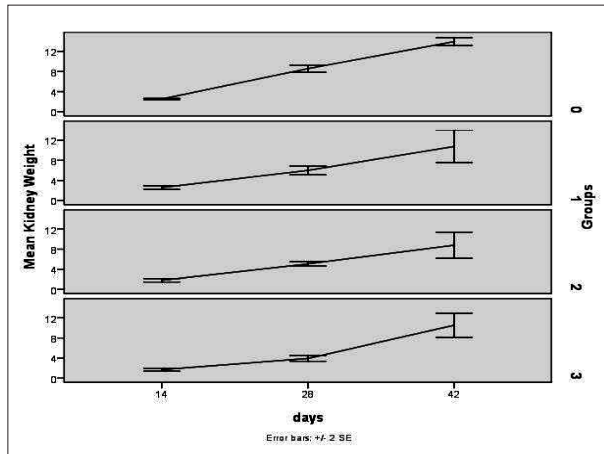
تعداد ۸۴ قطعه جوجه یک روزه نژاد راس از گله مرغ مادر عاری از MG، MS، SG و SP متعلق به شرکت مرغ مادر زربال تهیه و به طور تصادفی در ۴ گروه ۲۱ قطعه‌ای در ۴ قفس (هر قفس ۲۱ جوجه) به صورت اتفاقی توزیع شدند و به طور آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. جوجه‌ها در شرایط روشنایی ۲۴ ساعته قرار داشته و درجه حرارت محل 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 ۱ 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)، ۲۵ ppm (گروه دو)، ۵۰ ppm (گروه سه) و ۱۰۰ ppm (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 به طور اتفاقی انتخاب و وزن‌کشی شده و پس از کالبدگشایی، وزن کلیه‌ها نیز به وسیله 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 ۱۰۰ 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 گلو تار آلدهاید ۲/۵ درصد به منظور مطالعه فراساختاری با میکروسکوپ الکترونی پایدار شدند. نمونه‌های ارسالی بعد از تهیه مقطع به روش هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی و سپس مورد بررسی ریزبینی قرار گرفتند (۲).

**۳- درجه بندی (Scoring) ضایعات کلیه‌ها:** بقرار زیر می‌باشد: درجه صفر - عدم حضور هیچ‌گونه ضایعه هیستوپاتولوژیک. درجه ۱ - عدم مشاهده تا وجود نکروز پراکنده بسیار اندک، حضور سلول‌های آپوپتوتیک



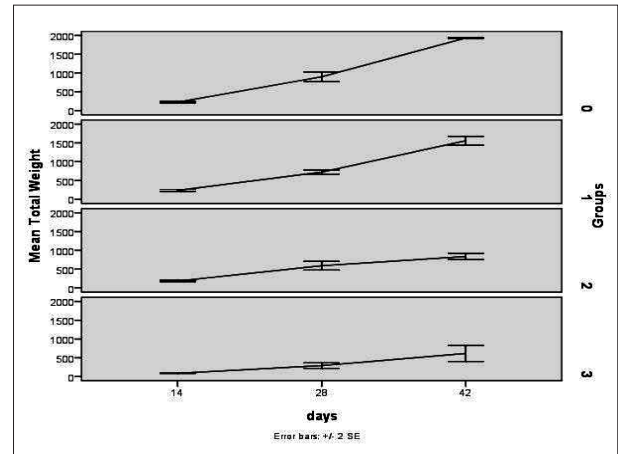


نمودار ۲- تغییرات میانگین وزن کلیه جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.

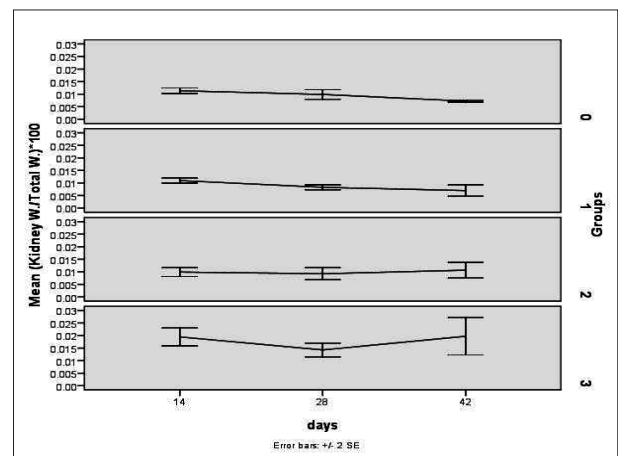
روزگی اختلاف درصد وزن کلیه‌های گروه شاهد، ۲۵ ppm و ۵۰ ppm در قیاس با ۱۰۰ ppm معنی‌دار است ( $p < 0.01$ ). اختلاف درصد وزن کلیه‌های گروه‌های شاهد، ۲۵ ppm و ۵۰ ppm در قیاس با یکدیگر معنی‌دار نیست. نمودار ۳ نشان می‌دهد که هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، نسبت درصد کلیه به کل بدن بیش از حد انتظار افزایش یافته است. در گروه ۱۰۰ ppm این نسبت بشدت افزایش می‌یابد.

**مشاهدات ماکروسکوپی:** عدم تناسب رشد گروه ۵۰ ppm نسبت به گروه شاهد و گروه ۲۵ ppm از هفته دوم رفته رفته آشکار شد. در این گروه‌ها 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 ۱۰۰ ppm از ۷ روزگی اختلاف رشد خود را نسبت به گروه شاهد و گروه‌های ۲۵ ppm و ۵۰ ppm 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 ۱۰۰ ppm در شش هفتهگی عدم رشد کافی تاج و ریش و پرها واضح بود و تاج و ریش و مخاطات رنگ پریده داشتند. باستانی کلیه‌ها در ظاهر هیچ تغییر پاتولوژیکی در ارگان‌های مختلف دیده نشد. کلیه‌ها در روز بیست و هشتم در گروه ۱۰۰ ppm متورم بود که در چهل و دو روزگی این تورم شدیدتر و با کانون‌های خونریزی اکیموز همراه شد. این تغییرات در گروه ۵۰ ppm از شدت کمتری برخوردار بود.

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



نمودار ۱- تغییرات میانگین وزن کل بدن جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.



نمودار ۳- تغییرات میانگین نسبت وزن کلیه‌ها به وزن بدن (درصد) جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب روز و گروه گروهی در بخش آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۳۸۵.

معنی‌داری بین گروه شاهد و ۲۵ ppm دیده نمی‌شود. در بیست و هشت روزگی اختلاف وزن گروه شاهد نسبت به ۲۵ ppm، ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm معنی‌دار است ( $p < 0.01$ ). ولی بین ۲۵ ppm و ۵۰ ppm هیچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه ۵۰ ppm با گروه ۱۰۰ ppm وجود ندارد. در چهل و دو روزگی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های شاهد و ۲۵ ppm، ۵۰ ppm و نیز ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm دیده نمی‌شود و فقط گروه شاهد با ۵۰ ppm اختلاف معنی‌دار دارند ( $p < 0.05$ ). نمودار ۲ نشان می‌دهد که در گروه شاهد و گروه‌های ۲۵ ppm و ۵۰ ppm هر چقدر زمان و دوز مصرف کادمیوم افزایش یابد، از رشد مورد انتظار کلیه‌ها کاسته می‌شود. ولی در مورد ۱۰۰ ppm این‌طور نیست. به طوری که در این گروه رشد نسبی کلیه‌ها را شاهد هستیم (جدول ۴ و نمودار ۲).

**تغییرات درصد وزن کلیه‌ها به کل بدن:** تغییرات درصد وزن کلیه در گروه‌های مختلف و در روزهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. اثر متقابل زمان و دوز در میانگین درصد وزن کلیه‌های گروه‌های مختلف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.01$ ). در چهارده، بیست و هشت و چهل و دو



جدول ۱- فرمول جیره غذایی مورد مصرف در تغذیه جوجه‌های شاهد

نوع جیره اجزاء جیره	جیره پیش دان یا starter (۲۱-۰ روزگی) %	جیره پس دان یا finisher (۲۲-۴۹ روزگی) %
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

جدول ۲- برخی دیگر از ویژگی‌های جیره غذایی مورد مصرف در تغذیه جوجه‌های شاهد و تحت گروه.

نوع جیره اجزاء جیره	جیره پیش دان (۲۱-۰ روزگی) %	جیره پس دان (۲۲-۴۹ روزگی) %
انرژی قابل متابولیسم	۲۸۷۲/۰ Kcal/kg	۲۹۳۸/۰ 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 (تصویر ۱)، جدا شدن سلول‌های پوششی از غشاء پایه، تجمع مایع ادم و انکلوژیون‌های پروتئینی مابین غشاء پایه و سلول پوششی لوله‌های ادراری (تصویر ۳) مشخص می‌گردد. سلول‌های آپوتوتیک در مقایسه با سایر گروه‌ها فراوانتر بود و از نظر میکروسکوپی دارای کروماتین با استقرار حاشیه‌ای و چسبیده به غشاء هسته و اجسام آپوتوتیک به شکل قطعات سیتوپلاسمی حاوی تکه‌های هسته یا بدون آن بودند. برخی از تغییرات فراساختاری در آزمایش میکروسکوپ الکترونی نشان داده شده است (تصویر ۵). سلول پوششی لوله ادراری تغییرات آپوتوتیک شامل حاشیه نشینی، و تراکم کروماتین، حضور واکوئل‌های بزرگ داخل سیتوپلاسمی، افزایش بارز لیزوزوم‌ها و تغییر در ساختمان میتوکندری (تصویر ۵) را نشان می‌دهد. از لحاظ درجه بندی کلیه‌های گروه شاهد و ۲۵ ppm فاقد تظاهرات پاتولوژیک بودند. در حالی که کلیه‌های گروه ۵۰ و ۱۰۰ از درجه به ترتیب ۲ و ۳ رنج می‌برند.

## بحث

در طی این تحقیق که ۴۲ روز به طول انجامید، ۸۴ جوجه در گروه‌های شاهد، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ به طور 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 مقدار ۵ 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 ۵ ppm به صورتی که از لحاظ آماری معنی دار نیست افزایش یافته است. این در حالی است که در گروه ۵۰ ppm و بالاتر به صورتی که از لحاظ آماری معنی دار بود کاهش نشان داد. ایشان با استناد به تغییرات خمل‌های روده در غلظت‌های بالای از کادمیوم کاهش رشد وزن بدن جوجه‌ها را توجیه نمودند (۱۱). Karmakar و همکاران در سال ۱۹۹۸ پس از تزریق دوزهای

گشت. در روز چهاردهم در جوجه‌های گروه 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 انکلوژیون‌های 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.

در سن بیست و هشت روزگی در مقایسه با چهارده روزگی در گروه ppm ۲۵ و ۵۰ تجمعات لنفوئیدی موجود در کلیه‌ها به طور طبیعی بیشتر شده بود. پر خونی ضعیف، سلول‌های نکروتیک اندک و آپوتوز 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.

در سن چهل و دو روزگی در گروه کنترل و ۲۵ ppm بافت کلیه‌ها طبیعی بود و تعداد و تراکم تجمعات لنفوئیدی در مقایسه با بیست و هشت روزگی چشمگیر بود. در گروه ppm ۱۰۰ پر خونی، وجود لوله‌های کلیوی نابالغ، تورم و تغییرات دژنراتیو در پوشش لوله‌های ادراری به ویژه لوله‌های پروکزیمال، وجود سیلندرهای هیالین (گاهی اجسام سرخ آبی شبیه اجسام آمیلاسه) در لومن لوله‌های جمع کننده و دیستال (تصویر ۲)، نکروز سلولی و آپوتوز (تصویر ۴) در اپیتلیوم مفروش کننده لوله‌های ادراری، وجود تعداد قابل توجهی انکلوژیون‌های پروتئینی در مجاورت و درون سیتوپلاسم سلول‌های پوششی لوله‌های پروکزیمال مشاهده گردید (تصویر ۱). این تغییرات در گروه ppm ۵۰ خفیف تر 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



جدول ۳- آماره‌های مربوط به وزن کل بدن جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب گروه‌های گروهی کادمیوم و زمان دربخش آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سال ۱۳۸۵. حروف هماهنگ روی میانگین‌ها بر عدم اختلاف معنی‌داری در هر جدول و حروف نا هماهنگ حاکی از اختلاف معنی‌دار 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 <sup>a</sup>	۹/۹۰	۱۸۰/۰۰	۲۵۰/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۲۳۶/۵۷ <sup>a</sup>	۱۳/۹۸	۱۶۱/۰۰	۲۶۳/۰۰	
	۵۰	۷	۱۸۳/۱۴ <sup>b</sup>	۹/۸۰	۱۴۵/۰۰	۲۱۶/۰۰	
	۱۰۰	۷	۸۷/۴۳ <sup>c</sup>	۲/۷۷	۷۹/۰۰	۹۸/۰۰	
۲۸	شاهد	۷	۹۰۰/۷۱ <sup>a</sup>	۶۵/۱۱	۵۶۵/۰۰	۱۱۱۰/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۷۲۴/۰۰ <sup>ab</sup>	۲۷/۴۵	۶۱۱/۰۰	۸۰۹/۰۰	
	۵۰	۷	۵۹۱/۱۴ <sup>b</sup>	۵۸/۳۸	۲۹۱/۰۰	۷۲۹/۰۰	
	۱۰۰	۷	۲۹۲/۰۰ <sup>c</sup>	۳۵/۷۷	۱۸۸/۰۰	۴۲۹/۰۰	
۴۲	شاهد	۷	۱۹۳۳/۵۷ <sup>a</sup>	۶/۴۰	۱۹۰۳/۰۰	۱۹۵۲/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۱۵۵۸/۱۴ <sup>b</sup>	۵۹/۲۰	۱۳۵۰/۰۰	۱۸۰۲/۰۰	
	۵۰	۷	۸۳۵/۷۱ <sup>cd</sup>	۴۲/۱۸	۶۳۰/۰۰	۹۴۰/۰۰	
	۱۰۰	۷	۶۱۴/۴۳ <sup>d</sup>	۱۰۵/۰۱	۲۸۳/۰۰	۱۱۷۰/۰۰	

جدول ۴- آماره‌های مربوط به وزن کلیه‌های جوجه‌های گوشتی نژاد راس برحسب گروه‌های گروهی کادمیوم و زمان دربخش آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سال ۱۳۸۵. حروف هماهنگ روی میانگین‌ها بر عدم اختلاف معنی‌داری در هر جدول و حروف نا هماهنگ حاکی از اختلاف معنی‌دار 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	۲/۵۳ <sup>a</sup>	۰/۰۷	۲/۲۳	۲/۷۸	p<۰/۰۱
	۲۵	۷	۲/۵۸ <sup>a</sup>	۰/۱۸	۲/۰۰	۲/۳۰	
	۵۰	۷	۱/۷۹ <sup>b</sup>	۰/۱۷	۱/۰۹	۲/۴۴	
	۱۰۰	۷	۱/۶۸ <sup>c</sup>	۰/۱۴	۱/۱۱	۲/۱۴	
۲۸	شاهد	۷	۸/۵۷ <sup>a</sup>	۰/۳۶	۷/۲۴	۹/۹۷	p<۰/۰۱
	۲۵	۷	۵/۹۹ <sup>b</sup>	۰/۴۴	۴/۸۳	۸/۲۹	
	۵۰	۷	۵/۰۷ <sup>bc</sup>	۰/۲۱	۴/۴۳	۵/۸۲	
	۱۰۰	۷	۳/۹۳ <sup>c</sup>	۰/۲۷	۳/۰۸	۵/۰۰	
۴۲	شاهد	۷	۱۳/۹۷ <sup>a</sup>	۰/۳۷	۱۲/۴۴	۱۵/۰۰	p<۰/۰۵
	۲۵	۷	۱۰/۷۷ <sup>ab</sup>	۱/۶۱	۱/۴۰	۱۴/۴۷	
	۵۰	۷	۸/۷۹ <sup>b</sup>	۱/۳۰	۱/۸۸	۱۲/۵۶	
	۱۰۰	۷	۱۰/۵۳ <sup>ab</sup>	۱/۲۰	۵/۶۰	۱۴/۲۵	

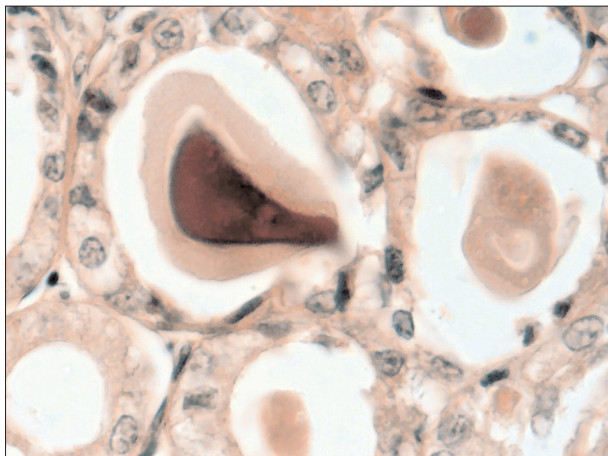
و نشان دادند که در ۱۵ روزگی ۱۰۸ درصد، ۳۰ روزگی ۱۵۷ درصد و در ۴۵ روزگی ۲۳۷ درصد نسبت به گروه شاهد بر میزان پراکسیداسیون ناشی از کادمیوم چربی‌های سلولی افزوده می‌گردد (۷).

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

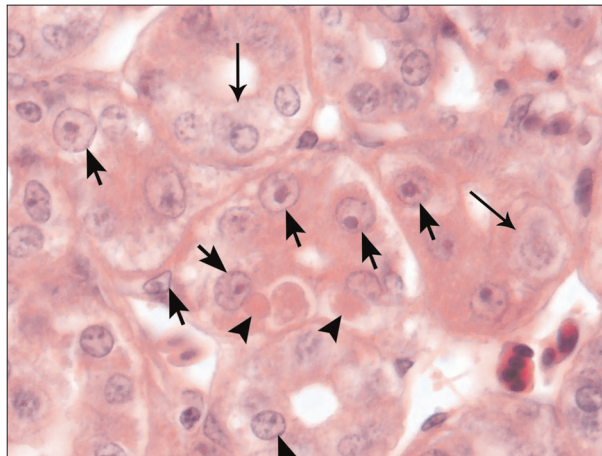
بالایی از کلرید کادمیوم به مدت ۴۵ روز به موش‌ها اعلام کردند که مواجهه با کادمیوم باعث افزایش وزن کبد و کلیه موش‌ها می‌شود. این محققان همچنین ارتباط مستقیم پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و داخل سلولی سلول‌های کبدی و کلیوی را در اثر تجویز کلرید کادمیوم اثبات کرده



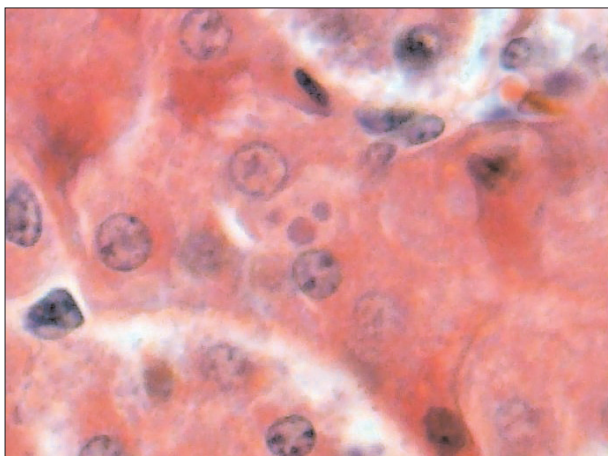




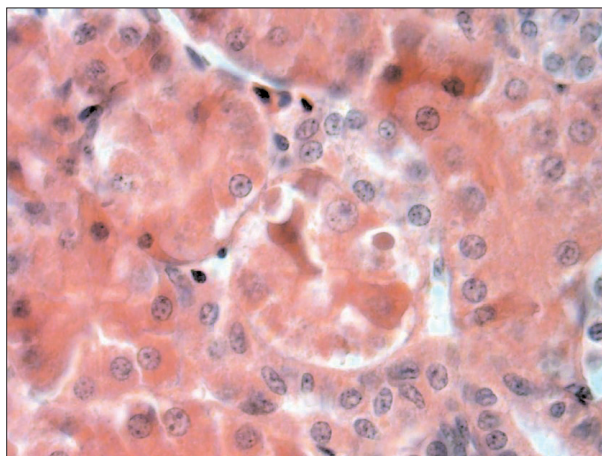
تصویر ۲- مقطع رنگ آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. اتساع لوله‌ها و حضور سیلندرهای هیالین (شبه اجسام آمیلاسه) در داخل لوله‌های دیستال و جمع کننده دیده می‌شوند. (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۶۰۰×).



تصویر ۱- مقطع رنگ آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. هسته‌های دارای هستک بزرگ دال بر نوزایش جهت جریان سلول‌های از دست رفته (پیکان) می‌باشند. تورم سلولی (پیکان طویل) و انکلوزیون‌های پروتئینی (سر پیکان) در سیتوپلاسم سلول‌های پوشش لوله‌های پروگزیمال دیده می‌شوند (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۶۵۰×).



تصویر ۴- مقطع رنگ آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. اجسام آپوتوتیک (وسط تصویر) در پوشش لوله‌های پروگزیمال دیده می‌شوند. (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰۰×).



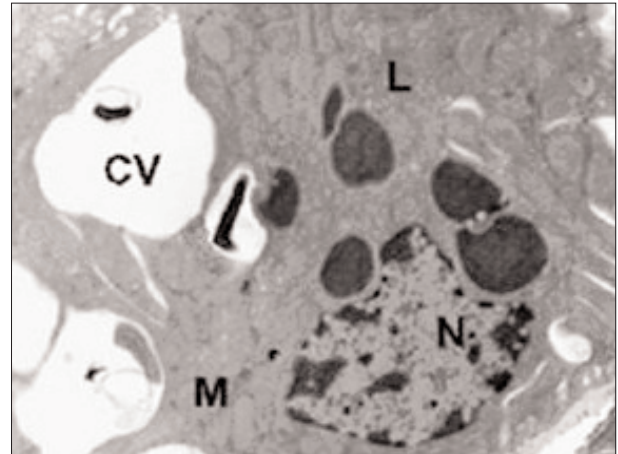
تصویر ۳- مقطع رنگ آمیزی شده کلیه از جوجه ۴۲ روزه از گروه ۱۰۰ ppm. نکروز و جدا شدن سلول‌های پوششی از غشاء پایه، تجمع مایع ادم و انکلوزیون‌های پروتئینی ما بین غشاء پایه و سلول پوششی لوله‌های ادراری (وسط تصویر). (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰۰×).

بررسی کلیه‌ها از هفته دوم کاهش رشد در گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm 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 ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm دال بر متورم بودن کلیه‌ها به خصوص در مورد ۱۰۰ ppm است. همچنین در صد وزن کلیه‌ها به وزن بدن به خصوص در دوزهای ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm 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 نفرو توکسیسیته کادمیوم

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 معنی دار بودن آماری کمی از شاهد بالاتر شد ولی در سایر دوزها (ppm ۳۰۰ و ۶۰۰) کاهش رشد داشتند (۳). در این 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 معنی دار وجود دارد ( $p < 0.05$ )، که نشان دهنده تأثیر کاهنده تر 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



نمی شد 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 این که در دوز ۲۵ ppm (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.



تصویر ۵- عکس میکروسکوپ الکترونی از سلول پوششی لوله ادراری تغییرات آپوتوتیک 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)  $\times 4500$ .

## References

- Bernard, A., Lauwerys, R., Amor A. O. (1992) Loss of glomerular polyanion correlated with albuminuria in experimental cadmium nephropathy. Arch. Toxicol. 66: 272-278.
- Bernard, A. M., de Russis, R., Amor, A. O. (1988) Potentiation of cadmium nephrotoxicity by acetaminophen. Arch. Toxicol. 62:291-294.
- 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.
- EL-Sebai, A. (1994) Physiological and biochemical parameters in chicken exposed to cadmium. Anim. Physiol. Biochem. 435-440.
- Garcia-Frenands, A. (1996) Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 30: 252-258.
- 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.
- 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.
- Luster, M. I., (1993) Risk assessment in immunotoxicology: II. relationship between immune and host resistance test. Fundam. Appl. Toxicol. 21: 71-82.

را افزایش می‌دهد (۲). Haneef و همکارانش در سال ۱۹۹۸ تأثیرات کادمیوم را از لحاظ تغییر میزان عملکرد کلیه‌های بز و هیستوپاتولوژی آنها بررسی نمودند. در هیستوپاتولوژی هر دو ضایعه نکروز و آپوتوز پوشش لوله‌های ادراری قابل مشاهده بود (۶). Stoycho و همکاران در سال ۲۰۰۳ ادعا کردند که کادمیوم آثار هیستوپاتولوژی یک بارزی را در کبد، کلیه و ریه گوسفند ایجاد می‌کند. نکروز، آپوتوز، فیبروز، پرخونی و ایجاد سیلندرهای هیالین از جمله آثار کلیوی و نکروز، آپوتوز، 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 دژنراسانس واکوئلار یا گرانولار فراوان در سیتوپلاسم و بین سلول‌ها بود. با وجود این که این پروتئین‌ها در گروه شاهد در دو، چهار و شش هفتگی مشاهده می‌گرد 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 ۱۰۰ ppm در سن چهار هفتگی و در گروه ۵۰ و ۱۰۰ در سن شش هفتگی در کلیه‌ها دیده نشد. این امر دال بر تأثیرات 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 محوشده بود (۶). در تحقیق ما چنین ضایعاتی در گروه‌های 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 ۵۰ و ۱۰۰ قابل مشاهده بود. بعلاوه سلول‌های نکروتیک و آپوتوتیک به خوبی مشهود بود. این تغییرات در روز چهاردهم دیده



9. Robert, A., Goyer, C., Miller, R., Shi-ya Zhu., Winona Victory. (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.





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

Hesaraki, S. <sup>1</sup>, Gharagozlou, M. J. <sup>\*2</sup>, Salar Amoli, J. <sup>3</sup>, Bokaee, S. <sup>4</sup>, Javaheri Vaighan, A. <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Tehran - Iran.

<sup>2</sup>Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

<sup>3</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

<sup>4</sup>Department of Food Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

<sup>5</sup>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 investigation 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<sub>2</sub>) 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](mailto:mjavad@ut.ac.ir), Tel:021-66923095, Fax: 021-66933222

