



مطالعه تجربی تاثیر مسمومیت با مقادیر مختلف کلرید کادمیوم در ایجاد آپوپتوز و تغییرات بیان ژن iNOS در بافت تیموس جوجه های گوشتی

عباس جواهری وایقان^{۱*}، محمد جواد قراگزلو^۲، رضا نیکبخت بروجنی^۲، جمیله سالار آملی^۲، کبری کیخسروی^۳

۱- عضو هیئت علمی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان ۲- اعضا هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۳- دانشجوی دانشکده

دامپزشکی دانشگاه سمنان

مقدمه و هدف: کادمیوم (Cd) با عدد اتمی ۴۸ و وزن اتمی ۱۱۲/۴۱ یکی از عناصر کمیاب ولی گسترده در سراسر جهان است. به دلیل افزایش ورود کادمیوم به بدن موجودات زنده از طرق مختلف و افزایش احتمال مسمومیت با آن این موضوع در دستور کار سازمان بهداشت جهانی (WHO) قرار گرفته است.

کادمیوم می تواند جای روی را در پروتئین ها و آنزیم های بدن بگیرد و نیز به عنوان یک کاتیون و یا با اتصال به مولکول های رسوب دهنده ای از قبیل گلوکوتائین یا سیستین از حامل ها و کانال های سلولی که به یون های دیگر اختصاص دارد جهت عبور استفاده نماید. دوزهای زیاد کادمیوم در شرایط حاد باعث نکروز و آپوپتوز از هر دو مسیر میتوکندریایی و گیرنده های مرگ سلولی می شود. در تعدادی از مطالعات بر قابلیت کادمیوم در ایجاد گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد به عنوان واسطه ایجاد ضایعات روی ژن ها تأکید شده است. تیموس به عنوان عضو لنفاوی اولیه در طیور بالغ، بطور معمول از ۳ تا ۸ لوب با اندازه های متفاوت در دو طرف گردن تشکیل شده است. این عضو مانند بورس در طول زمان دچار تحلیل می شود. اجزای اصلی سازنده تیموس لنفوسیت⁻ها، سلول⁻های دندریتی، سلول⁻های پوششی و معدودی ماکروفاژ هستند. تمایز سلولی در این عضو موجب پدید آمدن انواع لنفوسیت های تیموسی یا (T Lymphocyte) می گردد.

هدف: هدف از این مطالعه ارزیابی کمی آپوپتوز ناشی از مسمومیت با مقادیر مختلف کادمیوم به روش TUNEL و ارتباط آن با تغییرات احتمالی بوجود آمده در بیان ژن iNOS در تیموس جوجه های گوشتی است.

مواد و روش کار: تعداد ۸۴ قطعه جوجه خروس یک روزه گوشتی به مدت ۴۲ روز در ۴ گروه جداگانه با جیره های متفاوت شامل گروه کنترل فاقد کادمیوم و سایر گروه ها به ترتیب گروه یک حاوی PPM ۲۵، گروه ۲ حاوی PPM ۵۰ و گروه ۳ حاوی PPM ۱۰۰ کادمیوم از نوع کلرور کادمیوم بود. از هر کدام از گروه ها در ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روزگی و در هر نوبت ۷ قطعه جوجه به صورت تصادفی جدا کرده و بعد از وزن کشی تحت معاینه بالینی و کالبد گشایی قرار گرفته و از تیموس آنها جهت انجام آزمایشات هیستوپاتولوژیک و انجام RT-PCR برای ارزیابی میزان بیان ژن iNOS نمونه برداری شد. تغییرات هیستوپاتولوژیک ایجاد شده در نمونه ها از طریق رنگ آمیزی H&E و مشاهده با میکروسکوپ نوری بررسی شد. میزان آپوپتوز ایجاد شده در نمونه ها از طریق تست TUNEL با مشاهده و شمارش موارد موجود در ۸ میدان دید با بزرگ نمایی ۱۰۰۰× در مقاطع تهیه شده شمارش شده و در مقایسه بین گروه ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تغییرات میزان بیان ژن iNOS نیز با استفاده از سنجش میزان mRNA مربوط به ژن iNOS در مقایسه با بیان ژن actinβ از طریق روش RT-PCR به صورت نیمه کمی محاسبه شد و ارتباط آن با میزان آپوپتوز ایجاد شده در نمونه ها مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث: در مشاهدات کالبد گشایی و مطالعه میکروسکوپی تیموس ها در گروه های مختلف در سنین ۱۴ و ۲۸ و ۴۲ روزگی هیچ گونه نکروز، التهاب، خون ریزی آشکار و تغییرات نئوپلاستیک مشاهده نشد ولی تیموس ها با افزایش دوز کادمیوم در گروه ها و با گذشت زمان از رشد کمتری برخوردار بودند. تیموس ها در گروه ۳ بخصوص در ۴۲ روزگی با برخورداری از وزن کمتر، دچار تحلیل بیشتر شده و تراکم موجود در بافت لنفوییدی در آنها کمتر بود و در سطح مقاطع نفوذ بیشتری از بافت چربی را نشان می دادند. همچنین تفاوت اندازه لوب های تیموس در گروه های ۳ و ۲ در مقایسه با گروه یک و کنترل بیشتر بود. از نظر وقوع آپوپتوز با افزایش زمان و افزایش دوز کادمیوم جیره، میزان بروز در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان می داد به طوری که گروه کنترل در ۱۴ روزگی کمترین میزان و گروه ۳ در ۴۲ روزگی با مصرف بیشترین میزان کادمیوم بیشترین میزان بروز آپوپتوز را در تیموس نشان می دادند.

از نظر میزان بیان ژن iNOS، در ۲۸ روزگی و در ۴۲ روزگی در هیچ کدام از گروه ها و نمونه ها در تیموس بیان ژن iNOS القا نشده بود در حالی که در ۱۴ روزگی مقادیری از بیان iNOS مشاهده شد. کمترین مقدار بیان ژن iNOS در این سن در گروه ۲ و به مقدار ناچیزی بوده و پس از آن به ترتیب در گروه کنترل و گروه ۱ و گروه ۳ افزایش یافته بود. تاثیر این فلز در ایجاد ضایعات در بافت ها و ارگان های مختلف از جمله سلول های لنفاوی گزارش گردیده ولی از تاثیر آن بر ارگان های لنفاوی جوجه ها گزارشی توسط نگارنده مشاهده نشده بود. نتایج این تحقیق بیانگر افزایش مختصر بروز آپوپتوز و کاهش بیان ژن iNOS در تیموس جوجه ها متناسب با افزایش دوز کادمیوم جیره و افزایش سن آن ها می باشد.

واژه های کلیدی: کادمیوم، آپوپتوز، iNOS، جوجه، تیموس