

دکتر ملک سلیمانی مهرانجانی<sup>۱\*</sup>، دکتر سید محمد علی شریعت زاده<sup>۲</sup>، پریسا مالکی<sup>۳</sup>، منیره محمودی<sup>۳</sup>

۱- استادیار، دکتری تخصصی بافت شناسی و جنین شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

۲- دانشیار، دکتری تخصصی بافت شناسی و جنین شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

۳- کارشناس ارشد سلولی - تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

تاریخ دریافت ۸۶/۶/۲۱، تاریخ پذیرش ۸۶/۹/۸

## چکیده

**مقدمه:** سدیم آرسنیت یک آلاینده زیست محیطی است که به دلیل کاربرد آن در صنایع شیمیایی مقدار آن در شهرهای صنعتی بیش از سایر مناطق است. این ترکیب از طریق مواد غذایی، هوا، آب آشامیدنی و خاک وارد بدن می‌شود و دارای اثر هیستوپاتولوژیک بر روی اندام‌های مختلف بدن از جمله کلیه می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش مطالعه کمی اثر هیستوپاتولوژیک سدیم آرسنیت بر ساختمان کلیه رت می‌باشد.

**روش کار:** برای انجام این پژوهش که از نوع تجربی می‌باشد، ۱۲ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 20$  گرم انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه تیمار با سدیم آرسنیت به طریق دهانی ۸ میلی گرم در کیلوگرم در روز و گروه کنترل (فقط با آب) تقسیم شدند. دو ماه بعد از تیمار، ابتدا رت‌ها وزن و سپس با اتر بی‌هوش و پس از تشریح، کلیه چپ آنها بیرون آورده شد. سپس تمیز و وزن گردید و در محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از تهیه برش‌های ۱ میلی متری، مراحل پاساژ بافتی انجام شد و آنگاه برش‌های ۵ میکرومتری تهیه و با روش هماتوکسیلین - اتورین (H&E) رنگ آمیزی صورت گرفت. برش‌های آماده شده با روش استریولوژی مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده با آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و تفاوت میانگین‌ها در سطح  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**نتایج:** حجم کل کلیه و حجم کورتکس ( $p < 0.001$ ) و مدولا ( $p < 0.003$ ) در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد. حجم توپول ( $p < 0.001$ ) و حجم بافت بینابینی ( $p < 0.003$ ) نیز در گروه تیمار کاهش معنی‌دار داشت. حجم گلومرولوس در گروه تیمار کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.001$ ). حجم کپسول بومن نیز در گروه تیمار کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.003$ )، در حالی که تفاوت معنی‌داری در حجم جدار کپسول بومن، فضای مویرگی و تافت گلومرول مشاهده نشد. در این مطالعه وزن کلیه در گروه تیمار نیز نسبت به گروه کنترل دارای کاهش معنی‌دار بود ( $p < 0.002$ ) و وزن رت نیز در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل دارای تفاوت معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد که آشامیدن آب آلوده به سدیم آرسنیت موجب تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه و وزن رت می‌شود. برای تعیین میزان اثر این تغییرات هیستوپاتولوژیک بر عمل کلیه باید مطالعات بیشتری صورت پذیرد.

**واژگان کلیدی:** سدیم آرسنیت، کلیه، استریولوژی، رت

\*نویسنده مسئول: اراک، سردشت، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تلفن: ۰۸۶۱-۴۱۷۳۴۰۱

Email: M-soleimani@araku.ac.ir

## مقدمه

آرسنیک یک آلاینده زیست محیطی است که در صنایع مختلف به ویژه در صنایع شیمیایی کاربرد دارد و به همین دلیل میزان آن در شهرهای صنعتی بیشتر از سایر مناطق است. ورود آن به داخل بدن از راه‌های مواد غذایی، هوا، آب آشامیدنی و خاک صورت می‌گیرد و دارای اثرات نامطلوب و آسیب‌زا بر روی ارگان‌های مختلف بدن از جمله کلیه می‌باشد (۱-۳). علاوه بر این، طبق تحقیقات به عمل آمده مشخص شده است که آرسنیک در انسان به عنوان یکی از فاکتورهای سرطان‌زا محسوب می‌شود (۴) و مصرف مزمن آن خطر سرطان پوست، شش، مثانه و کبد را افزایش می‌دهد (۵، ۶). مصرف حاد آرسنیک می‌تواند باعث ایجاد آسیب‌های کلیه، کبد، روده و مغز شود و حتی مصرف مزمن آن نیز می‌تواند باعث ایجاد اختلالات عملکردی در سیستم عصبی و کلیوی شود (۷). هم‌چنین آرسنیک می‌تواند بیماری‌های مزمن کلیوی ایجاد کند و باعث افزایش خطر سرطان‌های کلیه و کبد شود (۸).

مطالعات اخیر نشان داده است که میزان نفریت و نفروزیس در میان افرادی که آب حاوی آرسنیک می‌خورند افزایش یافته است و در چین و شیلی نیز در بین افرادی که آب حاوی آرسنیک می‌خورند سرطان کلیه گزارش شده است (۶، ۹، ۱۰). برخی مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد که کلیه، کبد، رحم و پروستات ممکن است جایگاه‌های هدف کارسینوژن آرسنیک در انسان‌ها باشد (۳). هم‌چنین تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که تزریق خوراکی آرسنیک غیر آلی منجر به تجمع فلز مس در کلیه‌های رت و خوکچه هندی شده ولی با این حال مشخصات و مکانیزم این تجمع در کلیه شناخته نشده است. بسیاری از فلزات سنگین در کلیه تجمع پیدا می‌کند و تجمع اضافی هر کدام از این فلزات حتی فلزات ضروری ممکن است که برای این ارگان بحرانی باشد (۱۱). علاوه بر این تحقیقات نشان داده‌اند که تجمع آرسنیک در برخی بافت‌ها به ویژه در کلیه و کبد موجب تغییرات هیستوپاتولوژیکی در

اجزای کلیه از جمله تخریب توبول‌ها و گلومرول‌ها می‌شود (۱۱، ۱۲). هم‌چنین گزارش شده است که تزریق زیر پوستی سدیم آرسنیت به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم در موش اختلالات حادی در دستگاه کلیوی منجمله نکرورزیس حاد توبولی ایجاد می‌کند (۷).

با توجه به این که مطالعات صورت گرفته در این زمینه عموماً کیفی است و به تغییرات هیستوپاتولوژیک اثرات سدیم آرسنیت بر روی ساختمان کلیه اشاره می‌کند، لذا ضروری است تا تغییراتی که در بخش‌های مختلف ساختمان کلیه رت پس از تیمار با سدیم آرسنیت بوجود می‌آید، به روش کمی (استریولوژیک) مورد بررسی قرار گیرد تا مشخص شود چه بخش‌هایی از کلیه آسیب پذیر می‌باشند. از این رو در مطالعه حاضر اثرات نامطلوب و هیستوپاتولوژیک تیمار با سدیم آرسنیت بر روی ساختمان کلیه رت با استفاده از تکنیک استریولوژی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## روش کار

برای انجام این تحقیق ۱۲ سررت نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 20$  گرم از انیستیتی پاستور ایران خریداری شد. ابتدا این رت‌ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل و گروه تیمار ( $n=6$ ) تقسیم شدند و در خانه حیوانات دانشگاه اراک در شرایط استاندارد  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذای کافی نگهداری شدند. به گروه تیمار، سدیم آرسنیت (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) به میزان ۸ میلی گرم بر کیلوگرم در روز به صورت دهانی با استفاده از گاوآژ و برای مدت ۹ هفته داده شد. در این مدت به رت‌های گروه کنترل با استفاده از گاوآژ آب نوشیدنی خوراندند. در پایان دوره تیمار ابتدا رت‌ها با استفاده از اتر بیهوش و پس از تشریح، کلیه چپ آنها خارج و پس از تمیز و دکپسوله کردن، وزن شدند. برای فیکس کردن کلیه از فرمالین ۱۰ درصد استفاده شد. کلیه فیکس شده را در بلوک ژل آگار ۷ درصد قرار داده و پس از تهیه برش‌های ۱

و  $I_0$  خط ایزوتروپیک می باشد که با تصویر گلوومرول برخورد می کند (۱۶). پس از محاسبه میانگین حجم گلوومرول، با استفاده از فرمول  $V_V$  میانگین حجم اجزاء تشکیل دهنده گلوومرول یعنی کپسول بومن، فضای بومن، فضای مویرگی و تافت محاسبه شد. داده‌های به دست آمده از محاسبه استریولوژیک بخش‌های مختلف بافت کلیه با روش آماری تی زوج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و تفاوت بین میانگین‌ها در سطح  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

کاهش معنی دار حجم کل کلیه، کورتکس، مدولا، حجم توبول‌ها و بافت بینابینی، در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. وزن رت و وزن کلیه نیز در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل دارای تفاوت معنی دار بود (جدول ۱).

مقایسه میانگین حجم گلوومرولوس نیز در گروه تیمار کاهش معنی داری نشان داد (شکل ۱، جدول ۲). میانگین حجم کپسول بومن نیز در گروه تیمار کاهش معنی دار یافت، اما از مقایسه میانگین حجم جدار کپسول، فضای مویرگی و تافت گلوومرول تفاوت معنی داری بین دو گروه کنترل و تیمار مشاهده نشد (شکل ۱، جدول ۲).

### بحث

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، تجویز خوراکی سدیم آرسنیت به صورت محلول در آب آشامیدنی توانست باعث بروز تغییراتی در ساختمان کلیه رت گردد. بررسی انجام شده در رت‌های نری که به مقدار ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آرسنیک از طریق آب آشامیدنی به مدت ۳۲۰ روز دریافت کرده بودند نشان داده است که آرسنیک در برخی بافت‌ها به ویژه در کلیه و کبد تجمع پیدا می‌کند و منجر به تغییرات هیستوپاتولوژیکی در اجزای کلیه از قبیل توبول‌ها و گلوومرول‌ها می‌شود (۱۲، ۱۱). در این مطالعه نیز کاهش معنی‌داری در میانگین حجم توبول‌ها و گلوومرول‌ها در گروه تیمار با سدیم آرسنیت مشاهده شد.

میلی‌متری (۱۲-۱۰ عدد)، مراحل پاساژ بافتی آنها انجام و بلوک‌های پارافینی تهیه شد. از هر کدام از برش‌های ۱ میلی‌متری یک برش ۵ میکرومتری تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ شد.

حجم کل کلیه و قسمت‌های مختلف آن یعنی مدولا و کورتکس همراه با اجزای آن (توبول‌ها و بافت بینابینی)، گلوومرول و اجزاء تشکیل دهنده آن یعنی فضای بومن، جدار کپسول بومن، فضای مویرگی و تافت بر پایه ۱۲ برش در هر کلیه با استفاده از روش استریولوژی تخمین زده شد (۱۵-۱۳). برای انجام آن ابتدا تصاویر برش‌ها به کمک یک پروژکتور<sup>۱</sup> با بزرگ‌نمایی نهایی ۶۴ روی میز کار انداخته شد و یک گرید از شبکه نقاط به طور تصادفی روی تصویر پرتاب شد. روش شمارش نقاط با استفاده از اصول کوالیری<sup>۲</sup> برای تخمین حجم کل کلیه بر اساس فرمول زیر به کار برده شد:

در این فرمول  $V$  نشان دهنده حجم کل،  $a(p)$  سطح یک نقطه از شبکه نقاط،  $t$  نشان دهنده فاصله بین برش‌ها و  $M^2$  مجذور بزرگ‌نمایی تصویر می‌باشد. برای به دست آوردن حجم کورتکس، توبول‌ها، بافت بینابینی و مدولا ابتدا  $V_V$  آنها با استفاده از فرمول

$$V_V = \frac{\sum p(\text{structure})}{\sum p(\text{ref})}$$

تخمین زده شد (۱۵، ۱۴).

در این فرمول  $\sum p(\text{structure})$  مجموع نقاط برخورد کرده با پارامتر مورد نظر و  $\sum p(\text{ref})$  مجموع نقاط برخورد کرده با محیط رفرنس آن پارامتری باشد.

برای تخمین میانگین حجم گلوومرولوس از روش PSI<sup>۴</sup> که یک روش مستقیم و کارآمد برای اندازه‌گیری میانگین حجم یک پارتیکل بدون در نظر گرفتن شکل آن

است و از فرمول  $V = \frac{\pi}{3.n} \times \sum_{i=1}^n lo_i^3$  استفاده شد: در این فرمول  $n$  تعداد کل نقاط برخورد کرده با پارتیکل مورد نظر

1 - Kindermann-DiafocusA 1/150.

2 - Cavalieri.

3- Volum dousity.

4 - Point sampled intercept.

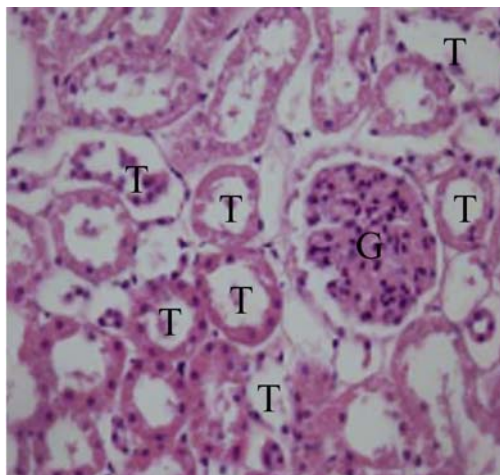
جدول ۱. مقایسه میانگین حجم کل کلیه، حجم کورتکس، مدولا، توبول، بافت بینابینی و وزن کلیه و وزن رت در دو گروه کنترل و تیمار با سدیم آرسنیت

گروه	تیمار	ضریب خطا (CE)	کنترل	ضریب خطا (CE)	p
حجم کل کلیه (mm <sup>3</sup> )	۱۱/۷±۳۱۶/۵	۰/۰۲	۲۸/۵±۵۱۴/۴	۰/۰۲	</۰۰۱
حجم کورتکس (mm <sup>3</sup> )	۱۱/۴±۲۷۰/۶	۰/۰۲	۲۵/۵±۴۴۱/۳	۰/۰۲	</۰۰۱
حجم مدولا (mm <sup>3</sup> )	۳/۴±۴۵/۷	/۰۴	۳/۴±۷۳/۳	/۰۴	</۰۰۳
حجم توبول (mm <sup>3</sup> )	۱۱/۳±۲۳۳/۸	*	۲۱/۷±۳۸۷/۲	*	</۰۰۱
حجم بافت بینابینی (mm <sup>3</sup> )	۰/۸±۱۵/۴	*	۲/۸±۳۲/۵	*	</۰۰۳
وزن کلیه (گرم)	/۰۱±۰/۸۷		/۰۴± ۱/۱۱		</۰۰۲
وزن رت در پایان تیمار (گرم)	۲۶۵±۱۲/۵		۳۱۳/۸±۱۲/۳۲		</۰۰۱

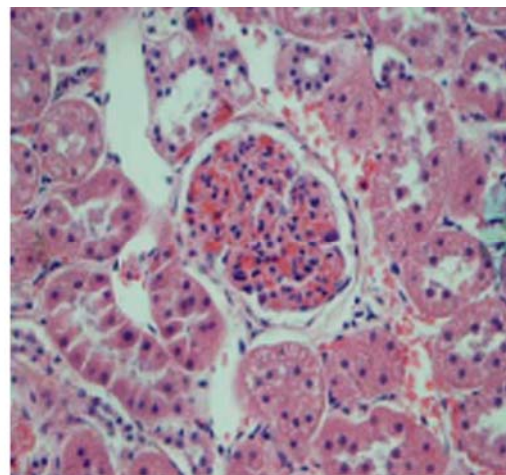
\* چون حجم توبول ها و بافت بینابینی از طریق ضرب کردن Vv آنها در حجم کورتکس به دست آمده است (محاسبه غیر مستقیم) نیازی به محاسبه CE ندارد.

جدول ۲. مقایسه میانگین حجم گلومرول، فضای کپسول بومن، جدار کپسول، فضای مویرگی، تافت گلومرول در دو گروه کنترل و تیمار با سدیم آرسنیت

گروه	تیمار	کنترل	p
حجم گلومرول	۸/۵×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۴	۹×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۳	۰/۰۰۱
حجم فضای بومن	۱/۸×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۴	۲/۱×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۹	۰/۰۳
حجم جدار کپسول	۰/۸×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۶	۰/۹۸×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۵	۰/۱
فضای مویرگی	۰/۳۷×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۳	۰/۴×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۱	۰/۱
حجم تافت	۵/۵×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۰۹	۵/۴×۱۰ <sup>۵</sup> ±۰/۱	۰/۵



(ب) گروه تیمار



(الف) گروه کنترل

شکل ۱. تصویر میکروسکوپ (برش های ۵ میکرونی، رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۲۰۰x) از بافت کلیه رت نر از نژاد ویستار در دو گروه: (الف) کنترل و (ب) تیمار با سدیم آرسنیت؛ نشان دهنده گلومرولار (G) و توبولار (T) آتروفی در گروه رت های تیمار شده با سدیم آرسنیت و بافت طبیعی در گروه رت های کنترل

کرده‌اند. آنها کاهش وزن کلیه را ناشی از تغییر یک سری فاکتورهای بیوشیمیایی از جمله کاهش غلظت پروتئین، غلظت گلیکوژن و میزان اسکورییک اسید می‌دانند (۱۸).

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که سدیم آرسنیت با دوز کم، تغییری در وزن کلیه و وزن رت ایجاد نمی‌کند، به طوری که با تجویز سدیم آرسنیت به مقدار ۰/۰۳ و ۰/۰۱ میلی گرم تغییرات قابل توجهی در وزن کلیه و وزن بدن مشاهده نشده است (۱۹).

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که تیمار با سدیم آرسنیت باعث یک سری تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه می‌گردد که به نظر می‌رسد این تغییرات با فرم شیمیایی، مقدار دوز و مدت زمان تجویز آن متفاوت باشد. علاوه بر این برای بیان مکانیسم دقیق اثرات نامطلوب این توکسیکانت محیطی و کانون‌های آسیب پذیر در بافت کلیه و اثر این تغییرات هیستوپاتولوژیک بر روی عملکرد آن، ضروری است مطالعات بیشتری و استفاده از روش‌های دیگر تحقیقاتی در این زمینه صورت گیرد.

### منابع

1. Peraza MA, Carter DE, Gandolfi AJ. Toxicity and metabolism of subcytotoxic inorganic arsenic in human renal proximal tubule epithelial cell (HK-2). *Cell Biol Toxicol* 2003; 19(4): 253-64.
2. Liu SX, Athar M, Lippai I, Waldren C, Hei TK. Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 8: 1643-1648.
3. Jana K, Jana S, Samanta PK. Effect of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamo- pituitary- testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action. *Reprod Biol Endocrinol* 2006; 4: 9.
4. Chatterjee A, Das D, Mandal BK, Chowdhury TR, Samanta G, Chakraborti D. Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in

تیمار سدیم آرسنیت نیز باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه در ماهی‌ها شده است به طوری که در مطالعه انجام شده بر روی ماهی، به دنبال تجویز دوزهای ۳/۸ و ۷/۶ میلی گرم در لیتر، تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در کلیه در گونه‌های مختلف ماهی بسیار قابل توجه بوده است. از جمله این تغییرات چروکیدگی گلوامرول‌ها، افزایش فضای کپسول بومن، از دست رفتن شکل منظم توپول‌های کلیوی، افزایش ارتفاع حاشیه مسواکی سلول‌های توپولی، کاهش فضای داخل توپولی یا لومن توپولی بود (۱۷). در تحقیق حاضر حجم گلوامرول‌ها در گروه تیمار کاهش قابل توجهی نشان داد که می‌تواند ناشی از آتروفی شدن گلوامرول‌ها باشد. هم‌چنین داده‌های استریولوژیک نشان داد که حجم کل کلیه، حجم کورتکس، مدولا، هم‌چنین حجم بافت بینابینی در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار و قابل توجهی پیدا کرد که تاکنون تحقیقی در این زمینه انجام نگرفته است. اگر چه مکانیسم نفروتوکسیسیته ایجاد شده توسط آرسنیک به طور کامل شناخته نشده است اما برخی از مطالعات آن را ناشی از تغییرات متابولیکی آرسنیک در داخل سلول‌های توپول پروگزیمال می‌دانند. هم‌چنین گزارش شده است که جایگاه اصلی سلولی آرسنیک، میتوکندری است. مطالعات بیوشیمیایی بر روی کلیه رت‌هایی که به مدت زمان طولانی در معرض آرسنیک محلول در آب آشامیدنی قرار گرفته بودند، افزایش تنفس میتوکندریایی را نشان داد. هم‌چنین شواهد زیادی وجود دارند که سمیت آرسنیک را ناشی از ایجاد استرس اکسیداتیو می‌دانند و آن را به عنوان مکانیسمی در کارسینوژنیز ایجاد شده توسط آرسنیک تلقی کرده‌اند (۵).

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، ورما و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ با تزریق دهانی آرسنیک به مقدار ۳ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن رت به مدت ۳۰ روز، کاهش قابل توجه و وابسته به دوز در وزن بدن و وزن کلیه گزارش

- the world. Part I. Arsenic species in drinking water and urine of the affected people. *Analyst* 1995; 120: 643-650.
5. Modi M, Kaul RK, Kannan GM, Flora SJ. Co-administration of zinc and n-acetylcysteine prevents arsenic-induced tissue oxidative stress in male rats. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20: 197-204.
  6. Smith AH, Goycolea M, Haque R, Biggs ML. Marked increase in bladder and lung cancer mortality in a region of northern Chile due to arsenic drinking water. *Am J Epidemiol* 1998; 147:660-9.
  7. Kimura A, Ishida Y, Hayashi T, Wada T, et al. Interferon- $\gamma$  plays protective roles in sodium arsenite-induced renal injury by up-regulating intrarenal multidrug resistance-associated protein 1 expression. *The American Journal of Pathology* 2006; 169(4):1118-1128.
  8. Madden EF, Fowler BA. Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinational: a review. *Drug Chem Toxicol* 2000; 23(1):1-12.
  9. Lewis DR, Southwick JW, Oulet-Helstrom R, Rench J, Calderon RL. Drinking Water Arsenic in Utah: A Cohort Mortality Study, *Environmental Health Perspectives* 1999; 107:359-366.
  10. Wu MM, Kuo TL, Hwang YH, et al. Dose-response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. *Am J Epidemiol* 1989; 130:1123-1132.
  11. Tsukamoto H, Parker HR, Gribble DH, Mariassy A, Peoples SA. Nephrotoxicity of Sodium Arsenate in dogs. *Am J Vet Res* 1983; 44(12):2324-30.
  12. Roy S, Bhattacharya S. Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress protein in liver and kidney of *Channa Punctatus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 2006; 65(2): 218-29.
  13. Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, et al. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988a; 96: 857-881.
  14. Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988b; 96: 379-94.
  15. Mouton PR. Principles and practices of unbiased stereology: an introduction for bioscientists. Baltimore/ London: The Johns Hopkins University Press; 2002.
  16. Howard CV, Reed MG. Unbiased stereology Three-dimensional measurement in microscopy. Oxford: Bios Scientific Publishers 1998; pp: 143.
  17. Kotsanis N, Iliopoulou-Georgudaki J. Arsenic induced liver hyperplasia and kidney fibrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by microinjection technique: A sensitive animal bioassay for environmental metal -toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol* 1999; 62(2):169-178.
  18. Verma RJ, Archana V, Saiyed AA. Arsenic toxicity in mice and its possible amelioration. 2004. *Journal of Eneironmental sciences* 2004; 16(3):447-453.
  19. National Toxicology program. Dose range-finding study for the immunotoxicity evaluation of Sodium Arsenite in female B6C3F Mice. Department of Health and Human Services 1994; CAS(77)84:46-5.

## Quantitative study of the histopathological effects of sodium arsenite on kidney structure in rats

Soleimani Mehranjani M<sup>1\*</sup>, Shariat-zadeh MA<sup>2</sup>, Maleki P<sup>3</sup>, Mahmoodi M<sup>3</sup>

### Abstract

**Introduction:** Sodium arsenite is an environmental pollutant which its amounts in industrial cities are more than other places because of its use in chemical industry. Human populations are exposed to this chemical compound through food, soil, air and water which has toxic and histopathological effects on different body organs including kidney. The aim of this investigation is to study the quantitative histopathological effects of sodium arsenite on the kidney structure of rats.

**Materials and Methods:** 12 male Wistar rats with mean body weight of 200±20 g were randomly divided into 2 groups (n=6). One treated with sodium arsenite (8 mg/kg/day in drinking water) and the other one (the control group) received drinking water only. 2 months after treatment the rats were weighed, anesthetized with ether and dissected. The left kidney was taken out, cleaned, weighed and then fixed in 10% formaldehyde solution. After obtaining 1mm thick slices, tissue processing was carried out, then 5µm thick sections were prepared and stained using H&E method. Slides were finally studied stereologically and data was statistically analyzed using paired samples t-test and the means were considered significantly different at p<0.05.

**Results:** The results of this investigation indicated significant reduction in the total mean volume of kidney (p<0.001) and cortex (p<0.001) and medulla (p<0.003) in sodium arsenite treated group compared to the control rats. The mean volume of tubules and interstitial tissue as components of cortex reduced significantly compared to the control group (p<0.003). The mean volume of glomeruli and Bowman's capsule significantly reduced in treated group (p<0.001). While the other components did not show a significant reduction in volume. A significant reduction was also found in the kidney (p<0.002) and the body weight (p<0.01) in the treated group compared to the control ones at the end of the experiment.

**Conclusion:** We concluded that exposure to sodium arsenite leads to histopathological changes in kidney structure however more studies are needed to determine the effects of these structural changes on the kidney function.

**Key words:** Sodium arsenite, kidney, stereology, rat

\* Corresponding author; Email: M-soleimani@araku.ac.ir

1 - Assistant professor, PhD in Histology and Embryology, department of biology, faculty of science, Arak University.

2 - Associated professor, PhD in Histology and Embryology, department of biology, faculty of science, Arak University.

3 - MSc of biology, faculty of science, Arak University.