

بررسی ساختار عروق تنفسی آبشش فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از قالب گیری عروق و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

چکیده

آبشش ماهی به‌عنوان اندام اصلی تبادل مواد بخصوص گازهای تنفسی تلقی می‌شود و علاوه بر تنفس، نقش مهمی در تنظیم اسمزی، تبادل اسید و باز و دفع ضایعات نیتروژنی ایفا می‌کند. این اندام دارای یکی از پیچیده‌ترین ساختار عروقی است و تفاوت‌هایی در آناتومی آن میان گونه‌های مختلف ماهی وجود دارد. قالب‌گیری تحلیلی عروق توأم با میکروسکوپ الکترونی نگاره، یک روش استاندارد است که اجازه تجسم سه‌بعدی با وضوح مناسبی از رگ‌های ریز خونی و مویرگ‌های کوچک اندام‌ها را می‌دهد. در مطالعه حاضر با استفاده از فن قالب‌گیری تحلیلی عروق، جزئیات ساختار عروق آبششی (مسیر سرخرگی-سرخرگی) ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) بررسی گردید. طبق نتایج حاصله مسیر کلی خون در عروق ماهی فیتوفاگ با سایر ماهیان استخوانی مشابه بود اما تفاوت‌هایی در جزئیات ساختار عروق این ماهی (از جمله وجود آمپول‌های کوچک‌تر و متصل‌به‌هم و مجاری عروقی بلندتر دارای انشعاب بیشتر) نیز مشاهده گردید. به نظر می‌رسد تفاوت در ساختار و مجاری عروقی آبشش فیتوفاگ نسبت به ماهیان با متابولیسم بالا احتمالاً مرتبط با نیاز اکسیژنی کمتر و متابولیسم پایین‌تر فیتوفاگ باشد.

واژگان کلیدی: فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)، قالب گیری عروق

(vascular casting)، میکروسکوپ الکترونی.

اکرم سادات نعیمی^۱

نادر شعبانی پور^{۲*}

۱، ۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

*مسئول مکاتبات:

shabani@guilan.ac.ir

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۳۰۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۴

این مقاله برگرفته از سایر فعالیت‌های پژوهشی است.

مقدمه

آبشش، سیستم‌های تنفسی اغلب جانوران آبی‌اند. این عضو سطوح چین‌خورده‌ای اپتیلیالی است که باید در آب آزاد و معلق باشد. در جانوران آبی مساحت کل سطح آبشش‌ها نسبت به بقیه سطح بدن اغلب بسیار بیشتر است (Shelenk and Benson, 2001). آبشش ماهی یک اندام چند عملکردی بوده، بدین معنی که عهده‌دار تعداد متنوعی از فعالیت‌های هموستاتیکی است (Olson, 1991)، علاوه بر فراهم کردن زمینه تبادل گازی در آب، نقش‌های مهمی را در تنظیم اسمزی و یونی، تعادل اسید-باز، دفع مواد زائد نیتروژنه و متابولیسم برخی هورمون‌ها را نیز بر عهده دارد (Evans et al., 2005; Claiborne et al., 2002). آبشش یکی از مهم‌ترین اندام‌های فیزیولوژیک مهره‌داران و به‌ویژه ماهیان می‌باشد و دارای یکی از پیچیده‌ترین سیستم‌های عروقی یافت شده در میان اندام‌ها است (Olson, 2002; Rogers et al., 2014). پیچیدگی و وسعت بسیار زیاد منطقه سطحی آبشش و کاهش ضخامت سد خونی-آبی، سبب افزایش توانایی تبادل بین محیط داخلی و خارجی گردیده است (Olson, 1991).



از ابتدای کار بر روی مطالعه آناتومی عروق آبششی بیش از ۲۰۰ سال می‌گذرد (Skov and Bennett, 2005). کارهای اولیه در مورد آناتومی عروق آبششی در دهه ۱۸۰۰ به‌طور نسبی گردش تنفسی را توصیف می‌کردند، اما دیدگاه‌های بسیار متفاوتی درباره مسیرهای غیر تنفسی وجود داشته است (Olson, 2002). در ۱۸۳۹ دو مسیر مجزا درون آبشش یک هاگ فیش (hagfish) تشخیص داده شد که شامل یک مسیر تنفسی (سرخرگی - سرخرگی) و یک مسیر نوترینت سرخرگی - سیاهرگی می‌شد که از سرخرگ و ابران فیلمانتی (EFA) منشأ می‌گرفت و یک شبکه سیاهرگی درون بدنه فیلامنت را تشکیل می‌داد (Skov and Bennett, 2005; Olson, 2002). از آن زمان تاکنون، تعدادی از مدل‌های تشریحی و کاربردی در مورد آبشش ماهیان تلئوست پیشنهاد شده است (Skov and Bennett, 2005).

Riess (۱۸۸۱) تصور می‌نمود که فیلامنت می‌بایست دارای سه مسیر سرخرگی، سیاهرگی و لنفی باشد. عقیده او این بود که گردش سرخرگی مستقیماً به عروق نوترینت خون‌رسانی می‌کند و به دلیل اینکه آن‌ها به‌طور نزدیکی با عروق لنفی مرتبط هستند، به گلبول‌های قرمز اجازه ورود به آن‌ها (عروق لنفی) را می‌دهند (Olson, 2002). Kruysse و Steen (۱۹۶۴) از میکروسکوپ نوری استفاده نمودند و زمانی که فیلامنت‌ها را فشرده کردند، با مشاهده حرکت گلبول‌های قرمز، نتیجه گرفتند که علاوه بر مسیر سرخرگی، خون مستقیماً می‌تواند از میان املاها از طریق ساختار عروقی فیلمانتی مرکزی (Central filamental vasculature) عبور کند. این مشاهده، در مقاطع بافتی حاصل از آبششی که به‌وسیله جوهر (مرکب) هندی توسط Richard و Fromm (۱۹۶۹) تزریق شد، تأیید گردید (Olson, 2002). Gannon با به‌کارگیری فن قالب‌گیری تحلیلی عروق سمت‌وسوی مطالعه عروق آبششی این حوزه را متحول ساخت. با این روش ساختار عروقی توسط تزریق ماده‌ای به نام متیل متاکریلات (methylmethacrylate)، قالبی سه‌بعدی و محکم از حفره رگی تشکیل می‌دهد. وقتی که بافت‌ها توسط یک ماده قلیایی حذف شوند قالب باقیمانده می‌تواند توسط استریومیکروسکوپ، گهگاه میکروسکوپ نوری و یا میکروسکوپ الکترونی SEM مورد بررسی قرار گیرد (Gannon, 1987). Dunel و Laurent (۱۹۷۶) اولین چشم‌انداز جامع از عروق آبششی ماهیان تلئوست را با استفاده از قالب‌های عروقی سیلیکونی تهیه نمودند. این مطالعه و مطالعات گسترده بعدی مسیر تنفسی سرخرگی - سرخرگی استاندارد را مشخص کرد و یک ساختار عروقی غار مانند را در مرکز فیلامنت توصیف نمود که عمدتاً از طریق عروق پس لاملا خون‌رسانی می‌شوند (Olson, 2002).

به‌طور کلی مطالعات عروق آبششی در طی سال‌های اخیر، از پیشرفت مداومی برخوردار بوده است و تشریح ساختار عروقی گونه‌های مختلف و متعدد مشخص کرد که تفاوت‌های اساسی بین گونه‌ای میان آن‌ها وجود دارد (Skov and Bennett, 2005).

درک عمومی فعلی از سیستم عروقی آبشش یک تغییر جزئی است از آنچه توسط مولر پیشنهاد شد که شامل یک مسیر سرخرگی - سرخرگی (به‌عنوان مسیر اولیه و اصلی تنفسی که خون اکسیژن‌دار را برای تنه و بیشتر اندام‌های بدن فراهم می‌کند) و یک مسیر سرخرگی - سیاهرگی می‌باشد که عمدتاً در فراهم نمودن اکسیژن و مواد مغذی (nutrient) به ساختار آبشش نقش دارد (Olson, 2002; Skov and Bennett, 2005; Rogers et al., 2014). امروزه در مورد آناتومی و عملکرد آبشش ماهیان سؤالات زیادی بی‌پاسخ‌مانده است و با وجود حدود ۳۰۰۰۰ گونه ماهی که دارای سازگاری‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک متنوعی برای طیف وسیعی از زیستگاه‌های آبی می‌باشند، مطالعه با روش قالب‌گیری عروق به درک بیشتر و کامل‌تری از سیستم عروقی این موجودات کمک می‌کند (Rogers et al., 2014). همچنین این روش در کنار استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM، یک شیوه کاربردی برای تجزیه و تحلیل شبکه‌های ریز عروقی و مویرگ‌ها و آرایش سه‌بعدی آن‌ها و همچنین بررسی بافت شناختی رگ‌ها است (Hossler et al., 1986; Christofferson and Nilsson, 2011). در کشور ما نیز با استفاده از این فن بر روی ساختار عروقی اندام‌های ماهی قزل‌آلا (Nematollahi et al., 2011)، کپور نقره‌ای (نعمت‌اللهی و شادخواست، ۱۳۹۲) و کپور معمولی (نعمت‌اللهی و همکاران، ۱۳۸۷) مطالعاتی صورت گرفته است، اما تاکنون تحقیقی که جزئیات ساختار عروق مسیر تنفسی آبشش را به‌طور کامل در ماهیان به‌ویژه ماهی فیتوفاگ توصیف کند، صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر با به‌کارگیری فن

قالب‌گیری تحلیلی عروق و با کمک SEM، ساختار شبکه‌های ریز عروقی آبشش در مسیر سرخرگی- سرخرگی و آرایش سه‌بعدی آن‌ها در ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

ماده قالب‌گیری شامل رزین به همراه سخت‌کننده آن (Hardener) بود که به میزان ۵۰ درصد با حلال (تینر فوری) مخلوط شد و جهت تزریق استفاده گردید. جهت رنگ دهی به مخلوط از سودان قرمز به مقدار ۰/۶۶ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر از مخلوط استفاده شد (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۵).

ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با وزن متوسط 100 ± 1100 گرم به‌صورت زنده از بازار شهر رشت تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی دریا دانشگاه گیلان منتقل گردید. نمونه‌ها در آزمایشگاه از آب بیرون آورده شد و در کیسه نایلونی قرار گرفت تا هنگام تقلا و تلف شدن کمترین آسیب به آبشش‌ها برسد. فاصله زمانی بین تلف شدن و شروع تزریق باید بسیار کم باشد تا قطر عروق به‌دست‌آمده نمایانگر ابعاد حقیقی عروق باشد و همچنین از اسپاسم عروق جلوگیری شود (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۵).

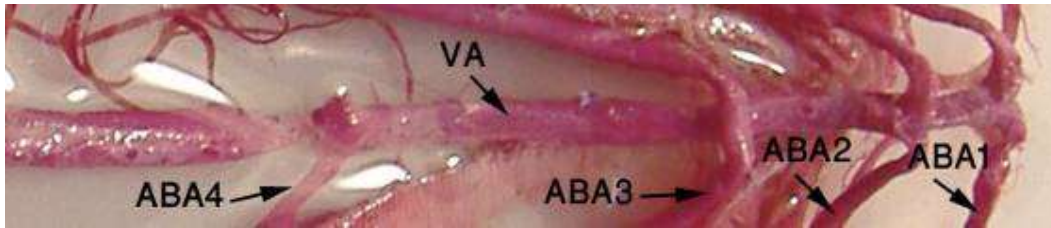
جهت قالب‌گیری از کل آبشش ماهی، ابتدا برای پاک نمودن بستر عروقی از خون محلول سالین (۰/۹NaCl درصد) تزریق شد (Aharinejad and Lametschwandtner, 1992). سرنگ ۵ میلی‌لیتر حاوی سالین به اسکالپ وصل شده و سپس سوزن اسکالپ در ابتدای پیاز ائورتی وارد گردید. سالین به‌آرامی و با سرعت متوسط ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌لیتر در دقیقه تزریق شد. سپس این سرنگ جدا شده و سرنگ دیگری که حاوی ماده قالب‌گیری بود وصل گردید. تزریق ماده قالب‌گیری نیز به‌آرامی و با سرعت متوسط ۰/۱ میلی‌لیتر در دقیقه صورت گرفت. در طول کار پیشروی ماده تزریقی در آبشش مشاهده گردید. زمانی که ماده قالب‌گیری از محل بریدگی ائورت پستی خارج شد، تزریق متوقف گردید. بعد از تزریق، ابتدا نخ دور ائورت شکمی گره‌زده شد و ارتباط ائورت شکمی با پیاز ائورتی قطع شد تا مواد از محل تزریق خارج نشود. پس‌از آن، سوزن اسکالپ از پیاز ائورتی خارج گردید (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۵).

بعد از تزریق، نمونه به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در یخچال نگهداری شد تا ماده قالب‌گیری در عروق منعقد شود. جهت از بین بردن بافت آبشش و سایر بافت‌های اطراف، نمونه در سود با غلظت ۲۰ درصد قرار داده شد. در طی چند روز نمونه به‌طور مداوم مورد بررسی قرار گرفت. در نمونه‌های مورد آزمایش به‌طور معمول بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت، بافت‌های اطراف از بین رفته و آنچه باقی ماند قالبی از ساختار سه‌بعدی عروق آبششی بود (Aharinejad and Lametschwandtner, 1992). این قالب توسط آب به‌آرامی شستشو داده شده و سپس قالب حاصله که نمایی از ساختار سه‌بعدی عروق کل آبشش می‌باشد، در زیر استریو میکروسکوپ و میکروسکوپ نوری مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. بدین‌صورت که ساختار و ارتباطات عروق آبشش توسط استریو میکروسکوپ و ساختارهای عروق ریزتر در صورت لزوم با میکروسکوپ معمولی مورد بررسی قرار گرفت (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۵).

در این مرحله قسمت‌هایی از قالب ساختار عروقی شامل بخش‌هایی از همی برانش یک آبشش برای مطالعه بهتر ساختار سرخرگ‌های آبششی اوران (ABA)، سرخرگ‌های فیلماتی اوران (AFA) و ساختار آمپول در ماهی فیتوفاگ، انتخاب و برش داده شد. بعد از خشک شدن، نمونه‌ها روی پایه فلزی مخصوص (Stalk) با چسب دوطرفه چسبانده شد. سپس نمونه‌ها با طلا پوشانده شدند و پس‌از آن با میکروسکوپ الکترونی نگاره مدل SEM-Philips-XL30 دانشکده فنی دانشگاه گیلان، تصویربرداری انجام شد (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۵ Aharinejad and Lametschwandtner, 1992).

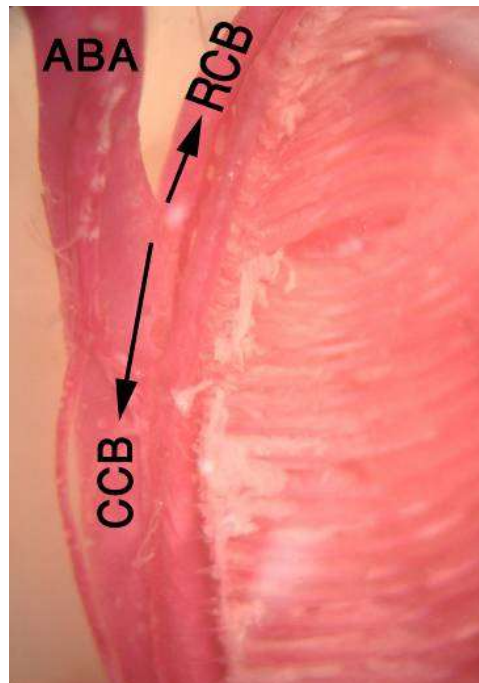
نتایج

در مطالعه با استریو میکروسکوپ ملاحظه گردید که ساختار عروقی آبشش این ماهی دارای ۴ جفت سرخرگ آبششی آوران (Afferent Branchial Arteries یا ABA) بوده که هر جفت به طور جداگانه و مستقل از آنورت شکمی انشعاب می‌گیرند (شکل ۱). هر ABA وارد یک کمان آبششی شده و به یک شاخه مقابل جریان (recurrent branch یا RCB) که به طور قدامی شکمی (anterioventrally) پیش رفته و یک شاخه هم جریان (concurrent branch یا CCB) که به صورت عقبی پستی (posteriodorsally) امتداد یافته، انشعاب می‌یابد (شکل ۲).

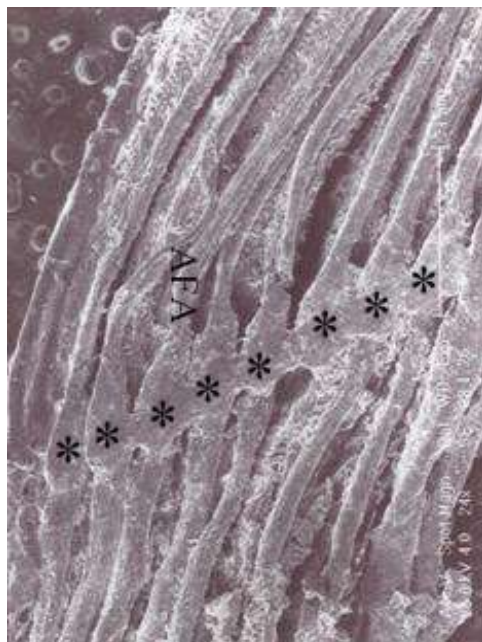


شکل ۱: قالب آنورت شکمی (VA) به همراه ۴ جفت سرخرگ آوران آبششی (ABA) انشعاب یافته از آن (۱۰×).
فاصله محل انشعاب سرخرگ‌های آبششی آوران چهارم (ABA₄) از آنورت شکمی تا محل انشعاب جفت سوم این سرخرگ‌ها (ABA₃) بسیار بیشتر از فاصله محل انشعاب سرخرگ‌های آبششی آوران اول (ABA₁) تا دوم (ABA₂) است.

سرخرگ‌های آوران آبششی کمان سوم و دوم در انتهای شاخه عقبی پستی خود نیز دوشاخه شده و انشعاب هر دوشاخه درون کمان خاتمه می‌یابد. سرخرگ‌های فیلمانتی آوران (AFA) در یک سوم ابتدایی و در برخی مکان‌ها در قسمت میانی خود دارای ساختار متسعی به نام آمپول (Ampulla) یا (bleb) می‌باشند. آمپول‌ها در بیشتر مناطق از یکدیگر مستقل بوده، اما به نظر می‌رسد در برخی قسمت‌ها چند آمپول AFA مجاور در یک همی برانش، به هم متصل شده و یک گذرگاه پیوسته‌ای را ایجاد کرده‌اند (اشکلهای ۳ و ۴).



شکل ۲: قالب شاخه مقابل جریان (RCB یا recurrent branch) یا قدامی شکمی و شاخه هم جریان (concurrent branch یا CCB) یا عقبی پشتی سرخرگ اوران آب ششی (ABA) ($\times 10$).

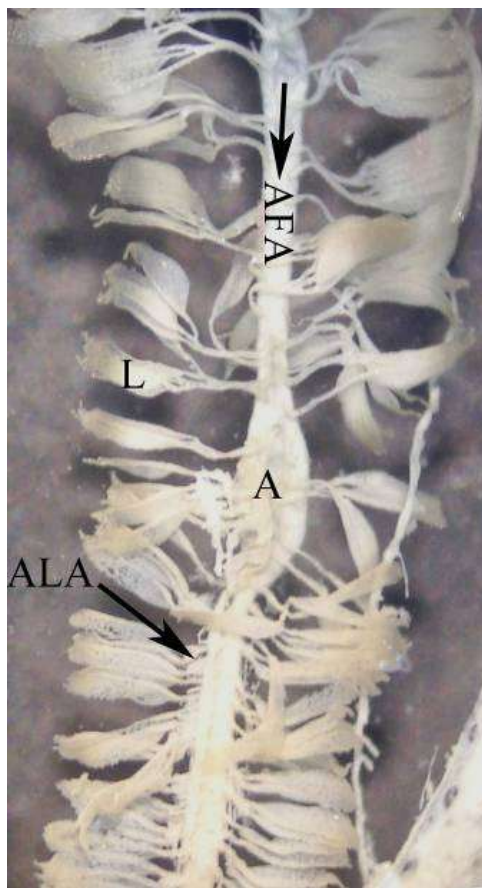


شکل ۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) از قالب آمپول‌های (*) مرتبط با یکدیگر ($\times 24$).

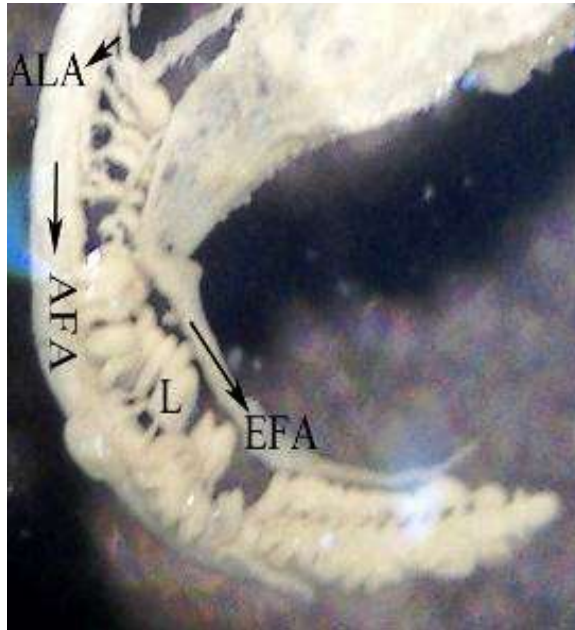


شکل ۴: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) از قالب یک همی برانش که در آن سرخرگ آب ششی اوران (ABA)، سرخرگ فیلمانتی اوران (AFA) و آمپول‌های (*) مرتبط با یکدیگر نشان داده شده است ($\times 13$).

سرخرگ‌های فیلمانتی آوران (AFA) به سمت انتهای فیلامنت، باریک (مخروطی) شده و در نهایت به نوک فیلامنت ختم می‌شوند. AFA ها به سمت دو انتهای هر همی برانش به تدریج کوچک می‌شوند. تعداد زیادی از شریانچه‌های آوران لاملاری (Afferent Lamellar Arteriol یا ALA) در طول AFA از آن منشعب می‌شوند. ALA در قسمت پایه فیلامنت نسبتاً طویل بوده و غالباً یک ALA برای خون‌رسانی به ۴ تا ۵ لاملا در یک سمت فیلامنت منشعب می‌شود. هر ALA در قسمت آمپول نیز عمدتاً به ۳ یا ۴ لاملا خون‌رسانی می‌کند. کمی پایین‌تر از آمپول هر ALA اغلب به ۳ لاملا و نزدیک انتها به ۱ یا ۲ لاملا متصل می‌شود (شکل ۵). در قسمت انتها معمولاً هر ALA تنها به یک لاملا خون‌رسانی می‌کند (شکل ۶). طول ALA از پایه فیلامنت تا انتهای آن به تدریج کوتاه‌تر می‌شود. انشعاب یا لاملا در نوک فیلامنت دیده نشد.

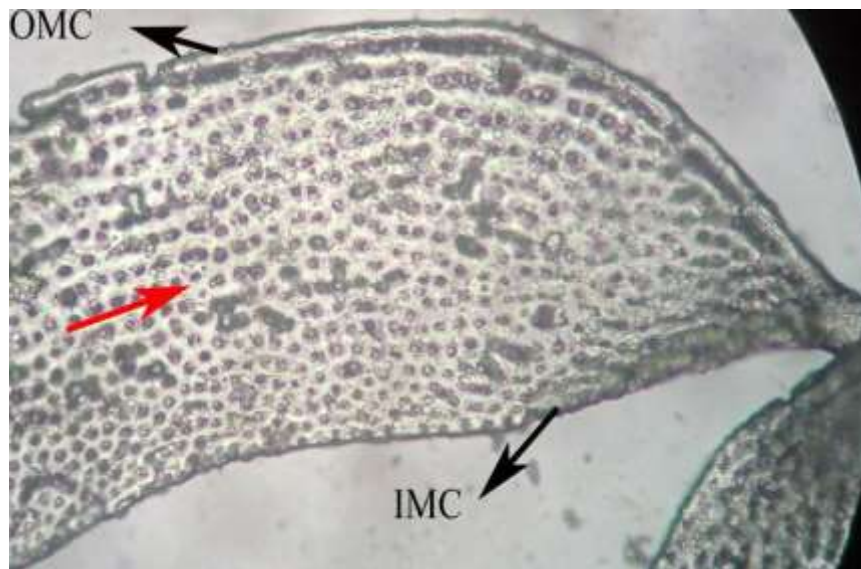


شکل ۵: قالب یک AFA که در آن تعداد زیادی از شریانچه‌های آوران لاملاری (ALA) در طول AFA از آن انشعاب گرفته‌اند. غالباً هر ALA برای خون‌رسانی به ۴ تا ۵ لاملا (L) و در قسمت آمپول (A) نیز به ۳ یا ۴ لاملا منشعب شده است (۱۵×).

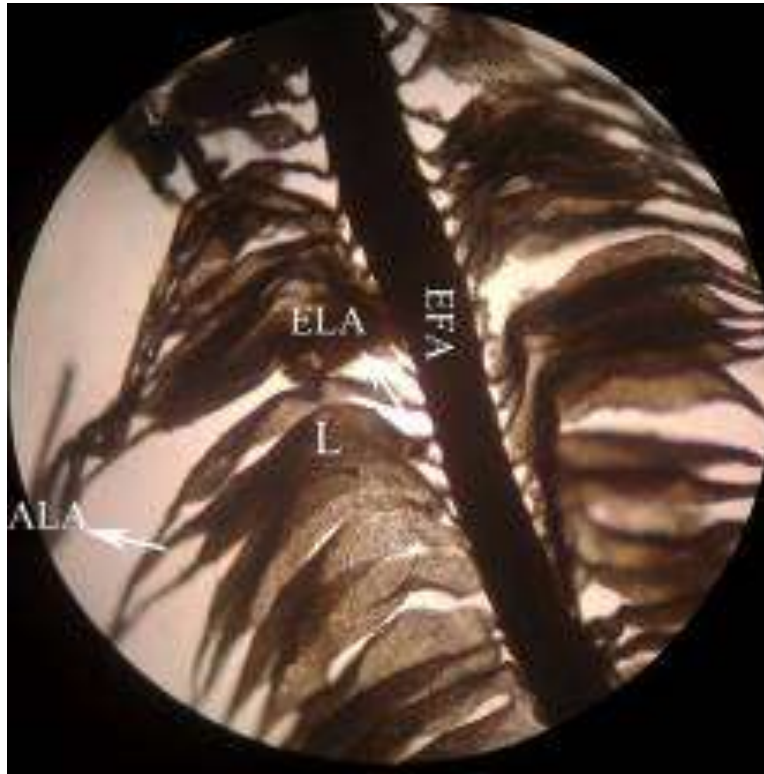


شکل ۶: قالب انتهایی فیلامنت که در آن املاها بسیار کوچک شده‌اند و هر ALA به یک لاملا (L) خون‌رسانی می‌کند (۱۵×).

سلول‌های پیلار (سوراخ‌ها در قالب که در اثر هضم این سلول‌ها تشکیل شدند) در ردیف‌هایی تقریباً منظم قرار گرفته و کانال‌های خونی موازی تشکیل داده‌اند (شکل ۷).

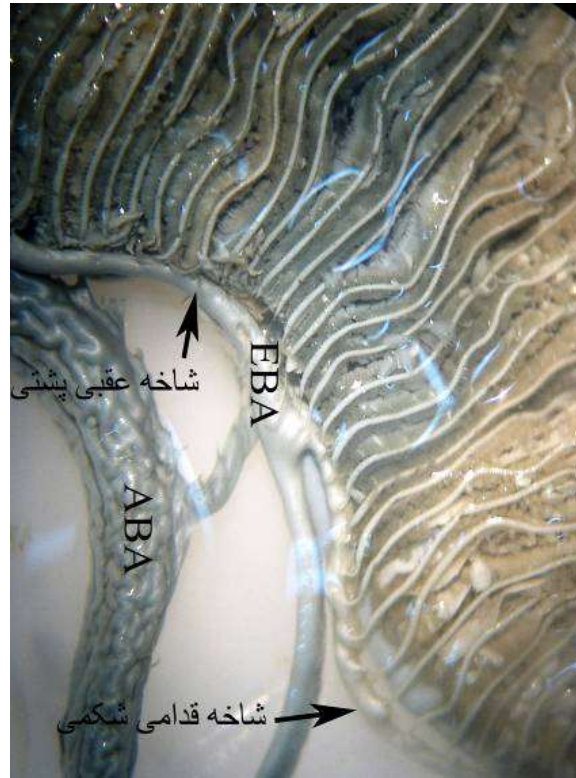


شکل ۷: تصویر میکروسکوپ نوری قالب قسمتی از یک لاملا، به همراه OMC و IMC آن. فلش انتهایی آوران لاملا را نشان می‌دهد. فلش نقطه‌چین مسیر خونی را از میان سلول‌های پیلار (سوراخ‌ها) نشان می‌دهد (۴۰×).

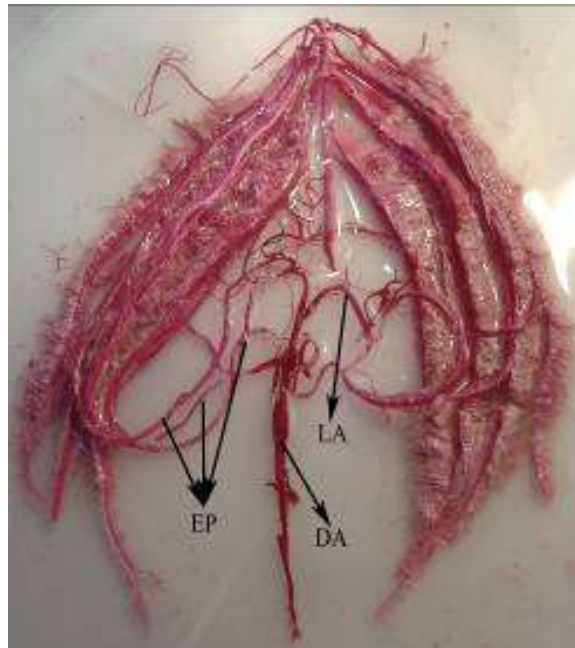


شکل ۸: تصویر میکروسکوپ نوری قالب قسمتی از یک فیلامنت که در آن شریانچه‌های آوران و وایران لاملاری (ELA و ALA)، املاها (L) و سرخرگ‌های فیلمانتی وایران (EFA) مشخص شده‌اند. هر ELA خون یک لاملا را به EFA زهکشی می‌کند (×۱۰۰).

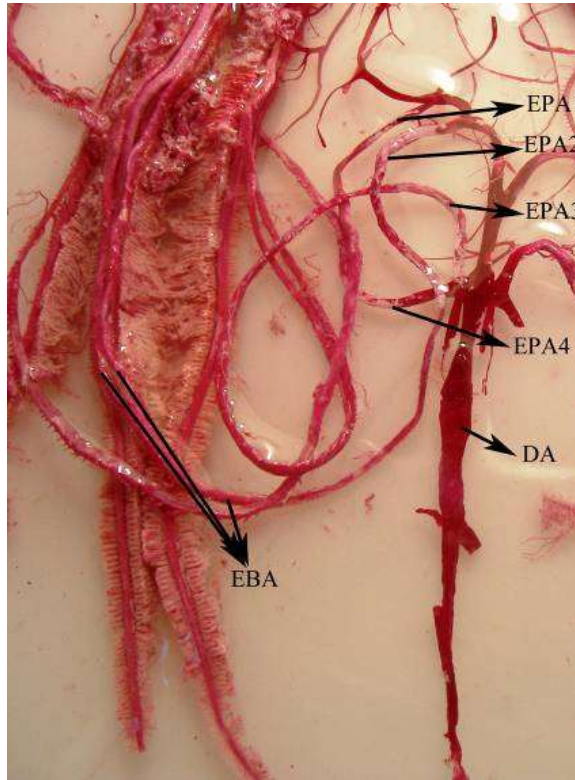
یک کانال حاشیه‌ای داخلی (Inner Marginal Channel یا IMC) و یک کانال حاشیه‌ای خارجی (Outer Marginal Channel یا OMC) در هر لاملای آبشش فیتوفاگ مشاهده شد. به نظر می‌رسد که کانال حاشیه‌ای خارجی متسع و تقریباً پیوسته بوده و قطر آن نزدیک انتهای آوران لاملا بیشتر است. قطر این کانال در میانه مسیر باریک می‌شود اما در انتهای وایران کمی متسع می‌گردد. هیچ برآمدگی خارمانندی در کانال حاشیه‌ای خارجی مشاهده نگردید. کانال حاشیه‌ای داخلی به صورت باریک و منقطع بود (شکل ۷). شریانچه‌های وایران لاملاری (Efferent Lamellar Arterioles یا ELA) کوتاه بوده و هر کدام خون یک لاملای منفرد را به دیواره جانبی سرخرگ فیلمانتی وایران (Efferent Filamental Arteries یا EFA) زهکشی می‌کند. EFA از سمت دیگر با یک شیب ملایمی به سرخرگ آبششی وایران (EBA) متصل می‌شود (شکل ۸). مشابه سرخرگ آبششی آوران (ABA)، سرخرگ آبششی وایران هر کمان نیز به صورت دوشاخه عقبی پشتی و قدامی شکمی دیده شد (شکل ۹). شاخه عقبی پشتی تا نزدیک انتهای کمان دوشاخه بوده و هر شاخه از یک همی برانش منفرد خون‌رسانی می‌گردد، اما نزدیک انتها دوشاخه یکی شده و به صورت یک شاخه واحد به عنوان سرخرگ اپی‌برانشیال به سمت عقب پیش می‌رود. سرخرگ اپی‌برانشیال کمان اول نزدیک آئورت پشتی به سرخرگ اپی‌برانشیال کمان دوم متصل شده و آئورت جانبی (Lateral Aorta) را ایجاد می‌کنند. آئورت‌های جانبی کمان‌های اول و دوم قسمت قدامی آئورت پشتی را تشکیل می‌دهند. سرخرگ‌های اپی‌برانشیال کمان‌های سوم و چهارم در یک نقطه به آئورت پشتی متصل می‌شوند. در ابتدای آئورت پشتی رگ دایره رأسی ((Circulus Cephalicus دیده نشد (اشکال ۱۰ و ۱۱).



شکل ۹: قالب قسمتی از یک کمان آبششی که در آن شاخه‌های عقبی پشتی و قدامی شکمی EBA (سرخرگ آبششی و ابران) نشان داده شده است. (ABA: سرخرگ آبششی اوران) (×۱۰).

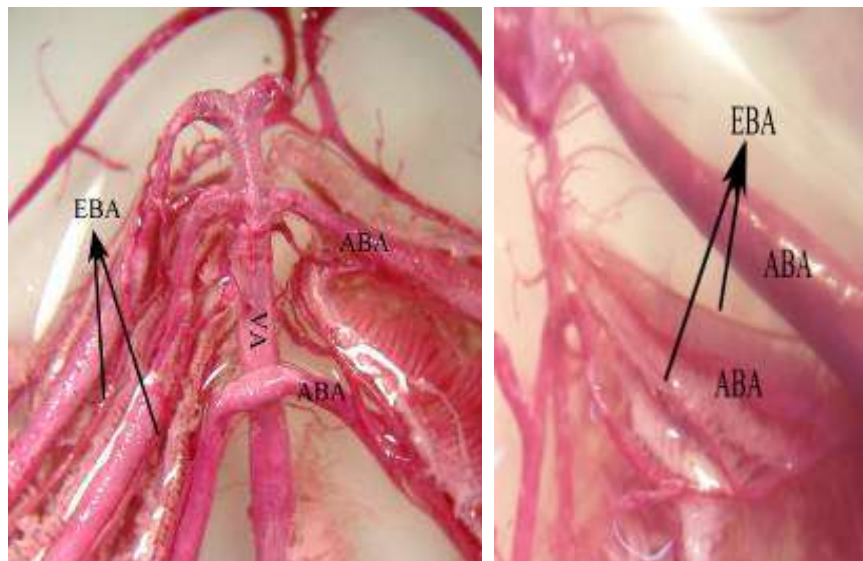


شکل ۱۰: قالب کامل از ساختار عروقی فیتوفاگ که در آن عروق اوران و ابران آبششی، آنورت شکمی (VA)، پشتی (DA) و جانبی (LA)، سرخرگ ماندیبولار (MA) و سرخرگ‌های اپی برانشیال (EP) مشخص شده است (×۱۰).

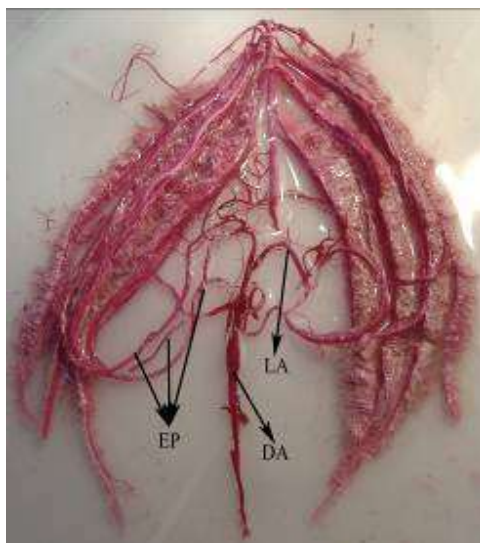


شکل ۱۱: قسمتی از قالب ائورت پشتی (DA)، جانبی (LA) و سرخرگ‌های اپی‌برانشیال کمان‌های اول تا چهارم (EP)، سرخرگ‌های آبششی و ابران (EBA) ($\times 10$).

شاخه قدامی شکمی به سمت قدامی دوشاخه شده، هر یک جریان را از یک همی‌برانش منفرد دریافت کرده و به‌عنوان رگ‌های مستقل تا انتهای همی‌برانش ادامه می‌یابد (شکل ۱۲). شاخه کناری از اولین سرخرگ و ابران آبششی (در سمت قدامی شکمی)، کمان را ترک کرده و سرخرگ ماندیولار از آن منشعب می‌شود. نزدیک انتهای قدامی شاخه کناری، دو انشعاب دیگر از یک نقطه جدا شده که یک انشعاب آن به شاخه کناری سمت قدامی شکمی سرخرگ آبششی و ابران دوم متصل شده و انشعاب دیگر به قسمت قدامی گردش هیپوبرانشیال متصل می‌شود.



شکل ۱۲: قالب دو انشعاب قدامی شاخه قدامی شکمی EBA کمان دوم (۱۵×).



شکل ۱۳: قالب انشعابات قسمت قدامی شکمی EBA کمان دوم و سوم که بخشی از آن‌ها به گردش هیپوبرانشیال (HB) متصل شده است (برای مشاهده گردش هیپوبرانشیال، بخشی از آنورت شکمی برداشته شده است) (۱۰×).

شاخه دیگر اولین سرخرگ وایران آبششی (سمت قدامی شکمی) به سمت قدامی پیش رفته و به انتهای همی برانش مربوط به خود ختم می‌شود.

یک انشعاب از شاخه میانی قسمت قدامی شکمی سرخرگ‌های آبششی وایران کمان‌های دوم و سوم (و احتمالاً کمان چهارم) دو سمت آبشش جدا شده که با یکدیگر، تشکیل گردش هیپوبرانشیال را می‌دهند (شکل ۱۳). انتهای شاخه میانی و شاخه دیگر این کمان‌ها (شاخه کناری) به‌طور مستقل به سمت قدامی کمان امتداد یافته، به انتهای همی برانش مربوط به خود پایان می‌یابند.

بحث و نتیجه‌گیری

آبشش حاوی یکی از پیچیده‌ترین سیستم‌های عروقی یافت شده در میان اندام‌های مهره‌داران است (Olson, 1991) که توسط یک ناحیه اپی تلیومی با سطح وسیع احاطه شده و یک سد نازکی رابین خون و محیط آبی فراهم می‌کند (Evans *et al.*, 2005). پر عروق بودن یک اندام نشان از نوعی فعالیت شاخص مانند تصفیه، ذخیره غذا، تبادل گاز و یون و ترشح است. معتبرترین و بارزترین یافته‌های به‌دست‌آمده از قالب‌گیری عروق و SEM مشاهده سه‌بعدی جزئیات اتصالات عروقی، آرایش و پراکندگی عروق در سطح بافت‌ها و اندام‌ها می‌باشد که به‌آسانی با هیج روش دیگر قابل دست‌یابی نیست (Minnich and Lametschwandtner, 2010; Hossler and Quillen, 1998).

در مطالعه حاضر، هر کمان آبششی ماهی فیتوفاگ انشعابی مجزا و جداگانه از آنورت شکمی دریافت می‌کند (سرخرگ‌های آبششی آوران، Afferent Branchial Arteries یا ABA) (شکل ۱). در برخی ماهیان استخوانی و از جمله در *Catla catla* (کپور هندی) همانند فیتوفاگ، هر ۴ جفت سرخرگ آبششی آوران به‌طور مستقل از آنورت شکمی انشعاب می‌گیرند (Khanna and Singh, 2003). درحالی‌که در برخی گونه‌ها مانند *Clarias batrachus*, *Rita rita*, *Mytus aor*, *Notopterus chitala*, *Tor putitora*، کپور معمولی و قزل‌آلا سه جفت انشعاب از آنورت شکمی جدا شده و منشأ جفت سوم و چهارم یکی می‌باشد (Khanna and Singh, 2003). تعداد انشعاب به نظر نمی‌رسد مربوط به سیر تکاملی باشد، چراکه قزل‌آلا به‌عنوان یک ماهی شکارگر همانند کپور معمولی به‌عنوان یک ماهی کف‌زی دارای سه انشعاب از آنورت شکمی است.

نکته قابل توجه دیگر، وجود ساختار متسعی به نام آمپول (bleb) است. طبق تحقیقات صورت گرفته، ساختار آمپول در تعداد زیادی از ماهیان مانند گربه‌ماهی جویبار (Channel catfish) (Boland and Olson, 1979)، کپور (Carp) (Olson, 2002)، سوف (perch) (Laurent and Dunel, 1976)، bowfin (Olson, 1980)، قزل‌آلا (trout) (Fromm, 1974; Laurent and Dunel, 1976) و حتی تون ماهی (Olson *et al.*, 2003) وجود دارد.

آبشش ماهیان، مساحتی برابر ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر مربع به ازای هر گرم وزن بدن ماهی دارد (Nagabhushanam *et al.*, 1983). این خود نشان‌دهنده مسیر بسیار طولانی گذر خون از میان آبشش بوده و لذا با افزایش طول مسیر، فشارخون کاهش یافته و نیاز به تجدید نیروی رانش دارد. در ماهی ساختار آمپول به نظر می‌رسد چنین نیرویی را فراهم کند. از آنجاکه فشارخون ماهی با توجه به حجم خون زیاد نمی‌باشد، چنین ساختاری به نظر می‌رسد به‌عنوان پمپ‌های ضمیمه، کار افزایش گردش خون در میان مسیر پرپیچ‌وخم اندام آبششی را تسهیل و تسریع می‌کند (Olson, 1991; Laurent, 1984).

به نظر می‌رسد سطح گسترده آبشش، لزوم آمپول را اثبات می‌کند، ولی آناتومی آن وابسته به فیزیولوژی عمومی و عادات اکولوژیکی جانور است (محیط دریایی یا آب شیرین و نحوه تغذیه). در مطالعه حاضر، فیتوفاگ با آمپول‌هایی کوچک‌تر و گهگاه متصل به یکدیگر می‌باشد که در مقایسه با ماهیان با متابولیسم بالاتر نظیر قزل‌آلا با آمپول‌هایی مستقل و نسبتاً بزرگ (Olson, 2002) دارای کارایی کمتری است. اتصال آمپول‌ها از درون به یکدیگر در برخی از ماهیان مانند گربه‌ماهی، کپور، bowfin، همانند فیتوفاگ دیده شده است (Laurent, 1984).

آمپول در همه ماهیان استخوانی وجود ندارد، در برخی ماهیان مانند مارماهی (eel) (Laurent and Dunel, 1976)، وزغ ماهی صاف (Smooth toad fish) (Cook and Campbell, 1980)، روغن ماهی اروپایی (ling cod) (Farrell, 1980)، باس راه‌راه (King and Hossler, 1986) و یا در انواع زیادی از ماهی‌های تنفس‌کننده از هوا (Olson *et al.*, 1990; Munshi *et al.*, 1990) دیده نمی‌شود.

در این مطالعه املاها در پایه فیلامنت بزرگ‌تر بوده و در انتها کوچک‌تر دارای طول کمتری می‌باشند (اشکال ۵ و ۶). طبق نظر Harder یک لاملای جدید در نوک فیلامنت تشکیل می‌شود، درحالی‌که انواع قدیمی‌تر در پایه آن قرار دارند. به نظر می‌رسد که در طول دوران رشد با افزایش طول فیلامنت، شکل املاها تغییر کند. در نتیجه شکل تقریباً مستطیلی در قسمت پایه فیلامنت و یک‌شکل تقریباً مثلثی در نوک پیدا می‌کند (Severi *et al.*, 2000).

کانال حاشیه‌ای خارجی (Outer Marginal Channel یا OMC) در فیتوفاگ متسع و منفرد بوده و به نظر پیوسته می‌رسد. طبق مطالعات در گونه‌های *Oncorhynchus mykiss* و *Squalus acanthias* یک کانال حاشیه‌ای خارجی منفرد و پیوسته ملاحظه گردیده است (Olson and Kent 1980; Olson, 2002). کانال حاشیه‌ای خارجی در ماهیان به‌عنوان مسیر مقدم خون در پیرامون لاملاهاست. این امر در تمام ماهیانی که تا امروز بررسی شده، مشاهده گردیده است. همچنین این کانال می‌تواند در انتقال مستقیم و سریع‌تر خون از شریانچه‌ها به لاملاری به شریانچه و ابران لاملاری نقش داشته باشد، زیرا این کانال، یک کانال پیوسته بوده و توسط سلول‌های پیلار در میانه مسیر قطع نمی‌شود. در بسیاری از ماهیان قطر این کانال نزدیک انتهای اوران بیشتر بوده و احتمالاً در این قسمت به توزیع خون در سینوزوئیدهای لاملاری کمک می‌کند (Olson, 2002). این کانال در میانه مسیر باریک شده اما به تدریج در سمت و ابران برای دریافت خون اضافی که از سینوزوئیدهای لاملاری به آن می‌ریزد متسع‌تر می‌شود (شکل ۷). طبق نظر Olson (۲۰۰۲) این مسیر در بین مسیرهای خونی لاملا پایین‌ترین مقاومت را برابر جریان خون داشته و گلبول‌های قرمز بیشتری دارد، تعداد بیشتری از گلبول‌های قرمز احتمالاً از طریق آن تغییر مسیر می‌دهند. برخی از ماهیان مانند تون که دارای نیاز اکسیژنی بالایی هستند، چندین کانال حاشیه‌ای خارجی برای هر لاملا دارند (Olson et al., 2003). در مطالعه حاضر، کانال حاشیه‌ای داخلی در ماهی فیتوفاگ منقطع می‌باشد. این کانال توسط سلول‌های پیلار که در قسمت میانی لاملا به تعداد بیشتری هستند، قطع شده و در طول مسیر منقطع به نظر رسیده و مانع جریان خون می‌شوند. در تون ماهی (tuna) کانال حاشیه داخلی نسبتاً نزدیک به سطح بوده و پیوسته است و سازشی جهت قرارگیری در معرض تبادل گازی می‌باشد (Olson, 2002). در گونه *fossili* *Heteropneustes* کانال حاشیه داخلی مشخصی وجود ندارد (Olson et al., 1990).

در بررسی حاضر، تنها یک رگ و ابران آبششی (EBA) معمولاً در هر کمان آبششی ماهی فیتوفاگ وجود دارد. در مطالعاتی که توسط Nematollahi و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی‌های کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) صورت گرفته، مشابه ماهی فیتوفاگ برای هر کمان، یک رگ و ابران آبششی دیده شد. به نظر می‌رسد این امر باعث کاهش مسیر حرکت خون به آئورت پشتی و در نتیجه بافت‌های بدن می‌شود و احتمالاً این یک پیشرفت در ماهیان استخوانی محسوب می‌گردد. در برخی گونه‌ها مانند *Catla catla* *Notopterus chitala*، *Wallago attu*، انتهای شکمی هر رگ و ابران آبششی دوشاخه می‌شود که به‌عنوان یک شکل ابتدایی در نظر گرفته می‌شود. در *Clarias* *batrachus* که قابلیت تنفس از هوا را دارد، همانند الاسموبرانشال‌ها یک جفت رگ و ابران آبششی در هر کمان وجود دارد (Khanna and Singh, 2003).

در بسیاری از ماهیان از انشعاب کناری شاخه قدامی شکمی اول، سرخرگ ماندیبولار منشعب می‌شود (Skov and Bennett, 2005)؛ اما در برخی ماهیان، به‌جای سرخرگ ماندیبولار، سرخرگ پزودوبرانشیال اوران (سرخرگ اوران کاذب آبششی) از آن منشعب می‌شود (Olson, 2002). در فیتوفاگ از انشعاب کناری رگ‌های و ابران آبششی اول، سرخرگ ماندیبولار منشعب می‌شود.

طبق مطالعات پیشین، در ماهیانی نظیر گربه‌ماهی (*Ictalurus punctatus*) شاخه‌های میانی بخش قدامی شکمی سرخرگ‌های آبششی و ابران کمان دوم و سوم با یکدیگر اتصال برقرار کرده، ضمن ملحق شدن به کمان‌های مقابل، تشکیل گردش هیپوبرانشیال را می‌دهند (Olson, 1991). در برخی گونه‌ها شاخه‌های میانی کمان‌های اول و یا چهارم نیز درگیر هستند (Olson, 2002). در فیتوفاگ شاخه‌های میانی کمان‌های اول دوم و سوم (و احتمالاً چهارم) در تشکیل گردش هیپوبرانشیال شرکت می‌کنند (شکل ۱۳).

رگ دایره رأسی (*Circulus cephalicus*) در ابتدای آئورت پشتی برخی از ماهیان استخوانی تشکیل می‌شود. در برخی گونه‌ها دایره رأسی توسط جفت اول و دوم عروق و ابران تشکیل می‌شود. در حالیکه در برخی گونه‌ها از جمله قزل‌آلا هر ۴ جفت ممکن است در تشکیل آن به هم ملحق شوند (Young, 1981; Khanna and Singh, 2003). در فیتوفاگ آئورت پشتی رگی مستقیم بوده، بدون آنکه در ناحیه کاسه سر تبدیل به رگ دایره رأسی شود (اشکال ۱۰ و ۱۱). این در واقع خلاف آن چیزی است که در کپور ماهیان مرسوم است گزارش‌های

نشان می‌دهد که در برخی گونه‌ها از جمله قزل‌آلا دایره رأسی وجود داشته و انشعابات سرخرگ‌های وایران در دو سوی کاسه سر به آن متصل می‌شود (Young, 1981).

منابع

- نعیمت‌اللهی، ا.، شادخواست، م.، مشتاقی، ح.، مجیدیان، ف. و عباسی، ف.، ۱۳۸۷. مطالعه قالب‌گیری تحلیلی (Corrosion Cast Study) دستگاه گردش خون در ماهی کپور (*Cyprinus Carpio*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، دوره دوم، شماره اول، صفحات ۱۰-۳.
- نعیمت‌اللهی، ا. و شادخواست، م.، ۱۳۹۲. مقایسه روش‌های گوناگون قالب‌گیری تحلیلی (Corrosion Cast Study) دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، دوره اول، شماره اول، صفحات ۱۴-۱.
- نعیمی، ا.، شعبانی پور، ن. و روضاتی، ع.، ۱۳۸۵. مطالعه آناتومی آبشش در ماهیان استخوانی به‌وسیله روش قالب‌گیری عروق در ارتباط با قابلیت‌های فیزیولوژیکی تنفس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان، ۷۹ ص.
- Aharinejad, S. and Bock, P., 1987. Luminal constrictions on corrosion cast of capillaries and postcapillary venules in rat exocrine pancreas correspond to pericyte processes. *Scanning Microscopy*, 6(3):877-886.
- Aharinejad, S. and Lametschwandtner, A., 1992. Producing optimal microvascular corrosion casts a practical guide. *Microvascular Corrosion Casting in Scanning Electron Microscopy*, Springer Vienna, pp.52-102.
- Boland, E.J. and Olson, K.R., 1979. Vascular organization of the catfish gill filament. *Cell Tissue Res*, 198:487-500.
- Christofferson, R. H. and Nilsson, B. O., 2011. Microvascular corrosion casting with analysis in the scanning electron microscope. *Scanning*, 10(2): 43-63.
- Claiborne, J. B., Edward, S. L. and Morrison-Shetlar, A. I., 2002. Acid-base regulation in fishes: cellular and molecular mechanisms. *Journal of Experimental Zoology*, 293: 302-319
- Cooke, I. R. C. and Campbell, G., 1980. The vascular anatomy of the gills of the smooth Toadfish *Torquigener glaber* (Teleostei, Tetraodontidae). *Zoomorphologie*, 94:151-166.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M. and Choe, K. P., 2005. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. *physiology review*, 85: 97-177.
- Farrell, A. P., 1980. Vascular pathways in the gill of lingcod, *Ophiodon elongates*. *Canadian Journal of Zoology*, 58: 796-806.
- Fromm, P. O., 1974. Circulation in trout gills presence of blebs in afferent filamental vessels. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 31:1793-1796.
- Gannon, B. J., 1978. Vascular casting, Principles and techniques of scanning electron microscopy. *Van Nostrand Reinhold*, 6: 170-193.
- Hossler, F. E. and Quillen, J. H., 1998. Vascular corrosion casting can provide quantitative as well as morphological information on the microvasculature of organs and tissues. *Microscopy today*, 6: 5-14.
- Hossler, F. E., Douglas, J. E. and Douglas, L. E., 1986. Anatomy and morphometry of myocardial capillaries studied with vascular corrosion casting and scanning electron microscopy: a method for rat heart. *Scanning Electron Microscopy*, 4: 1469-1475.
- Khanna, S. S. and Singh, H. R., 2003. A text book of fish biology and fisheries. Narendra publishing house, New Delhi, pp.106-110.
- King, J. A. C., and Hossler, F. E., 1986. The gill arch of the striped bass, *Morone saxatilis*, II. Microvasculature studied with vascular corrosion casting and scanning electron microscopy. *Scanning Microscopy*, 4:1477-1488.
- Laurent, P., 1984., Gill internal morphology. In: Hoar WS, Randall DJ, editors. Fish physiology, Vol XA (Gills): anatomy, gas transfer, and acid-base regulation. New York: Academic Press, Inc. pp. 73-183.

Laurent, P. and Dunel, S., 1976. Functional organization of the teleost gill, Part 1. Blood pathways. *Acta Zool Stockholm*, 57: 189–209.

Laurent, P., and Dunel, S., 1980. Morphology of gill epithelia in fish. *The American Journal of Physiology*, 238: R147–R159.

Minnich, B. and Lametschwandtner, A., 2010. Scanning electron microscopy and vascular corrosion casting for the characterization of microvascular networks in human and animal tissues. In: Mendez-Vilas A, Diaz J (Eds.). *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*. 4th edn, Formatex Research Center, Badajoz, Spain, pp. 29-39.

Munshi, J. S. D., Olson, K. R. and Ghosh, T. K., 1990. Vasculature of the head and respiratory organs in an obligate air-breathing fish, the swamp eel *Monopterus (=Amphipnous)uchia*. *Journal of Morphology*, 203:181-201.

Nagabhusanam, R., Kodarkar, M. S. and Sarojini, R., 1983. Text book of animal physiology, 2nd ed., Oxford and I.B.H. publishing company, 256pp.

Nematollahi, A., Shadkhast, M., Shafeie, S. and Majidian, F., 2011. Circulatory system of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): a corrosion cast study. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(3):916–919.

Olson, K. R. and Kent, B., 1980. The microvasculature of the elasmobranch gill. *Cell Tissue Res.*, 209: 49–63.

Olson, K. R., 1991. The fine structure of blood vessels. Part II, Vasculature of the fish gill: anatomical correlates of physiological functions. *Journal of electron microscopy technique*, 19: 389–405.

Olson, K. R., 2002. Vascular anatomy of the fish gill. *Journal of Experimental Zoology*, 293,214-231.

Olson, K. R., Dewar, H., Graham, J. B. and Brill, R. W., 2003. Vascular anatomy of the gills in a high energy demand teleost, the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 297(1):17-31.

Olson, K. R., Munshi, J. S. D., Ghosh, T. K. and Ojha, J., 1990. Vascular organization of the head and respiratory organs of the air-breathing catfish *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Morphology*, 203: 165–180.

Rogers, M. P., Sherman, R. L. and Spieler, R. E., 2014. *Microscopy: advances in scientific research and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.). Formatex Research Center, pp. 95-102.

Schlenk, D. and Benson, W. H., 2001. Target organ toxicity in marine and fresh water teleosts. Taylor & Francis, pp.1-90.

Schlenk, D. and Benson, W.H., 2001. *Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*. Taylor & Francis, London, pp. 96–138.

Severi, W., Rantin, F. T. and Fernandes, M. N., 2000. Structural and morphological features of *Piaractus mesopotamicus* gills. *Revista Brasileira de Biologia*, 60:493-501.

Skov, P. V. and Bennett, M.B., 2005. Branchial vascular pathways in two species of Tetraodontiformes and the concept of secondary vessels and nutrient arteries. *Zoomorphology*, 124: 79-88.

Steen, J. B., and Kruijse, A., 1964. The respiratory function of the teleostean gill. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 12:127–142.

Young, J. Z., 1981. The life of vertebrates. 3rd edition, Oxford university press, Oxford.

