



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره اول، شماره اول، بهار ۹۲

<http://jair.gonbad.ac.ir>

مقایسه روش‌های گوناگون قالب‌گیری تحلیلی (Corrosion cast study) دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

*امین نعمت‌اللهی^۱ و محمد شادخواست^۲

^۱دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، ایران (محقق پسادکتری دانشکده مهندسی علوم زیستی

دانشگاه گنت، بلژیک)، ^۲استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱۵

چکیده

قالب‌گیری تحلیلی عروق یکی از روش‌هایی است که برای بررسی ساختار عروق خونی در یک بافت یا اندامی خاص بکار می‌رود. در مطالعه حاضر چهار روش گوناگون تزریق داخل رگی رزین جهت مطالعه قالب دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره‌ای مورد بررسی قرار گرفت. ۱۲ قطعه ماهی با محدوده وزنی ۸۵۰-۱۰۰۰ گرم از یک مزرعه پرورش ماهی تهیه شد. ماهی‌ها با محلول ۵٪ بنزوکائین در اتانول ۹۶٪ بیهوش شده و به آنها هپارین (۴۰۰۰ IU/kg) به روش داخل صفاقی تزریق شد. پس از ۴۰ دقیقه، ماهیان با افزایش دوز محلول بنزوکائین کشته، و ماده رزین با پایه متیل متا کریلات به روش‌های تزریق، در داخل سرخرگ دمی، پیاز آئورتی قلب، آئورت پستی و آئورت شکمی، به ماهیان تزریق شد. ماهیان ۲۴ الی ۴۸ ساعت در حمام آب با دمای اتاق قرار داده شدند تا رزین کاملاً سفت و سخت شود. سپس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در محلول هیدروکسید پتاسیم (KOH)، ۲۵٪ قرار داده شدند تا بافت‌های بدن ماهیان بطور کامل حل شوند. در این مطالعه پس از بررسی کالبد شناسی قالب‌های تهیه شده، قسمت‌های مختلف قلب و سرخرگ‌های آبششی، سیاهرگ کبدی (هپاتوپانکراس)، سیاهرگ معده (گوارشی)، آئورت پستی و انشعابات آن و سرخرگ‌های کلیوی و دمی و همچنین شبکه‌های مویرگی اندام‌های گوناگون به خوبی مشخص شدند. در نتیجه، به نظر می‌رسد که تزریق رزین به داخل پیاز آئورتی قلب، بهترین و مؤثرترین روش مطالعه قالب‌گیری تحلیلی دستگاه گردش خون و رگ‌های آن در کپور نقره‌ای می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: قالب، قلب، پیاز آئورتی، آئورت پستی، رزین، *H. molitrix*

*مسئول مکاتبه: nematolahia@gmail.com

مقدمه

قالب گیری تحلیلی عروق (Corrosion cast study) یکی از روش‌هایی است که برای بررسی ساختار عروق خونی در یک بافت یا اندام خاص بکار می‌رود. در این روش ماده‌ای سخت و مقاوم که در برابر اسید و باز ساختار خود را از دست ندهد، مانند رزین، به داخل رگ‌های خونی حیوان یا اندام و عضو مورد نظر، تزریق شده و سپس با قرار دادن آن در محلول اسیدی و یا قلیایی، کلیه بافت‌ها تجزیه شده و فقط قالب سخت عروق باقی می‌ماند (Aharinejad and Bock, 1987; Olson, 1991; Passantino *et al.*, 2000).

این روش همراه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (Scanning Electronic Microscopy)، یک شیوه کاربردی برای تجزیه و تحلیل شبکه‌های ریز عروقی و مویرگ‌ها و آرایش سه بعدی آنها و همچنین بررسی بافت شناختی رگ‌ها است (Hossler, 1986; Aharinejad and Christofferson and Nilsson, 2011; Bock, 1987).

به کمک روش قالب گیری تحلیلی عروق، قالب‌های بسترهای رگ‌های خونی و لنفاوی، مسیر جریان هوای ششی و آبششی، دستگاه صفراوی و کبدی و دیگر دستگاه‌های لوله‌ای و تو خالی از جانوران مختلف و نیز نمونه‌های کالبد شکافی و بافت شناسی انسانی تهیه شده‌اند. به کمک این قالب‌های رگی می‌توان ابعاد و حجم داخلی هر نوع ساختار تو خالی و پر عروق مانند قلب، کبد، ریه، کلیه، مثانه و غیره را از لحاظ کمی تعیین نمود (Minnich and Lametschwandtner, 2010; Ishida, 1986; Hossler, 1991; Nematollahi *et al.*, 2011; Ono *et al.*, 1997; Murakami, 1971).

همچنین با آگاهی از حجم خون در جریان هر اندام، ارزش فیزیولوژیک آن مشخص می‌گردد. وجود رگ‌های فراوان در یک اندام نشان از نوع فعالیت شاخص آن عضو یا دستگاه مانند تصفیه، ذخیره غذا، تبادل گازی و یا یونی و ترشح در آن عضو را دارد. معتبرترین و با ارزش‌ترین یافته به دست آمده از قالب گیری رگ‌ها و مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، مشاهده سه بعدی جزئیات اتصالات بین رگ‌های خونی و لنفی، آرایش و پراکندگی رگ‌ها در سطح بافت‌ها و اندام‌ها بوده که به آسانی با روش‌های دیگر قابل دست یابی نیست (Minnich and Lametschwandtner, 2010; Hossler, 1991).

با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از قالب‌ها، محاسبه تراکم عروق با کمک رایانه امکان پذیر می‌باشد. همچنین با کمک قالب‌ها (Casts) می‌توان دیگر خصوصیات کمی و کیفی عروق شامل اندازه‌های کمی، حجم، چند شاخه شدن عروق، دریچه‌ها و اسفنگترها را مشخص نمود. از دیگر کاربردهای این روش مشاهده جزئیات بافت اندوتلیوم عروق (در سطوح قالب) شامل تعداد سلول‌های اندوتلیالی، نقوش هسته اندوتلیالی، مرز سلول‌های اندوتلیالی و جهت گیری این سلول‌ها با توجه به

محور عروق می باشد (Hossler, 1991; Murakami, 1971). همچنین با این روش می توان، مطالعاتی در مورد سلول های ماهیچه ای صاف انجام داد (Krizmanich and Lee, 1993). در نهایت استفاده از چنین شیوه آزمایشگاهی توام با مطالعات میکروسکوپ الکترونی، امکان بررسی و مطالعه مسائلی همچون تغییرات گونه ای و غیر متعارف، تحولات مرتبط با سن، تغییرات فیزیولوژیک و تغییرات پاتولوژیک (آسیب شناسی) را در اندام های مختلف و گونه های گوناگون جانوری فراهم می کند (Minnich and Lametschwandtner, 2010; Hossler, 1991). در مطالعه حاضر، چهار روش گوناگون تزریق داخل رگی رزین جهت مطالعه قالب گیری تحلیلی دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره ای و مقایسه این روش ها، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

تعداد ۱۲ قطعه ماهی کپور نقره ای زنده با محدوده وزنی در حدود ۸۵۰-۱۰۰۰ گرم تهیه گردید. ماهی ها در ظروف آب ۵۰۰ لیتری با دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد و با هوادهی مناسب، به مدت ۱۰ روز قبل از شروع آزمایش نگهداری شدند. به منظور ایجاد محیطی مناسب و یکسان از نظر فاکتورهای کیفی آب (سختی آب، pH و میزان گازهای O_2 , NO_2 , NH_3 آب) آب تانک ها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از کیت های مخصوص (Tetra Test ساخت آلمان) استفاده شد (جدول ۱).

ماهی ها تا ۲ روز قبل از شروع آزمایش، به وسیله خوراک تجاری (رشد دانه) تغذیه شدند. ماهیان به کمک محلول ۵٪ بنزوکائین (اتیل آمینو بنزوات) و به روش غوطه وری بیهوش شده و زمان بیهوشی برای هر ماهی به طور متوسط ۳ الی ۵ دقیقه بود. سپس به صورت داخل صفاقی (میزان IU/kg ۴۰۰۰) هپارین به درون بدن ماهیان تزریق شد. تزریق در فاصله بین باله سینه ای تا باله شکمی با زاویه ۴۵ درجه صورت گرفت. لازم به ذکر است که بیهوشی نباید مدت زیاد طول بکشد و تزریق هپارین باید سریع صورت بگیرد. سپس ماهیان در آب تازه ی هوادهی شده، قرار داده شدند و به طور متوسط پس از حدود ۵ دقیقه به هوش آمدند. برای آنکه هپارین وارد دستگاه گردش خون ماهی شده و در بدن آن پخش گردد، ماهی ها به مدت ۴۰ دقیقه در آب رها شدند. در آخر ماهیان، با افزایش میزان ماده بیهوشی کشته شده (مرگ با ترحم) و به میز جراحی منتقل شدند.

رزین مصنوعی جهت تزریق به روش زیرتهیه گردید: ۱۰ میلی لیتر پری پولیمرایزد متیل متا کریلات و ۱/۵ میلی لیتر از کاتالیزاتور، چهار قطره پروموتور به علاوه اندکی رنگ قرمز یا آبی (Olson, 1991; Aharinejad and Bock, 1987).

سپس رزین با چهار روش مختلف به بدن ماهی تزریق گردید: الف: در این روش تزریق در آئورت پشتی (Dorsal aorta) ماهی صورت گرفت. در ابتدا ماهی به پهلو قرار داده شده و شکم ماهی به

صورت جانبی باز گردید. در مرحله بعد با دقت اندامهای محوطه شکمی و بویژه روده‌ها، اندامهای تناسلی، کیسه شنا و کلیه ماهی کنار زده شدند و سپس به کمک سوزن تزریق شماره ۱۶ زرین با فشاری یکسان به درون آئورت پشتی تزریق شد. ب: تزریق از طریق ناحیه ساقه دم‌ماهی.

در این روش قسمت خلفی دم ماهی را با یک برش عرضی در نزدیکی مخرج ماهی قطع نموده و در سطح شکمی مهره‌ها، آئورت خلفی (Caudal aorta) مشاهده شد. سوزن شماره ۱۶ را با دقت وارد رگ خونی کرده و دور سرخرگ آئورت خلفی با نخ جراحی گره زده شد، سپس به درون سرخرگ مورد نظر مایع رزین مصنوعی تزریق گردید. پ: در این روش ناحیه سینه‌ی ماهی بلافاصله بعد از سرپوش آبخشی، به صورت جانبی به منظور مشاهده قلب و قسمت‌های مختلف آن باز گردید. سپس رزین با دقت و با فشار سرنگ، به داخل ناحیه پیاز آئورتی (Bulbus arteriosus) قلب تزریق شد. ماهی کشته شده تا مدت کوتاهی پس از مرگ هنوز ضربان قلب داشته و به همین دلیل رزین به خوبی در رگ‌های بدن ماهی پخش خواهد شد. ت: در این روش پس از باز کردن ناحیه سینه‌ی ماهی و مشاهده قلب، آئورت شکمی (Ventral aorta) را مشخص نموده و سپس رزین با دقت لازم، به داخل آئورت تزریق شد.

پس از اتمام تزریق در هر سه روش فوق، ماهیان به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در حمام آب در دمای اتاق غوطه ور شدند تا رزین بطور کامل سفت و سخت شود. سپس هر ماهی به مدت ۴۸-۲۴ ساعت، در محلول هیدروکسید پتاسیم ۲۵٪ قرار داده شد تا تمامی بافت‌های بدن آنها حل و تجزیه شوند. پس از این مدت قالب‌های تشکیل شده را از محلول پتاس خارج شده و مورد بررسی کالبد شناسی قرار گرفتند.

جدول ۱- فاکتورهای کیفی آب

NO ₂ ppm	Total Hardness	PH	NH ₃	O ₂ ppm	فاکتورهای کیفی آب
۰,۰۱<	۱۰۰	۸-۷/۵	۰,۰۱<	۸	نمونه آب ماهیان

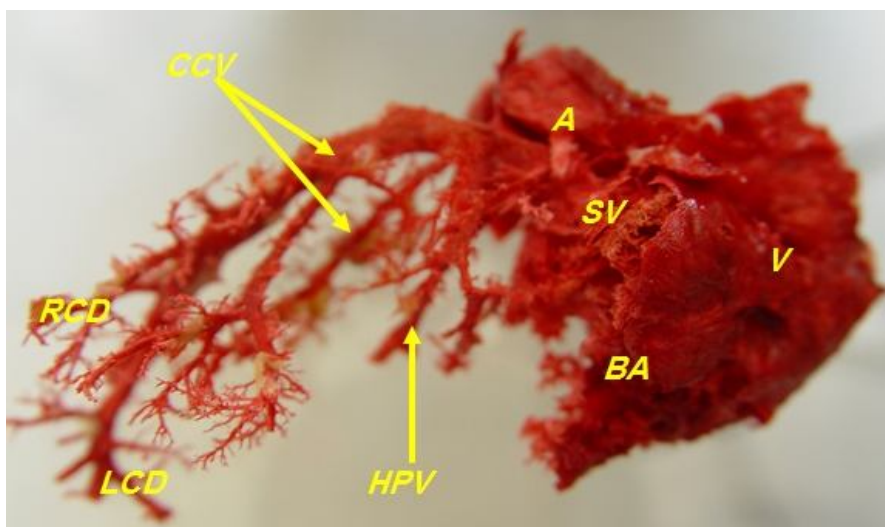
نتایج

در مطالعه حاضر، برای اولین بار چهار روش گوناگون تزریق داخل رگی رزین جهت مطالعه و ارزیابی دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره‌ای و مقایسه این روش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. این چهار روش گوناگون عبارت بودند از: تزریق در داخل سرخرگ دمی، تزریق در قلب و پیاز آئورتی، و تزریق در آئورت خلفی و آئورت شکمی ماهیان. بعد از تزریق ماده رزین با پایه متیل متا کریلات و پس از تجزیه بافت‌های بدن ماهی، قالب‌های دستگاه گردش خون کپور نقره‌ای تشکیل شد و مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه، در میان روش‌های تزریقی استفاده شده در این مطالعه، تزریق رزین در داخل سرخرگ دمی و آئورت خلفی ماهی قالب‌های نسبتاً کامل و خوبی از گردش خون در ناحیه خلفی و پشتی ماهی ایجاد نمود. تزریق به داخل آئورت شکمی ماهیان رگ‌های خونی ناحیه سر ماهی و بویژه

رگ های آبشش را بطور کامل نمایان نمودند. تزریق رزین، به داخل پیاز آئورتی قلب، عروق ناحیه قلبی و شکمی ماهی و همچنین آبشش ها را بطور نسبتا کاملی در مقایسه با بقیه روشهای تزریقی مورد بررسی در این مطالعه نشان داد و به نظر می آید که این روش تزریق، مؤثرترین روش در مطالعه حاضر بوده که با توجه به مطالعات قبلی برای اولین بار این روش مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین نتایج بدست آمده از این نوع تزریق خصوصیات رگ های ماهی را بهتر مشخص نمود.

نتایج بدست آمده از روش های تزریقی گوناگون رزین جهت بررسی دستگاه گردش خون در ماهی کپور نقره ای در شکل های ۱ الی ۶ نشان داده شده اند. در شکل ۱ قسمت های مختلف قلب کپور مانند دهلیز، بطن، سینوس سیاهرگی، پیاز آئورتی، سیاهرگ کبد (هیپاتو پانکراس)، مجرای کوویه چپ و راست، و سیاهرگ اصلی مشترک با وضوح قابل قبولی مشخص شده اند (شکل ۱).

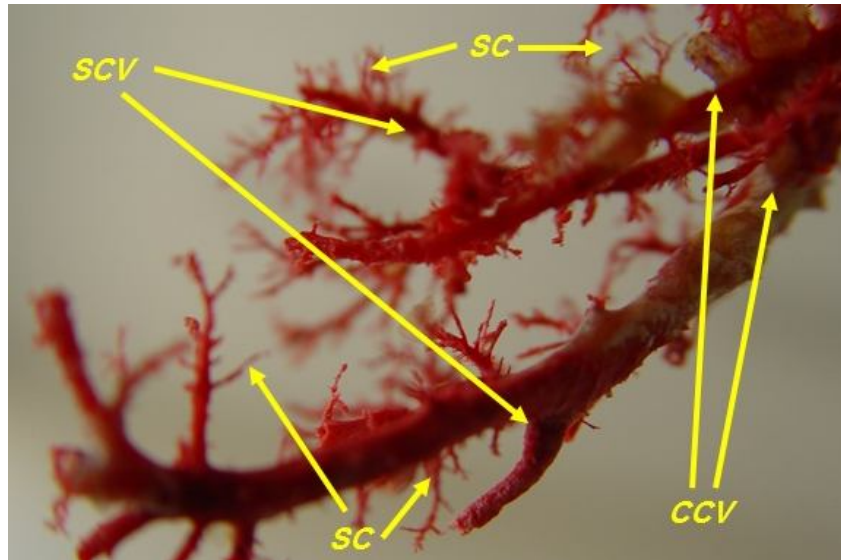
همچنین با استفاده از روش تزریق رزین به داخل پیاز آئورتی قلب ماهی، قالب ساختمان قلب و سیاهرگ های آن شامل سیاهرگ تحت ترقوه، سیاهرگ های قلبی مشترک و سیاهرگ کبدی، که از ناحیه پشتی قلب وارد آن می شوند و نیز مویرگ های بسیار کوچک و نازک بخوبی تشکیل گردید (شکل ۲).



شکل ۱- قسمت های مختلف قلب کپور نقره ای *H. molitrix* پس از تشکیل قالب

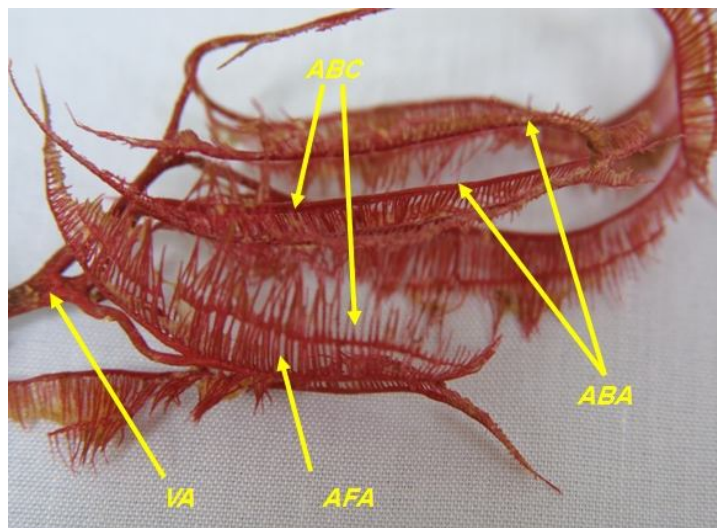
با روش تزریق به پیاز آئورتی قلب

V: بطن، A: دهلیز، BA: پیاز آئورتی، SV: سینوس سیاهرگی، HPV: سیاهرگ کبدی (هیپاتو پانکراس)، LCD: مجرای کوویه چپ، RCD: مجرای کوویه راست، CCV: سیاهرگ اصلی مشترک،

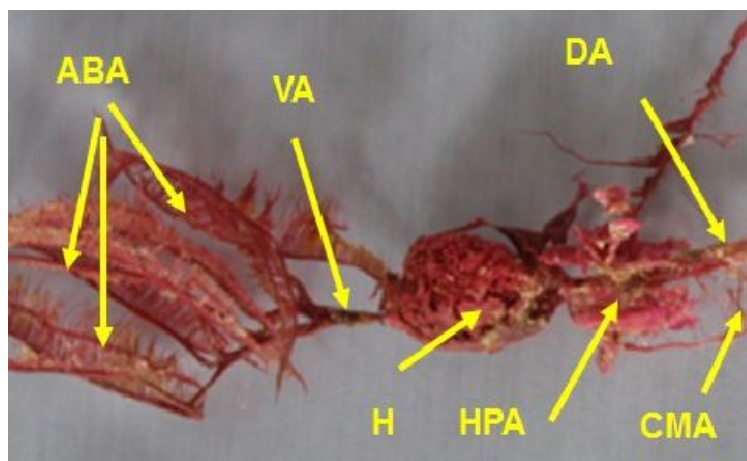


شکل ۲- قسمت‌های مختلف رگها و مویرگهای منشعب از قلب کپور نقره ای *H. molitrix* پس از تشکیل قالب با روش تزریق به پیاز آئورتی قلب
CCV: سیاهرگ اصلی مشترک، SCV: سیاهرگ تحت ترقوه، SC مویرگ‌های کوچک

در شکل ۳ آئورت شکمی و انشعابات گسترده سرخرگ فیلامنتی آوران و سرخرگ برانشی آوران و همچنین انشعابات گسترده مویرگ‌های آبششی مشخص شده‌اند (شکل ۳).
همچنین قالب قسمت‌های مختلف دستگاه گردش خون ماهی کپور نقره ای مانند قلب، سرخرگ برانشی آوران، آئورت شکمی، آئورت پشتی، سرخرگ‌های کبدی- پانکراس در شکل ۴ بطور کامل مشخص شده‌اند. احتمالاً انشعابات رگی که به آئورت پشتی متصل می‌شوند مربوط به سرخرگ شکمی-روده بندی بوده که خون رسانی به این قسمت از دستگاه گوارش و اندامهای محوطه شکمی را بر عهده دارد (شکل ۴).



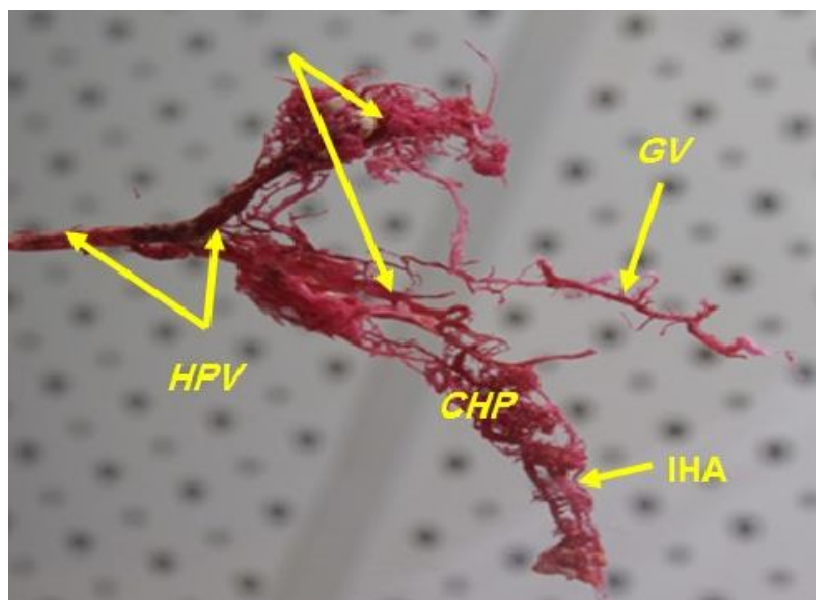
شکل ۳- قسمت های مختلف آبشش در کپور نقره ای *H. molitrix* پس از تشکیل قالب با روش تزریق به پیاز آنورتی قلب
VA: آنورت شکمی، AFA: سرخرگ فیلامنتی آوران، ABA: سرخرگ برانشی آوران، ABC: مویرگ های برانشی آوران



شکل ۴- قالب قسمت های مختلف دستگاه گردش خون ماهی کپور نقره ای *H. molitrix* با استفاده از روش تزریق به پیاز آنورتی قلب.
ABA: سرخرگ برانشی آوران، VA: آنورت شکمی H: قلب، DA: آنورت پشتی، HPA: سرخرگ های هیپاتو پانکراس، CMA: سرخرگ شکمی-روده بندی

شکل ۵ دستگاه خونرسانی هیپاتوپانکراس و ارتباط آن با دستگاه گوارش را نشان می‌دهد. در این شکل سیاهرگ کبدی، سیاهرگ گوارشی (سیاهرگ معدی)، سرخرگ و سیاهرگ داخلی کبدی به همراه شبکه مویرگی هیپاتوپانکراس به خوبی مشخص شده‌اند. در ضمن با توجه به قالب مویرگی تشکیل شده می‌توان تا حدودی به ابعاد، ساختار و نیز حجم داخلی هیپاتوپانکراس در این ماهی پی برد (شکل ۵).

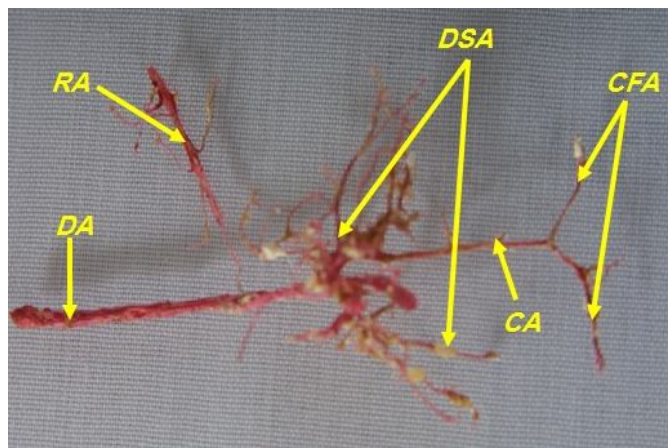
قالب قسمت‌های مختلف قسمت خلفی دستگاه گوارش کپور نقره ای مانند آئورت پشتی، سرخرگ کلیوی، سرخرگ پشتی و انشعابات رگی آن، سرخرگ دمی و انشعابات باله دمی در شکل ۶ بطور کامل مشخص شده‌اند. در این شکل ساختار رگهای قسمت خلفی ماهی در شمای بزرگتری نشان داده شده ولی جزئیات آن به خوبی مشخص نیست (شکل ۶).



شکل ۵- قسمت‌های مختلف رگها و مویرگ‌های منشعب در دستگاه گوارش کپور نقره‌ای *H. molitrix* پس از تشکیل قالب با روش تزریق به آئورت شکمی.

HPV: سیاهرگ کبدی، GV: سیاهرگ گوارشی (سیاهرگ معدی)، IHA: سرخرگ

IHV: سیاهرگ داخلی کبدی به همراه شبکه مویرگی هیپاتوپانکراس CHP



شکل ۶- رگها و مویرگهای منشعب در قسمت خلفی دستگاه گوارش کپور نقره ای *H. molitrix* پس از تشکیل قالب با روش تزریق به آئورت خلفی.
DA: آئورت پشتی، RA: سرخرگ کلیوی، DSA: سرخرگ پشتی و انشعابات آن، CA: سرخرگ دمی، CFA: سرخرگ باله پشتی

بحث و نتیجه گیری

بررسی قالب گیری تحلیلی رگهای خونی در داخل اندامها و اعضاء مختلف بدن موجودات زنده و انسان، یکی از روشهایی است که برای بررسی ساختار عروق بکار می رود. قالب سه بعدی رگها، تصویر کاملی از سیستم عروقی داخلی اندامهای مختلف را نشان داده و با دانستن حجم خون در جریان هر اندام، ارزش فیزیولوژیک و متابولیک آن قابل تعیین است. همچنین تعداد و اندازه رگها در یک اندام مانند قلب یا کبد نشان دهنده نوع فعالیت شاخص آن اندام است (Nematollahi *et al.*, 2011; Murakami, 1971). تاکنون تحقیقات متعددی جهت بررسی دستگاه گردش خون در اندامهای داخلی حیوانات گوناگون صورت گرفته است (Ali *et al.*, 2005; Leiser, 1997; Noestelthaller *et al.*, 1987). اولین تحقیقات جامع در خصوص رگهای آبشش ماهیان استخوانی با استفاده از قالبهای رگهای سیلیکونی را Laurent و Dunel انجام دادند (Laurent and Dunel, 1976).

این بررسی و مطالعات گسترده بعدی، مسیر تنفسی سرخرگی - سرخرگی را در ماهی مشخص کرد و یک ساختار رگی غار مانند را در مرکز فیلامنتی (Filament center) آبشش توصیف نمود که به کمک رگهای تیغه آبششی، خونرسانی می شد (Olson, 1991).

گانن (Gannon, 1978) با به کارگیری تکنیک قالب گیری تحلیلی رگها شیوه مطالعه رگهای آبششی این حوزه را متحول نمود. با استفاده از این روش ساختار رگها توسط تزریق ماده ای به نام

متیل متاکریلات، قالبی سه بعدی و محکم از حفره رگی تشکیل داده و سپس قالب تشکیل شده توسط میکروسکوپ الکترونی نوع SEM مورد بررسی واقع می‌شد.

در مطالعه دیگری، اسمیت و بل (Smith and Bell, 1975) سیستم گردش خون ماهی سالمون (Pacific salmon) را مورد مطالعه قرار داده و قسمت‌های گوناگون قلب، رگهای بطن و دهلیز و آئورت پشته‌ای، سیستم عروقی روده و سیاهرگ‌های محوطه شکمی را مشخص نمودند. علی و همکاران (Ali et al., 1987)، ساختمان رگ‌های خونی غده پینه آل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را با استفاده از روش‌های بررسی ساختمان قالب و مطالعه میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار دادند. نتیجه این تحقیق نشان داد که هیچ نوع ارتباطی رگی بین رگ‌های خونی غده پینه آل و سایر قسمت‌های مغز وجود ندارد. در همین راستا، مطالعه ای در مورد گردش خون آبششی در ماهی کفال (*Mugil cephalus*) با تزریق متیل اکریلیت در داخل رگ‌های آبششی و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت و با این روش چگونگی گردش خون آبششی در این گونه ماهی به خوبی مشخص شد (Passantino et al., 2000). در تحقیقی دیگر، ساختار رگ‌های ریز غشای شنوایی با تشکیل قالب رگ‌ها در چین چپلا مطالعه شد. در این مطالعه همچنین، تعداد قطعات مویرگی و قطر مویرگ‌ها، طول قطعات، فاصله بین رگ‌ها و زاویه بین انشعابات رگ‌ها مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت (Licup-Bravo et al., 2005).

در تحقیقی که توسط نوستل‌تالر و همکاران (Noestelthaller et al., 2005) در سگ انجام گردید، شباهت ساختاری بین شاخه‌های جانبی سرخرگ کرونری در قلب سگ با این شاخه‌ها در گردش خون کرونری انسان مشخص شد. در مطالعه‌ای دیگر، برای بررسی توزیع و گسترش عفونت فاسیولا، رگ‌ها و مجاری کبد از طریق تشکیل قالب رگ‌ها با استفاده از رزین مصنوعی مورد مطالعه قرار گرفت و موقعیت استقرار رگ‌های خونی، مجاری کبدی، مجاری صفراوی و انشعابات آنها از نظر کالبد شناسی بررسی شد (Shirai et al., 2005). در مطالعه بر روی ساختار رگ‌های کرونری، قالب این رگ‌ها در افرادی که در اثر مرگ ناگهانی و یا سکته قلبی فوت شده بودند، با تزریق رزین به داخل آئورت آنها تشکیل گردید و در نهایت تغییرات پس از مرگ در رگ‌های کرونری آنها مورد بررسی قرار داده شد. این گروه پژوهشی همچنین گزارش نمودند که این روش در کنار روش‌های بافت شناسی و ایمنی شناسی در تصمیم گیری برای پی بردن به علت مرگ در این افراد بسیار موثر است (Töro et al., 2007). در تحقیقی دیگر، اورسیک و همکاران (Ursic et al., 2007)، با تشکیل قالب رگ‌های کبد سگ به مطالعه کالبد شناسی عروق این عضو و انشعابات مویرگی آن پرداختند. با توجه به اطلاعات کمی که در مورد انشعابات رگ‌های داخل کبدی سگ وجود داشت، این محققین به بررسی انواع ساختارهای کالبد شناختی سیاهرگ باب

کبدی و انشعابات اصلی سرخرگ کبدی پرداخته و به امید آن بودند که شاید این بررسی کمک بزرگی در مدیریت جراحی کبد در سگ و یا انسان نماید.

نعمت‌الهی و همکاران (Nematollahi *et al.*, 2011)، با به کارگیری تکنیک قالب‌گیری تحلیلی عروق، سیستم گردش خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را مورد مطالعه قرار دادند. با استفاده از این روش قسمت‌های مختلف قلب و آبشش و ساختار عروقی آنها، سیستم عروقی کبد و دیگر قسمت‌های گوناگون سیستم گردش خون مانند دستگاه گوارش و کلیه بطور نسبتاً کاملی مشخص شد. ضمناً چگونگی ارتباط عروقی اندام‌های داخلی بدن در قزل‌آلای رنگین کمان و ساختار حجمی این اندام‌های داخلی بویژه ساختار مویرگی آن به خوبی مشخص گردید.

در مطالعه حاضر، از هر چهار روش تزریقی بالا برای تشکیل قالب رگ‌های بدن ماهی کپور نقره‌ای استفاده شد. با توجه به آنکه ماهی پس از کشته شدن چندین ثانیه دارای ضربان قلب بوده و این امر کمک بزرگی به پخش کردن رزین در داخل بدن ماهی می‌نماید، تصمیم گرفتیم، جهت تشکیل قالب قلب و رگ‌های بدن ماهی، رزین را به داخل قلب و ناحیه پیاز آئورتی تزریق نماییم. پس از تزریق رزین، قالب‌های قسمت‌های مختلف بدن ماهی تشکیل شد و در میان ۴ روش تزریقی توضیح داده شده، نتایج بدست آمده از تزریق رزین به داخل پیاز آئورتی قلب، از نظر مطالعه قالب‌گیری تحلیلی رگ‌های خونی روش کاربردی و موثرتری بوده و این روش تزریقی در مقایسه با دیگر روشها، خصوصیات کلی رگ‌ها را در ماهی کپور بخوبی نشان داد. تزریق رزین در آئورت شکمی و سپس آئورت خلفی نیز، نتیجه نسبتاً رضایت بخشی داشت. ولی روش تزریق در آئورت پشتی، به علت حجم اندام‌های داخلی بدن ماهی و تداخل و مزاحمت اندام‌های داخلی محوطه شکمی، چندان مؤثر نبود و قالب‌های تشکیل شده کامل نبودند.

به‌دلیل آنکه ماده قالب گیر عروق پس از پایان مراحل انجام کار، نماینده ساختار مصنوعی فضای خونی است، برای تهیه آن می‌بایست برخی از نکات، مورد توجه قرار گیرد. در واقع آنچه که در خصوص قالب‌گیری اهمیت دارد، ویژگی‌های رزین (ویسکوزیته، میزان تغییر حجم پس از تزریق، چروک خوردگی و پایداری آن در مقابل آب) و شرایطی که تحت آن رزین تزریق می‌شود (دما، فشار وارده هنگام تزریق، زمان تثبیت و...) می‌باشد. همچنین فشار تزریق در این مطالعه بسیار مهم می‌باشد، بدان دلیل که رگ‌های ماهی، بسیار نازک و شکننده بوده و فشار زیاد در هنگام تزریق رزین، باعث پارگی رگ‌ها و نشستن رزین به داخل اندام‌ها و بافت‌های مجاور می‌شود. پس از انجام مراحل آزمایش، قالب رگ‌های مربوط به اندام‌های گوناگون و دستگاه گردش خون ماهی تشکیل گردید و مورد بررسی کالبد شناختی قرار گرفت. در این ماهیان پس از تزریق رزین، قالب ساختمان قلب، سرخرگ‌ها، سیاهرگ‌ها و مویرگ‌های آن به خوبی مشخص شد (شکل ۱ و ۲). در کپور نقره‌ای با تزریق رزین به داخل پیاز آئورتی

در جهت، قالب ساختمان قلب و سیاهرگ‌های آن شامل سیاهرگ‌های قلبی مشترک و سیاهرگ کبدی که از ناحیه پشتی قلب وارد آن می‌شود، تشکیل گردید. با توجه به قالب ساختمان قلب ماهی، به نظر می‌رسد که خون سیاهرگ‌های تحت ترقوه سمت راست، وداجی فوقانی سمت راست، وداجی تحتانی و سیاهرگ‌های قلبی خلفی سمت راست به سیاهرگ قلبی مشترک راست و خون سیاهرگ‌های وداجی فوقانی و نیز تحت ترقوه سمت چپ به سیاهرگ اصلی مشترک چپ می‌ریزد.

قالب رگ‌های آبشش شامل آئورت شکمی، سرخرگ‌های برانشی و فیلامنتی آوران در ماهی کپور، تشکیل شد. خون تیره از طریق آئورت شکمی وارد سرخرگ‌های برانشی و فیلامنتی آوران شده و در این رگ‌ها، اکسیژن دریافت می‌نماید (شکل ۳ و ۴).

قسمت‌های مختلف رگ‌ها و مویرگ‌های منشعب در دستگاه گوارش کپور نقره‌ای و اندام‌های موجود در محوطه شکمی ماهی پس از تشکیل قالب کاملاً مشخص شدند (شکل ۴ و ۵). در این شکل‌ها دستگاه خونرسانی کبدی - پانکراسی و ارتباط آن با دستگاه گوارش ماهی و سیستم گردش خون آن کاملاً مشخص شده و سیاهرگ کبدی، سیاهرگ گوارشی (سیاهرگ معدی)، سرخرگ و سیاهرگ داخلی کبدی به همراه شبکه مویرگی هپاتوپانکراس به خوبی مشخص شده اند. سیاهرگ‌ها و مویرگ‌های سیستم کبدی - پانکراسی، خون اندام‌های داخلی محوطه شکمی و تیز خون دستگاه گوارش ماهی را دریافت کرده و آن را به سینوس سیاهرگی می‌ریزند. با تزریق رزین به داخل آئورت خلفی، آئورت پشتی و انشعابات آن شامل سرخرگ‌های تحت ترقوه‌ای، سرخرگ‌های جداری، سرخرگ‌های کلیوی، سرخرگ‌های پشتی قطعانی و سرخرگ دمی در ماهی کپور مشخص گردید (شکل ۴ و ۶). سرخرگ دمی در ماهیان یکی از سرخرگ‌های خونرسان ناحیه شکمی می‌باشد که در مسیر خود رو به عقب انشعابات را ایجاد می‌کنند (شکل ۶). سرخرگ‌های تحت ترقوه به سمت جلوی بدن ماهی حرکت کرده و به کمر بند سینه‌ای، باله سینه‌ای و ماهیچه‌های آن خونرسانی می‌کند. سرخرگ‌های جداری به ماهیچه‌های جانبی مهره‌ها و پوست، سرخرگ‌های کلیوی به کلیه، باله لگنی و سرخرگ‌های دمی به ناحیه پشتی، مقعد، باله پشتی و ماهیچه‌های آن‌ها خونرسانی می‌کند (شکل ۴ و ۶).

همچنین قالب سرخرگ شکمی - روده بندی که دیگر سرخرگ خونرسان به محوطه شکمی است، در ماهی کپور نقره‌ای تشکیل شد. این سرخرگ از آئورت پشتی، اندکی بعد از جدا شدن سرخرگ‌های تحت ترقوه‌ای با زاویه ۶۰ درجه به سمت ناحیه شکمی - جانبی در جهت خلف بدن ماهی، جدا شده و از طریق انشعابات باریک به دستگاه گوارش، کبد، کیسه هوا و غدد جنسی خونرسانی می‌کند. از طرف دیگر با تزریق رزین به داخل پیاز آئورتی در جهت خلفی بدن ماهی، قالب رگ‌های داخلی هپاتوپانکراس، رگ‌های داخلی روده‌ها، سیاهرگ‌های کبدی، باب و سیاهرگ معده در ماهی کپور تشکیل گردید. خون سیاهرگ‌های داخلی اندام‌هایی مثل معده، روده، طحال و غدد جنسی، به

سیاهرگ باب ریخته و از این طریق، وارد کبد می شود، سپس خون تیره کبد، از طریق سیاهرگ کبدی به سینوس سیاهرگی قلب می ریزد. براساس مطالعه حاضر مشخص گردید که تزریق رزین به داخل قلب و پیاز آئورتی آن، بهترین و مؤثرترین روش تهیه قالب در ماهی کپور نقره ای بوده و نتایج بدست آمده از این نوع تزریق خصوصیات عروقی این ماهی را بهتر مشخص کرد. ضمناً قالب قسمت های مختلف قلب و سرخرگ های آبششی، سیاهرگ کبدی (هپاتوپانکراس)، سیاهرگ معده (گوارشی)، آئورت پشتی و انشعابات آن و سرخرگ های کلیوی و دمی و همچنین شبکه های مویرگی اندام های گوناگون به خوبی تشکیل شد و به نظر می رسد که برای دستیابی به اطلاعات بیشتر در خصوص دستگاه گردش خون ماهی باید به بررسی این دستگاه با استفاده از روش های بافت شناسی و مولکولی و نیز میکروسکوپ الکترونی پرداخت.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از کمک های ارزشمند آقای یدالله خسروی در این پژوهش تشکر و سپاسگزاری نمایند.

منابع

- Aharinejad S., 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.
- Ali S.S., Korf H.W., Oksche A. 1987. Microvasculature of the pineal organ of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell and Tissue Research*, 250(2): 425-429.
- Christofferson R.H., Nilsson B.O. 2011. Microvascular corrosion casting with analysis in the scanning electron microscope. *Scanning*, 10(2): 43-63.
- Gannon BJ. 1978. Vascular casting. In: Hayat MA (Ed.). *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy*. Van Nostrand Reinold, New York, NY, pp. 170-193.
- Hossler F.E., Douglas J.E., 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.
- Hossler F.E., Douglas J.E., Verghese A., Neal L. 1991. Microvascular architecture of the elastase emphysemic hamster lung. *Journal of Electron Microscopy* Technique, 19(4): 406-418.
- Ishida F. 1988. Observation of the intra hepatic biliary casts in humans and rats. *Journal of the Jusen Medical Society*, 97(2): 461-477.
- Krizmanich W.J., Lee R.H. 1993. Scanning electron microscopy of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Scanning Microscopy*, 7(1): 129-134.

- Laurent P., Dunel S. 1976. Functional organization of the teleost gill I. Blood pathways. *Acta Zoologica*, 57(4): 189-209.
- Leiser R., Krebs C., Ebert B., Dantzer V. 1997. Placental vascular corrosion cast studies: a comparison between ruminants and humans. *Microscopy Research and Technique*, 38(1-2):76-87.
- Minnich B., 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.
- Murakami T. 1971. Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. *Archivum Histologicum Japonicum*, 32(5): 445-454.
- Nematollahi A., Shadkhast M., Shafeie S., Majidian F. 2011. Circulatory system of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum): A Corrosion Cast Study. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(3): 916-919.
- Noestelthaller A., Probst A., Koenig H.E. 2005. Use of corrosion casting techniques to evaluate coronary collateral vessels and anastomoses in hearts of canine cadavers. *American Journal of Veterinary Research*, 66(10): 1724-1728.
- Olson K.R. 2002. Vascular Anatomy of the Fish Gill. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3):214-231.
- Ono S., Date I., Nakajima M., Onoda K., Ogihara K., Shiota T., Asari S., Ninomiya Y., Yabuno N., Ohmoto T. 1997. Three-dimensional analysis of vasospastic major cerebral arteries in rats with the corrosion cast technique. *Stroke*, 28(8): 1631-1638.
- Passantino L., Abbate F., Cianciotta A., Geramana G.P., Patruno R., Passantino G.F. 2000. Corrosion cast of the vascularization of *Mugil cephalus* gills. *Italian Journal of Anatomy and Embryology*, 105(2): 121-129.
- Shirai W., Sato T., Shibuya H., Natio K., Tsukise A. 2005. Three-dimensional vasculature of the Bovine liver. *Anatomia Histologia Embryologia*, 34(6): 354-363.
- Smith L.S., Bell G.R. 1975. A practical guide to the anatomy and physiology of Pacific Salmon. Miscellaneous Special Publication. Ottawa Department of Environment, Fisheries and Marine Service, Report number 27.
- Tőro K., Kiss M., Szarvas V., Nemeskéri A., Kristóf I., Magyar L., Keller E. 2007. Post mortem introduction of corrosion cast method after coronary stent implantation. *Forensic Science International*, 171 (2-3): 208 – 211.
- Ursic M., Ravnik D., Hribernik M., Pecar J., Butinar J., Fazarinc G. 2007. Gross anatomy of the portal vein and hepatic artery ramifications in dogs: corrosion cast study. *Anatomia Histologia Embryologia*, 36(2): 83 – 87.