

بررسی آناتومی کلیه و میکروسکوپی لوله های در هم پیچیده دور و نزدیک بخش میانی و خلفی بافت کلیه در ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Astronotus ocellatus*) و اسکار (*Oncorhynchus mykiss*)

سحر محمدعلی پور، دکتر ایرج پوستی*، دکتر سعید حصارکی

چکیده

گونه انکورینچوس میکسیس (O. Mykiss) Walbaum 1792 که جز ماهیان پرورشی و سرد آبی بوده و از نظر اقتصادی ارزش فراوانی دارد (۱). این ماهی از رده Salmoniformes می باشد، بومی مناطق نیمکره شمالی و جنوبی است و عادت به مناطق سرد، معتدل، آبهای شیرین و دریایی دارند. بسیاری از این گونه ها مهاجر هستند (۲). امروزه قزل آلابی رنگین کمان در سرتاسر دنیا پراکنده شده است. نگاره و رنگ بدن ماهی قزل آلابی رنگین کمان با توجه به محیط زندگی، سن، جنسیت و میزان بلوغ متفاوت می باشد (۱). ماهی اسکار (Oscar) با نام علمی *Astronotus ocellatus*، از جنس (*Astronotus*) به معنی دارای نشانه ی ستاره مانند در پشت، از گونه (*A. ocellatus*) به معنی دارا بودن لکه چشمی مانند) و از خانواده سیکلیده است (۳). ماهیان اسکار، گوشتخوار، آکواریومی و زیتتی هستند که دمای نگه داری آنها ۲۷-۲۱ درجه سانتیگراد است و از نظر اقتصادی ارزش فراوانی دارند (۳).

ماهیان بیشترین تنوع گونه ای را در بین مهره داران دارند. حدود ۶۰٪ از تمام گونه های مهره داران را ماهیان تشکیل می دهند که از لحاظ اقتصادی اهمیت زیادی دارند (۴). ماهیان به طور تکامل یافته ای با نیازهای مختلف خود تطابق دارند. تعداد گونه های ماهیان استخوانی بیشتر از تعداد گونه های دیگر مهره داران است (۱). بافت کلیه در گونه های مختلف ماهیان از نظر آناتومی متفاوت می باشد (۴) و به سه بخش قدامی، میانی و خلفی تقسیم شده است. کلیه ها اندامی درون ریز بوده که نقش آنها در بدن تصفیه ی خون، تنظیم مایعات، تعادل الکترولیت ها، فعال کننده ویتامین D و تنظیم کننده فشار خون می باشد (۱). کلیه ها در حفظ تعادل مایعات و نگه داری آب نقش عمده ای

پژوهش حاضر به منظور، مقایسه آناتومی بافت کلیه و بافت شناسی لوله های پروکسیمال (I) و II و دیستال در دو گونه ماهی قزل آلابی رنگین کمان و اسکار انجام شد. قزل آلابی رنگین کمان (Rainbow trout)، با نام علمی *Oncorhynchus mykiss*، از خانواده Salmonidae که جز ماهیان پرورشی و سرد آبی است و اسکار (Oscar) با نام علمی *Astronotus ocellatus*، از شناخته شده ترین ماهی های زیتتی از خانواده Chichlidae است که از لحاظ تجاری باارزش می باشد. پنج قطعه از هر دو گونه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خصوصیات ماکروسکوپی و اندازه گیریهای مورفومتریک آنها (Morphometric measurement) ثبت شد. نمونه ها در فرمالین بافر ۱۰٪ فیکس و برشها با ضخامت پنج میکرون آماده سازی شدند و سپس به روش هماتوکسیلین و ائوزین و پرئودیک اسید شیف رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. داده های حاصل از آزمایش، با نرم افزار SPSS و آزمون آماری T-Test (P<0/05) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لوله های پروکسیمال و دیستال شناسایی و متغیرها مورد اندازه گیری قرار گرفتند. اندازه هسته سلولهای لوله پروکسیمال I و اندازه قطر خارجی آن در بین دو گونه اختلاف معناداری وجود دارد (P<0/001). از نظر تعداد، اندازه سلول، اندازه هسته، اندازه قطر خارجی و قطر داخلی (لومن) لوله های پروکسیمال II اختلاف معناداری وجود دارد (P<0/001). در بین تعداد و اندازه سلول لوله های دیستال اختلاف معناداری وجود دارد (P<0/001). در هر دو گونه ماهی اندازه هسته، قطر خارجی و داخلی (لومن) لوله های دیستال اختلاف معناداری وجود دارد (P<0/001). با توجه به نتایج بدست آمده، آناتومی و بافت شناسی بافت کلیه در ماهی قزل آلابی رنگین کمان و اسکار تفاوت دارد.

واژگان کلیدی: بافت شناسی، آناتومی، کلیه، قزل آلابی رنگین کمان، اسکار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۵

مقدمه

ماهی قزل آلابی رنگین کمان (Rainbow trout)، با نام علمی *Oncorhynchus mykiss*، از خانواده آزاد ماهیان (Salmonidae)، جنس انکورینچوس (*Oncorhynchus*) و

دیستال و مقایسه آنها در دو گونه ماهی ذکر شده با یکدیگر است.

مواد و روش کار

نمونه گیری

در این پژوهش ده قطعه از هر دو گونه ماهی (قزل آلی رنگین کمان و ماهی اسکار) در آکواریوم های جداگانه جهت عادت پذیری با شرایط آزمایشگاهی با رعایت دما و غذاهای، به مدت دو هفته نگهداری شدند. پس از اطمینان از سلامت و عدم بروز علائم بیماریزایی، ماهی ها به صورت تصادفی از میان ده قطعه ماهی نگه داری شده، انتخاب شدند. در تحقیق حاضر، نمونه برداری از بافت کلیه پنج قطعه ماهی قزل آلی رنگین کمان و پنج قطعه ماهی اسکار (در سن سه ماهگی) انجام شد. معدوم سازی به منظور عدم ایجاد کمترین درد در ماهی ها، با استفاده از یک گرم پودر گل میخک در ده لیتر آب در هرگونه به صورت مجزا صورت گرفت (۱۶). سپس خصوصیات ماکروسکوپی، اندازه گیری های مورفومتریک (Morphometric measurement) که شامل اندازه طول بدن (با استفاده از خط کش با دقت ۱ mm) و وزن ماهی (به وسیله ترازوی دیجیتال مدل Acculab ALC-2100.1 با دقت اندازه گیری ۱/۰ گرم) است، ثبت گردید (جدول ۱ و ۲).

از آنجایی که کلیه اندامی عملکردی است و در ماهی معمولاً به صورت یک نوار طولی در جلو و طرفین ستون مهره ها قرار گرفته، پس از انجام کالبد گشایی استاندارد ماهی، بخش های مختلف آن را به آرامی و با دقت به وسیله یک پنس ظریف، از بافت های اطراف جدا کرده و نمونه به دست آمده از کلیه، با ذکر نام و شماره هر ماهی به طور مجزا در ظروف نمونه گیری درب دار، در محلول فیکساتیو فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد.

ایفا می کنند (۵). بافت کلیه در ماهیان های استخوانی، شامل رأس و بدنه می باشد (۵). کلیه ماهیان معمولاً در محل پشت صفاقی و چسبیده به سطح شکمی ستون فقرات قرار دارد. این اندام به رنگ قهوه ای تیره یا سیاهرنگ بوده که به طور طبیعی در طول حفره شکمی کشیده شده است (۶). همانگونه که ساختار اندامها در گونه های مختلف ماهیان متفاوت است، کلیه نیز در گونه های مختلف از نظر آناتومی تفاوت دارد (۷و۸). در بعضی از گونه ها کلیه دو اندام کاملاً مجزا است، در حالیکه در بعضی گونه های دیگر درجات متفاوتی از اتصال آنها به یکدیگر وجود دارد (۵).

لوله های پیچیده نزدیک یا پروکسیمال به دو قسمت تقسیم که شامل قسمت جلویی (Proximal (I)) و قسمت میانی Medial (Proximal(II)) می باشد (۸). لوله های پیچیده دور یا دیستال بلافاصله بعد از لوله های پروکسیمال قرار دارند که در نهایت به لوله های جمع کننده تبدیل می شوند. پژوهش های متنوعی بر روی آناتومی کلیه ماهی آزاد، تیلاپیا، خاویاری مهاجر، خاویاری ایتالیایی، خانواده فرشته ماهیان و شانک نقره ای توسط افراد مختلف انجام شده است (۹-۱۲،۶). بطور خلاصه می توان گفت تحقیقات مختلفی بر روی ساختار کلیه و بررسی بافت شناسی لوله های ادراری ماهی کپور علفخوار، ماهی خاویاری بزرگ، اسبک دریایی، شیرماهی، ماهی هامور و خانواده های غالب شمال خلیج فارس صورت گرفته است (۷-۱۲،۱۵). ساختار بافت شناسی بافت کلیه ماهی ها به طور وسیعی در بین گونه ها تفاوت دارد (۵و۷). دو گونه ماهی استخوانی مورد بررسی در تحقیق حاضر (قزل آلی رنگین کمان و ماهی اسکار) رفتار تغذیه ای مشابه داشته ولی در دماهای متفاوت آب قادر به رشد و زندگی هستند. (۱-۳).

با توجه به اهمیت تکثیر، پرورش، ارزش تجاری و کمبود اطلاعات در رابطه با مورد بافت شناسی دو گونه ماهی قزل آلی رنگین کمان و ماهی اسکار، این پژوهش طراحی شد. بنابراین هدف از این تحقیق حاضر، بررسی هیستولوژی بافت کلیه از نظر آناتومی و میکروسکوپی لوله های پروکسیمال و

جدول ۱: بیومتری ماهی قزل آلابی رنگین کمان

شماره نمونه	وزن (g)	طول (cm)	عرض (cm)
ماهی شماره ۱	۵/۳۳	۱۴/۵	۳/۲
ماهی شماره ۲	۲/۴۵	۱۶	۳/۸
ماهی شماره ۳	۴/۴۸	۱۷	۳/۸
ماهی شماره ۴	۱/۴۶	۱۶/۲	۳/۷
ماهی شماره ۵	۷/۴۰	۱۵/۲	۳/۸
میانگین	۷۸/۴۲	۱۵/۷۸	۳/۶۶

جدول ۲: بیومتری ماهی اسکار

شماره نمونه	وزن (g)	طول (cm)	عرض (cm)
ماهی شماره ۱	۳/۲۳	۱۰	۴
ماهی شماره ۲	۶/۲۳	۱۰	۳/۸
ماهی شماره ۳	۲/۲۰	۹/۵	۳/۴
ماهی شماره ۴	۵/۲۱	۱۰	۳/۸
ماهی شماره ۵	۴/۲۴	۱۰/۵	۳/۶
میانگین	۶/۲۲	۱۰	۳/۷۲

بررسی ماکروسکوپی کلیه ماهی قزل آلابی رنگین کمان نشان داد که کلیه به رنگ قرمز تیره بوده و در امتداد ستون فقرات از ناحیه زیر آبشش ها تا انتهای بدن کشیده شده است. بخش های سر و تنه بافت کلیه یکپارچه بوده و بخش قدامی، میانی و خلفی از هم قابل تشخیص نمی باشد (نگاره ۱- A).

بافت کلیه ماهی اسکار عضوی به رنگ قرمز تیره بوده و به صورت خارج صفاقی در زیر ستون فقرات و کاملاً چسبیده به آن از ناحیه پشت سر تا انتهای حفره بطنی کشیده شده است. بخش سر و بدنه از هم کاملاً قابل تفکیک و دو شاخه بوده و به شکل V از جلو به عقب قرار داشت (نگاره ۱- B). قسمت خلفی از انتهای ساختار V شکل به وجود آمده

سپس سایر مراحل معمول پاساژ بافتی با استفاده از دستگاه هیستوکینت (Tissue processor) تحت برنامه زمان بندی شده در آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم و تحقیقات صورت گرفت. پس از قالب گیری در پارافین، با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل Leica RM2145 برشهایی به ضخامت پنج میکرومتر از نمونه ها تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، پرئودیک اسیدشیف (PAS) رنگ آمیزی شدند. از جهت تشخیص دقیق لوله های پروکسیمال به منظور رنگ آمیزی میکروکرکها استفاده شد (۱۷-۲۱) (نگاره ۳). سپس برشها توسط میکروسکوپ نوری مدل Olympus CX31 مورد مطالعه قرار گرفتند و با در نظر گرفتن پنج نمونه و پنج ناحیه به صورت تصادفی توسط گراتیکول متغیرهای مورد بررسی اندازه گیری شدند. فتومیکروگراف توسط میکروسکوپ مدل Olympus DX43 و نرم افزار Cell Sense تهیه شد.

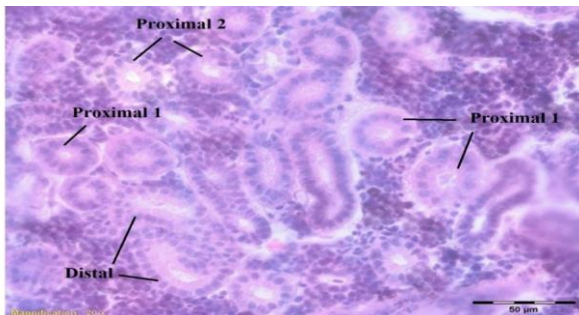
تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه داده های مورد بررسی در هر دو گونه ماهی توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۲۳ و تحلیل آماری داده ها با آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. آزمون T-Test برای مقایسه دو گروه با هم صورت گرفت و سطح $P < 0/05$ برای معنی دار بودن اختلاف بین داده ها در نظر گرفته شد. رسم نمودارها در محیط برنامه Microsoft Office Excel (2013) انجام شد.

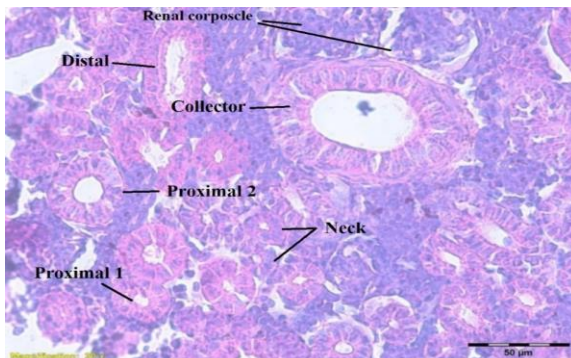
نتایج

پنج قطعه ماهی قزل آلابی رنگین کمان با میانگین وزنی ۴۲/۶ گرم، طول متوسط ۱۵/۷۸ و عرض ۳/۶۶ سانتی متر و پنج قطعه ماهی اسکار با میانگین وزنی ۲۲/۴ گرم، طول متوسط ۱۰ سانتی متر و عرض ۳/۷۲ سانتی متر انتخاب شدند.

در پروکسیمال II بزرگتر از پروکسیمال I مشاهده شد. لوله های پروکسیمال بخش بزرگی از واحد ترشحي ادرار را تشكيل داده اند (نگاره ۳ و ۲). بافت همبندی و مویرگهای خونی در اطراف لوله های پروکسیمال وجود داشتند. لوله ديستال یا لوله های پیچیده دور که در قسمت میانی و خلفی کلیه دیده شدند، آخرین قسمت نفرون یا واحد ترشحي ادرار بوده که در دنباله ی لوله ی پروکسیمال II قرار دارد. از یک ردیف سلولهای مکعبی ساده تشکیل شده است که دارای میکروکرکهای بسیار کوتاه و پراکنده بوده و برایش بوردر آنها با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نبود (۲۲ و ۵). جدار لوله های ديستال دارای سلولهای متعدد تر و کمرنگ تر (کمتر اسیدوفیلی) نسبت به سلول های لوله پروکسیمال بود (۲۲-۲۳ و ۵). این لوله ها با لومن بزرگتر و قطر خارجی نازکتر نسبت به لوله های پروکسیمال بودند و همچنین بافت همبندی و مویرگ های خونی کمتری در اطراف آنها مشاهده شد (۲۳).

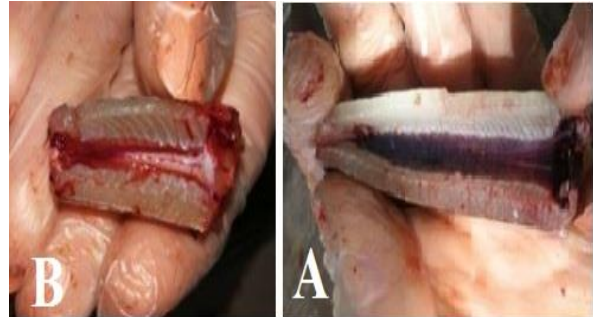


نگاره ۲- فتومیکروگراف از لوله های پروکسیمال و ديستال بافت کلیه در ماهی قزل آلابی رنگین کمان رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۲۰



نگاره ۳ - فتومیکروگراف از لوله های پروکسیمال و ديستال بافت کلیه در ماهی اسکار رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۲۰

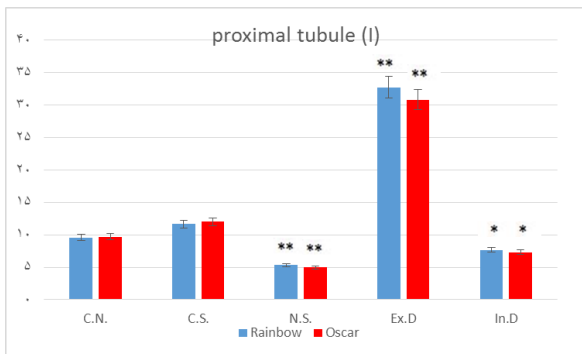
که قسمت ترشحي ادرار را تشكيل داده است. بخش قدامی بافت کلیه در ماهی اسکار کاملاً مجزا و متقارن بوده که در ادامه به سمت خلفی به دو ناحیه باریک منتهی شده است. پس از آن بدنه کلیه ها و در ادامه ناحیه دمی واقع شده که کاملاً بهم متصل بودند (نگاره ۱- B).



نگاره ۱- آناتومی بافت کلیه، A ماهی قزل آلابی رنگین کمان و B اسکار

بررسی میکروسکوپی بافت کلیه قزل آلابی رنگین کمان و اسکار نشان داد که همانند سایر ماهیان استخوانی از دو بخش دفعی و بافت خونساز و لنفونیدی تشکیل شده است. رأس کلیه یا قسمت قدامی از بافت لنفاوی و فاقد لوله های ادراری است و در قسمت میانی و خلفی (دفعی) بافت کلیه لوله های ادراری حضور داشتند. مشاهدات میکروسکوپی بخش میانی و خلفی کلیه مشخص شد که لوله های پروکسیمال (Proximal tubules) یا لوله های پیچیده نزدیک به دو قسمت I و II تقسیم شده اند. در پروکسیمال I سلولهای پوششی مکعبی، با سایتوپلاسم اسیدوفیلی شدید و هسته آنها بزرگ، کروی و در مرکز سلول مشاهده شد (۶- ۷) (نگاره ۳ و ۲). رأس آزاد این سلولها، میکروکرکهای متراکم و فراوان حضور داشتند که با دید میکروسکوپ نوری به صورت برایش بوردر یا حاشیه مساوی قابل مشاهده بوده است (۵، ۲۱ و ۲۰). میکروکرکها با رنگ آمیزی PAS به رنگ بنفش در لومن آنها مشاهده شدند (نگاره ۴ و ۵). لوله های پروکسیمال II شامل سلولهای مکعبی تا استوانه ای و کمتر ائوزینوفیلی بوده است. قطر داخلی لوله ها

مقادیر ثبت شده در جدول ۳ با آزمون T-Test، بیانگر این است که (MEAN) میانگین تعداد و اندازه سلول پروکسیمال I در ماهی اسکار بیشتر و اندازه هسته، قطر خارجی و داخلی لوله پروکسیمال I در قزل آلابی رنگین کمان بزرگتر می باشد؛ اما با توجه به مقادیر SIG، با در نظر گرفتن $P < 0/05$ تست لوون (Levene's test) در تعداد و اندازه سلول اختلاف معنی دار وجود ندارد و اندازه هسته، قطر خارجی و داخلی پروکسیمال I در دو گونه مقایسه شده اختلاف معنی دار وجود دارد؛ بدین صورت که در قزل آلابی رنگین کمان سه فاکتور ذکر شده بیشتر می باشند.



نمودار 1: مقایسه متغیرها در لوله های پروکسیمال (I)

ماهی قزل آلابی رنگین کمان	■ (Blue)
ماهی اسکار	■ (Red)

(C.N.): تعداد سلول، (C.S.): اندازه سلول، (N.S.): اندازه هسته سلول،

(Ex.D.): قطر خارجی توبول، (In.D.): قطر داخلی توبول)

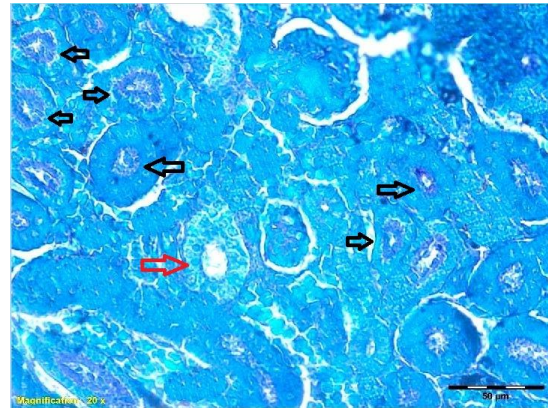
(محور عمودی در نمودار مربوط به پارامترهای اندازه گیری شده است.)

$P < 0/001$ ***

$P < 0/01$ **

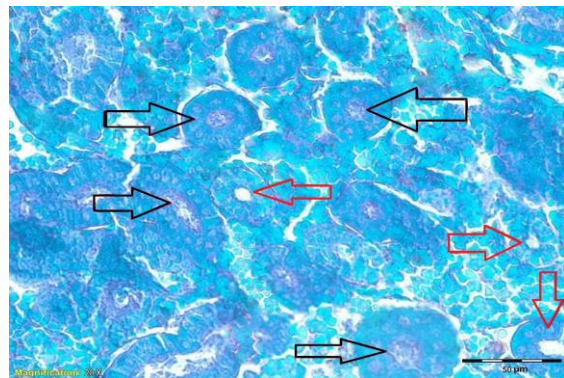
$P < 0/05$ *

همانطور که در نمودار شماره ۱ دیده می شود در بین تعداد و اندازه ی سلولهای لوله پروکسیمال I قزل آلابی رنگین کمان و اسکار اختلاف معناداری وجود ندارد ($P > 0/05$). به عبارتی میتوان گفت تعداد سلول در لوله پروکسیمال I در بین این دو گونه تفاوتی نداشته و در بین دو گونه اندازه آنها مساوی هستند. از نظر اندازه هسته سلولهای لوله پروکسیمال I در بین دو گونه اختلاف معناداری وجود دارد. ($P < 0/01$)



نگاره ۴- فتومیکروگراف لوله های پروکسیمال بافت کلیه در قزل آلابی رنگین کمان (PAS) بزرگنمایی ۲۰

در نگاره ۴ برآش بوردرها درون لومن لوله های پروکسیمال قزل آلابی رنگین کمان با رنگ آمیزی پریودیک اسید (PAS) به رنگ بنفش دیده شدند. فلش های سیاه رنگ نشان دهنده ی لوله های پروکسیمال و وجود برآش بوردرها درون آنها است و فلش قرمز نشان دهنده ی عدم وجود برآش بوردرها در لومن لوله دیستال است.



نگاره ۵ - فتومیکروگراف لوله های پروکسیمال و دیستال بافت کلیه در ماهی اسکار (PAS) بزرگنمایی ۲۰

در نگاره ۵ برآش بوردرها به رنگ بنفش درون لومن لوله های پروکسیمال ماهی اسکار با رنگ آمیزی پریودیک اسید (PAS) قابل مشاهده است. فلش های سیاه نشان دهنده ی لوله های پروکسیمال که درون لوله آنها برآش بوردرها وجود داشت و فلش قرمز نشان دهنده ی عدم وجود برآش بوردرها در لومن لوله دیستال است.

جدول ۳: مقایسه متغیرها در لوله های پروکسیمال (I)

SD	SE	df	F	Sig	mean	N	Proximal(I)
1/41421	0/28284	48	2/914	0/764	9/6	25	Trout
1/4	0/28	47/995			9/72	25	Oscar
0/99216	0/19843	48	0/781	0/134	11/65	25	Trout
0/56826	0/11365	38/216			12	25	Oscar
0/56954	0/11391	48	0/011	0/007	5/31	25	Trout
0/25	0/05	32/917			4/95	25	Oscar
2/22729	0/44546	48	0/214	0/003	32/74	25	Trout
1/98416	0/39683	47/373			30/84	25	Oscar
0/54654	0/10931	48	9/262	0/021	7/6896	25	Trout
0/5986	0/11972	47/608			7/304	25	Oscar

SD = std. Deviation, SE= Std. Error Mean, DF=Degrees of freedom, SIG=Significance, N=Number

جدول ۴: مقایسه متغیرها در لوله های پروکسیمال (II)

SD	SE	df	F	Sig	Mean	N	Proximal(II)
2/70678	0/54136	48	4/883	0/000	20/08	25	trout
1/74356	0/34871	40/991			13/96	25	Oscar
0/99499	0/199	48	9/229	0/000	13/86	25	Trout
0/54524	0/10905	37/222			11/14	25	Oscar
0/40646	0/08129	48	0/39	0/000	4/58	25	Trout
0/35707	0/07141	47/216			5/49	25	Oscar
2/52686	0/50537	48	16/106	0/000	41/48	25	Trout
1/37295	0/27459	37/035			36/48	25	Oscar
1/59276	0/31855	48	42/655	0/000	12/89	25	Trout
0/44488	0/08898	27/722			9/05	25	Oscar

جدول ۵: مقایسه متغیرها در لوله های دیستال

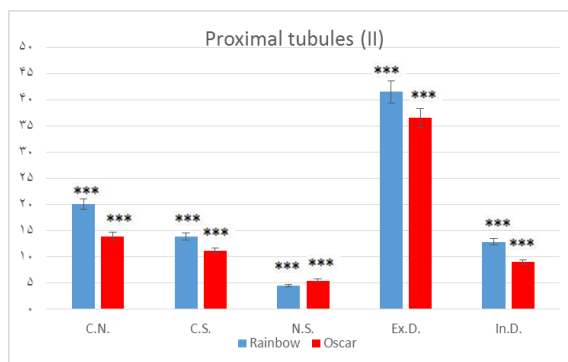
SD	SE	df	F	Sig	Mean	N	Distal
3.22749	0.6455	48	8.587	0.007	15.6	25	trout
1.55671	0.31134	34.593			13.56	25	Oscar
4.11595	0.82319	48	242.675	,000	14.46	25	Trout
0.54064	0.10813	24.828			9.38	25	Oscar
0.42987	0.08597	48	0.007	,000	4.99	25	Trout
0.3881	0.07762	47.507			4.52	25	Oscar
3.44903	0.68981	48	0.284	,000	42.7	25	Trout t
2.53365	0.50673	44.061			23.82	25	Oscar
2.93861	0.58772	48	0.766	,000	18.5	25	Trout
2.05609	0.41122	42.956			14.21	25	Oscar

لوله پروکسیمال I اختلاف معناداری وجود دارد. قطر خارجی لوله های پروکسیمال I در قزل آلائی رنگین کمان بزرگتر از اسکار است ($P<0/01$). در بین اندازه قطر داخلی لوله های پروکسیمال (I) اختلاف معناداری وجود دارد ($P<0/001$). قطر داخلی یا لومن لوله های پروکسیمال I قزل آلائی رنگین کمان بزرگتر از اسکار است.

همانطور که در نمودار شماره ۳ دیده می شود در بین تعداد و اندازه سلول لوله های دیستال اختلاف معناداری وجود دارد ($P<0/01$). در لوله های دیستال قزل آلائی رنگین کمان تعداد سلول بیشتر و اندازه سلول بزرگتر از اسکار است. در این دو گونه اندازه هسته ی سلولهای لوله دیستال اختلاف معناداری وجود دارد ($P<0/001$). اندازه هسته ی سلولها در اسکار بزرگتر از قزل آلائی رنگین کمان است. اندازه قطر خارجی و قطر داخلی (لومن) لوله های دیستال در بین دو گونه ماهی اختلاف معناداری وجود دارد ($P<0/001$). در قزل آلائی رنگین کمان قطر خارجی و داخلی لوله ی دیستال بزرگتر از اسکار است.

بحث

با توجه به بررسی منابع علمی مختلف می توان گفت آناتومی کلیه در گونه های مختلف ماهی بسیار متفاوت است (۵) (نگاره ۱). در بعضی از ماهی ها مثل ماهی کپور و ماهی حوض، دو قسمت کلیه از نظر میکروسکوپی جدا از هم می باشند، اما این اختلاف در سایر ماهی ها مثل مار ماهی و ماهی قزل آلائی رنگین کمان مشخص نیست (۲۴ و ۵). در پژوهش های پیشین به طور کامل توصیف شده که بافت کلیه در ماهیان استخوانی دارای تنوع گسترده ای از نظر مورفولوژی بوده و از سه قسمت رأس، بدنه و دم تشکیل شده است و نتایج پژوهش حاضر در دو گونه ماهی مورد مطالعه با مطالعات گذشته در ماهی



نمودار ۲: مقایسه متغیرها در لوله های پروکسیمال (II)

ماهی قزل آلائی رنگین کمان	■
ماهی اسکار	■

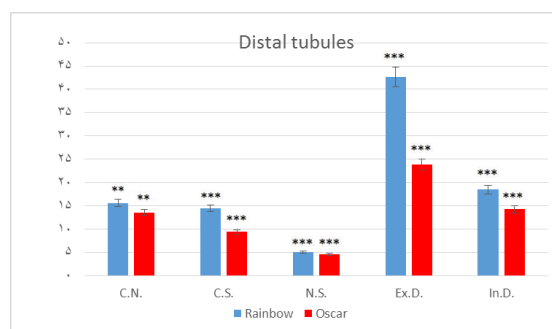
(C.N.: تعداد سلول، C.S.: اندازه سلول، N.S.: اندازه هسته سلول،

Ex.D.: قطر خارجی توپول، In.D.: قطر داخلی توپول)

(محور عمودی در نمودار مربوط به پارامترهای اندازه گیری شده

است.)

*** $P<0/001$
 ** $P<0/01$
 * $P<0/05$



نمودار ۳: مقایسه متغیرها در لوله های

ماهی قزل آلائی رنگین کمان	■
ماهی اسکار	■

دیستال

(C.N.: تعداد سلول، C.S.: اندازه سلول، N.S.: اندازه هسته سلول،

Ex.D.: قطر خارجی توپول، In.D.: قطر داخلی توپول)

(محور عمودی در نمودار مربوط به پارامترهای اندازه گیری شده

است.)

*** $P<0/001$
 ** $P<0/01$
 * $P<0/05$

اندازه هسته سلولها در قزل آلائی رنگین کمان بزرگتر از اسکار است. در بین دو گونه ماهی، اندازه قطر خارجی

های تیلایا، خاویاری مهاجر و خاویاری ایتالیایی مطابقت داشت (۹-۱۱).

نتایج مطالعات ماکروسکوپیکی ماهی های قزل آلی رنگین کمان و اسکار بیانگر آن است که از نظر موقعیت آناتومیکی، کلیه در زیر ستون فقرات قرار داشته و مشتمل بر سه بخش قدامی، میانی و خلفی می باشد که از این لحاظ با ماهی شیربت شباهت دارد (۲۵). بررسی آناتومی بافت کلیه در قزل آلی رنگین کمان نشان داد که با ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*، ماهی خاویاری بزرگ (*Huso huso*) و خاویار ایرانی (*Asiperser persicus*) مطابقت دارد. بافت کلیه در ماهیان نام برده شده به رنگ قرمز تیره و در امتداد ستون فقرات از ناحیه سر تا انتهای بدن کشیده شده است (۱۳، ۲۶، ۲۷ و ۲۸).

آناتومی بافت کلیه در قزل آلی رنگین کمان با ساختار آن در کپور ماهیان دنداندار (*Cyprinodon tiformes*) و خانواده فرشته ماهیان (*Pterophyllum*) تفاوت دارد. در ماهیان مذکور دو کلیه کاملاً از هم مجزا هستند، در صورتی که کلیه در قزل آلی رنگین کمان کاملاً یکپارچه و به هم چسبیده است. (۲۰).

از نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مشخص شد که کلیه ماهی اسکار در تیپ دوم رده بندی اوگوا قرار دارد، نتایج این پژوهش مشابه گزارشات مربوط به ماهی های زروک (*Scatophagus aragus*)، صبیتی (*Sparidentex*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، هامور (*E.coioides*) و شانک نقره ای (*Pagrus auratus*) و Killifish گزارش شده است (۲۸، ۲۶، ۲۹، ۳۰ و ۱۲). در ماهیان مذکور بخش سر و بدنه از هم کاملاً قابل تفکیک و دو شاخه بوده و به شکل V از جلو به عقب قرار داشت. قسمت خلفی از انتهای ساختار V شکل به وجود آمده است. بخش قدامی بافت کلیه در این ماهیان مجزا و متقارن بوده که در ادامه به سمت خلفی به دو ناحیه باریک منتهی شده است. پس از آن بدنه کلیه ها و در ادامه ناحیه دمی واقع شده که کاملاً بهم متصل بودند (۲۸، ۲۶، ۲۹، ۳۰ و ۱۲).

در بررسی انجام شده بر روی ماهی هامور *E. Coioides* لوله های پروکسیمال و دیستال گزارش شده است که با قزل آلی رنگین کمان و اسکار مطابقت دارد (۷ و ۹). لوله پروکسیمال و دیستال جزء بخش دفعی کلیه که در هر دو گونه مورد بررسی در بخش میانی و خلفی بافت کلیه دیده شدند که با بررسی ماهی کپور علفخوار و صبیتی مشابه است (۳ و ۲۶). لوله پروکسیمال شامل قطعات I و II (لوله های پیچیده نزدیک) و لوله های دیستال (لوله های پیچیده دور) لوله های ادراری را تشکیل می دهند که در بخش میانی و خلفی بافت کلیه در دو گونه مورد بررسی وجود داشتند که با ماهیهای شیربت و کپور علفخوار مطابقت دارد (۲۹، ۱۳ و ۴). وجود لوله های پروکسیمال و دیستال در ماهی شیربت با دو گونه مورد بررسی مغایرت دارد. (۴) در ماهی شیربت در بخش قدامی بافت کلیه هم لوله های ادراری مشاهده شدند که در قزل آلی رنگین کمان و اسکار فقط در بخش میانی و خلفی دیده شدند. (۴) پروکسیمال I در ماهی صبیتی از بافت پوششی یک لایه مکعبی با هسته های گرد و قاعده ای تشکیل شده و پروکسیمال II نیز دارای سلولهای مکعبی بود اما هسته ی آنها تا حدودی به سمت مرکز سلول متمایل شده است. لوله های ادراری در دو گونه ماهی مورد مطالعه مشاهده شدند که با مطالعات بر روی لوله ماهی (Pipe Fish)، اسبک دریایی (Sea Horse) و شیرماهی (milkfish) مغایرت دارد و به این دلیل است که این ماهیان در آب شور زندگی میکنند و لوله های دیستال در آنها وجود ندارد (۱۴ و ۱۵).

در قزل آلی رنگین کمان قطر خارجی و داخلی لوله ی دیستال بزرگتر از اسکار است که با مطالعات بر روی ساختار بافتی کلیه با خانواده غالب ماهیان شمال خلیج فارس مغایر است (۸). در پژوهشی که بر روی تنوع آناتومیکی و ساختار بافتی کلیه در خانواده های غالب ماهیان شمال خلیج فارس صورت گرفت تیپ های مختلف کلیه (سه نوع تیپ مختلف، تیپ I، تیپ III و تیپ IV) با توجه به طبقه بندی Ogawa مشخص شد.

در نفوذ پذیری آب در لوله دیستال و افزایش در میزان فیلتراسیون کلیوی است. (۱). با توجه به نتایج رنگ آمیزی PAS برآش بوردرها در دیستال نسبت به پروکسیمال II نامشخص تر و کمتر هستند و میتوان گفت فاقد برآش بوردر بوده یا در مواردی بسیار کمتر بوده که به علت باز جذب کمتر می باشد. سلولهای لوله دیستال در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان و اسکار مکعبی تا استوانه ای کوتاه و هسته ی آنها نیز گرد، مرکزی و تقریباً قاعده ای مشاهده شد. در بررسی لوله دیستال در کلیه دیگر ماهیها مانند صیبتی، هامور معمولی، ماهیان خاویاری، قره برون، فیل ماهی، ماهی کپور معمولی و ماهی زروک نتایج مشابهی گزارش شد (۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰ و ۳۱) (نگاره ۴-۶).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که موقعیت آناتومیکی بافت کلیه در دو گونه مورد مطالعه تفاوت وجود دارد. بافت کلیه در این دو گونه ماهی مانند سایر ماهیان استخوانی، از نوع مزونفریک بود. لوله های ادراری پروکسیمال و دیستال در هر دو گونه مشاهده شدند. لوله های کلیوی در ماهی ها همچون سایر مهره داران از سلولهای مکعبی تا استوانه ای کوتاه تشکیل شده است. لوله های پروکسیمال به دو قسمت I و II تقسیم شده و لوله های دیستال با لومن بزرگتر و قطر خارجی کوچکتر نسبت به لوله های پروکسیمال مشاهده شدند.

نتایج تحقیق حاضر، کمک به شناخت بیشتر مورفولوژی، ماهیت و ساختار شناسی بافت مهم و موثر کلیه می شود. این پژوهش ها درک علمی ما را نسبت به هیستولوژی و اندام های داخلی آبزیان بالا خواهد برد و در فهم فیزیولوژی و پیشگیری از بیماریهای ماهیان کمک شایانی خواهد کرد. با توجه به مطالعات بافت شناسی اندک ماهی اسکار که یکی از محبوبترین ماهیان زینتی است توصیه می شود مطالعات و تحقیقات بیشتری ماهیان اقلیم های متفاوت و با تعداد نمونه های بیشتر انجام گیرد تا پاسخگوی ابهامات و ناشناخته های این ماهی شود. انجام تحقیقات بیشتر در رابطه با فیزیولوژی و عملکرد دستگاه ادراری این ماهی ها و همچنین کالبد شناسی، مورفوزنر،

نتایج آماری نشان داد که بین تمام گونه ها (ماهیان استخوانی و غضروفی) از نظر قطر خارجی لوله دیستال، ضخامت جداره ی دیستال اختلاف معنی داری وجود ندارد ($P > 0/05$) که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد (۸). در پژوهش ذکر شده، گربه کوسه لکه دار به عنوان نماینده ای از ماهیان غضروفی در تراکم لوله، قطر داخلی، خارجی و ضخامت پروکسیمال، تعداد لوله دیستال، قطر داخلی لوله دیستال، در مقایسه با ماهیان استخوانی مورد مطالعه اختلاف معنی دار دارد ($P < 0/05$) و این امر به علت شرایط تکاملی متفاوت در ماهیان غضروفی می باشد (۸).

در ماهیان مورد مطالعه مشخص شد بافت پوششی پروکسیمال I از یک لایه سلول مکعبی با هسته های گرد و مرکزی تشکیل شده که دارای بافت همبندی و عروق مویرگی فراوان است که به دلیل بازجذب بالا می باشد. در لوله های پروکسیمال II سلولها تدریجاً استوانه ای شده و هسته ها قاعده ای و کمتر انوزینوفیلی بوده که به علت کمتر شدن تعداد میتوکندری ها است. همچنین بافت همبندی و مویرگهای خونی کمتر قابل مشاهده بود که این به دلیل باز جذب کمتر در این ناحیه است. این بررسی ها با ماهی صیبتی مشابه بوده است (۲۶). هسته پروکسیمال تاحدودی به سمت مرکز سلول متمایل شده است که به علت جذب بیشتر میتواند باشد.

تراکم حاشیه ی مسواکی یا برآش بوردر در پروکسیمال II نسبت به پروکسیمال I نیز کاهش یافته است. در سایر ماهیان از جمله صیبتی هامور معمولی و برخی گونه های خاویاری از جمله خاویار آتلانتیک آمریکایی (A. oxyrhynchus) و فیل ماهی (H.huso) و قره برون (A. persicus) نیز بخش اول و دوم پروکسیمال در نفرون کلیوی همانند آنچه در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان و اسکار بیان شده است وجود دارد (۱۱، ۱۰، ۲۷، ۱۲ و ۲۶).

لوله های دیستال دارای لومن بزرگتر بوده و قطر خارجی آنها نسبت به لوله های پروکسیمال نازکتر می باشد. افزایش در اندازه قطر داخلی لوله دیستال به دلیل افزایش

- diadromous sturgeons *Acipenser brevirostrum* and *Acipenser oxyrinchus* (Acipenseridae). *Ichthyology*, 1998; 38: 660-668.
11. Cataldi E., Garibaldi L., Crosetti D., Leoni C. & Cataudella S. Variations in renal morphology during adaptation to salinities in tilapia. *Environmental Biology of Fishes*, 1999; 31: 101-106.
 12. Charmi A., Parto P., Bahmani M. and Kazemi R. Morphological and Histological Study of Kidney in Juvenile Great Sturgeon (*Huso huso*) and Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*). *Agricultural and Environmental Sciences*, 2010; 7: 505-511
 13. Morovvati H., Erfanimajd N., Peyghan R., Mobaraki GH. Histological Study of Excretory portion of kidney in Grass Carp (*Ctenopharygodon Idella*). *Scientific Research Iranian Veterinary Journal*. 2011; 4 (29):25-32
 14. Tang C. H., Wu W. Y., Tsai S. C., Yoshinaga T. and Lee, T. H. Elevated Na⁺/K⁺-ATPase responses and its potential role in triggering ion reabsorption in kidneys for homeostasis of marine euryhaline milkfish (*Chanos chanos*) when acclimated to hypotonic fresh water. *Comparative Physiology and Biochemistry*, 2010; 180: 813-824.
 15. Khalil R. M. Histological studies on the kidneys of the red sea Syngnathiformes fishes. *Society of Zoology Egyptian Bulletin*, 1979; 29: 28-36.
 16. Tojar S., khodadadi M., Javaheri M. Compare the appropriate doses of three anesthetics: 2-phenoxyethanol, clove extract and PI22 in silver carp. *Journal of Marine Science and Technology Research*. 2011; 6(3): 41-52
 17. Kessel R.G. Basic medical histology: The Biology of Cells tissue and organs. New York: Oxford University Press. Chapter 1 and 2. 1998; 1-4, 452-469
 18. Bancroft J.D. & Gamble M. Theory and practice of histological techniques. Fifth edition, 2002; 80,85-97,113,153.
 - هیستولوژی کلیه و سایر اندامهای بدن این گونه‌های تجاری ماهیان منجر به دست یافتن به اطلاعات دقیق و بیشتری در مورد دستگاه ادراری این ماهیان خواهد شد.

فهرست منابع

1. Schlenk D. , Benson W.H. New Perspectives: Toxicology and the Environment: Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts. CRC Press, Taylor & Francis Us. 2001; 93-98
2. Baltz D. M. Introduced fishes in marine systems and inland seas. *Biological Conservation*, 1991; 56: 151-177.
3. Pronek N. translated by Emami F & Heidaripour S. Oscars. *Scientific-Research Journal of Experimental Animal Biology*. 2015; 4:12-41, 56-61
4. Morovvati H , Khaksary Mahabady M , Mesbah M, Fakoori R. Anatomical and histological study of kidney in *Barbus grypus*. *Journal of Marine Science and Technology*, 2017; 16(2): 49-61
5. Takashima F. An atlas of fish histology: Normal and pathological features. 2nd ed, 8th chapter. 1994; 171-174, 294-303.
6. Roberts, R. J. Fish pathology. 4th ed. Wiley-Blackwell publishing Ltd. Chapter2: the anatomy and physiology of teleosts. 2012; 35-90
7. Roomiani E, Abdi R, Zolgharnein H, Savari A, Morovvati H. Localization and Effect of Hyper and Hypo-osmotic Environments on Distribution of Na⁺, K⁺- ATPase in Kidney Tubules of Juveniles of (*Epinephelus coioides*) Na⁺/K⁺-ATPase *Epinephelus Coioides* . *Journal of Cell & Tissue (JCT)*. 2012; 2(4): 407-414
8. Eslami M., Movahedinia A., Rounagh M. Study of anatomical variety and tissue structure of kidney in som fish spicies from the north of the Persian Gulf. *Aquatic Ecology Magazine*. 2016; 8(1); 104-112
9. Anthony L. Mescher, McGraw Hill NY, Text and Atlas: Junquiera's Basic Histology, 13 th ed. 2013; 1-5, 385-401
10. Krayushkina L. S. Characteristics of osmotic and ionic regulation in marine

19. Luna HT. Manual of Histologic Staining of the armed forces institute of pathology. New York: Blackiston Division: mc grow hill. 3th ed. 1968;1-46
20. Ostrandef G. K. The laboratory, 1st ed. Diego Academic press. 2000.
21. Lów P.; Molnár K. & Kriska G. Atlas of Animal Anatomy and Histology. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht, London Springer International Publishing Switzerland, 2016; ix
22. Aughey E. & L Frye, F. Comparative veterinary histology with clinical correlates. Manson publishing, CRC Press , 2001;137-142
23. Mumford S., Heidel J., Smith C., Morrison J., MacConnell B & Blazer V. Fish histology and histopathology. Chapter2, 2007p:1-10
24. Krayushkina L. S., Panov A. A., Gerasomov A. A. & Potts W. T. W. Changes in sodium, calcium and magnesium ion concentrations in sturgeon (*Huso huso*) urine and in kidney morphology. Comparative Physiology and Biochemistry, 1996; 165: 527-533.
25. Baustian M. D. and Beyenbach K. W. Natriuretic peptides and the acclimation of aglomerular toadfish to hypo-osmotic media. Comparative Physiology and Biochemistry, 1979;169: 507-514.
26. Miraali A, Movahedinia E, Abdi R, Salati EP. Investigation of the tissue structure of all Sparidentex hasta. Scientific-Research Journal of Marine Biology, Ahvaz Branch. 2013; 5(18); 71-80
27. Khodabandeh S., Khoshnood Z. and Mosafer S. Immunolocalization of Na⁺/K⁺- ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), fry. Aquaculture Research, 2009; 40: 329 -336.
28. Chenari F, Morovvati H. , Ghazilou A. , Savari A. , Ronagh M. Rapid variation in kidney histology in spotted scat *Scatophagus argus* on exposed to abrupt salinity changes. Iranian Journal of Veterinary Research, 2011; 12(3):256-259
29. Heidari B, Avarjeh S, Taghavi Jelodar H. The combined effects of gradual changes in salinity and temperature on gill tissue of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology. 2015; 2:80-94
30. Azizi S, Kochanian P, Peyghan R, Khansari A, Darvish Bastami K. Effects of different salinities on histological changes of kidney in (*Cyprinus carpio* L.). Journal of Animal Environment, 2010;1(3):47-50

