14(1) 393-400, Spring 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Review article

Sturgeon hematology and related disorders

Orkideh Heidarnejad

Agricultural institute of education and extension, Agricultural Research Education and Extention Organization, Tehran, Iran

Key Words

Sturgeon
Aquatic hematology
Hematology
Blood disorders

Abstract

As a tool that can help diagnose diseases or identify disorders, aquatic hematology has made significant advances over the past two decades, providing information on maturation, blood cell function, physiological responses, and standard hematological techniques. have given. In fish, like other animals, physiological and pathological conditions have an effect on the blood panel and can be evaluated. In some cases, obtaining even a small blood sample may provide valuable information in the selection of treatment options and effectively help to assess the progress of the disease or response to treatment. Among the various aquatic species, sturgeons are among the most valuable aquatic organisms that have biological and economic importance, and most of them are endangered due to their large size, late sexual maturity, long time interval between spawning, long life, overfishing, and various types of water pollution. are extinct in order to preserve, maintain, multiply and breed these rare and valuable species, knowing their hematological characteristics and blood specialties can be very effective. In this review article, some of the usual hematologic methods to check the properties of sturgeon blood cells, measuring hemoglobin, hematocrit, red blood cell (RBC), total and differential white blood cell count. Blood (WBC, white blood cell) is examined along with the interpretation of results caused by blood disorders.

* Corresponding Author's email: heidarnejhad@yahoo.com
Received: 5 October 2021; Reviewed: 11 January 2022; Revised: 21 January 2022; Accepted: 8 February 2022
(DOI): 10.22034/aej.2022.168093

مقاله مروری

هماتولوژی ماهیان خاویاری و اختلالات مرتبط

ارکیده حیدرنژاد

موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

کلمات کلیدی

ماهیان خاویاری
هماتولوژی آبزیان
خون‌شناسی
اختلالات خونی

چکیده

هماتولوژی آبزیان به‌عنوان ابزاری که می‌تواند در تشخیص بیماری‌ها یا شناسایی اختلالات کمک کند، در طی بیش از دو دهه گذشته پیشرفت‌های چشمگیری داشته و اطلاعاتی را در زمینه بلوغ، عملکرد سلول‌های خونی، پاسخ‌های فیزیولوژیک و تکنیک‌های استاندارد خون‌شناسی در دسترس قرار داده است. در ماهی نیز مانند سایر حیوانات، شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک بر تابلوی خونی اثر داشته و قابل ارزیابی است. در برخی موارد به‌دست آوردن حتی یک نمونه کوچک خون ممکن است اطلاعات ارزشمندی را در انتخاب گزینه‌های درمانی فراهم نماید و کمک موثری به بررسی میزان پیشرفت بیماری یا پاسخ به درمان نماید. در بین گونه‌های متنوع آبزیان، ماهیان خاویاری جز ارزشمندترین موجودات آبزی هستند که اهمیت بیولوژیکی و اقتصادی داشته و بیش‌تر آن‌ها به‌دلیل جثه بزرگ، بلوغ جنسی دیررس، فاصله زمانی طولانی بین تخم‌ریزی، عمر طولانی، صید بی‌رویه و انواع آلودگی محیط‌های آبی در معرض خطر انقراض قرار گرفته‌اند. برای حفظ، نگه‌داری، تکثیر و پرورش این گونه‌های کمیاب و ارزشمند، اطلاع از ویژگی‌های هماتولوژیک و اختصاصات خونی آن‌ها می‌تواند بسیار موثر باشد. در این مقاله مروری، برخی از روش‌های معمول هماتولوژیک (Hematologic Methods) برای بررسی اختصاصات سلول‌های خونی ماهیان خاویاری، اندازه‌گیری هموگلوبین (Hemoglobin)، هماتوکریت (Hematocrit)، تعداد گلبول قرمز (RBC, red blood cell)، شمارش کلی و افتراقی گلبول‌های سفید خون (WBC, white blood cell) به‌همراه تفسیر نتایج ناشی از اختلالات خونی بررسی می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: heidarnejhad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳ مهر ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۲۱ دی ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱ بهمن ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۹ بهمن ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/aej.2022.168093

مقدمه

ماهیان خاویاری از نظر تکاملی جایگاهی بین ماهیان غضروفی و استخوانی داشته، به‌طوری‌که در سنین پایین از اسکلت غضروفی برخوردار بوده و با افزایش سن به اسکلت استخوانی دست می‌یابند. این آبزیان در رده ماهیان استخوانی (Osteichthyes) فوق راسته غضروفی- استخوانی و زیر رده Actinopterygii گروه‌بندی شده و ارزشمندترین آن‌ها راسته تاس‌ماهی‌شکلان Acipenseriformes است. در این راسته خانواده تاس ماهیان Acipenseridae با چهار جنس *Huso*، *Acipenser*، *Pseudoscaphirhynchus* و *Scaphirhynchus* وجود دارد (۲، ۸) که به‌دلیل کیفیت گوشت و ارزش بازار خاویار، یکی از باارزش‌ترین گونه‌های ماهی می‌باشند. پارامترهای هماتولوژیک، ابزارهای کلیدی بالینی در تشخیص واکنش فیزیولوژیک ماهی به شرایط محیطی و پیش‌بینی وضعیت سلامت آن‌ها بوده و نقش ارزشمندی در فرآیندهای تصمیم‌گیری بالینی دارند. تغییرات در این مقادیر ممکن است به‌عنوان شاخصی برای وجود یا عدم وجود فرآیندهای بیماری، ناهنجاری‌های تغذیه‌ای یا اختلالات محیطی استفاده شود (۱، ۴، ۵). عوامل متعددی باعث می‌شوند هماتولوژی تشخیصی در ماهی نسبت به پستانداران، چالش برانگیزتر باشد. ناهماهنگی در نام‌گذاری، توصیف، تمایز، بلوغ و عملکرد سلول‌های خونی در ماهی، گلبول‌های قرمزهسته‌دار و هم‌پوشانی زیاد لکوسیت‌ها از نظر اندازه و عدم امکان استفاده از روش‌های خودکار برای تعیین تعداد سلول‌ها، از جمله این عوامل است. هم‌چنین تعداد زیاد گونه‌های ماهی و تنوع آن‌ها در شکل مورفولوژیکی و عملکرد اکولوژیکی، تحلیل و تفسیر نتایج خون‌شناسی را دشوار می‌سازد (۹، ۶، ۱۰، ۲۵، ۲۸). روش‌های هماتولوژیک مورد استفاده برای پستانداران با اندکی تغییرات قابل استفاده برای ماهی است. هم‌چنین هماتولوژی ماهیان استخوانی نسبت به ماهیان غضروفی شباهت بیش‌تری با پستانداران دارد (۴۰).

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌های خونی: جمع‌آوری خون از ماهی ممکن است با مهار فیزیکی یا شیمیایی انجام شود. مقیدسازی فیزیکی روشی است که در شرایط کنترل استرس یا ناتوانی شدید در ماهی بیمار توصیه شده (شکل ۱)، در غیر این‌صورت مقیدسازی شیمیایی با استفاده از آرام‌بخش و یا تحت شرایط بی‌هوشی به واسطه کاهش تغییرات پارامترهای خون‌شناسی ناشی از استرس، توصیه می‌شود (۳، ۷، ۲۵، ۲۸). جمع‌آوری خون باید بسیار سریع و در کم‌تر از ۳۰ ثانیه صورت گیرد؛ بنابراین بی‌هوشی عمومی ارجحیت دارد و برای‌این‌منظور مواد و ترکیبات بی‌هوش‌کننده مختلفی مانند تریکائین متان‌سولفونات (Tricaine methane sulfonate)، عصاره گل میخک، اتانول، دی‌اتیل‌اتر، هالوتان، پروپوفول، لیدوکائین و... استفاده می‌شود. تریکائین‌متان‌سولفونات با عناوینی مانند تریپل- ۲، TMS،MS 222 به‌صورت حمام بی‌هوشی استفاده شده و تنها ماده مورد تایید FDA است و عوامل مختلفی ازجمله ویژگی‌های ماهی و شرایط محیطی در میزان دوز مصرفی تاثیرگذار است. دوز عنوان شده در رفرانس‌های مختلف بین ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر است که به‌طور معمول برای اکثر گونه‌های ماهی بین ۵۰ تا ۱۵۰ توصیه شده است (۱۴، ۲۲،۱۷، ۲۵، ۴۰،۲۸) این ماده باید با بی‌کربنات سدیم یا بافر مناسب دیگر به منظور جلوگیری از کاهش شدید pH و تغییرات قابل توجه ناشی از آن در پارامترهای فیزیولوژیکی و خون‌شناسی، ترکیب شود. تریکایین می‌تواند سبب همولیز شود که نگه‌داری در دمای ۲۵ درجه و آماده سازی سریع نمونه این مشکل را به‌حداقل می‌رساند (۳، ۴۰). این محلول بی‌هوشی باید از دوز مناسب برخوردار باشد تا در مدت زمان ۲۰ ثانیه بی‌هوشی تا مرحله ۲ را ایجاد کند. مرحله ۳ بی‌هوشی یک دقیقه زمان می‌برد و هیپوکسی قابل ملاحظه‌ای را ایجاد می‌کند (۲۵). برای کاهش مشکلات تنفسی و استرس، خونگیری می‌تواند بدون خروج کامل ماهی از آب صورت گیرد؛ در این حالت می‌توان هنگامی که ماهی توسط تور محدود شده است و سر و آبشش آن زیر آب قرار دارد، عمل را انجام داد. خونگیری تنها در ماهیانی که بیش‌تر از ۸ سانتی‌متر طول داشته باشند، توصیه می‌شود. محل خونگیری در آبزیان عمدتاً سیاهرگ یا سرخرگ دمی خلفی (Caudal tail vessels) است که قابل دسترس از سطح شکمی یا جانبی بدن ماهی می‌باشد (شکل ۲) (۲۵، ۲۸، ۴۰).

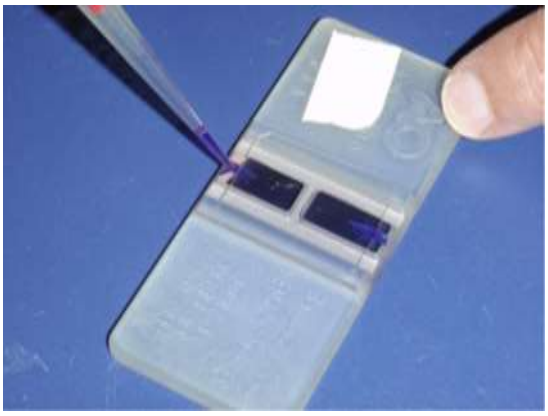
شکل ۱: مقید کردن فیزیکی

محل‌های دیگر شامل مجرای کوواریان (عروق داخل محوطه دهان)(Cuvarian duct)،سیاهرگ‌های برونشیال (Branchial vessels) و خونگیری مستقیم از قلب است. مجرای کوواریان و سیاهرگ‌های برونشیال فقط برای خونگیری از ماهیان بزرگ کاربرد دارند. خونگیری از قلب در صورتی‌که زنده‌ماندن ماهی مدنظر نباشد قابل اجرا است. فشار دم یا آسیب به عضلات در حین خونگیری سبب آلودگی نمونه

با مایع میان‌بافتی یا عناصر سلولی دیگر می‌شود (۲۳، ۲۵، ۴۰). نمونه‌ای که دارای لخته، کلامپ (Clump) و همولیز (Hemolysis) است و یا به درستی حمل و ذخیره نشده، باید دور ریخته شود. خون باید سریعاً به یک لوله حاوی ماده ضدانعقاد منتقل شده تا احتمال لخته شدن به حداقل برسد. انتخاب ضدانعقاد برای حفظ مورفولوژی سلولی، بسته به نوع و گونه‌ماهی متفاوت است. ضدانعقاد مناسب برای ماهی، هپارین و EDTA است. در ماهیان خاویاری (Acipenseridae)، ماهیان سالمونیده (Salmonidae) و سایپرینیده (Cyprinidae)، مورفولوژی به‌بهترین‌وجه با هپارین حفظ می‌شود، درحالی‌که مورفولوژی سلول‌های گربه‌ماهی (Catfish)، باس (Bass) و تیلاپیا (Tilapia) با EDTA بهترین حالت را نشان می‌دهد. از معایب هپارین این است که ایجاد تجمع لکوسیتی و پلاکتی کرده و رنگ‌آمیزی رومانوفسکی ایجاد سایه آبی رنگ می‌نماید. هم‌چنین اگر نمونه حاوی لخته کوچکی باشد قادر به جلوگیری از روند انعقاد شروع شده، نخواهد بود. از معایب EDTA نیز همولیز اریتروسیت‌ها در بعضی از گونه‌های ماهی است. EDTA در مطالعه‌ای سبب افزایش PCV در ماهی قره‌برون یا تاس‌ماهی ایران (*Acipenser persicus*) شده است (۸، ۲۵، ۲۷، ۲۸).

شکل ۲: خونگیری از ورید مهره‌ای (۸)

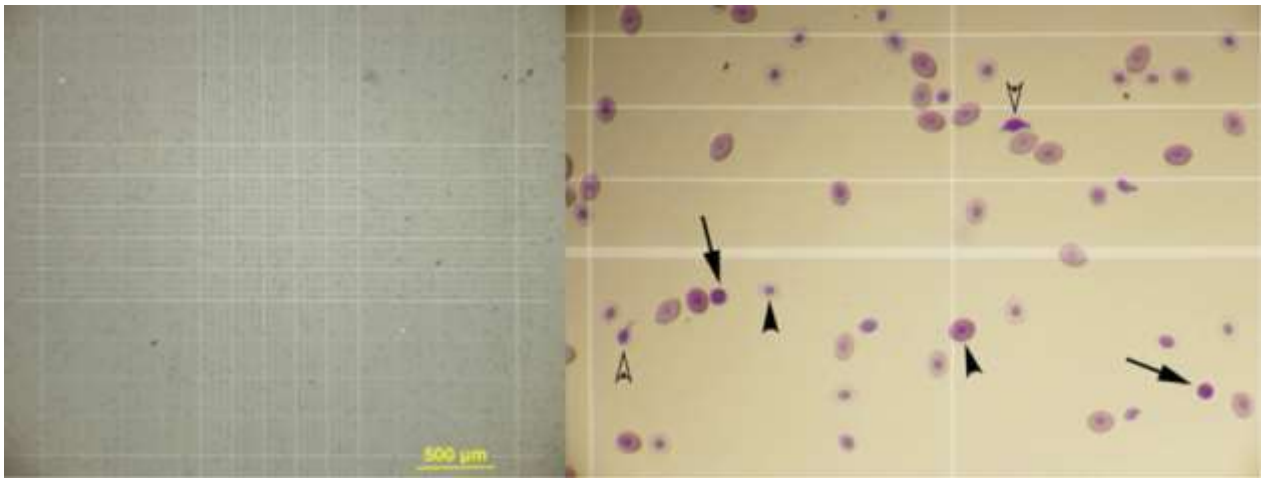
شمارش کامل سلول‌های خونی (Complete Blood Counts CBCs): اندازه‌گیری PCV یا هماتوکریت متداول‌ترین روش برای ارزیابی توده گلبول‌های قرمز در ماهی است. روش میکروهماتوکریت در ماهی مانند پستانداران انجام می‌شود. به‌طور متوسط میزان هماتوکریت ماهی ۴۵-۲۰٪ است. ماهیان خاویاری به‌دلیل فعالیت کم معمولاً هماتوکریتی نزدیک به حد پایین دامنه مرجع یا کمی پایین‌تر از آن را دارند (۲۸، ۳۵). شمارش کامل خون به‌صورت دستی توصیه می‌شود، زیرا روش‌های خودکار به‌دلیل نزدیکی اندازه لکوسیت‌ها و هسته‌دار بودن گلبول‌های قرمز قابل اطمینان نیست. دلایل خطا در شمارش دستی نیز می‌تواند شامل اشتباه در رقیق کردن و مخلوط کردن خون، پرکردن نادرست هموسیتومتر (Hemacytometer) (شکل ۳) و یا عدم شناسایی سلول‌ها و در نتیجه شمارش غلط سلول‌ها باشد (۲۱، ۲۵، ۲۸). از آن‌جاکه گلبول‌قرمز در ماهیان خاویاری مانند اکثر گونه‌های آبزیان هسته‌دار است، نمی‌توان از محلول‌های رقیق‌کننده معمول گلبول‌های سفید استفاده کرد؛ زیرا اگرچه گلبول‌های قرمز با این محلول‌ها لیز می‌شوند، اما باقی‌مانده هسته آن‌ها تشخیص گلبول‌های سفید را با مشکل مواجه می‌کند؛ برای رفع این مشکل، از محلولی استفاده می‌شود که با آن گلبول‌های سفید و قرمز، رنگ‌های متفاوتی می‌گیرند و شمارش آن‌ها به سهولت انجام می‌شود. محلول رقیق کننده گلبول‌های سفید آبزیان، محلول نات-هریک (Natt-Herricks) و یا محلول دیسی اصلاح شده (Modified Dacie's) است که بسته به غلظت سلول‌ها در خون، نسبت ۱: ۱۰۰ یا ۱: ۲۰۰ برای رقیق کردن خون توصیه می‌شود. بعد از ۲ تا ۴ دقیقه از رقیق کردن، پر کردن هموسیتومتر انجام شده و پس از ۵ دقیقه RBCها و لکوسیت‌ها مانند پستانداران، شمارش می‌شوند. تعداد لکوسیت‌ها در اغلب ماهی‌ها نسبت به پستانداران بیش‌تر است (شکل۴) (۷، ۲۸، ۴۰).



شکل ۳: نحوه صحیح پرکردن لام هموسیتومتر

اگر برای تهیه اسمیر از نمونه خون بدون ماده ضد انعقاد استفاده شود تجمع پلاکتی و عدم توزیع مناسب سلول‌ها در اسمیر دیده می‌شود که شمارش را دچار اشکال می‌نماید. قبل از شروع شمارش تفریقی سلول‌ها (Diff) کیفیت اسمیر به‌طور ظاهری بررسی و تعداد ۴۰۰ لکوسیت در قسمت مونولایر اسمیر مورد شمارش تفریقی قرار می‌گیرد (۲۵، ۲۸، ۴۰). ریختن یک قطره آلبومین بر روی اسمیر هنگام رنگ‌آمیزی رومانوفسکی ابری شدن سلول‌ها را به‌حداقل می‌رساند (۳۵).

محلول نات- هریک: برای تهیه این محلول، مواد زیر را با هم ترکیب کرده و حجم کل را به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر با اضافه کردن آب مقطر می‌رسانیم: ۳/۸۸ گرم کلریدسدیم، ۲/۵۰ گرم سولفات‌سدیم، ۱/۷۴ گرم فسفات‌سدیم، ۰/۲۵ گرم فسفات‌پتاسیم، ۷/۵۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۷٪ و ۰/۱ گرم متیل‌ویوله. محلول را در فلاسک حجمی ریخته و می‌گذاریم که یک شب تا صبح باقی بماند؛ سپس باید با کاغذ صافی قبل از استفاده آن را صاف کرد (۷، ۴۰).



شکل ۴: مربع لام هموسیتومتر (سمت چپ)، بررسی لام هموسیتومتر با درشت‌نمایی۴۰، نوک پیکان سیاه گلبول‌های قرمز، نوک پیکان سفید پلاکت و پیکان سیاه لکوسیت‌ها را نشان می‌دهد (سمت راست).

محلول دیسی اصلاح شده: برای تهیه این محلول، مواد زیر را با هم ترکیب کرده و حجم کل را به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر با اضافه کردن آب مقطر می‌رسانیم. قبل از مصرف باید با کاغذ صافی آن را فیلتر کرد. فرمالدئید ۴۰٪ :۱۰ میلی‌لیتر، تری سدیم سیترات ۳۱/۱ گرم، بریلیانت کریستال بلو ۱ گرم، آب مقطر ۱ لیتر (۷، ۴۰). روش معمول برای اندازه‌گیری میزان هموگلوبین روش استاندارد سیانومت هموگلوبین است که مشابه پرندگان باید ابتدا ترکیب خون و سیان‌مت هموگلوبین، برای برطرف شدن هسته آزاد RBCها، سانتریفیوژ شود. شاخص‌های گلبول‌های قرمز MCV (mean corpuscular volume)، MCH (mean corpuscular hemoglobin) و MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) مانند پستانداران محاسبه می‌شود (۷، ۲۵):

$$MCH = Hb/RBC$$

$$MCHC = (Hb \times 10)/ Hct$$

$$MCV = (PCV \times 1000)/ RBC$$

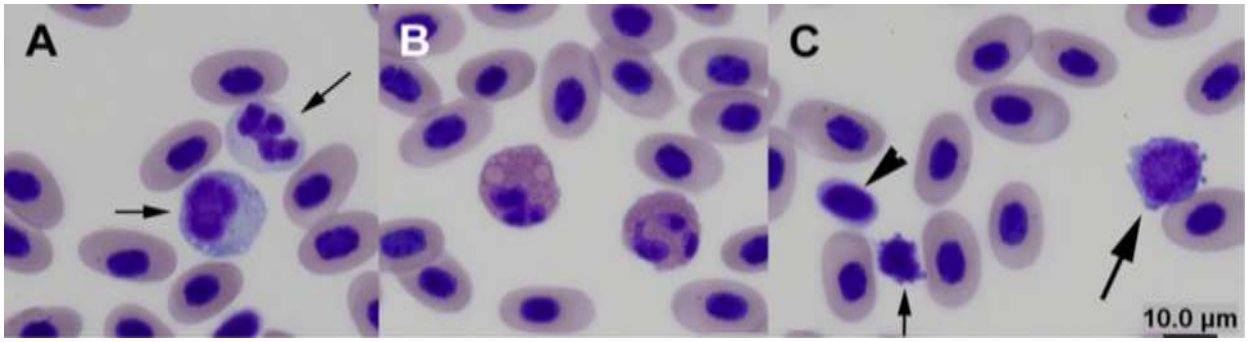
انعقاد خون: هر چند انعقاد خون (Blood Coagulation) در ماهی به‌خوبی مطالعه نشده است، اما آبشار انعقادی خون در ماهی نیز شامل هر دو مسیر داخلی و خارجی است که با اندازه‌گیری زمان پروترومبین (prothrombin time)(PT)، زمان ترومبوپلاستین جزئی فعال (Activated partial thromboplastin time) (APTT) و... قابل ارزیابی می‌باشد. ضدانعقادهای طبیعی مانند پروتئین C، آنتی ترومبین، هپارین و کوفاکتور II در پلاسمای ماهی موجود است. استرس حاد و مزمن ناشی از اسارت یا مدیریت غلط تولید ماهی، می‌تواند باعث ایجاد ترومبوسیتوز و کاهش زمان لخته شدن خون شود (۷، ۲۵).

اختصاصات سلول‌های خونی در ماهیان خاویاری: به‌طور کلی گلبول‌های قرمز در ماهی از نظر ظاهری و ساختمانی، مشابه پرندگان بوده و به شکل بیضی یا کشیده می‌باشد و سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک کم‌رنگ فراوان و هسته مرکزی بیضی شکل یا کشیده دارند. محور طولی هسته، موازی با محور طولی سلول است؛ به‌استثنای گونه‌هایی که دارای هسته گردی هستند؛ این هسته ممکن است بزرگ بوده و یک چهارم حجم سلول را اشغال کند. کروماتین هسته متراکم و به رنگ ارغوانی تیره دیده می‌شود. سیتوپلاسم به‌طور معمول یکنواخت است؛ اما در مواردی به‌علت استحاله اندامک‌ها، احتمال دارد نواحی کم‌رنگ و واکوئله دیده شود (شکل۵). اندازه گلبول قرمز در گونه‌های مختلف ماهی، بسیار متفاوت بوده و با توجه به شرایط فیزیولوژیکی، حتی در یک گونه نیز ممکن است فرق داشته باشد. تقریباً ۱٪ از تعداد RBCهای خون محیطی را رتیکولوسیت‌ها تشکیل می‌دهند و آنیزوستیوز ملایم تا خفیف و پلی‌کروموزی به‌طور طبیعی در برخی گونه‌ها مشاهده می‌شود. رتیکولوسیت دارای هسته گرد و تیره‌تر و سیتوپلاسم تیره‌تر نسبت به گلبول‌های قرمز بالغ هستند (۳، ۷، ۲۵، ۲۸، ۴۰).

گلبول‌های سفید ماهیان در رنگ‌آمیزی‌های رومانوفسکی چهره‌های گوناگونی دارند (۳۵). مانند سایر مهره‌داران گلبول‌های سفید در ماهیان خاویاری به‌دو گروه گرانولوسیت و آگرانولوسیت تقسیم می‌شود. استفاده از میکروسکوپ الکترونی و یا رنگ‌آمیزی سیتوشیمیایی می‌توانند به تفریق گلبول‌های سفید کمک کند (شکل ۶) (۷، ۸، ۴۰).

نوتروفیل یا هتروفیل (Neutrophil (Heterophil: نوتروفیل یا هتروفیل در ماهی، به گرانولوسیت‌های با تعداد غالب گفته می‌شود؛ حتی اگر در رنگ‌آمیزی، گرانول‌های آن‌ها به‌صورت خنثی رنگ‌پذیر نباشند. شکل ظاهری نوتروفیل در ماهیان استخوانی، گرد تا کمی بیضی شکل با هسته‌ای تک قسمتی و گاهی دو تا پنج قسمتی در کنار سلول است. شکل هسته گرد، بیضوی، با حاشیه‌های نامنظم یا کشیده می‌باشد. کروماتین هسته در رنگ‌آمیزی رومانوفسکی، به‌صورت بازوفیلیک مشاهده می‌شود. سیتوپلاسم فراوان و بی‌رنگ تا خاکستری

با گرانول‌های کوچک مشاهده می‌شود. در برخی گونه‌ها سلول‌های گرانولوسیت غالب شبیه هتروفیل پرندگان دیده می‌شود. میزان نوتروفیل در ماهیان خاویاری با افزایش سن کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ای بر روی خون ماهیان خاویاری میانگین اندازهٔ نوتروفیل‌ها از مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها کم‌تر و از لنفوسیت‌ها بیش‌تر اعلام شده است (۸، ۴۰).



شکل۵: سلول‌های خونی مختلف در ماهی خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) White sturgeon، سلول‌های بیضی شکل هسته‌دار گلبول قرمز- شکل A فلش سمت چپ مونوسیت و فلش سمت راست نوتروفیل شکل B- ائوزینوفیل C- نوک فلش پلاکت، فلش کوچک لنفوسیت کوچک و فلش بزرگ لنفوسیت بزرگ، رنگ‌آمیزی رایت- گیمسا (۲۸)

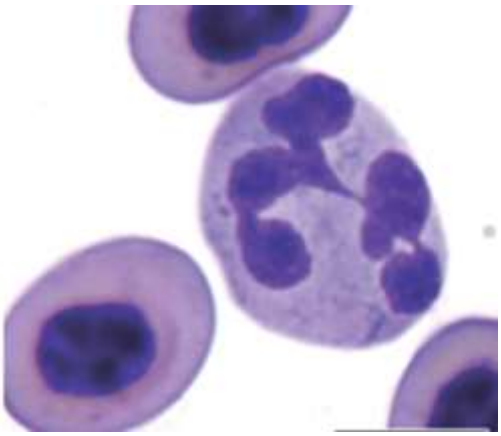
ائوزینوفیل (Eosinophil): حضور ائوزینوفیل در خون برخی از ماهیان هنوز به اثبات نرسیده، هرچند که در بعضی گونه‌های ماهیان استخوانی گزارش شده است؛ در این ماهیان، گلبول‌های‌های سفید با گرانول‌های‌ائوزینوفیلیک در سیتوپلاسم، مشابه ائوزینوفیل پستانداران است؛ هرچند این تعداد سلول‌ها بسیار کم بوده و دارای گرانول‌های گرد تا میله‌ای قرمزرنگ در سیتوپلاسم هستند؛ سیتوپلاسم این سلول‌ها آبی کم‌رنگ با هسته گرد، یک تا چند قسمتی با کروماتین متراکم می‌باشد. قدرت فاگوسیتوز ائوزینوفیل ماهی محدود است ولی ممکن است در پاسخ التهابی تعداد آن‌ها افزایش یابد.

بازوفیل (Basophil): این سلول در خون محیطی برخی ماهیان استخوانی به‌ندرت و به تعداد بسیار کم دیده می‌شود؛ در صورت مشاهده، این سلول‌ها ظاهری کاملاً گرد با گرانول‌های سیتوپلاسمی آبی رنگ داشته که سطح هسته را می‌پوشانند. هسته بزرگ، گرد و غیرمرکزی با کروماتین یکنواخت دیده می‌شود (۷، ۲۸، ۲۵، ۴۰).

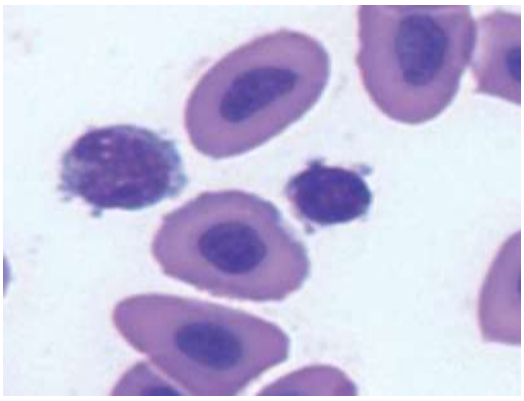
لنفوسیت (Lymphocyte): این سلول، معمولاً فراوان‌ترین گلبول سفید در خون محیطی است که بیش از ۵۰٪ لکوسیت‌ها را در ماهی سالم تشکیل می‌دهد و شکل ظاهری آن کشیده تا گرد می‌باشد و مشابه لنفوسیت پستانداران و پرندگان بوده و در سیتوپلاسم آن، ممکن است گرانول‌های آزوروفیلیک مشاهده شود (شکل ۷). غالب لنفوسیت‌ها، از لنفوسیت‌های کوچک و متوسط تشکیل شده‌اند؛ هر چند که لنفوسیت‌های بزرگ نیز گاهی در بعضی گونه‌ها دیده می‌شوند؛ پلاسماسل نیز به تعداد کمی ممکن است در خون محیطی برخی گونه‌ها دیده شود. لنفوسیت در ایمنی با واسطه سلولی و ایمنی هومورال در ماهی نقش عمده‌ای دارد.

مونوسیت(Monocyte): بزرگ‌ترین و بی‌شکل‌ترین‌سلول خونی در ماهی و مشابه مونوسیت پرندگان و پستانداران است؛ از لحاظ ظاهری تک‌هسته‌ای با سیتوپلاسم خاکستری تا آبی فراوان می‌باشد که حاشیه‌های سیتوپلاسم ممکن است نامنظم بوده و سیتوپلاسم حاوی واکوئل باشد. هسته ممکن است کلیه‌ای شکل بوده که حدود نیمی از سیتوپلاسم را اشغال می‌کند. هسته مونوسیت، نسبت به لنفوسیت، دارای گرانول‌های بیش‌تر و تراکم کم‌تر است. در ماهی، مونوسیت خونی عمل ماکروفاژی دارد؛ بنابراین گاهی این یاخته‌ها، ماکروفاژ خونی نیز نامیده می‌شوند و قادر به مهاجرت به بافت ماهی هستند.

ترومبوسیت (Thrombocytes): پلاکت در ماهی دارای هسته بوده، از گلبول قرمز کوچک‌تر است و اشکال متفاوتی دارد. شکل یاخته گرد، بیضی یا دوکی شکل است و هسته پلاکت، با توجه به مرحله بلوغ یا درجه فعالیت، می‌تواند اشکال متفاوتی داشته باشد؛ اشکال بیضی یا کشیده در پلاکت‌های غیرفعال و پلاکت‌های بالغ مشاهده می‌شود. پلاکت‌های نابالغ، در برخی گونه‌های ماهی، گرد بوده، درحالی‌که پلاکت‌های فعال دوکی‌شکل هستند. پلاکت در ماهی دارای سیتوپلاسم کم‌رنگ تا آبی با واکوئل یا وزیکول و تعداد متغیری گرانول‌های ائوزینوفیلیک خطی کوچک می‌باشد. پلاکت در ماهیان، مانند پرندگان و خزندگان، ممکن است با لنفوسیت‌های بالغ و کوچک اشتباه شود؛ هرچند که لنفوسیت کوچک و بالغ سیتوپلاسم فراوان‌تر و تیره‌تری نسبت به پلاکت دارد، هسته آن بزرگ‌تر است و تراکم کم‌تری دارد (۷، ۲۵، ۲۸، ۳۴).



شکل ۶: گرانولوسیت – گرانول‌های با رنگ‌پذیری کم هسته سگمنته از نمونه خون هپارینه با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین *Acipenser brevirostrum*



شکل ۷: لنفوسیت *Acipenser brevirostru*,–Sturgeon لنفوسیت‌ها سلول‌های گرد با سیتوپلاسم آبی کم رنگ و هسته متراکم تیره هستند. هنگامی که سلول فعال می‌شود بزرگ‌تر و سیتوپلاسم فراوان‌تر می‌شود.

تغییرات تابلوی خونی در پاسخ به بیماری‌ها: علی‌رغم گسترش بانک اطلاعاتی در خصوص دامنه‌های مرجع در گونه‌های مختلف ماهی و ویژگی‌های فراساختاری در سلول‌های خونی، هم‌چنان تفسیر نتایج آزمایشگاهی با چالش‌هایی همراه است. به‌طورکلی آماده سازی ماهی برای خونگیری می‌تواند تاثیر بر روی فاکتورهای خونی به‌ویژه افزایش هماتوکریت تا ۲۵٪ را داشته باشد. آزاد شدن کاتکول آمین‌ها(Catecholamines) درهنگام خونگیری از ماهی می‌تواند سبب تغلیظ خون و تورم اریتروسیت‌ها شود. در این حالت به‌دلیل این‌که غلظت هموگلوبین تغییری نکرده است MCHC کاهش پیدا می‌کند. کاتکول‌آمین‌ها سبب تغییر تبادلات یونی (Na+/H+ و CL-/ HCO) در غشا اریتروسیت‌ها شده، سدیم و کلر وارد سلول شده و فشار اسموتیک را تغییر می‌دهند، به‌دنبال آن آب وارد سلول شده و سلول دچار تورم می‌شود. میزان هماتوکریت یا PCV در ماهی کم‌تر از پستانداران و پرندگان است. هماتوکریت بسته به گونه ماهی و میزان فعالیت آن متفاوت است (۲۵، ۴۰). ماهیان کم فعالیت مانند برخی از گونه‌های خاویاری نسبت به گونه‌های با شنای سریع میزان PCV کم‌تری دارند (۱۶، ۲۸). سیکل زندگی، جنس، سن، رژیم غذایی، پریودهای نوری، تغییر فصول و دمای آب نیز بر روی هماتوکریت اثر دارد (۱۳، ۲۰، ۲۴، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۳، ۳۸، ۳۹). PCV در جنس نر در برخی گونه‌ها تفاوت معنی‌داری با جنس ماده داشته و نیاز به دو دامنه مرجع متفاوت دارد (۱۲، ۲۱). درماهیان استخوانی و غضروفی سیستم تبادلات گازی متفاوت است و ماهیان استخوانی بار کاری بالاتر قلب و فشار خون بالاتری داشته و در نتیجه هماتوکریت در آن‌ها بالاتر و اندازه گلبول‌های قرمز کوچک‌تر است. درحالی‌که ماهیان غضروفی برون‌ده قلبی بالاتر و حجم خون بیش‌تری دارند و اندازه اریتروسیت آن‌ها درشت‌تر است (۸، ۱۱، ۱۶، ۲۸). در کل PCV بالاتر از محدوده طبیعی نشان از دهیدراته‌بودن (Dehydration) بدن ماهی دارد، به‌ویژه اگر باافزایش اسمولاریته سرمی و هایپرپروتئینمی همراه باشد مسمومیت با سموم مختلف ازجمله سموم علف‌کش و برخی انگل‌ها نیز سبب افزایش هماتوکریت می‌شوند. در ماهیان خاویاری میزان هماتوکریت درحالت‌طبیعی پایین است (حدود ۲۰ درصد و گاهی کم‌تر)(۱۹، ۲۵، ۲۸). در مطالعه‌ای میزان هماتوکریت در ماهی خاویاری بالغ نسبت به نابالغ کاهش معنی‌داری را نشان داده است (۳۶). پایین بودن میزان هماتوکریت، هموگلوبین و RBC نشان از کم‌خونی (Anemia) در ماهی دارد که می‌تواند جبران‌پذیر یا جبران‌ناپذیر باشد.علل آنمی جبران‌پذیر بیش‌تر انواع همولیز و هموراژی است. تروما، بیماری‌های باکتریایی و ویروسی و بعضی سموم و داروها می‌توانند سبب آنمی همولیتیک (Hemolytic anemia) در ماهی شود. اسمیر خون ماهی با آنمی جبران‌پذیر افزایش تعداد اریتروسیت‌های نابالغ و پلی‌کروماژی را نشان می‌دهد.اگر آنمی بدون حضور سلول‌های کوچک و نابالغ و پلی‌کروماژی باشد، جبران‌ناپذیر است (۱۸، ۲۵، ۲۸، ۳۲). گلبول‌های قرمز نابالغ معمولاً کوچک‌تر از سلول‌های بالغ بوده بنابراین در آنمی‌های هموراژیک (Hemorrhagic anemia) و همولیتیک، میکروسیتوز دیده می‌شود. آنمی هموراژیک در اثر تروما، انگل‌های خون‌خوارمانند ایزوپود و زالو و ...، کمبودهای تغذیه‌ای و سپتی‌سمی‌های ویروسی و باکتریایی رخ می‌دهد. در آنمی هموراژیک سپتیک، تابلوی خونی میکروسیتوز، لکوسیتوز، رتیکولوسیتوز (Reticolocytosis) و کاهش هماتوکریت را نشان می‌دهد. آنمی همولیتیک ناشی از سموم باکتریایی یا محیطی مثل مسمومیت با نیتریت، بعضی داروها، عفونت‌های ویروسی و هموپارازیت است. نیتریت بلافاصله از آبشش‌ها جذب خون شده و هموگلوبین‌را اکسیده می‌کند و تولید مت‌هموگلوبین کرده و به‌تدریج رنگ خون تیره (بیماری خون قهوه‌ای) خواهد شد. این گلبول‌ها از

طریق ماکروفاژهای طحال از گردش خون حذف می‌شوند. آنمی جبران ناپذیر در بیماری‌های التهابی و مزمن، اختلالات تغذیه‌ای، سموم و بیماری‌های طحال و کلیه در شرایط آنمی شدید ممکن است نیاز به انتقال خون باشد. آنمی سبب کاهش حمل اکسیژن به بافت‌ها و ضعف ماهی می‌شود. تغییرات دژنراتیو در اندام‌های خون‌ساز (Hematopoietic tissue) مثل کلیه و طحال نیز می‌تواند سبب آنمی شود. پاسخ لکوسیتی در ماهی در بیماری‌های التهابی به‌ویژه التهاب عفونی، با لکوسیتوز نوتروفیلی (Neutrophilia) همراه است. سپتی‌سمی (Septicemia) هموراژیک، آنمی همراه با لکوسیتوز و رتیکولوسیتوز وگاها لنفوپنی (Lymphopenia) ایجاد می‌کند. لکوسیتوز همراه لنفوپنی، پاسخ به استرس را نشان می‌دهد (۱۷، ۱۸). کورتیکوستروئیدهای آندروژن در ماهی سبب کاهش غلظت ترومبوسیت‌ها و افزایش زمان تشکیل لخته می‌شوند. در پاسخ به عفونت شدید، لکوپنی (Leukopenia)، نوتروپنی و لنفوپنی ممکن است دیده شود. هر چند نوتروفیل در ماهی قدرت فاگوسیتوز ندارد اما به‌علت مهاجرت نوتروفیل از رگ به بافت‌ها نوتروپنی می‌تواند ایجاد شود. کمبود طولانی اکسیژن محلول در آب می‌تواند سبب لنفوپنی شود. لنفوپنی در اختلالات ایمنوساپرسیو (Immunosuppressive) و لنفوسیتوز (Lymphocytosis) و در اختلالات دژنراتیو، بدخیمی‌ها و هرگونه تحریک سیستم ایمنی دیده می‌شود. منوسیتوز یافته غالب در پاسخ التهابی در بعضی ماهیان استخوانی است. در بعضی بیماری‌های ویروسی داخل گلبول قرمز انکلوژن‌بادی ایجاد می‌شود. همولیز یا هموراژی شدید در ویروس نکروتیک گلبول قرمز، می‌تواند سبب آنمی همولیتیک و تغییرات هسته‌ای و انکلوژن‌بادی سیتوپلاسمی شود. در صورت مصرف دوز بالای کورتیکوستروییدها ترومبوسیتوپنی و افزایش زمان لخته خون ایجاد می‌شود. کمبود ویتامین K هم می‌تواند سبب این تغییرات شود (۱۸، ۲۵، ۲۸، ۴۰). در مطالعه‌ای با افزایش سن میزان RBC، WBC، لنفوسیت افزایش و نوتروفیل ائوزینوفیل و منوسیت کاهش پیدا می‌کند (۱۵).

تشکر و قدردانی

این مقاله در سومین وبینار نشست هم‌اندیشی ماهیان خاویاری که در تاریخ ۱۹ بهمن ۱۴۰۰، توسط شرکت مادر تخصصی خدمات کشاورزی و با مشارکت موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور برگزار گردید، ارائه شد. بدین‌وسیله نگارنده این مقاله از جناب آقای دکتر سید محمد مجابی مدیرعامل محترم شرکت مادر تخصصی خدمات کشاورزی که هزینه چاپ و انتشار این مقاله را در مجله علمی پژوهشی محیط زیست جانوری جهت استفاده متخصصان و محققان شیلاتی فراهم کردند کمال قدردانی و تشکر را دارد.

منابع

1. **Jamshidi, Sh., Kalbasi Masjedshahi, M.R., Sadeghizadeh, M. and Yazdani Sadati, M.A., 2020.** Investigation some haematological indices of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) exposed with nonylphenol. Journal of Animal Environment. 12(3): 215-220. (In Persian)
2. **Jalili Rudkali, J., 2015.** Sanitary control of sturgeon breeding in cages in the Caspian Sea. Iranian Fisheries Sciences Research Institute. International Sturgeon Research Institute. (In Persian)
3. **Hallajian, A., Kazemi, R., Yousefi Jourdehi, A. and Dejhandian, S., 2015.** Biochemical parameters and leukocyte differential count in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) juveniles caught in the Mazandaran province coasts. Aquatic Animals Nutrition. 1(2): 25-34. (In Persian)
4. **Heidarnejad, O., 2018.** A review of the hematology of ornamental fish, a collection of key articles of the 3rd Companion Animal Medicine Congress. Veterinary clinical research. 16-17. (In Persian)
5. **Saeedi, A.A., Moghimi, S.M., Ghiasi, M. Binaei, M. and Adel, M., 2012.** Comparison of some hematological parameters (blood) in male and female sturgeon breeders in breeding conditions. Journal of Aquaculture Development. 7(1): 33-45. (In Persian)
6. **Safi, Sh., Heydarnejad, O. and Shirazi Beheshtiha, H., 2013.** Laboratory equipment and materials: use, preservation and maintenance. University of Applied Science and Technology the Skill of Agriculture. (In Persian)
7. **Safi, Sh., Heydarnejad, O. and Mojabi, A. 2019.** Veterinary hematology and laboratory methods. University of Applied Science and Technology the Skill of Agriculture. 250 p. (In Persian)
8. **Nasri Tajan, M. and Taklu, M., 2017.** Comparison on natural range of some hematological and biochemical indices of cultured *Huso huso* (Linnaeus, 1758) and Acipenser persicus Borodin, 1897 at different ages. Journal of Applied Ichthyological Research. 4(4): 67-78. (In Persian)
9. **Modiri, L., 2017.** Investigating some cytochemical patterns of white blood cells of Persian sturgeon species in the south of the Caspian Sea. Islamic Azad University Science and Research Unit. (In Persian)
10. **Yazdani Sadati, M.A., Hooshyar, Y., Bani, A., Kazemi, R., Hallajian, A. and Pourdehghani, M., 2013.** Study of Haematological indices season changes in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) on captivity condition. Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics. 2(2): 17-32. (In Persian)
11. **Yousefi Jourdehi, A. and Abdali, S., 2015.** The comparative study of blood indices between farmed Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) and Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Marine Science and Technology Research. 10(1): 57-64. (In Persian)
12. **Adel, M., Palanisamy, S.K., Shafigh, S., Fazli, H. and Zorriezahra, M.J., 2016.** Comparative study of haematological, serum electrolyte and nonelectrolyte parameters of male and female Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) brood stocks. Acta Oceanol. Sin. 35(8): 39-43.
13. **Aghabarari, M., Abdali, S. and Yousefi Jourdehi, A., 2021.** The effect of Biofloc system on water quality, growth and hematological indices of Juvenile great sturgeon (*Huso huso*) Iranian Journal of Fisheries Sciences. 20(5): 1467-1482.

14. **Bagheri, T. and Imanpour, M.R., 2011.** The Efficacy, Physiological Responses and Hematology of Persian Sturgeon, Acipenser persicus, to Clove Oil as an Anesthetic Agent turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 11: 477-483.

15. **Bahmani, M., Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001.** A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. 24: 135-140.

16. **Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005.** Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. Fish biology. 66(1): 208-221.

17. **Cataldi, E., Marco, P.D., Mandich, A. and Cataudella, S., 1998.** Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology. 121: 351-354.

18. **Clauss, T.M., Alistair, D.M. and Jill, E.A., 2008.** Hematologic Disorders of Fish. Vet Clin Exot Anim. 11: 445-462.

19. **DiVincenti, L., Wyatt, J. and Priest., H., 2013.** Reference intervals for select hematologic and plasma biochemical analytes of wild Lake Sturgeon (*Acipenser fulvescens*) from the St. Lawrence River in New York. Vet Clin Path. 42(1): 19-26.

20. **Docan, A., Dediu, L., Grecu, I., Cristea, V. and Maereanu, M., 2014.** Hematological profiles of mature *Acipenser stellatus* from Danube River during spring season. Lucrări Științifice. 62: 143-146.

21. **Docan, A., Dediu, L., Grecu, L. and Maereanu, M., 2016.** Some hematological parameters for genitors of the sterlet (*Acipenser ruthenus*) from Isaccea region of the Danube River., AACL Bioflux. 9: 657-666.

22. **Duman, S., 2019.** The effect of anesthetic (2-phenoxy ethanol) application on some biochemical and hematological parameters in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) during transport. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 43: 825-833.

23. **Duman, S., 2020.** Determination of Reference Values of Some Hematological and Immunological Parameters in Healthy Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*). Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences. 5(2): 212-217.

24. **Emre, N., Guroy, D., Yalim, F., Emre, Y., Guroy, B., Mantuglu, S. and Karadal, O., 2018.** Growth Performance, Body Composition, Haematological and Serum Parameters to Fish Meal Replacement by Soybean Meal and Cottonseed Meal in Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research. 4(3): 169-176.

25. **Feldman, B.F., Zinkl, J. and Jain, N.C., 2000:** Schalm's Veterinary Hematology, Wiley-Blackwell, USA.

26. **Grecu, I., Docan, A., Dediu, L., Antache, A., Crețu, M. and Maereanu, M., 2019.** Haematological response of Acipenser stellatus juveniles in cold shock stress. Lucrări Științifice. 72: 193-198.

27. **Gholipourkanani, H., Ranjdoost, M., Jafaryan, H. and Yelghi, S., 2017.** Comparative study of hematological and blood chemistry of Persian sturgeon (*Asipencer persicus*) exposed to two common anticoagulants. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society. 68(2): 225-230.

28. **Grant, K., 2015.** Fish Hematology and Associated Disorders. Vet Clin Exot Anim. 18: 83-103.

29. **Hosseini, S.H., Kamali, A., Yazadani, M.A. and Khara, H., 2016.** Effect of different levels of iron sulfate on some haematological parameters of ship sturgeon, *Acipenser nudiventris*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 20(5): 1467-1482.

30. **Hoseinifar, H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S, and Bastami, K., 2011.** The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry. 37: 91-96.

31. **Khajepour, F., Hosseini, A. and Hoseini, M., 2011.** Study on Some Hematological and Biochemical Parameters of Juvenile Beluga (*Huso huso*) Fed Citric Acid Supplemented Diet. Global Veterinaria. 7(4): 361-364.

32. **Khoshbavar rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, M.D., 2006.** Some hematological and biochemical changes in blood serum of Beluga (*Huso huso*) after chronic exposure to diazinon. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 5(2): 53-66.

33. **Knowles, S., Hrubec, T.C., Stephen, A., Robert, S. and Bakal, S., 2006.** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Vet Clin Pathol. 35(4): 434-440.

34. **Liu, Y., Xiao, Q., Song, Y., Liulan, Z., Hongmei, F., Jun, D., Zongjun, D., Taiming, Y. and Hao, W., 2017.** Characterization of hematopoiesis in Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*) Aquaculture and fisheries. 2: 262-268.

35. **Mark, A., Matsche, M.A., Arnold, J., Erin, J., Howard, T. and Kevin, R., 2014.** Determination of hematology and plasma chemistry reference intervals for 3 populations of captive Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). Veterinary Clinical Pathology. 43(3): 387-396.

36. **Matsche, M.A., Rosemary, K.M., Brundage, H.M. and O'Herron, J.C., 2013.** Hematology and plasma chemistry of wild shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* from Delaware River, USA. Applied ichthyology. 29: 6-14.

37. **Mazandarani, M., Taheri Mirghaed, A. and Hoseini, S.M., 2015.** Hematological characteristics and reproduction indices of wild beluga (*Huso huso*) broodstocks from the southeast of the Caspian Sea. Iranian Journal of Veterinary Medicin. 9(1): 65.

38. **Ruchin, A.B., 2007.** Effect of Photoperiod on Growth, Physiologica and Hematological Indices of Juvenile Siberian Sturgeon *Acipenser baerii*. Biology Bulletin. 34(6): 583-589.

39. **Shahkar, E., Kim, D.J., Mohseni, M., Yun, H. and Sungchul, C.B., 2015.** Effects of Salinity Changes on Hematological Responses in Juvenile Ship Sturgeon Acipenser nudiventris. Fish Aquat Sci. 18(1): 45-50.

40. **Thrall, M.A., 2004.** Veterinary Hematology and Clinical Chemistry: Lippincott Willimas & Wilkins, USA.