مطالعه‌ی ساختار بافتی پوست میش ماهی (*Argyrosomus hololepidotus*) با استفاده ازمیکروسکوپ نوری و الکترونی

حسن مروتی[۱*]، کاوه اسفندیاری[۲]، محمدتقی شیبانی[۳] و زهرا طوطیان[۴]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۶

چکیده

میش‌ماهی یکی از ارزشمندترین آبزیان خلیج فارس، دریای عمان و نیز سواحل خوزستان محسوب می‌شود. پوست به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل محیط خارجی بوده و اعمال فیزیولوژیکی طبیعی داخل بدن را امکان‌پذیر می‌کند. در این پژوهش تعداد ۶ قطعه میش ماهی مورد استفاده قرار گرفت و برای انجام مطالعات میکروسکوپی از ناحیه‌ی پشتی بدن برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و مورد رنگ‌آمیزی تولوئیدن بلو، H&E، PAS، AB (pH=2.5) و AB (pH=2.5)-PAS قرار گرفتند. برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی نمونه‌ها پس از ثبوت اولیه و ثانویه و آبگیری در داخل رزین آغشته گردیده و پس از تهیه‌ی برش‌های فوق نازک ۵۰ تا ۸۰ نانومتری به وسیله‌ی یورانیل استات و سیترات سرب رنگ‌آمیزی گردیدند. نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپ نوری نشان داد که اپیدرم حاوی سلول‌های جامی شکل، سلول‌های اپیتلیالی و سلول‌های سطحی سنگفرشی است. درم حاوی لایه‌های اسپونژیوزوم و کامپکتوم است. هیپودرم در برخی قسمت‌ها وجود ندارد و در برخی قسمت‌ها نازک است. نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپ الکترونی نشان داد که سلول‌های جامی حاوی قطرات موکوس هستند. سلول‌های سطحی سنگفرشی دارای میکروریج بوده و با اتصالات محکم با یکدیگر در تماس‌اند. سیتوپلاسم سلول‌های اپیتلیالی اپیدرم حاوی فیلامنت است که با اتصال دسموزوم با یکدیگر در تماس می‌باشند. هم‌چنین نتایج مطالعات هیستوشیمی نشان داد که سلول‌های جامی، سلول‌های سطحی سنگفرشی و سلول‌های اپیتلیالی اپیدرم به رنگ‌های PAS و AB با pH=2.5 واکنش مثبت نشان می‌دهند.

کلمات کلیدی کلیدی: هیستولوژی، هیستوشیمی، پوست، میش ماهی

مقدمه

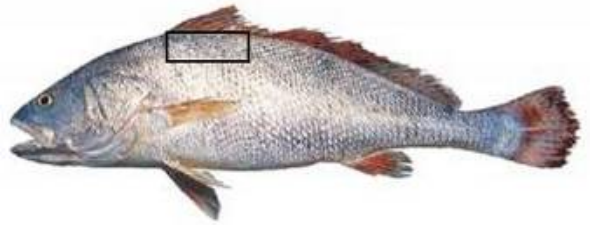
پوست ماهی و موکوس تولید شده از آن اولین و مهم‌ترین سد دفاعی بدن در مقابل عوامل بیماری‌زا بوده و ماهی را در برابر عوامل استرس‌زا، صدمات فیزیکی و محرک‌های محیطی و غیره که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک اعضای داخلی بدن می‌شود، حفظ می‌کند (Van Duijn 2000). هدف از مطالعه‌ی حاضر ارائه‌ی گزارشی از بررسی‌های بافت‌شناسی پوست میش ماهی است. پوست به عنوان سدی بین محیط خارج و داخل بدن ماهی محسوب شده و به طور مستقیم با مواد شیمیایی سمی، انگل‌ها و دیگر عوامل بیماری‌زای موجود در آب در تماس است (Mc Kim and Lien 2001). هم‌چنین تغییرات پوست در روند بسیاری از بیماری‌ها مهم و قابل توجه می‌باشد (Roberts 2001). پوست ماهی یکی از بزرگ‌ترین ارگان‌های بدن محسوب شده، بیش از ۱۰ درصد وزن بدن را تشکیل داده، پوشش کاملی را ایجاد می‌کند که مسئول حفظ و نگهداری و تبادلات محیط داخلی است (Mc Kim and Lien 2001). ساختمان عمومی پوست تقریباً در تمامی ماهیان مشابه بوده و اساساً

[۱*] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] دانشجوی دکترای بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۳] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۴] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

از دو لایه‌ی اصلی تشکیل شده است. لایه‌ی بیرونی یا اپیدرم که بدن ماهی را می‌پوشاند و لایه‌ی داخلی که درم نامیده می‌شود (Mc Kim and Lien 2001). اپیدرم فاقد رگ‌های خونی است و بنابراین ممکن است بدون این که خون‌ریزی واضحی پدید آید پوست صدمات زیادی ببیند (Van Duijn 2000) . سلول‌های اپیدرمی بر اساس موقعیت‌شان در لایه‌های مختلف اپیدرم از لحاظ شکل و خصوصیات متفاوت هستند (Lopez-Doriga and Martinez 1993). سلول‌های لایه‌ی میانی اپیدرم به طور معمول چند ضلعی بوده و گاهی اوقات کمی در جهت عمودی کشیده می‌شوند (Mittal 1997). سلول‌های جامی به استثنای چند مورد، تقریباً به طور عمومی در پوست اغلب ماهیان یافت می‌شوند. این سلول‌ها، غده‌ای برون‌ریز و تک‌سلولی هستند و توسط محققین مختلف به نام‌های متفاوتی از قبیل سلول‌های موکوسی، جامی و کلسی فرم نام‌گذاری شده‌اند (Mittal 1997). ترشحات سلول‌های اپیدرم ماهیان منشأ متفاوتی دارند که حاوی نسبت‌های متفاوت از موکوس و پروتئین هستند . در برخی از ماهیان این سلول‌ها چند نوع گلیکوپروتئین تولید می‌کنند و ترکیب شیمیایی موکوس تولید شده در اثر دگردیسی نوزادی یا به دلیل رویارویی ماهی با مواد سمی و هم‌چنین عواملی نظیر تغییرات محیطی نظیر شوری، تغییر درجه‌ی حرارت و pH آب تغییر می‌کند (Elliott 2000, Mc Kim and Lien 2001) موکوس از خراشیدگی پوست ماهیان حفار یا ماهیانی که می‌توانند بر خشکی حرکت کنند حفاظت می‌کند و در بعضی از ماهیان دارای خواص کاهنده‌ی اصطکاک است که به ماهی کمک می‌کند تا با سرعت بیش‌تر و صرف انرژی کم‌تر به حرکت خود ادامه دهند (Mittal 1997). مجموعه غشای پایه در ماهی، مشابه سایر مهره‌داران است (Elliott 2000) که به عنوان یک سد پالاینده عمل کرده و عبور سلول‌ها و مولکول‌ها را در بین بافت‌های مختلف کنترل می‌کنند. هم‌چنین تصور می‌شود که آن‌ها در تنظیم مورفوژنز (شکل‌گیری ظاهر ماهی) و التیام زخم نقش دارند. علاوه بر این، آن‌ها محل اتصالی برای سلول‌های پوششی و سایر سلول‌ها به حساب می‌آیند (Amin et al. 1992). درم در سطح فوقانی خود توسط این لایه فاقد سلول از اپیدرم جدا می‌شود و حاوی فلس‌هایی است که در ماهیان واجد فلس یک ویژگی عمده به حساب می‌آید و در ارزیابی و بررسی گونه‌های مختلف حائز اهمیت می‌باشند. نوع، تعداد و اندازه‌ی فلس‌ها اطلاعات زیادی درباره‌ی نحوه‌ی زندگی ماهیان را آشکار می‌سازد. فلس‌ها نقش محافظت مکانیکی از لایه‌های عمیق‌تر را به عهده دارند، اما در برخی از ماهیان، فلس‌ها جهت کارهای ویژه‌ای تخصص یافته و تغییر شکل داده‌اند. به دلیل این که انجام آزمایش-های سیتولوژیک از نمونه‌های پوستی، یک روش تشخیصی معمول و متداول در تشخیص بسیاری از بیماری‌ها می‌باشد (Stoskopf 1993) و نیز به دلیل وجود تنوع مرفولوژیک و عملکردی بسیار وسیع در ساختار بافتی پوست در بین گونه‌های مختلف ماهیان (Elliott 2000, Mittal 1997) و از آن‌جایی که تاکنون گزارشی از بررسی‌های بافت‌شناسی پوست میش ماهی در دست نبوده است، مطالعه‌ی حاضر از اهمیت خاصی برخوردار است.

مواد و روش کار

در این پژوهش تعداد شش قطعه میش ماهی معمولی سالم و بالغ نر و ماده با میانگین وزنی ۰/۸۱۶±۱۴/۸۳کیلوگرم و میانگین طول۴/۰۸±۱۱۴/۱۶ سانتی‌متر به صورت تازه صید شده از سواحل خلیج فارس تهیه گردید. به منظور مطالعات میکروسکوپی از پوست نواحی پشتی، نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۵ میلی‌متر تهیه و در فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند (تصویر ۱).



تصویر ۱: تصویر، میش ماهی و محل نمونه‌برداری از پوست ناحیه‌ی پشتی (داخل مستطیل)، زیر باله‌ی پشتی را نشان می‌دهد.

جهت تهیه‌ی مقاطع میکروسکوپی از نمونه‌های مورد نظر از روش معمول تهیه‌ی مقاطع بافتی استفاده گردید و برش‌ها با رنگ‌آمیزی‌های تولوئیدن بلو، هماتوکسیلین – ائوزین (H&E) و رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی پریودیک اسید شیف (PAS) و Alcian blue (AB) (pH =2.5) و Alcian blue–PAS (pH=2.5) رنگ‌آمیزی شدند و مورد مطالعه‌ی هیستولوژی و هیستوشیمی قرار گرفتند. به منظور مطالعات هیستوشیمی مطابق جدول زیر نمونه‌های بافتی رنگ‌آمیزی و مورد بررسی و تفسیر قرار گرفتند.

جدول ۱: رنگ آمیزی‌های اختصاصی مورد استفاده در این پژوهش به همراه جزئیات و منابع

منابع	رنگ موسین و یا گلیکوپروتئین واکنش نشان دهنده	موکوس یا گلیکوپروتئین واکنش نشان دهنده	روش رنگ‌آمیزی هیستو شیمی
McManus, 1948; Rai, et al. 2012	ارغوانی	موسین حاوی گلیکوپروتئین قابل اکسیداسیون و خنثی	PAS
Mowry, 1956 ; Rai, et al. 2012	فیروزه‌ای	موسین حاوی گلیکوپروتئین با گروه سولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین غیر سولفاته	AB (pH=2.5)
Mowry, 1963; Rai, et al. 2012	فیروزه‌ای و ارغوانی	موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و غیر سولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی	PAS–AB (pH=2.5), pH

جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی نمونه‌های به ضخامت ۱ میلی‌متر در محلول گلوتارآلدئید سرد ۴ درصد قرار گرفت و برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی پس از ثبوت با محلول گلوتارآلدئید ۴ درصد، با استفاده از بافر ۰/۱ تا ۰/۱۵ مولار sodium cacodylate ، در ۳ مرحله و هر مرحله به مدت ۱۵ دقیقه شستشو شدند. در ادامه برای ثبوت ثانویه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در تتراکسید اسمیوم (Osmium Tetroxide) ۱ در صد قرار گرفتند و سپس برای سشتشو مجدد با استفاده از بافر ۰/۱ تا ۰/۱۵ مولار sodium cacodylate ، در ۳ مرحله و هر مرحله به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و برای آبگیری در این مرحله از غلظت‌های افزاینده استون استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه‌ها به ترتیب در استون‌های ۳۰ درصد، ۵۰ درصد، ۷۵ درصد، ۹۵ درصد، ۱۰۰ درصد، ۱۰۰ درصد و ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس، جهت آغشتگی با رزین عمل مخلوط کردن رزین با استون با نسبت‌های ۳ حجم استون به همراه ۱ حجم رزین به مدت ۳ ساعت، نسبت ۱ به ۱ هر دو ماده به مدت ۲۴ ساعت، ۳ حجم رزین به همراه یک حجم استون به مدت ۳ ساعت و در نهایت، استفاده از رزین خالص به مدت ۵ ساعت صورت گرفت. در این تحقیق برای قالب‌گیری از رزین خالص استفاده گردید. در مرحله‌ی پلیمریزاسیون، نمونه-ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ تا ۷۰

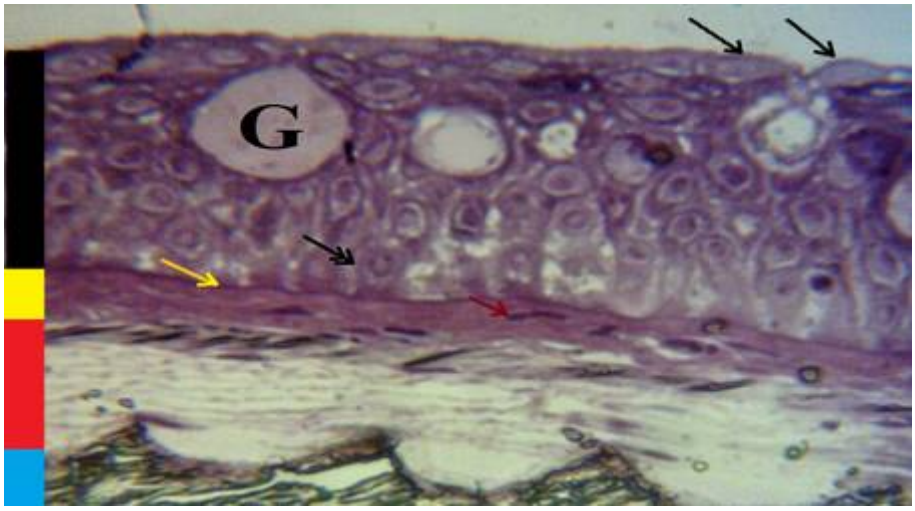
درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و در نهایت جهت تهیه‌ی برش با دستگاه اولترامیکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵۰ تا ۸۰ نانومتر از نمونه‌ها تهیه شد و برای رنگ‌آمیزی برش‌های فوق نازک از استات یورانیل و سیترات سرب استفاده گردید. در نهایت، از برش‌های تهیه شده توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی Zeiss-EM10C-80 KV ساخت کشور آلمان عکسبرداری شد و ساختار دقیق پوست نواحی مختلف میش ماهی با استفاده از تصاویر میکروسکوپی به دست آمده مورد بررسی دقیق بافت شناسی قرار گرفت.

نتایج

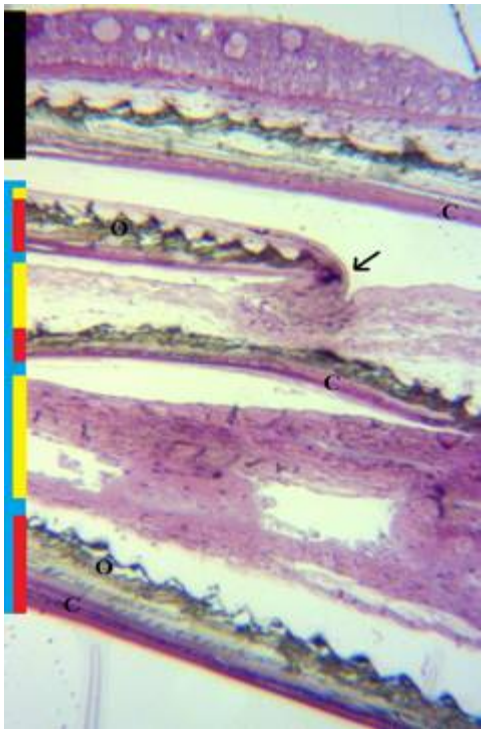
در ناحیه‌ی پشتی پوست بدن میش ماهی، اپیدرم شامل سلول‌های جامی، سلول‌های پوششی (شامل سلول‌های بازال، سلول‌های سنگفرشی سطحی و سلول‌های پوششی لایه‌ی میانی اپیدرم) می‌باشد (تصویر ۲). سلول‌های جامی در قسمت‌های میانی اپیدرم قرار دارند (تصویر ۲). گاهی اندازه‌ی آن‌ها آنقدر بزرگ می‌شود، که قسمت راسی‌شان به سطح پوست می‌رسد در حالی که بدنه‌ی آن‌ها هم‌چنان در قسمت‌های میانی اپیدرم قرار می‌گیرد. سلول‌های مذکور دارای قطرات متعدد حاوی موکوس بوده و تجمع قطرات، هسته و اندامک‌های سلول را به گوشه‌ای هدایت می‌کنند (تصویر ۵). سلول‌های سنگفرشی، سطحی‌ترین سلول‌های اپیدرم میش ماهی محسوب می‌شوند (تصویر ۲). سلول‌های مذکور دارای میکروریج‌های متعدد در سطح بیرونی غشای پلاسمایی خود می‌باشند (تصویر ۴). میکروریج‌ها سبب افزایش سطح سلول‌های سنگفرشی می‌شوند. هسته‌ی این سلول‌ها تراکم الکترونی کم دارد و نسبت سیتوپلاسم به هسته کم‌تر از سایر سلول‌های اپیدرم است (تصویر ۴). دستگاه گلژی در کنار هسته است (تصویر ۴). این سلول‌ها هم‌چنین از طریق اتصالات محکم وسیعی با سلول‌های مجاور و همنام خود در تماس می‌باشند (تصویر ۴). سلول‌های پوششی لایه‌ی میانی اپیدرم نیز در قسمت‌های میانی اپیدرم با ظاهری چند وجهی در جهات مختلف و لابه‌لای سلول‌های جامی شکل قرار می‌گیرند (تصویر ۲). این سلول‌ها دارای فیلامنت‌های زیادی می‌باشند و با سلول-های مجاور و همنام خود از طریق دسموزوم‌ها در ارتباط می‌باشند (تصویر ۶). در نهایت تمامی سلول‌های اپیدرمی حاصل تقسیمات متوالی میتوز سلول‌های بازال که در مجاورت غشای پایه قرار دارند، می‌باشند (تصویر ۲). این سلول‌ها با ظاهری کشیده و استوانه‌ای و یا چند وجهی روی غشای پایه مستقر می‌باشند (تصویر ۲). هسته در نواحی حاشیه‌ای خود الکترون دنس بوده و نسبت سیتوپلاسم به هسته در مقایسه با سایر سلول‌های اپیدرمی بیش‌تر است (تصویر ۸). غشای پایه روی صفحه‌ای متشکل از رشته‌های کلاژن در جهات طولی، عرضی و مورب قرار می‌گیرد (تصاویر ۷، ۸ و ۱۲). صفحه‌ی کلاژنی توسط فیبروبلاست‌های حاضر در بین رشته‌های کلاژن تولید می‌شود و توسط مویرگ‌های نفوذ کرده در آن منطقه تغذیه می‌شود (تصاویر ۹ و ۱۰). در زیر صفحه‌ی کلاژنی متشکل از رشته‌های کلاژن، بافت همبندی به نام جیب فلس مستقر است (تصاویر ۲ و ۸). این بافت همبند در نزدیکی صفحه‌ی کلاژنی دارای نسبت بیش‌تری از ملانوفورها و رشته‌های همبندی و نسبت کم‌تری از ماده‌ی زمینه است (تصویر ۱۳). اما در نزدیک فلس نسبت ماده‌ی زمینه و عروق مویرگی به رشته‌های همبندی بیش‌تر می‌شود (تصویر ۱۴). زوائد سیتوپلاسمی ملانوفورها، به داخل صفحه‌ی کلاژنی مستقر در زیر غشای پایه نیز می‌رسد (تصویر ۱۱). مجموع غشای پایه و صفحه‌ی کلاژنی، سلول‌های اپیدرمی را از جیب فلس جدا می‌کند. اپیدرم هم‌چنین با سطحی‌ترین لایه‌ی فلس (فلس وارد شده در اپیدرم) همراه می‌باشد که بلافاصله در زیرجیب فلس مستقر است (تصاویر ۲ و ۳). درم شامل دو لایه می‌باشد. لایه‌ی اسفنجی در بالا و لایه‌ی متراکم در پایین (تصویر ۱۵). لایه‌ی اسفنجی شامل دو الی سه لایه‌ی فلس بوده که بافت همبندی آن‌ها را از یکدیگر جدا می‌کند (تصویر ۱۵). این بافت همبند فلس‌ها را در جای خود

محکم و ثابت نگاه داشته و توسط یک اتصال با انتهای فلس‌ها یکی می‌شود (تصویر ۳). این بافت نیز حاوی ملانوفورها می‌باشد (تصویر ۱۵). لایه‌ی متراکم یک بافت همبند سخت فیبروالاستیک (حاوی کلاژن و الاستیک) بوده که فاقد فلس و حاوی ملانوفورها با تعداد کم‌تر می‌باشد (تصاویر ۱۵ و ۱۶). بافت همبند لایه‌ی اسفنجی درم ادامه‌ی بافت همبند لایه متراکم درم بوده به نحوی که لایه متراکم از لا به لای فلس‌ها به سمت اپیدرم ادامه یافته، سست‌تر می‌شود و بافت همبند لایه‌ی اسفنجی و کیسه‌ی فلس نام می‌گیرد (تصاویر ۱۵ و ۱۶). در نواحی پشتی میش ماهی هایپودرم (Subcutis) در برخی از میدان‌های دید میکروسکوپی وجود داشته و حاوی یک لایه‌ی نازک از بافت همبند سست و چربی است که می‌تواند در قسمت‌های مرزی خود با درم حاوی ملانوفورها با تعداد کم‌تری باشد (تصویر ۱۷). این لایه موجب لغزیدن پوست بر روی عضلات میش ماهی می‌شود. در برخی دیگر از میدان‌های دید میکروسکوپی پوست نواحی پشتی میش ماهی، هایپودرم (Subcutis) وجود نداشته، بنابراین بافت همبند فیبروالاستیک طبقه‌ی متراکم درم با بافت همبند بین عضلات یکی می‌شود (تصویر ۱۶). میش ماهی دارای فلس کتنوئیدی بوده بدین معنی که شامل یک لایه‌ی استخوانی خارجی دندانه‌دار و یک لایه‌ی داخلی است که در آن رشته‌های کلاژنی موازی در ماتریکس آلی قرار دارند (تصویر ۲۰). نتایج حاصل از مطالعات هیستوشیمی نشان داد که در نواحی پشتی نمونه‌برداری شده از پوست بدن میش ماهی، سلول‌های جامی شکل دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی و موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله می‌باشند و در رنگ‌آمیزی (Alcian blue pH=2.5-PAS) هم‌زمان به رنگ‌آمیزی پاس و رنگ‌آمیزی آلسین بلو با pH=2.5 واکنش مثبت نشان می‌دهند و هم رنگ قرمز و هم رنگ آبی را به خود می‌گیرند و در نهایت بنفش می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی تنها دارای میزان کمی موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی بوده و توسط رنگ پاس قرمز کم‌رنگ می‌شوند. برخی دیگر از سلول‌های پوششی دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی و موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله می‌باشند و به رنگ‌آمیزی پاس و آلسین بلو با pH=2.5 واکنش مثبت نشان می‌دهند و بنفش می‌شوند (تصویر ۱۸). در رنگ‌آمیزی (Alcian blue pH=2.5) سلول‌های جامی شکل به دلیل داشتن موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله آبی می‌شوند. در این رنگ‌آمیزی برخی از سلول‌های پوششی دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله می‌باشند و به رنگ‌آمیزی آلسین بلو با pH=2.5 واکنش مثبت نشان می‌دهند و آبی می‌شوند و برخی دیگر از سلول‌های پوششی تنها دارای میزان کمی موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله می‌باشند و آبی کم‌رنگ می‌شوند (تصویر ۱۹). سلول‌های جامی شکل دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی بوده و توسط رنگ پاس قرمز می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی بوده و توسط رنگ پاس قرمز می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی تنها دارای میزان کمی موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی بوده و بنابراین توسط رنگ پاس قرمز کم‌رنگ می‌شوند (تصویر ۱۹). در رنگ‌آمیزی (Alcian blue pH=2.5-PAS) قسمت استخوانی و دندانه‌دار فلس‌ها به دلیل دارا بودن گلیکوپروتئین‌های سولفاته و کربوکسیله و هم‌چنین گلیکوپروتئین خنثی (گلیکوپروتئین‌های استخوانی) به رنگ‌آمیزی‌های آلسین بلو با pH=2.5 و پاس واکنش مثبت نشان داده و بنفش می‌شوند. قسمت کلاژنی فلس‌ها که در آن رشته‌های کلاژنی موازی در ماتریکس آلی قرار دارند، به دلیل دارا بودن گلیکوپروتئین خنثی و قابل اکسیداسیون در ماتریکس آلی خود، به رنگ‌آمیزی پاس واکنش مثبت نشان می‌دهد و قرمز می‌شود. این ماتریکس آلی فاقد گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله بوده و با رنگ‌آمیزی آلسین بلو با pH=2.5 رنگ آبی نمی‌گیرد (تصویر ۲۰). در رنگ‌آمیزی (Alcian blue pH=2.5) قسمت استخوانی فلس‌ها به دلیل دارا بودن

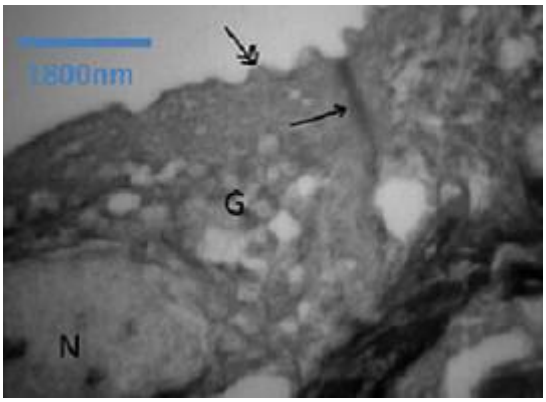
گلیکوپروتئین‌های سولفاته و کربوکسیله به رنگ‌آمیزی آلسین بلو با pH=2.5 واکنش مثبت نشان می‌دهند و آبی می‌شوند . ماتریکس آلی قسمت کلاژنی فلس‌ها فاقد گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله بوده و با رنگ‌آمیزی آلسین بلو با pH=2.5 رنگ آبی نمی‌گیرد (تصویر ۲۰).



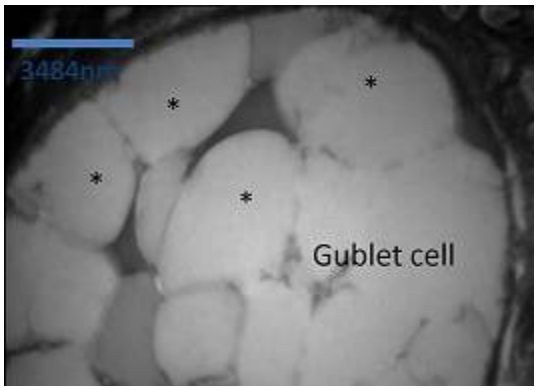
تصویر ۲: مقطع عرضی از اپیدرم ناحیه‌ی پشتی میش ماهی بالغ (Toluidineblue, 40×). قسمت‌های مختلف اپیدرم و فلس وارد شده در اپیدرم در رنگ‌آمیزی Toluidineblue از یکدیگر قابل تمایز است. اپیدرم (خط مشکی سمت چپ تصویر) با فلس وارد شده در اپیدرم (خط آبی سمت چپ تصویر) همراه است. سلول‌های اپیدرمی متاکرومازی خفیفی نسبت به Toluidineblue نشان می‌دهند و بنفش کمرنگ می‌شوند. فرم متاکرومازی در سلول‌های جامی (G) کم‌تر بوده و سلول‌های مذکور در اندازه‌ی درشت و در لایه‌های میانی اپیدرم قرار دارند. سلول‌های پوششی شامل سلول‌های سنگفرشی سطحی (پیکان تیره)، سلول‌های بازال (پیکان دوسر) و سایر سلول‌های پوششی حد فاصل سلول‌های فوق‌الذکر می‌باشد. غشای پایه (پیکان زرد رنگ) فرم شدیدتری از متاکرومازی نشان می‌دهد و مانند خط قرمز رنگ باریکی در قائده‌ی سلول‌های بازال است، صفحه‌ی کلاژنی (خط زرد سمت چپ تصویر) با فرم خفیف‌تر متاکرومازی نسبت به غشای پایه، در زیر غشای پایه مستقر است و حاوی فیبروبلاست (پیکان قرمز رنگ) می‌باشد. جیب فلس (خط قرمز رنگ سمت چپ تصویر) بر روی فلس مستقر است. تجمع رنگ آبی در قسمت دندانه‌دار فلس، سبب تمایز فلس از جیب فلس می‌شود.



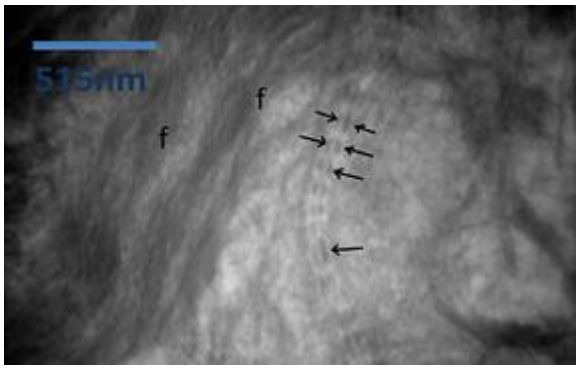
تصویر ۳: مقطع عرضی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی بالغ (Toluidineblue, 10×) قسمت‌های مختلف پوست در رنگ‌آمیزی Toluidineblue از یکدیگر قابل تمایز است. اپیدرم و فلس وارد شده در اپیدرم (خط مشکی سمت چپ تصویر). طبقه‌ی اسفنجی درم (خط آبی سمت چپ تصویر) شامل سه لایه‌ی فلس (خطوط قرمز سمت چپ تصویر) است که در انتهای فلس‌ها توسط یک اتصال (پیکان) با بافت همبند بین طبقات فلس‌ها (خطوط زرد سمت چپ تصویر) یکی می‌شود. تجمع رنگ آبی تیره در قسمت دندانه‌دار فلس (O) و متاکرومازی قسمت کلاژنی فلس (C) در تصویر مشخص است.



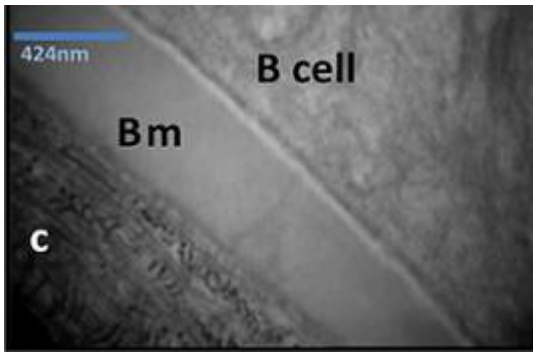
تصویر ۴: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۵۰۰۰). سلول‌های سنگفرشی سطحی دارای میکروریج (پیکان دو سر) می‌باشند و سلول‌های مذکور توسط اتصال محکم (پیکان یک سر) به یکدیگر متصل می‌شوند. دستگاه گلژی (G) در کنار هسته (N) مستقر است.



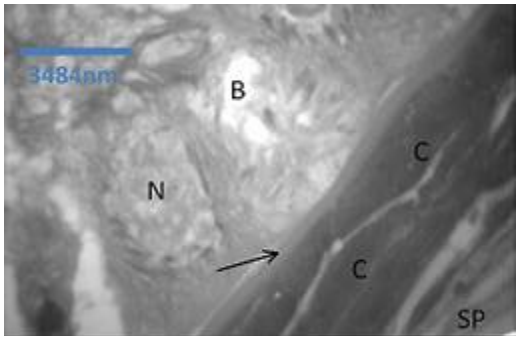
تصویر ۵: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). سلول جامی (Gublet cell) دارای قطرات متعدد (ستاره‌ها) است.



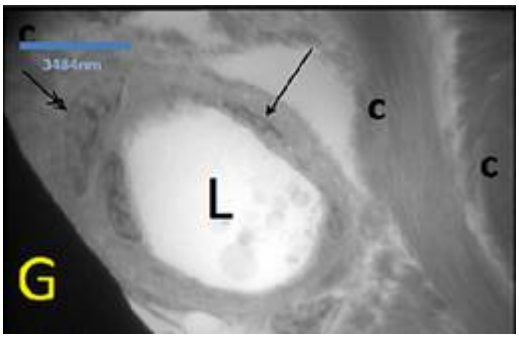
تصویر ۶: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۱۶۰۰۰). سلول‌های پوششی لایه‌های میانی اپیدرم حاوی فیلامنت‌های فراوان (f) است و توسط اتصالات دسموزوم (پیکان‌ها) با یکدیگر در تماس می‌باشند.



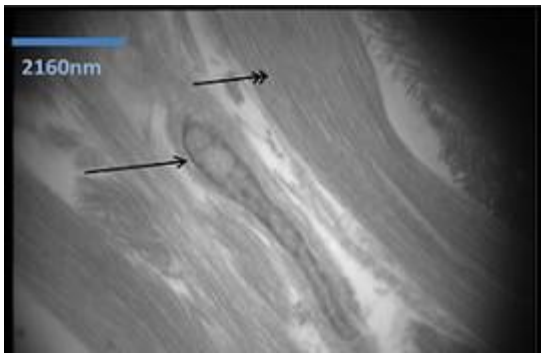
تصویر ۷: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۰۰۰۰). سلول بازال (B cell) بر روی غشای پایه (Bm) مستقر است. در زیر غشای پایه‌ی رشته‌های کلاژن (C) در جهت طولی و عرضی مستقر می‌باشند.



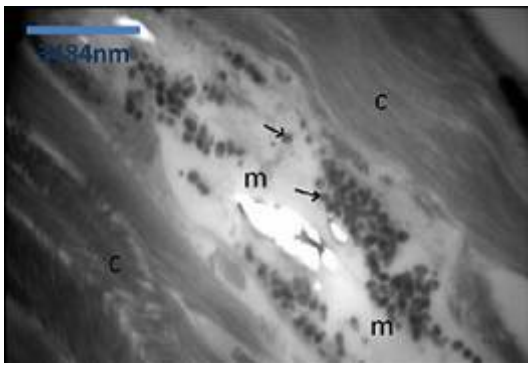
تصویر ۸: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). غشای پایه (پیکان) در حد فاصل بین سلول بازال (B) با هسته‌ی مشخص (N) و صفحه‌ی کلاژنی (C) مستقر است. در زیر رشته‌های کلاژن جیب فلس (SP) مسقر است.



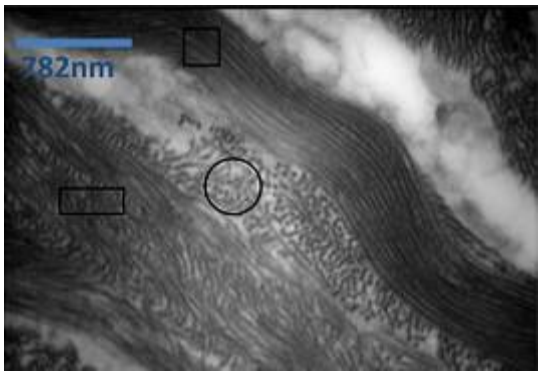
تصویر ۹: میگرافکرو الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). رشته‌های کلاژنی (C)، لومن یک مویرگ خونی(L). هسته‌ی سلول‌های آندوتلیوم (پیکان یک سر) و هسته‌ی پری سایت (پیکان دو سر). قسمتی از گرید (G) در تصویر دیده می‌شود.



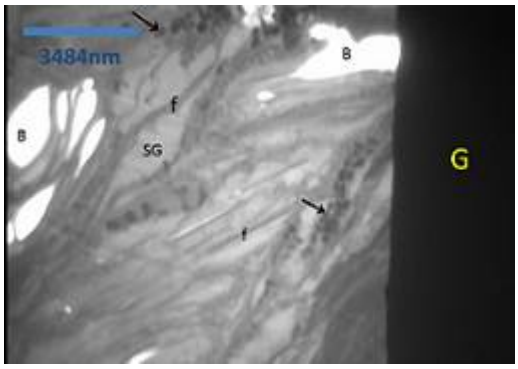
تصویر ۱۰: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). صفحه‌ی کلاژنی متشکل از رشته‌های کلاژن (پیکان دو سر) توسط فیبروبلاست‌های حاضر در بین رشته‌های کلاژن تولید می‌شود (پیکان یک سر).



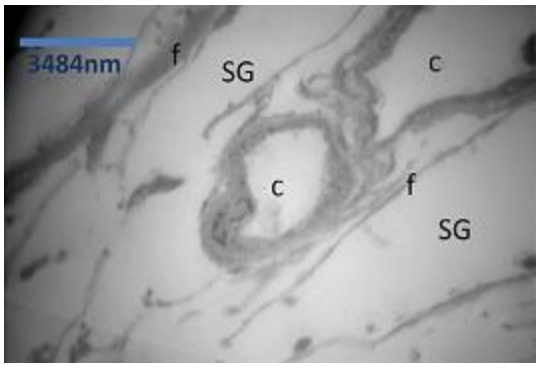
تصویر ۱۱: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). زوائد سیتوپلاسمی ملانوفورها (m) حاوی ملانوزوم (پیکان) خود را به رشته‌های کلاژن (c) مستقر در زیر غشای پایه می‌رسانند.



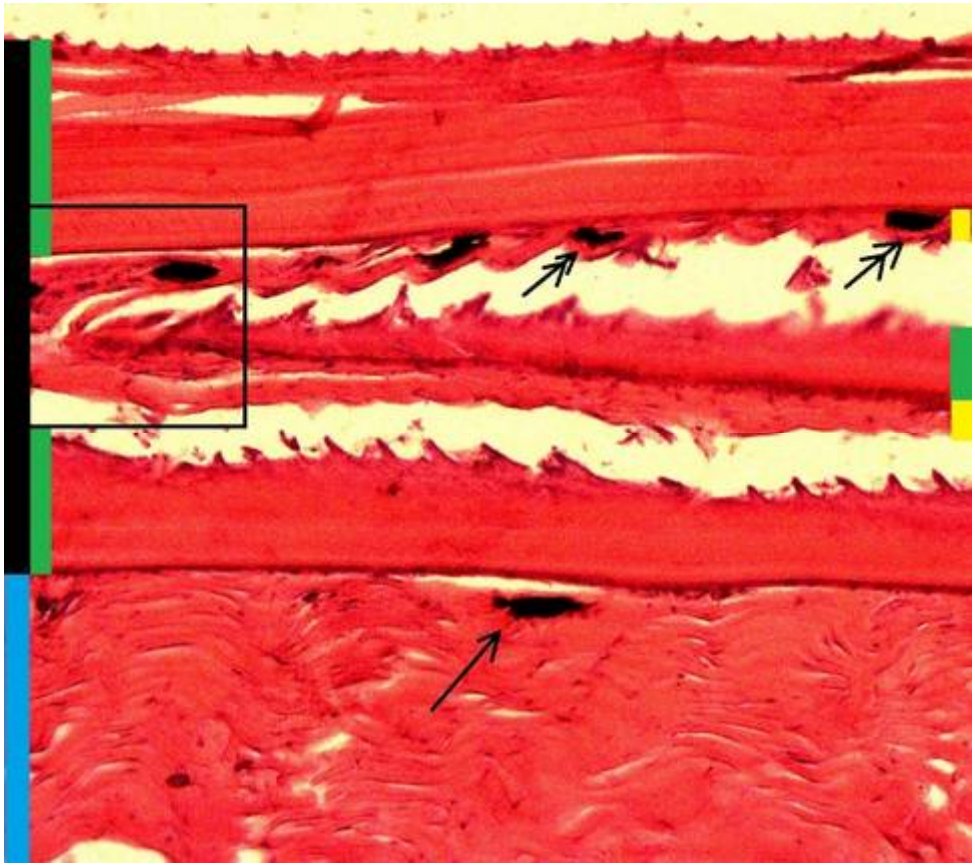
تصویر ۱۲: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۱۰۰۰۰). رشته‌های کلاژن مستقر در زیر غشای پایه در جهات طولی (داخل مربع)، عرضی (داخل دایره) و مورب (داخل مستطیل) دیده می‌شوند.



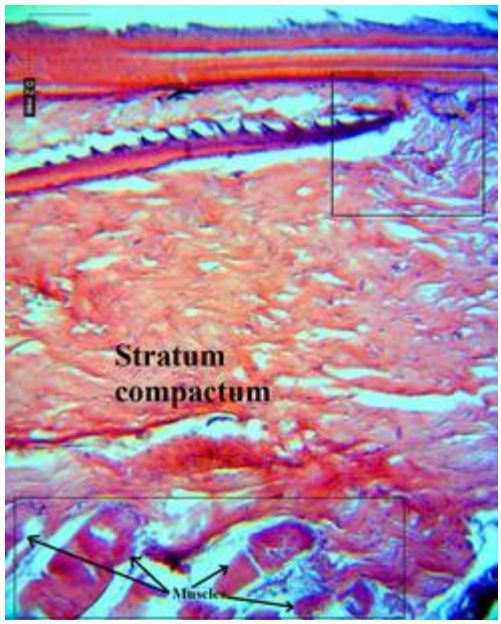
تصویر ۱۳: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). جیب فلس در نزدیکی صفحه‌ی کلاژنی (C) حاوی رشته‌های همبندی (F)، ماده‌ی زمینه (SG) و ملانوفورها (پیکان) می‌باشد. بیم الکترونی (B) و قسمتی از گرید در تصویر دیده می‌شوند.



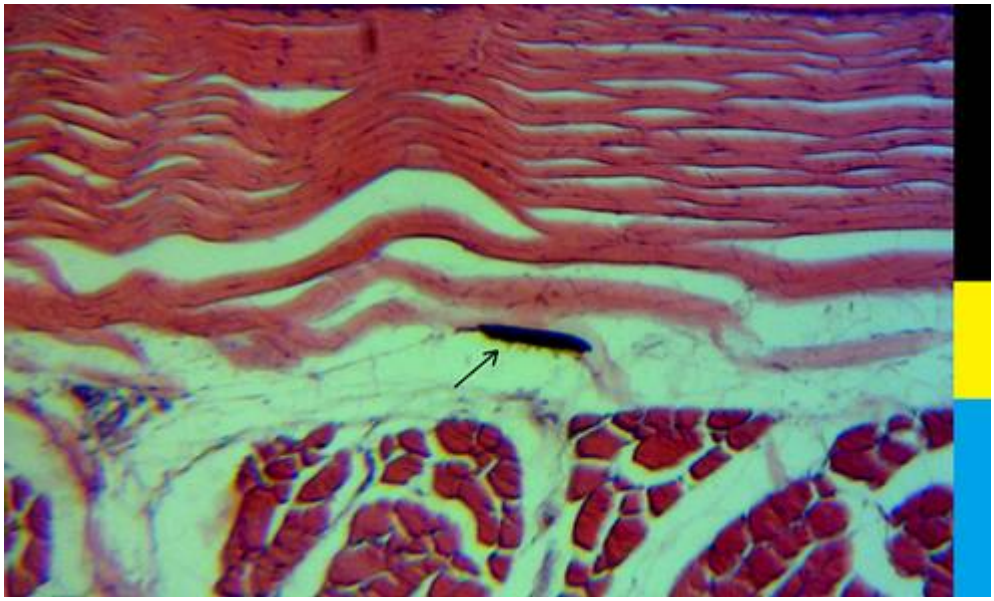
تصویر ۱۴: میکروگراف الکترونی عبوری قسمتی از پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (۲۵۰۰). جیب فلس در نزدیکی فلس‌ها حاوی ماده‌ی زمینه (SG) و عروق مویرگی (C) بیش‌تر و رشته‌های همبندی (F) کم‌تری می‌باشد.



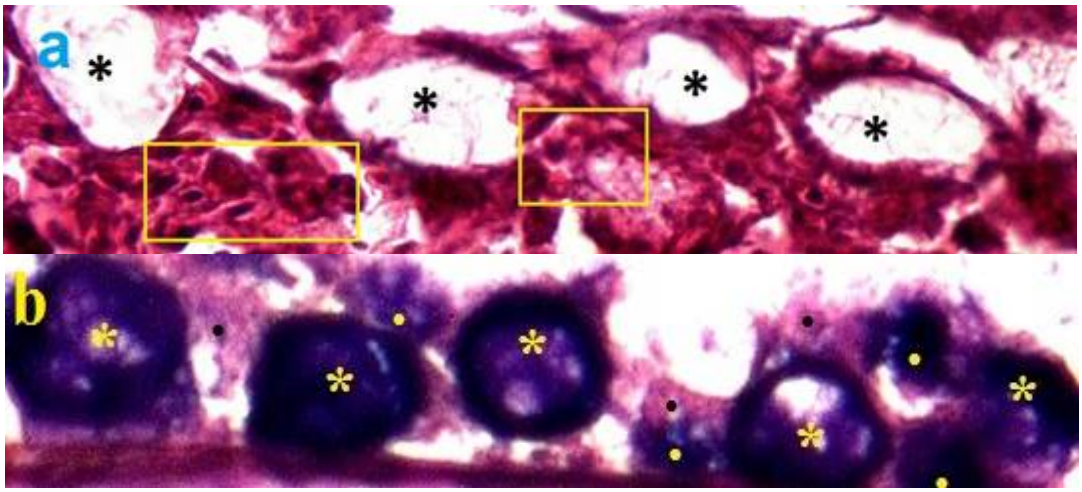
تصویر ۱۵: تصویر مقطع پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (H&E,10). درم شامل دو لایه به نام (stratum compactum) یا لایه‌ی متراکم (خط آبی سمت چپ تصویر) و (stratum spongiosum) یا لایه‌ی اسفنجی (خط مشکی سمت راست تصویر) می‌باشد. لایه‌ی اسفنجی شامل سه لایه‌ی فلس (خطوط سبز رنگ سمت راست و چپ تصویر) و بافت همبند بین فلس‌ها (خطوط زرد رنگ سمت راست تصویر) می‌باشد. ملانوفورها هم در لایه‌ی متراکم (پیکان یک سر) و هم در بافت همبند لایه‌ی اسفنجی (پیکان دو سر) وجود دارند. قسمت‌های سفید رنگ تصویر آرتیفکت می‌باشند. داخل مربع مسیر حرکت بافت همبند بین فلس‌ها نمایانگر پیوستگی و امتداد و یکپارچگی این بافت در لایه‌لای طبقات فلس‌ها و حرکت آن به سمت اپیدرم است.



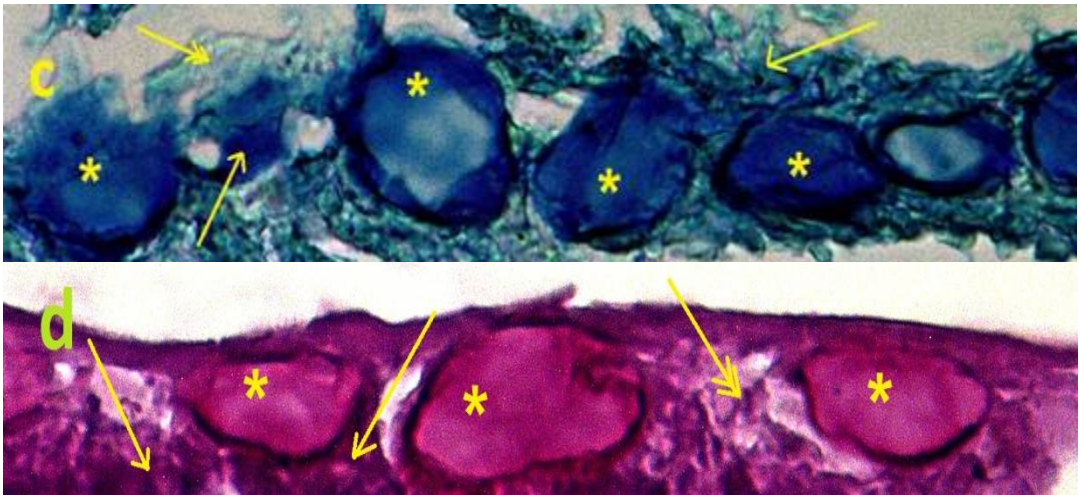
تصویر ۱۶: تصویر مقطع پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (H&E,10×). در سمت راست و بالای تصویر (داخل مربع) مسیر حرکت طبقه‌ی متراکم به سمت اپیدرم از لا به لای فلس‌ها را نشان می‌دهد. بافت همبند بین فلس‌های لایه‌ی اسفنجی درم ادامه بافت همبند سخت طبقه‌ی متراکم درم است. داخل مستطیل محل یکی شدن طبقه‌ی متراکم درم با بافت همبند بین عضلات میش ماهی بیانگر عدم حضور یک هایپودرم واضح در برخی از قسمت‌های پوست ناحیه‌ی پشتی است و می‌تواند به عنوان یکی دیگر از مشخصه‌های پوست بدن میش ماهی مورد توجه قرار بگیرد. عضلات (Muscles) در پایین تصویر نشان داده شده است.



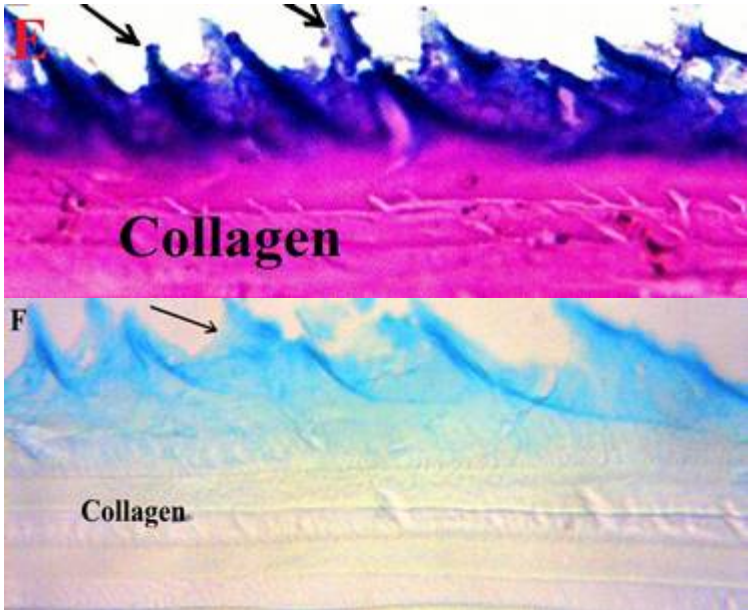
تصویر ۱۷: تصویر مقطع پوست ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (H&E,10×). هایپودرم (Subcutis) در برخی از میدان‌های دید میکروسکوپی وجود داشته و شامل یک لایه‌ی نازک از بافت همبند سست و چربی می‌باشد (خط زرد رنگ سمت راست تصویر). این لایه می‌تواند در مرز خود با درم دارای ملانوفورها باشد (پیکان). این لایه حد فاصل بین لایه‌ی متراکم درم (خط مشکی سمت راست تصویر) و عضلات ناحیه‌ی پشتی میش ماهی (خط آبی سمت راست تصویر) است.



تصویر ۱۸: رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی از سلول‌های اپیدرمی و فلس در نواحی پشتی نمونه‌برداری شده از پوست بدن میش ماهی. تصویر **a** اپیدرم ناحیه‌ی پشتی پوست بدن میش ماهی (**H&E, 40×**). موسین داخل سلول‌های جامی (ستاره) در الکل و گزیلول حل شده و سلول‌های مذکور رنگ نمی‌گیرند. سلول‌های مالپیگی (داخل مستطیل‌ها)، رنگ بازوفیل می‌گیرند. تصویر **b** اپیدرم ناحیه‌ی پشتی پوست بدن میش ماهی (**Alcian blue pH=2.5 PAS, 40×**) سلول‌های جامی شکل (ستاره) رنگ قرمز و آبی به خود می‌گیرند و در نهایت بنفش می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی (نقطه‌ی مشکی) قرمز کمرنگ می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی (نقطه‌ی زرد) رنگ قرمز و آبی را به خود می‌گیرند و در نهایت بنفش می‌شوند.



تصویر ۱۹: در شکل **c** اپیدرم ناحیه‌ی پشتی پوست بدن میش ماهی (**Alcian blue pH=2.5, 40×**) سلول‌های جامی شکل (ستاره) آبی می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی (پیکان یک سر) آبی می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی (پیکان دو سر) آبی کمرنگ می‌شوند. تصویر **d** اپیدرم ناحیه‌ی پشتی پوست بدن میش ماهی (**PAS, 40×**) سلول‌های جامی شکل (ستاره) قرمز می‌شوند. برخی از سلول‌های پوششی (پیکان دو سر) قرمز کمرنگ می‌شوند.



تصویر ۲۰: در شکل E فلس میش ماهی (Alcian blue pH=2.5 PAS, 40×) قسمت استخوانی فلس‌ها (پیکان) بنفش می‌شوند. قسمت کلاژنی فلس‌ها (collagen) قرمز می‌شود. تصویر F فلس میش ماهی (Alcian blue pH=2.5, 40×) قسمت استخوانی فلس‌ها (پیکان) آبی می‌شوند. ماتریکس آلی قسمت کلاژنی فلس‌ها (collagen) رنگ آبی نمی‌گیرد.

بحث

سلول‌های پوششی توسط محققین مختلف به نام‌های متفاوتی از قبیل سلول‌های پوششی، سلول‌های اپیدرمی، سلول‌های واجد فیلامنت، سلول‌های مالپیگی، سلول‌های سنگفرشی، سلول‌های رشته‌ای، سلول‌های چندضلعی، کراتوسیت، کراتینوسیت، سلول‌های اصلی و سلول‌های معمولی نام‌گذاری شده‌اند (Mittal 1997). بنا به نظر Whitear نام کلاسیک و صحیح این سلول‌ها، سلول‌های پوششی می‌باشد (Whitear 1986). این سلول‌ها بر اساس موقعیت‌شان در لایه‌های مختلف اپیدرم از لحاظ شکل و خصوصیات متفاوت هستند (Lopez- Doriga and Martinez 1993). ساختار سلول‌های پوششی با کمک میکروسکوپ الکترونی توسط محققان مختلف توصیف شده است، که در اکثر تصاویر غشای هسته چین خورده بوده و توسط اندامک‌هایی شامل میتوکندری، ریبوزوم‌های آزاد، شبکه‌ی آندوپلاسمیک خشن و گاهی اوقات لیزوزوم‌ها احاطه شده است. دستگاه گلژی در سلول‌های لایه‌ی سطحی برجسته و توسعه یافته‌تر است در حالی که در سلول‌های لایه‌ی قاعده‌ای دستگاه گلژی توسعه کم‌تری پیدا کرده است. مقاطع وزیکولی نیز اغلب در نزدیکی حاشیه‌های جانبی سلول‌ها واقع شده و گاهی اوقات به سطح باز می‌شوند (Mittal 1997). وجود تونوفیلامنت-هایی با قطر حدود ۷ تا ۸ نانومتر که به صورت دستجاتی مرتب (تونوفیبریل‌ها) یا منتشر در سلول قرار گرفته‌اند از ویژگی مشخص سلول پوششی است. این رشته‌ها بخش مهمی از اسکلت سلولی سلول‌های منفرد را تشکیل می‌دهند و اتصال آن‌ها به پلاک‌های دسموزومی، که سلول‌های پوششی مجاور را به هم مرتبط می‌کنند، اپیدرم را قادر می‌سازد تا به استرس‌های مکانیکی پاسخ هماهنگ و یکسانی بدهد (Wilkins and Jancsar 1979). سلول‌های لایه‌ی قاعده‌ای که در مجاورت غشای پایه قرار دارند به شکل مکعبی تا استوانه‌ای دیده می‌شوند. در صورتی که سلول‌های لایه‌ی میانی به طور معمول چند ضلعی بوده و

گاهی اوقات کمی در جهت عمودی کشیده می‌شوند (Mittal 1997) . فعالیت میتوزی به لایه‌های پایین‌تر اپیدرم محدود می‌شود (Mittal 1997) . سلول‌های پوششی در اپیدرم میش ماهی شامل سلول‌های قاعده‌ای بازال با ظاهری استوانه‌ای تا چند وجهی، سلول‌های پوششی لایه‌ی میانی با ظاهری چند وجهی و سلول‌های سنگ‌فرشی سطحی می‌باشند و حاوی فیلامنت‌های فراوانند . بنا به نظر Stoskopf سلول‌های جامی شکل غالباً در لایه‌های میانی تا خارجی‌تر اپیدرم دیده می‌شوند، اگرچه در اپیدرم‌های بسیار نازک ممکن است سلول‌های جامی شکل بالغ بر روی غشای پایه قرار گرفته باشند (Stoskopf 1993) . سلول‌های جامی اپیدرم میش ماهی در قسمت‌های میانی اپیدرم سلولی قرار دارند و گاهی اندازه‌ی آن‌ها بسیار بزرگ می‌شود . در مطالعه با میکروسکوپ الکترونی یک فضای شفاف متمایل به اپیدرم در زیر سلول‌های پوششی قاعده‌ای مشاهده می‌شود که توسط ماده فیبریلی به نام رشته‌های اتصال‌دهنده قطع می‌گردد . این ماده همی‌دسموزوم‌ها را به غشای پایه متصل می‌کند (Elliott 2000). در مطالعه با میکروسکوپ الکترونی پوست میش ماهی فضای شفاف زیر سلول‌های بازال مشاهده گردید. در سال ۱۹۷۰ Brown و Wellings در مطالعه‌ی میکروسکوپ الکترون از پوست بدن ماهی Hippoglossoideselassodon با استناد به تصاویر گویای به دست آمده بیان کردند که بلافاصله در زیر غشای پایه رشته‌های کلاژنی در جهات طولی و عرضی قرار می‌گیرند و غشای پایه را از درم جدا می‌کند. آن‌ها در فضای شفاف روی غشای پایه‌ی گرانول‌های الکترون دنسی را مشاهده کردند. در اپیدرم ماهی coho salmon با نام علمی *Oncorhynchus kisutch* اپیدرم با فلس وارد شده در اپیدرم همراه است . این فلس کتنوئیدی در واقع نزدیک‌ترین فلس به اپیدرم و غشای پایه است و توسط جیب فلس از غشای پایه جدا می‌شود (Ostrander 2000). تنها تفاوت میش ماهی نسبت به coho salmon وجود صفحه‌ی کلاژنی حد فاصل جیب فلس و غشای پایه است. در لامپری‌ها و بعضی از ماهیان شعاع باله‌ی ابتدایی، درم اساساً از بافت کلاژنی متراکم تشکیل شده است (Stoskopf 1993). ضخامت کل درم بسته به گونه‌ی ماهی، موقعیت آن بر روی بدن و مرحله‌ی زندگی متفاوت است (Stoskopf 1993). درم میش ماهی شامل دو لایه است. لایه‌ی اسفنجی در بالا و لایه‌ی متراکم در پایین. Roberts در سال ۲۰۰۱ بیان کرد که لایه‌ی اسفنجی دارای فلس و انواعی از عروق و اعصاب است و عناصر سلولی این لایه، شامل فیبروبلاست‌ها، سلول‌های رنگدانه‌ای، گلبول‌های سفید و سلول‌های مربوط به بافت‌های سازنده فلس‌ها است. Sivakumar در سال ۲۰۰۰ بیان کرد که در لایه‌ی متراکم درم رشته‌های کلاژن معمولاً به صورت ردیف‌هایی با زوایای مستقیم نسبت به یکدیگر مرتب شده‌اند. فیبروبلاست‌های درم که در ماهیان بالغ، سلول‌هایی کوچک و تیره‌رنگ به نظر می‌رسند، در بین رشته‌های کلاژن قرار دارند. سلول‌های اندک دیگری نیز در لایه‌ی متراکم وجود دارند. اما گاهی اوقات سلول‌های رنگدانه‌ای و مست سل‌ها ممکن است دیده شوند. لایه‌ی متراکم در فواصل منظم توسط ستون‌های عمودی از رشته‌های کلاژنی حاوی اعصاب و رگ‌های خونی از هم جدا شده و اعصاب و رگ‌ها به سمت لایه‌ی اسفنجی امتداد می‌یابند. لایه‌ی متراکم درم میش ماهی یک بافت همبند سخت فیبروالاستیک (حاوی کلاژن و الاستیک) بوده که فاقد فلس و حاوی ملانوفورها با تعداد کم‌تر می‌باشد. در مرز قسمت عمقی لایه‌ی متراکم، یک لایه‌ی سلولی وجود دارد که توسط ویتر و همکاران تحت عنوان اندوتلیوم درمی نام‌گذاری شده است. این لایه‌ی سلولی در لامپری‌ها و بسیاری از گونه‌های ماهیان استخوانی عالی گزارش شده است. این لایه شامل فیبروبلاست‌های تغییر شکل یافته‌ای است که به وسیله‌ی اتصالات دسموزوم به هم اتصال دارند و لایه‌ی کاملی را در بیش‌تر قسمت‌های سر و تنه تشکیل می‌دهد و فقط در جاهایی که توسط

اعصاب، رگ‌های خونی با ورود رشته‌های عضلانی سوراخ شده باشند از هم جدا می‌شوند (Whitear 1986). این لایه‌ی سلولی در هیچ یک از نواحی نمونه‌برداری شده از میش ماهی وجود نداشت. هیپودرم یک بافت چربی و سست می‌باشد که میزان عروق خونی آن نسبت به لایه-های خارجی‌تر خیلی بیش‌تر بوده و محل گسترش و توسعه‌ی مراحل روندهای عفونت در ماهی می‌باشد (Roberts 2001). معمولاً بخش فوقانی هیپودرم، درست زیر اندوتلیوم، توسط لایه‌ای از کروماتوفورهای عمقی اشغال می‌شود. در این بخش، سلول‌های متورم حاوی چربی قرار دارند که با بافت همبند سست، رگ‌های خونی و رگ‌هایی با دیواره‌ی نازک (احتمالاً مویرگ‌های لنفاوی) به صورت پراکنده قرار گرفته‌اند. قابلیت انعطاف هیپودرم این امکان را می‌دهد که حرکت قابل ملاحظه‌ی پوست بین لایه‌ی متراکم و عضلات سطحی صورت گیرد (Elliott 2000). در نواحی نمونه‌برداری شده از پوست بدن میش ماهی، برخی از میدان‌های دید میکروسکوپی فاقد هایپودرم مشخص و در برخی از میدان‌های دید میکروسکوپی، هایپودرم قابل تمایز و تشخیص بود. در پژوهشی که سال ۲۰۱۲ توسط Rai و همکاران روی اپیدرم پوست ناحیه‌ی سر ماهی *labeorohita* انجام دادند، سلول‌های ترشح کننده‌ی موکوس را بر اساس مطالعات هیستوشیمی بر روی محتویات آن‌ها به ۴ گروه سلول‌های پوششی، سلول‌های جامی‌شکل نوع A، سلول‌های جامی‌شکل نوع B و سلول‌های موکوسی هشدار دهنده تقسیم‌بندی کردند و در نتایج تحقیق فوق بیان کردند که سلول‌های پوششی، موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین غیرسولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین قابل اکسیداسیون و خنثی (هر سه نوع موسین را) در غلظت خیلی پایین تولید می‌کنند و در رنگ‌آمیزی‌های (AB, pH=1) و (AB, pH=2.5) و PAS به ترتیب رنگ آبی کم‌رنگ، آبی روشن و ارغوانی روشن به خود می‌گیرند. سلول‌های جامی نوع A و نوع B نیز هم‌چنین دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین با گروه سولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین با گروه کربوکسیله و یا غیرسولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین قابل اکسیداسیون و خنثی می‌باشند و (هر سه نوع موسین را) در غلظت بالاتری تولید می‌کنند و در رنگ‌آمیزی PAS هر دو سلول جامی نوع A و نوع B رنگ ارغوانی به خود گرفته که با توجه به غلظت موکوس حاوی گلیکوپروتیین قابل اکسیداسیون و خنثی، شدت این رنگ ارغوانی کم و زیاد می‌شود. در رنگ‌آمیزی (AB, pH=2.5) نیز هر دو نوع سلول جامی نوع A و B رنگ آبی به خود گرفتند که شدت این رنگ در سلول‌های جامی نوع B بیش‌تر از سلول‌های جامی نوع A بوده و در رنگ‌آمیزی (AB, pH=1) بر عکس حالت ذکر شده هم سلول‌های نوع A و هم سلول‌های نوع B رنگ آبی به خود گرفتند اما این بار شدت رنگ آبی در سلول‌های جامی نوع A بیش‌تر از نوع B بود زیرا سلول‌های جامی‌شکل نوع A موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته‌ی بیش‌تری تولید می‌کنند. سلول‌های هشدار دهنده نیز به دلیل ترشحات بسیار ناچیز در رنگ‌آمیزی‌های (AB, pH=1) و (AB, pH=2.5) و PAS رنگ چندانی به خود نگرفتند (Rai et al. 2012). هم‌چنین Mittal و Mittal در سال ۲۰۰۸ جهت مطالعه‌ی هیستوشیمی گلیکوپروتئین‌های سلول‌های اپیدرمی ناحیه‌ی لب ماهی *Garralamta* از رنگ‌آمیزی عمومی H&E و رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی و تکمیلی هیستوشیمی و نیز از رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی (AB, pH=1) و (AB, pH=2.5) و PAS استفاده کردند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که سلول‌های جامی‌شکل به هر سه رنگ‌آمیزی واکنش مثبت نشان دادند زیرا به نسبت‌های مختلف دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین با گروه سولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین با گروه کربوکسیله یا غیرسولفاته و موسین حاوی گلیکوپروتئین قابل اکسیداسیون و خنثی می‌باشند (Pinky et al. 2008). میش ماهی فاقد سلول‌های هشدار دهنده بوده و وظیفه‌ی ترشح موکوس بر عهده‌ی

سلول‌های جامی شکل به مقدار بیش‌تر و سلول‌های پوششی اپیدرم به مقدار کم‌تر می‌باشد. سلول‌های جامی شکل دارای موسین حاوی گلیکوپروتئین خنثی و موسین حاوی گلیکوپروتئین سولفاته و کربوکسیله می‌باشند. برخی گونه‌های ماهیان فلس ندارند مانند (لوچ‌ها، گربه ماهی‌ها، گوبی‌ها) اما در مار ماهی‌ها ممکن است خیلی کاهش یابند. فلس‌ها با منشأ درم ویژگی اصلی بیش‌تر گونه‌ها هستند. فلس‌ها چندین نوع هستند. فلس پلاکوئیدی که در پوست ماهیان الاسموبرانش‌ها یافت می‌شوند و شامل یک خار و یک صفحه‌ی پایه‌ای است. این فلس شامل یک حفره‌ی پالپی و شامل لایه‌ای از دنتین است که با مینا پوشیده شده است. فلس‌های گانوئیدی در ماهیان پولی پتریده و لپی سوستیده و ماهیان خاویاری وجود دارد و دارای لایه‌ی گانوئیدی خارجی ضخیم (ماده‌ی شبیه مینا) هستند و اغلب لوزی شکل‌اند. فلس-های کاسموئیدی فلس‌هایی هستند که چهار لایه دارند و جزو اختصاصات ماهیان سارکوپتریجی هستند. فلس ماهیان تلئوست شامل یک لایه‌ی استخوانی خارجی و یک لایه‌ی داخلی است که در آن رشته‌های کلاژنی موازی در ماتریکس آلی قرار دارند. ماهیان تلئوست دارای فلس‌های کتنوئیدی (با خارهای کوچک در لبه‌ی خلفی) یا فلس‌های سیکلوئیدی هستند که گرد تا دوکی هستند و از استخوان غیر سلولی درمی و بدون خار تشکیل شده‌اند (Genten and Terwinghe 2009). فلس میش ماهی از نوع کتنوئیدی و از دو لایه‌ی خارجی استخوانی و داخلی کلاژنی تشکیل شده است.

منابع

Amin, A.B.; Mortensen, L. and Poppe, T. (1992). Histology Atlas Normal Structure of Salmonids. Akvapatologisklabboratorium, Pp: 46-57.

Brown, G. and Wellings, S. (1970). "Electron microscopy of the skin of the teleost, Hippoglossoides elassodon." Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 103(2): 149-169.

Elliott, D.G. (2000). Integumentary system .In: Ostranfer, G. K. (ED). The Laboratory Fish. Academic Press, New York, Pp: 95-109, 219-220, 236-249, 271-307,463-479.

Genten, F.; Terwinghe, E. et al. (2009). Atlas of Fish Histology, Science Publishers. Chapter 6, P: 60.

Lopez-Doriga, M.V. and Martinez, j.L. (1993). Fine structure of sacciform cells in the epidermis of the brown trout, *Salmo trutta* Journal of Zoology, 230; 425-432.

McManus, J. (1948). "Histological and histochemical uses of periodic acid." Biotechnic & Histochemistry 23(3): 99-108.

McKim, J.M. and Lien, G.J. (2001). Toxic responses of the Skin .in: Schlenk, D. and Benson,W.H. (Eds). Target Organ Toxicity in Marine and freshwater Teleosts. Vol., Taylor & Francis, Pp: 151- 224.

Mittal, A.K. (1997). Fish Epidermis. In: sing, B. R. (ED). Advances in Fish Research. Vol.2, Narendra Publishing House, Delhi, Pp: 43-62.

Mittal, S. and Mittal, A.K. (2008). "Glycoproteins in the epithelium of lips and associated structures of a hill stream fish Garra lamta (Cyprinidae, Cypriniformes): a histochemical investigation." Anatomy, Histologia, Embryology 37(2): 101-113.

Mowry, R.W. (1956). Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 4, 407-408.

Mowry, R.W. (1963). The special value of methods that colour both acidic and vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of mucins with revised directions for the colloidal iron stain, the use of alcian blue 8GX, and their combination with the periodic acid-Schiff reaction. Annals of the New York Academy Sciences, 106, 402-423.

Ostrander, G.K. (2000). The Laboratory Fish, Academic Press.Microscopic Functional Anatomy; Chapter 17: Integumentary System. Pp: 272.

Rai, A.K.; Srivastava, N.; Kumari, U.; Mittal, S. and Mittal, A.K. (2012). "Histochemical analysis of glycoproteins in the secretory cells in the epidermis of the head skin of Indian Major Carp, *Labeo rohita*." Tissue and Cell 44(6): 409-417.

Roberts, R.J. (2001). Fish pathology .3 ed, W.B. Saunders Co, Pp: 12-14, 62-65, 133, 144.

Sivakumar, P. (2000). The omposition and characteristics of skin and muscle collagens from a freshwater cattish grown in biologically treatd tannery effluent water. Journal of Fish Biology, 56(4): 999-1012.

Stoskopf, M.K. (1993). Fish Medicine. W. B. Saunders Co, Philadelphia, Pp: 31-33.

Van Duijn, C. (2000). Disease of Fishs. 1st rd,Narendra Publishing House, Delhi Pp: 7-11.

Wilkins, N.P. and Jancsar, S. (1979). Temporal variations in the skin of Atlantic salmon, *Salmo solar* L. Journal of Fish Biology, 15(3) : 299-307.

Whitear, M. (1986). The skin of fishes including Cyclostomes-epidermis and dermis. In: Bereiter-Hahn, J., Maltoltsy, A.G. and Richards, K.S. (Eds). Biology of the Integument. Vol. 2: Vertebrates, Berlin, Pp: 8-64.

The study of tissue structure in the skin of *Argyrosomus hololepidotus* by light and electron microscopics

Morovvati, H.[1]; Esfandiari, K.[2]; Sheybani, M.[3] and Totian, Z.[1]

Received: 10.02.2015 Accepted: 07.07.2015

Abstract

One of the most valuable fish in Persian Gulf, Oman Sea, and territorial (coastal) waters of Khozestan, a province in the southwest of Iran, is *Argyrosomus hololepidotus*. In fish, skin is the first line of defense against the external environment and furthermore makes possible natural physiological functions inside the body. In this study, six *Argyrosomus hololepidotus* were used for microscopic analyses. The samples were prepared from 0.5µm cuts from the fish dorsum and later they were dyed in toluidine blue, H & E, PAS, AB (pH=2.5) and AB (pH=2.5)-PAS. For transmission electron microscopic analyses, the samples were dehydrated and embedded in resin after primary and post-fixation. Later, cuts with the thickness between 50nm to 80nm were prepared and dyed in uranyl acetate. The result of the light microscopic analysis showed that the fish's epidermis is composed from goblet, epithelial, and superficial-squamous cells. Their dermis contains spongiosum and compactum layers. The subcutis does not exist in some parts and it is thin in some parts. The results of the electron microscopic analyses showed that goblet cells include mucosal drops. The superficial squamous cells have micro ridges that keep in touch thorough tight junctions and the cytoplasm of epithelial epidermis cells has filaments that keep in touch via desmosomes. In addition, the result of histochemical analysis showed that goblet cells, superficial squamous cells and epithelial cells reacted positively to PAS and AB dyes with pH 2.5.

Key words: Histology, Histochemistry, Skin, *Argyrosomus hololepidotu*s

1- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- Ph.D Student of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
Corresponding Author: Morovvati, H., E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir