مکان‌یابی آنزیم Na^+,K^+-ATPase و سلول‌های یونوسیت در آبشش گربه ماهی *Silurus glanis* به روش ایمونوهیستوشیمی

صابر خدا بنده Ph.D.[1]*، زهرا تقی‌زاده M.Sc.[1]

۱. دانشگاه تربیت مدرس، نور، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه بیولوژی دریا

* آدرس مکاتبه: نور، صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه بیولوژی دریا

پست الکترونیک: Email: surp78@yahoo.com

چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۱۱/۲، پذیرش مقاله: ۸۵/۲/۲

* **هدف:** تعیین محل حضور سلول‌های یونوسیت و آنزیم Na^+,K^+-ATPase در آبشش گربه ماهی اسبله (*S. glanis*)

* **مواد و روش‌ها:** نمونه‌ها در محلول بوئن فیکس و پس از مراحل آب‌گیری در داخل پارافین قالب‌گیری و برش داده شدند. برای بررسی‌های بافت شناسی، برش‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. برای مطالعه ایمونوهیستوشیمی از آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ (Mouse Monoclonal Antibody Raised Against the α–subunit of the Chicken Na^+, K^+-ATPase) و آنتی‌بادی FITC (Monoclonal Mouse Anti-fluorescein Antibody) پس از طی مراحل آماده‌سازی مشاهده سلول‌های یونوسیت به کمک میکروسکوپ نوری فلوئورسانس با فیلتر های ۴۹۰-۴۵۰ نانومتر انجام شد.

* **یافته‌ها:** در برش طولی دو ردیف تیغه‌های آبششی مشاهده می‌شود. رشته‌ها و تیغه‌های آبششی توسط بافت پوششی تخصص یافته‌ای پوشیده شده است. این بافت پوششی دارای سلول‌های همراه، سلول‌های موکوسی و سلول‌های یونوسیت است. در روش ایمونوهیستوشیمی، آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ روی آنزیم Na^+,K^+-ATPase قرار گرفته و با حضور آنتی‌بادی FITC این آنزیم را به صورت فلوئورسانس نشان می‌دهد. هیچ سلول ایمونوفلوئورسانسی روی تیغه‌های آبششی دیده نشد ولی تعدادی سلول ایمونوفلوئورسانس روی رشته‌های آبششی درست در فضاهای بین تیغه‌ای دیده شدند. تعدادی از این سلول‌های ایمونوفلوئورسانس نیز در ناحیه رأسی رشته‌های آبششی مشاهده شدند. با بزرگ‌نمایی بیشتر مشاهده شد این سلول‌ها کروی و در ناحیه قاعده‌ای-جانبی خود دارای فلوئورسانس قوی هستند.

* **نتیجه‌گیری:** در گربه ماهی اسبله، سلول‌های یونوسیت در فضاهای بین پایه‌ای تیغه‌های آبششی و در ناحیه رأسی رشته آبششی حضور دارند. آنزیم Na^+,K^+-ATPase با تراکم قابل ملاحظه‌ای در ناحیه قاعده‌ای-جانبی این سلول‌ها قرار داشته و مبین شرکت فعال این سلول‌ها در مکانسیم تنظیم اسمزی است.

کلید واژگان : Na^+,K^+-ATPase، یونوسیت، *Silurus glanis*، تنظیم اسمزی، ایمونوهیستوشیمی

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هشتم، شماره ۱، بهار ۸۵، صفحات ۵۲-۴۵

مقدمه

گربه ماهیان از خانواده سیلوریده (Siluridae) در آب‌های شیرین رودخانه های بزرگ و دریاچه‌های دارای بستر نرم و گاه آب‌های لب شور دیده می‌شوند. این ماهی‌ها در اکثر کشورها جزء ماهیان مهم پرورشی محسوب می‌شوند و به دلیل داشتن گوشت سفید فاقد استخوان و کم‌چرب، ارزش اقتصادی بالایی دارند.

در ایران دو گونه از این خانواده گزارش شده است که گونه *S. glanis* با نام اسبله در ایران در طول خط ساحلی دریای خزر، رودخانه ارس، مرداب انزلی، سد منجیل و سد مهاباد یافت می شود (۱) و در حال حاضر فیله آن جهت مصرف در بازار به فروش می‌رسد.

اسبله ماهی، ساکن آب شیرین و نسبت به محیط خود دارای حالت هیپراسموتیک است (اسمولاریته خون ۳۵۰-۳۰۰ میلی اسمول بر کیلو در مقابل ماکزیمم ۵ میلی اسمول بر کیلو آب شیرین) (۲، ۳). در چنین شرایطی ماهی با مشکل هجوم آب به درون بدن و خروج یون‌ها روبرو است. در ماهی‌های آب شیرین برای مقابله با این مشکل سطوح تماس با آب طوری تعبیه شده که حداقل نفوذپذیری را نسبت به آب داشته باشند. این ماهی‌ها آب نمی‌نوشند و سطوح تنفسی آنها برای تبادلات گازی مطلوب، نازک و وسیع است (۲، ۳) و معمولا بیشترین مقدار مواد محلول را از دست می‌دهند و آب را غیرارادی جذب می‌کنند. پس ماهی‌ها به بافت‌ها و سلول‌های خاصی برای باز گرداندن یون‌های از دست رفته و خروج آب اضافی نیاز دارند. آبشش‌ها نقش بسیار مهمی در ثابت نگه داشتن ترکیب یونی درون بدن در مواجهه با محیط‌های هیپراسموتیک و هیپواسموتیک دارند (۲). ساختار آبشش ماهی‌های استخوانی به عنوان عضو فعال در انتشار گازهای تنفسی، تنظیم یونی و دفع مواد زاید به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۷-۲). امروزه سلول‌های یونوسیت (سلول‌های کلراید: سلول‌های غنی از میتوکندری) به عنوان مکان‌هایی برای خروج Na^+ و Cl^- در ماهی‌های آب دریا و به عنوان مسئول جذب فعال یون (خصوصا سدیم) در گونه‌های آب شیرین شناخته می‌شوند (۲، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۲۲). تحقیقات بر روی گربه ماهی Armored در برزیل نشان داده

Archive of SID

www.SID.ir

است که در آب‌های فقیر از نظر یون، سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌ها و رشته‌های آبششی این ماهی حضور دارد (۴).

یکی از مکانیسم‌های بسیار مهم انتقال فعال، پمپ سدیم – پتاسیم است. این پمپ یون‌های سدیم را به بیرون از غشای سلول می‌راند و یون‌های پتاسیم را به درون غشا پمپ می‌کند. پروتیین حامل این پمپ از دو پروتیین مجزای گلوبولی تشکیل شده است. وزن پروتیین بزرگتر موسوم به زیر واحد α تقریبا دو برابر وزن پروتیین کوچکتر یعنی زیر واحد β می‌باشد. پروتیین β کمپلکس پروتیین را در غشا چربی نگه می‌دارد و پروتیین α دارای گیرنده‌های سدیم و پتاسیم است و قسمتی از درون آن فعالیت ATPase دارد (Na^+,K^+-ATPase). این پمپ معمولا در تمام سلول‌ها وجود دارد ولی تراکم آن در سلول‌های دخیل در تنظیم یونی (مانند سلول‌های یونوسیت) خیلی بیشتر است (۱۵).

تحقیقات نشان داده است آنزیم Na^+,K^+-ATPase نقش محوری در انتقال یونی سلول‌های یونوسیت ایفا می‌کند. پروتیین α دارای واکنش‌پذیری ایمنیایی (Immunoreactivity) است و ثابت شده است که شدت این واکنش با فعالیت آنزیم مرتبط است (۱۶). اخیرا از آنتی بادی $IgG\alpha_5$ جهت مکان‌یابی سلول‌های یونوسیت و در واقع برای تعیین مکان‌های حضور آنزیم Na^+,K^+-ATPase در حد وسیعی استفاده شده است (۷، ۸، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۷).

با وجود مطالعات فراوان روی سلول‌های یونوسیت ماهی‌های مختلف و خصوصا آزاد ماهیان، مطالعه‌ای روی پراکنش، ساختار و عمل سلول‌های یونوسیت و همچنین آنزیم Na^+,K^+-ATPase در آبشش گربه ماهیان سیلوریده انجام نگرفته است. شناخت ساختار و مکانیزم اندام‌های تنظیم اسمزی آبزیان می‌تواند نقش موثری در انتخاب آنها برای پرورش در آب‌های مختلف داشته باشد. نظر به اینکه گربه ماهی *S. glanis* ماهی آب‌های شیرین است و به ندرت وارد مصب ها می‌شود، شناخت ساختار آبششی و پراکندگی سلول‌های یونوسیت آن موضوع این تحقیق قرار گرفته است.

در این تحقیق از آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ برای مکان‌یابی سلول‌های یونوسیت و همچنین تعیین محل حضور آنزیم Na^+,K^+-ATPase در آبشش ماهی *S. glanis* استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰ عدد گربه ماهی یک ساله به طول استاندارد متوسط ۱/۴±۲۰ سانتی‌متر و به وزن ۱۵±۳۰۰ گرم در خرداد ماه سال ۱۳۸۳ از سد مهاباد صید و قسمتی از آبشش‌ها (یک سانتی‌متر مکعب) بلافاصله پس از صید جدا و در محلول بوئن فیکس شد. نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت از محلول بوئن خارج و در الکل اتانول ۷۰ درصد قرار گرفت. برای از بین بردن بقایای رنگ زرد بوئن از روی آبشش‌ها، نمونه‌ها چندین نوبت در الکل اتانول ۷۰درصد شستشو داده شدند. بعد از بیست روز نمونه‌ها از الکل ۷۰درصد خارج و برای آب‌گیری به ترتیب در الکل ۹۰درصد (یک ساعت) الکل ۹۵درصد (یک ساعت) الکل ۱۰۰درصد (یک ساعت) و نهایتا در الکل بوتانل (۱۲ ساعت) قرار داده شدند. نمونه‌ها سپس سه نوبت ۴ ساعته داخل پارافین مایع واقع در اون قرار گرفت و در پایان در پارافین قالب‌گیری شدند (۸، ۱۸).

از قالب‌ها، به وسیله میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و روی لام‌های با پوشش Poly-L-Lysin قرار داده شدند. برای مطالعه ساختار بافت‌شناسی آبشش‌ها، لام‌ها به وسیله هماتوکسلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه شدند.

تعیین مکان حضور آنزیم Na^+,K^+-ATPase با استفاده از آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$:

Monoclonal Antibody Raised Against the α-subunit of the Chicken Na^+,K^+-ATPase; Developmental (Studies Hybridoma Bank, The University of Iowa, USA)

و آنتی بادی FITC:

Mouse Anti-fluorescein Antibody (Jackson Immuno Research, USA)

و میکروسکوپ نوری فلوئورسانس انجام گرفت.

برای مطالعه ایمونوهیستوشیمی، لام‌ها بعد از پارافین‌زدایی در (Histochoice Clearing Agent: HCA) و آب‌دهی در الکل اتانول به ترتیب ۱ دقیقه در محلول (Phosphate Buffered Saline: PBS)، ۱۰ دقیقه در محلول A (۴۰۰ سی‌سی PBS ۱۰ میلی‌مول + ۳/۵ گرم کلرید سدیم) و ۲ دقیقه در محلول B (۵۰ درصد PBS و ۵۰ درصد Regiler که نوعی شیر خشک است) قرار داده شدند (۸، ۹، ۱۲). سپس لام‌ها به مدت ۲ دقیقه در PBS شستشو داده شد و داخل یک جعبه حاوی هوای مرطوب، به طوری که سطح دارای برش به طرف بالا باشد، چیده شد. بر روی هر لام ۲–۳ قطره از آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ رقیق شده (۱۰۰ میکرولیترآنتی‌بادی با ۹۰۰ میکرولیتر BS در یک میلی لیتر محلول) به میزان ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۱۰ لام در PBS اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از شستشوی آنتی‌بادی اضافی با PBS، ۳–۲ قطره از آنتی‌بادی FITC (۵ میکرولیتر FITC به علاوه ۹۹۵ میکرولیتر PBS در یک میلی‌لیتر محلول) روی هر لام اضافه و به مدت یک ساعت در محیط کاملا تاریک نگه داشته شد. سپس لام‌ها با PBS شستشو و با استفاده از مایع مونتاژ، مونتاژ شدند.

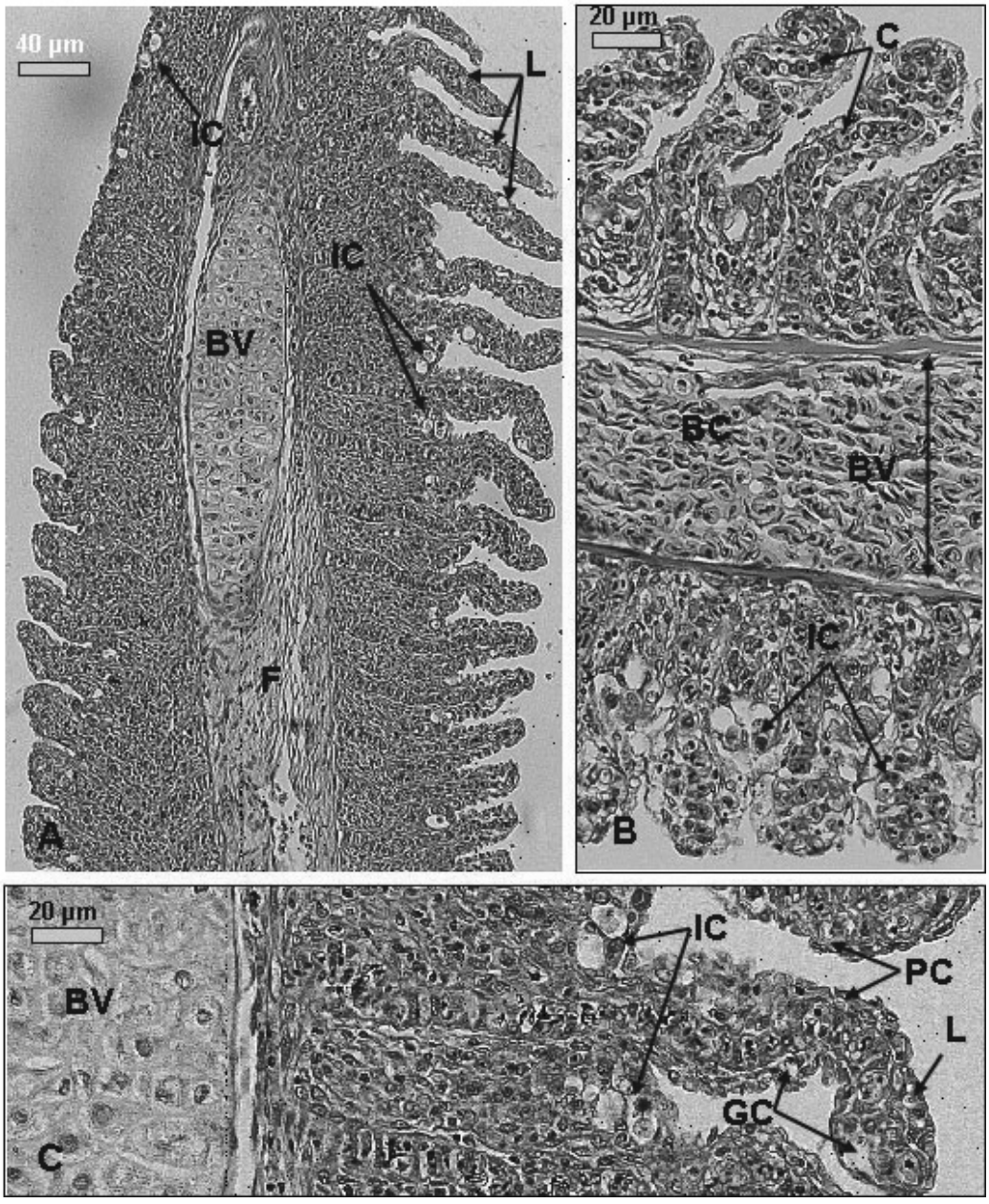
برای پی‌بردن به درستی کارکرد این آنتی‌بادی به صورت یک در میان به تعدادی از لام‌ها آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ اضافه نشد اما آنتی‌بادی FITC به لام‌های شاهد منفی اضافه شد تا این لام‌ها با فلوئورسانس نشدن متمایز شوند. کلیه لام‌ها بعد از قرار دادن لامل روی آنها در جعبه‌های مخصوص چیده و برای حفظ خواص فلوئورسانسی در جای کاملا تاریک نگهداری شد. لامها توسط میکروسکوپ نوری فلورسانس (Leitz Diaplan Coupled to a Ploemopak 1- Lambda Lamp) با فیلترهای ۴۹۰–۴۵۰ نانومتر مشاهده و عکس‌برداری شد.

یافته‌ها

مشاهدات بافت‌شناسی نشان داد که در گربه ماهی *S. glanis* هر

Archive of SID
www.SID.ir

کمان برانشی (Arch) از دو ردیف رشته‌های ظریف برانشی (Filament) پوشیده شده است و بر روی هر رشته برانشی تعدادی صفحات نازک و پهن موسوم به تیغه‌های آبششی (Lamellae) با ارتفاع متوسط ۱۰۰ میکرومتر به صورت دو ردیف عمود بر محور طولی رشته قرار گرفته‌اند (شکل ۱A و ۱B). بخش انتهایی یا نوک رشته فاقد تیغه است (شکل ۱A و ۱B).

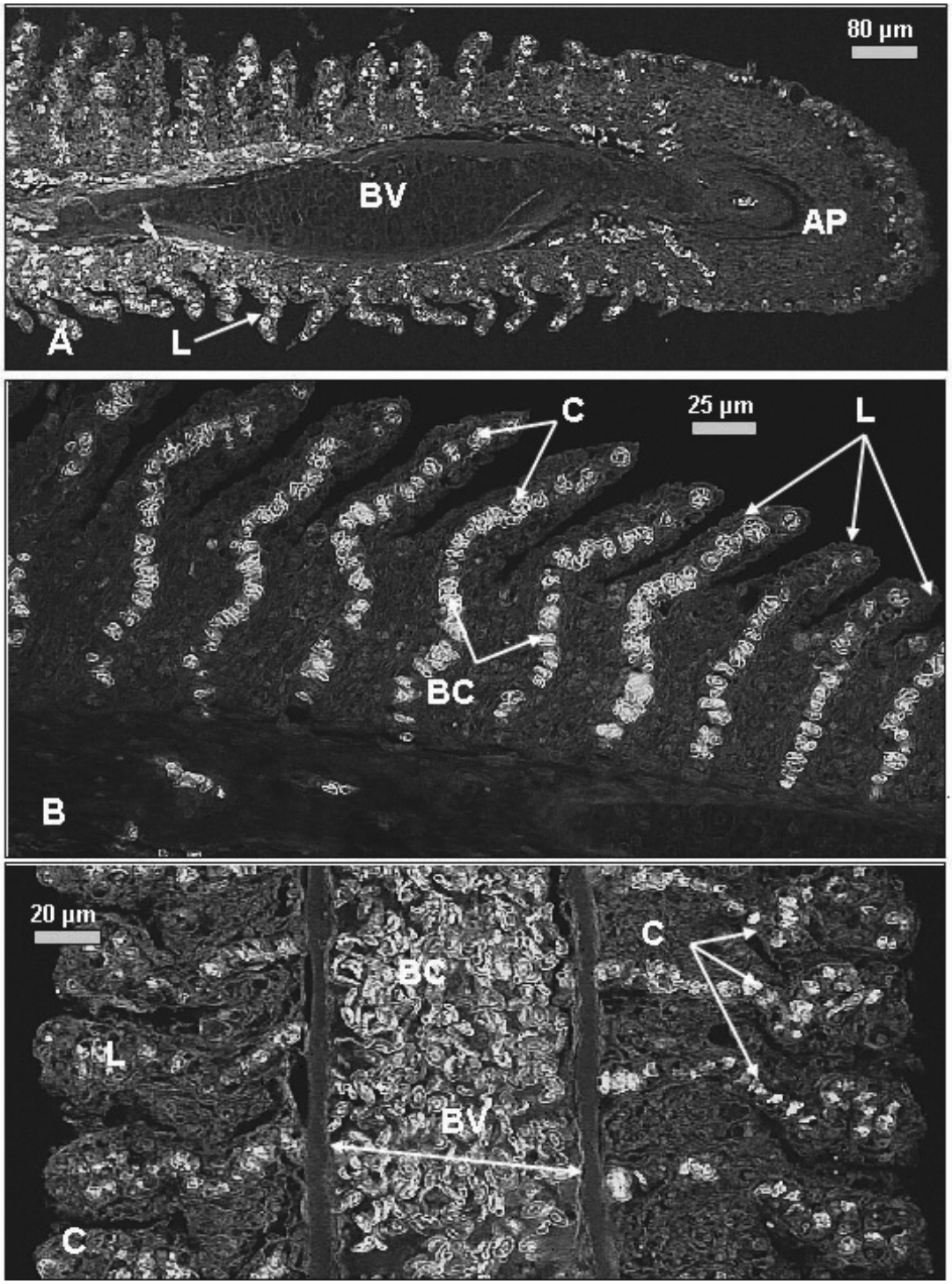


شکل ۱: **A**) برش طولی رشته آبششی (فیلامنت). تیغه‌های آبششی (لاملاها) در دو سمت رشته به خوبی قابل رویت هستند. در محور میانی رشته، بخشی از رگ خونی محتوی سلول‌های خونی مشاهده می‌شود. سلول‌های یونوسیت در ناحیه بین تیغه‌ای (**Interlamellar**) قرار دارند. **B**) قسمتی از رشته و تیغه‌ها در دو سمت آن. مویرگ‌های حامل سلول‌های خونی در امتداد تیغه‌ها به خوبی قابل مشاهده هستند. رگ خونی میانی رشته، بخش وسیعی از بافت رشته آبششی را در بر گرفته است. **C**) سلول‌های یونوسیت با رنگ روشن، اندازه درشت و شکل کروی در ناحیه بین تیغه‌ای قرار دارند. در ناحیه بین تیغه‌ای تجمعی از سلول‌های مختلف همچون سلول‌های سنگفرشی و جامی (**Goblet cells**) دیده می‌شود.

AP: Apical part of filament ناحیه راسی رشته آبششی؛ **BC: blood cell** سلول خونی؛ **BV : Blood vessel** رگ خونی؛ **C: Capillary** مویرگ؛ **F: Filament** رشته آبششی؛ **GC: Goblet cell** سلول جامی؛ **IC: Ionocyte cell** سلول یونوسیت؛ **L: Lamella** تیغه آبششی؛ **N: Nucleus** هسته سلول؛ **PC: Pavement cell** سلول سنگفرشی

(نمونه رنگی شکل در انتهای مقالات)

www.SID.ir



شکل ۲: **A**) برش طولی رشته آبششی (نمونه شاهد). همان‌طور که مشاهده می‌شود هیچ گونه فلوئورسانسی دیده نمی‌شود. **B**) برش طولی رشته و تیغه‌های آن (نمونه شاهد). در این تصویر مویرگ‌های درون تیغه‌ها به خوبی مشخص‌اند و فلوئورسانسی دیده نمی‌شود. **C**) قسمتی از برش طولی رشته (نمونه شاهد). تیغه‌ها، مویرگ‌ها و سلول‌های خونی به خوبی مشخص هستند و فلوئورسانسی دیده نمی‌شود.

AP: Apical part of filament ناحیه راسی رشته آبششی؛ **BC: blood cell** سلول خونی؛ **BV : Blood vessel** رگ خونی؛ **C: Capillary** مویرگ؛ **F: Filament** رشته آبششی؛ **GC: Goblet cell** سلول جامی؛ **IC: Ionocyte cell** سلول یونوسیت؛ **L: Lamella** تیغه آبششی؛ **N: Nucleus** هسته سلول؛ **PC: Pavement cell** سلول سنگفرشی

(نمونه رنگی شکل در انتهای مقالات)

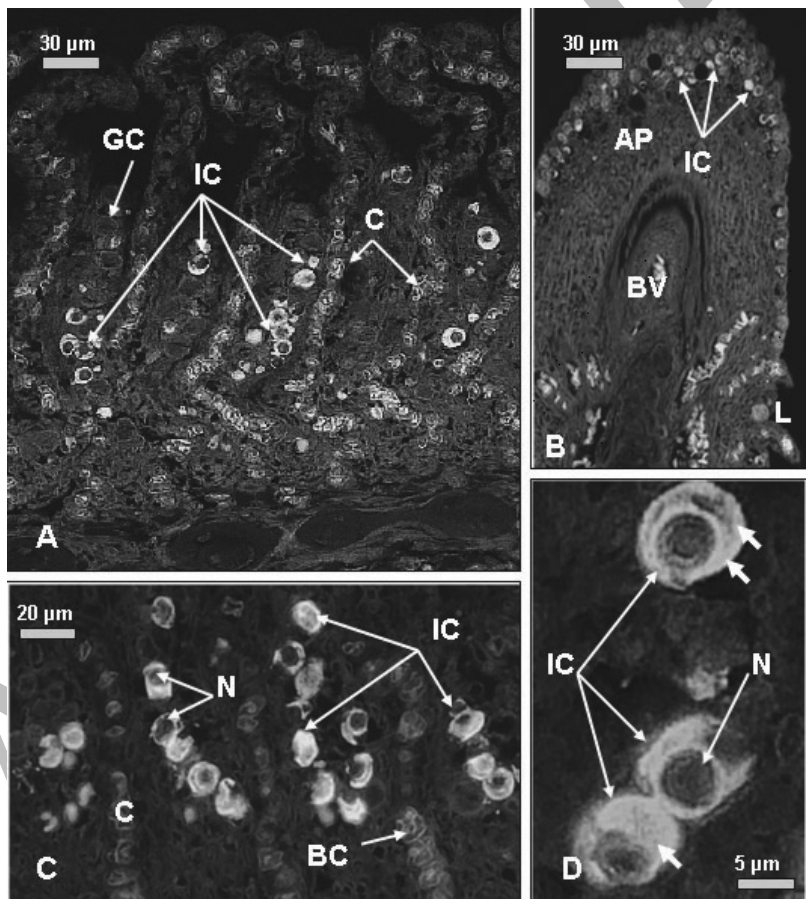
www.SID.ir

در برش طولی هر رشته، یک محور مرکزی شامل رگ‌هایخونی و همچنین دو برش ردیف تیغه‌های آبششی مشاهده می‌شوند (شکل ۱C). تعداد زیادی سلول‌های خونی در داخل رگ‌ها قابل مشاهده است (شکل ۲A، ۲B و ۲C). رشته‌ها و تیغه‌های آبششی توسط بافت پوششی تخصص یافته‌ای پوشیده شده است. این بافت پوششی دارای سلول‌های همراه، سلول‌های موکوسی و سلول‌های یونوسیت است (شکل ۳A).

سلول‌های یونوسیت یا کلراید به طور منفرد و گاه چندتایی در بین سایر سلول‌ها جای گرفته‌اند (شکل ۳A).

در روش ایمونوهیستوشیمی، آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ روی آنزیم Na^+,K^+-ATPase قرار گرفته و با حضور آنتی بادی دوم این آنزیم را به صورت فلوئورسانس نشان می‌دهد. مطالعه ایمونوفلوئورسانس در لام‌های شاهد منفی نشان داد که سلول‌ها هیچ گونه فلوئورسانسی از خود نشان نمی‌دهند (شکل ۲A، ۲B و ۲C). در سایر لام‌ها، هیچ سلول ایمونوفلوئورسانسی روی تیغه‌های آبششی دیده نشد ولی تعدادی سلول ایمونوفلوئورسانس در روی رشته‌های آبششی درست در فضاهای بین تیغه‌ای دیده شدند (شکل ۳A). تعدادی از این سلول‌های ایمونوفلوئورسانس در ناحیه رأسی رشته‌های آبششی نیز مشاهده شدند (شکل ۳B). در بزرگ‌نمایی بیشتر (۱۰۰×) مشاهده شد که این سلول‌ها، گرد- بیضوی و دارای یک هسته درشت در وسط هستند (شکل ۳C و ۳D).

سلول‌های یونوسیت تقریبا به صورت مجتمع دیده می‌شوند و با سلول‌های خونی رنگ‌پذیری کاملا متفاوتی دارند (شکل ۳C). ایمونوفلوئورسانسی قوی از آنزیم Na^+,K^+-ATPase در ناحیه قاعده‌ای-جانبی سلول‌ها مشاهده شد و هسته سلول‌ها هیچ‌گونه ایمونوفلوئورسانسی از خود نشان ندادند (شکل ۳D).



شکل ۳: A) قسمتی از برش طولی رشته و تیغه‌ها. سلول‌های یونوسیت در فضای واقع در بین پایه تیغه‌ها قرار گرفته‌اند. B) سلول‌های یونوسیت در ناحیه رأسی رشته نیز دیده می‌شوند. C) سلول‌های یونوسیت در ناحیه بین تیغه‌ای به صورت تقریبا مجتمع دیده می‌شوند و با سلول‌های خونی رنگ‌پذیری کاملا متفاوتی دارند. D) سلول‌های یونوسیت گرد-بیضوی با هسته گرد درشت می‌باشند. ملاحظه می‌شود هسته این سلول‌ها هیچ فلوئورسانسی از خود نشان نداده و به رنگ تیره دیده می‌شود.

AP: Apical part of filament ناحیه راسی رشته آبششی؛ **BC: blood cell** سلول خونی؛ **BV: Blood vessel** رگ خونی؛ **C: Capillary** مویرگ؛ **F: Filament** رشته آبششی؛ **GC: Goblet cell** سلول جامی؛ **IC: Ionocyte cell** سلول یونوسیت؛ **L: Lamella** تیغه آبششی؛ **N: Nucleus** هسته سلول؛ **PC: Pavement cell** سلول سنگفرشی

(نمونه رنگی شکل در انتهای مقالات)

www.SID.ir

بحث

مطالعه بافت‌شناسی آبشش ماهی اسبله نشان می‌دهد که رشته‌های آبششی توسط تیغه‌های آبششی ظریف و نسبتا کوتاهی پوشیده شده است. فضای اشغال شده توسط تنه اصلی هر رشته نسبت به تیغه‌های آبششی وسیع‌تر است و به عبارتی وسعت بخش تنفسی آبشش خیلی قابل ملاحظه نیست. مطالعات روی ساختار آبشش ماهی‌های مختلف نشان داده است که آبشش در ماهی‌های پرتحرک مثل آزاد ماهیان و تون ماهیان نسبت به ماهی‌های کم تحرک و کف‌زی وسیع‌تر است (۱۹). مساحت کل آبشش‌ها بر حسب واحد قراردادی نسبت به گرم وزن بدن در ماهی تن Mackerel ۲۵۵۱، در آزاد ماهی دریایی ۱۲۵۳ و در Toadfish برابر با ۱۳۷ است (۱۹). لذا با توجه اینکه ماهی اسبله یک ماهی کم تحرک و کف زی است کم بودن وسعت بخش تنفسی آبشش‌ها یعنی تیغه‌های آبششی قابل توضیح است.

استفاده از آنتی‌بادی IgGα$_5$ جهت مکان‌یابی آنزیم Na^+,K^+-ATPase و در واقع سلول‌های یونوسیت در حشرات آب‌زی (۱۰)، سخت‌پوستان (۷، ۸، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۷، ۲۰) و ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (۱۳)، باس دریایی (۱۷، ۲۰)، گوپی (۲۱)، سالمون چام (۱۶) خامه ماهی(۵) از موفق‌ترین روش‌ها است.

نتایج تحقیق حاضر روی آبشش اسبله ماهی نیز نشان داد این آنتی‌بادی در واکنش با آنزیم Na^+,K^+-ATPase ایمونوفلوئورسانس قابل ملاحظه‌ای تولید می‌کند و قادر به شناسایی محل حضور آنزیم و به عبارتی محل حضور سلول‌های یونوسیت است.

سلول‌های ایمونوفلوئورسانت در قسمت انتهایی (نوک) رشته‌های آبششی و همچنین در ناحیه بین تیغه‌های آبششی ماهی *S. glanis* حضور داشتند و هیچ سلول ایمونوفلوئورسانسی روی تیغه‌های آبششی دیده نشد. در برش طولی رشته‌های آبششی مجموعه‌ای از رگ‌های خونی به همراه اریتروسیت‌ها قابل مشاهده است. بیشترین تراکم فلوئورسانسی در ناحیه قاعده ای–جانبی سلول‌ها بیانگر این امر است که این سلول‌ها در تبادلات فعال یونی شرکت دارند. بر اساس این مشاهدات می‌توان گفت که در ماهی اسبله سلول‌های یونوسیت در بخش انتهایی رشته‌های آبششی و در لابلای بخش پایه‌ای تیغه‌های آبششی واقع شده‌اند. بررسی‌ها روی ماهیان مختلف بیانگر این است که سلول‌های یونوسیت معمولا روی لبه آوران رشته‌ها و در ناحیه بین تیغه‌های آبششی فراوان‌ترند و معمولا روی بافت پوششی تیغه‌ها یافت نمی‌شوند (۲). هر چند که سازگاری به شرایط محیطی خاص مثل آب‌های شیرین فقیر از نظر یونی کشور برزیل در مورد Armored catfish (*Hypostomus* CF. p*lecostomus*) سبب حضور سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌های آبششی جهت بهبود ظرفیت تنظیم یونی آبشش شده است (۴).

ویترز و همکاران نشان دادند که در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، سلول‌های یونوسیت به طور کلی در ناحیه بین تیغه‌های آبششی قرار گرفته اند. ضمنا در Paddlefish (*Polydon spathula*) سلول‌های یونوسیت در ناحیه قاعده‌ای تیغه‌های آبششی و همچنین بین تیغه‌ها قرار دارند (۱۱).

نتایج تحقیق شیکانو و فوجیو روی ماهی Guppy نشان داده است که در دوره سازگاری این ماهی به آب دریا و آب شیرین، نه تنها تعداد و اندازه سلول‌های یونوسیت بلکه میزان حضور آنزیم Na^+,K^+-ATPase در آبشش ماهی نیز برای عملکرد تنظیم یونی ضروری است. در خامه ماهی سلول‌های یونوسیت در مناطق بین تیغه‌ای قرار دارد و به ندرت روی بافت پوششی رشته‌های آبششی مشاهده می‌شوند. در این ماهی، بعد از سازگار شدن به آب شیرین سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌های آبششی پدیدار و به فراوانی دیده می‌شوند. در ماهی‌های استنوهالین آب شیرین (۲۲) و در ماهی یوری‌هالین سازگاری داده شده به آب شیرین (۳، ۲۳) حضور سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌های آبششی نیز گزارش شده است.

همان طور که گفته شد در اسبله به عنوان ماهی آب شیرین سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌های آبششی حضور ندارند و احتمالا وجود سلول‌های یونوسیت روی تیغه‌های آبششی ماهیان استخوانی یوری‌هالین سازگاری داده شده به آب شیرین برای کمک به جبران نیاز فیزیولوژیک به یون باشد. گرچه نتایج تحقیقات انجام شده روی سایر ماهی‌ها این مساله را تایید نمی‌کند (۶، ۲۴).

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد سلول‌های یونوسیت آبشش *S. glanis* گرد–بیضوی است و آنزیم Na^+,K^+-ATPase به میزان قابل ملاحظه‌ای در قسمت قاعده‌ای–جانبی این سلول‌ها حضور دارد. بنابراین حضور قابل ملاحظه این آنزیم را می‌توان بیان‌گر توانایی هیپواسمولاریتی در گربه ماهی در نظر گرفت. قرار گرفتن آنزیم Na^+,K^+-ATPase در قسمت قاعده‌ای–جانبی سلول‌های یونوسیت در نتیجه تحقیقات قبلی نیز آورده شده است (۵، ۲۵).

نتیجه‌گیری

در گربه ماهی *S. glanis* سلول‌های یونوسیت را می‌توان با روش ایمونوهیستوشیمی مکان‌یابی کرد. سلول‌های یونوسیت در ناحیه بین تیغه‌های آبششی و هم چنین روی اپی‌تلیال ناحیه رأسی رشته‌های آبششی قرار گرفته‌اند و حضور متراکم آنزیم Na^+,K^+-ATPase در ناحیه قاعده‌ای–جانبی این سلول‌ها می‌تواند در نتیجه شرکت فعال آنها در تنظیم فشار اسمزی باشد. لذا می‌توان گفت که توانایی زیست ماهی *S. glanis* در آب شیرین به دلیل حضور یونوسیت‌ها و آنزیم Na^+,K^+-ATPase در آبشش است.

References

۱. عبدلی ا، ماهیان آبهای داخلی ایران ، انتشارات موزه طبیعت و حیات وحش ایران ، ۱۳۷۸، صفحات ۲۶۱–۲۶۰

2. Evans DH, Piermarini PM, Choe KP: The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange,

Archive of SID

www.SID.ir

osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. Physiol Rev 2005; 85: 97-177

3. Sakamoto T, Uchida K, Yokota S: Regulation of the iontransporting mitochondria-rich cell during adaptation to teleost fishes to different salinities. Zoological Science 2001; 18: 1163-1174

4. Fernandes MN, Perna-Martines SA: Epithelial gill cells in the Armored catfish, *Hypostomus CF. plecostomus* (Loricariidae). Rev Brasil Biol 2001; 61(1): 69-78

5. Karnaky KJ, Kinter LB, Kinter WB, Stirling CE: Teleost chloride cell. II. Autoradiographic localization of gill Na+,K+-ATPase in Killfish Fundulus heteroclitus. J Cell Biol 1976; 70: 157-177

6. Laurent P, Perry SF: Environmental effects on fish gill morphology. Physiol Zool 1991; 64: 4-25

7. Varsamos S, Nebel C, Charmantier G: Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review, Comparative Biochemistry and Physiology part A 2005; 141: 401-429

8. Khodabandeh S, Chamantier G, Blasco C, Grousset E, Chamantier-Daures M: Ontogeny of the antennal gland in the Crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): anatomical and cell differentiation. Cell Tissue Res 2005a ; 319: 153-165

9. Khodabandeh S, Kutnic M, Aujoulat F, Chamantier G , Chamantier-Daures M: Ontogeny of the antennal gland in the Crayfish Astacus *leptodactylus* (Crustacea, Decapoda):immunolocalization of Na+,K+-ATPase. Cell Tissue Res. 2005b; 319: 167-174

10. Khodabandeh, S: Na+,K+-ATPase in the gut of the Zygoptera Ischnura elegans and Anisoptera *Libellula Lydia* larvae (Odonata): activity and immunocytochemical localization .Journal of Zoological Studies 2006; (article in press)

11. Krayushkina LS, Semenova OG, Panov AA, Gerasimov AA, Ogorzalek A: Reaction of the osmoregulatory system of the Paddlefish *Polydon spathula* Walb. To marine environment . Zoologica Poloniae 2000; 45/1-4: 95-120

12. Lignot JH, Chamantier-Daures M, Chamantier G: Immunolocalization of Na+,K+-ATPase in the organs of the branchial cavity of the European lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, decapoda). Cell Tissue Res 2001; 296: 417-426

13. Witters H, Berckmans P, Vangenechten C: Immunolocalization of in the gill epithelium of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Cell and Tissue Res 1996; 283(3): 461-468

14. Ziegler A: Immunocytochemical localization of Na^+,K^+-ATPase in the calcium transporting sternal epithelium of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* L (Crustacean). J Histochem Cytochem 1997; 45: 437-446

15. Reuss L, Wills NK and Lewis, SA: Epithelial Transport Proteins, in Nancy, K., Wills, N. K., Reuss, S. A., L., Lewis, S. A. (Eds), Epithelial Transport: A Guide to Methods and Experimental Analysis, Chaman and Hall, 1996, 21- 49

16. Shikano, T. and Fujio, Y: Immunolocalization of in the branchial epithelium of chum salmon fry during seawater and fresh water acclimation. Experimental Biology 1998a; 201: 3031-3040

17. Nebel C, Negre-Sadargues G, Blasco C, Chamantier G: Morphofunctional ontogeny of the urinary system of the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Anat Embryol 2005 ; 209: 193-206

18. Martoja R, Martoja-Pierson M: Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et cie Editeurs , Paris ,1967

۱۹. ستاری م، شاهسونی د، شفیعی ش، ماهی شناسی، تشریح و فیزیولوژی، جلد ۱، انتشارات نقش مهر، ۱۳۸۲، صفحات ۱۷۵– ۱۶۵

20. Varsamos S, Diaz JP, Chamantier G, Blasco C, Connes R, Flik G: Location and morphology of chloride cells during the postembryonic development of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* .Anatomical Embryology 2002; 205: 203-213

21. Shikano T, Fujio Y: Relationship of salinity tolerance to immunolocalization of in the gill epithelium during sea water and fresh water adaptation of the Guppy, *Poecilia reticulate*. Zoological Science 1998b; 15: 35-41

22. Lee TH, Hwang PP, Lin HC, Huang FL: Mitochondria-rich cells in the branchial epithelium of the teleost, *Oreochromis mossambicus*, acclimated to various hypotonic environments. Fish. Physiol. Biochem. 1996; 15: 513-523

23. Varsamos S, Wendelaar Bonga SE, Flik G, Quere R, Commes T: Cloning of apiromelanocortin cDNA from the pituity gland of the sea bass *Dicentrarchus labrax* and assessment of mRNA expression in different tissues by means of real-time PCR. J Endocrinol 2003; 176: 405-414

24. Lin HC, Sung WT: The distribution of mitochondria-rich cells in the gills of air-breathing fishes. Physiol. Biochem. Zool 2003; 76: 215–228

Archive of SID
www.SID.ir

25. Hootman SR, Philpott CW: Ultracytochemical localization of Na,K-activated ATPase in chloride cells from the gills of a euryhaline teleost. Anat Rec 1979; 193: 99-130

Archive of SID

www.SID.ir