بررسی میکروسکوپی هیستوژنز سلول های اپاندیمی در بطن های جانبی مغز جنین گوسفند

سیدسجاد حجازی[۱]*، رسول شهروز[۲]، محمد منافی[۳]، یوسف انگوری[۳]

چکیده

هدف از این مطالعه، تعیین مورفوژنز سلول های بافت اپاندیم در طول دوره جنینی تا بدو تولد، در بطن های جانبی مغز گوسفند می باشد. مطالعه از نوع مشاهده ای توصیفی بود و بررسی بر روی ۵۰ جنین گوسفند انجام گردید. نمونه های مورد نظر به روش نمونه‌برداری تصادفی (Random sampling) جمع آوری شدند. طول جنین های جمع آوری شده، اندازه گیری شد و طبق فرمول X= 2.1 (Y+17) سن آنها محاسبه گردید. مغز جنین ها بعد از پایدار شدن در فرمالین بافر ۱۰٪ از کاسه سر جدا و با برش عرضی از خلف Optic ciasma نمونه های مورد نظر از بطن های جانبی جدا گردید. نمونه ها بعد از طی مراحل تهیه مقاطع آسیب شناسی و رنگ آمیزی، از لحاظ بافت شناسی بررسی شدند. در مشاهدات ریزبینی، توده سلول های نوروبلاستی پیرامون بطن جانبی از دو ناحیه متراکم Ventricular zone و غیر متراکم Subventricular zone تشکیل شده بود و در ناحیه متراکم فعالیت میتوزی شدیدی وجود داشت. بافت پوششی اپاندیم در روند تکامل از حالت شبه مطبق به مکعبی ساده تغییر شکل داد. ضخامت و فعالیت میتوزی توده نوروبلاستی در قسمت های مختلف دیواره بطن جانبی جنین رابطه مستقیمی با میزان رشد سایر بخش های مغز داشت. پایداری مژه های سلول های اپاندیم ارتباط مستقیمی با گسترش شبکه کوروئید داشت.

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۱، ٦٤-۵۷.

کلمات کلیدی: بطن های جانبی، سلول اپاندیم، جنین، شبکه کوروئید، گوسفند

مقدمه

لوله عصبی حاوی لایه ای از سلول های نورواپیتلیال به صورت شبه مطبق است که به آن لایه بطنی گفته می شود. این سلول های غیر متمایز سریعاً شروع به تقسیمات میتوزی کرده و تبدیل به سلول های لایه زیرین خود می شوند (۸). در لایه زایگر مغز قدامی جنین، دو لایه سلولی شامل سلول های اپاندیمی (Ependymal cells) و سلول های زیر اپاندیمی (Subependymal cells) قابل تشخیص است که از لحاظ

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران.
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه اورمیه، اورمیه، ایران.
۳. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: dr.hejazi@iaut.ac.ir

Microscopic study of the histogenesis of ependymal cells located in the lateral ventricles of ovine fetal brain

Hejazi, S[1]., Shahruz, R[2]., Manafi, M[3]., Angouri, Y[3].

1-Department of Basic Sciences, Veterinary Faculty, Islamic Azad University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2-Department of Basic Sciences, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.
3-Graduated from Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Tabriz, Tabriz, Iran.

The aim of this study is the determination of the morphogenesis of ependymal tissue cells during the fetal period to beginning of birth in lateral ventricles of sheep`s brain. The study was in the form of descriptive observation conducted on 50 sheep fetuses which were collected randomly. The length of the collected fetuses were measured and their age calculated by the formula x=2.1 (Y+17). Following fixation of the fetal brains in 10% buffered formalin they were separated from the skull and sectioned transversely caudal to the optic chiasma in order to obtain samples from the lateral ventricles. The samples were studied histologically after the histotechnique and staining procedures. Microscopically the group of neuroblastic cells surrounding the lateral ventricles consisted of ventricular and subventricular zones with intense mitotic activity in the ventricular zone. The ependymal epithelial tissue changed from pseudostratified to simple cuboidal during development. The thickness and mitotic activity of the neuroblastic mass at different parts of the lateral ventricular wall had a direct relationship with development of other parts of the brain. There was also a direct relationship between the retention of cilia in ependymal cells and the extension of the choroids plexus.

J. Spe. Vet. Sci. Islam. Azad. Uni. Tabriz. 1, 1: 57-64, 2007. **Key words:** Lateral ventricles, ependymal cells, fetus, choroid plexus, sheep

Corresponding author's email: dr.hejazi@iaut.ac.ir

مورفولوژی با هم متفاوت می باشند. این سلول ها دور تا دور بطن جانبی را احاطه کرده اند.

در بررسی توده دور بطن جانبی از لحاظ چرخه تقسیم سلول، دو جمعیت سلولی مطرح است، یکی از آن ها در حال تکثیر است که منطقه مربوطه تحت عنوان ناحیه بطنی (V.Z) شناخته می شود که لایه متراکمی است و دیگری از لحاظ تکثیر سلولی غیر فعال بوده و تصور می گردد که حاوی سلول های بنیادی

عصبی باشد. این منطقه تحت عنوان ناحیه (S.V.Z) شناخته می شود که لایه کم تراکمی می باشد (۱).

سلول های نوروایپتلیال مربوط به ناحیه V.Z نخستین گروه مهاجر در مسیر روند تکامل و هیستوژنز می باشند و به نظر می‌رسد که باقی مانده این سلول ها در نهایت منشاء همان لایه پوششی اپاندیمی مکعبی ساده مژه دار می شوند. سلول‌های تمایز نیافته ناحیه S.V.Z از سلول های ناحیه V.Z منشاء گرفته و در نهایت در اثر تکثیر و تمایز به نورون ها وسلول‌های گلیا، در بافت عصبی تبدیل می شوند (۱).

سلول های مژه دار بافت پوششی اپاندیمی نقش مهمی را در انتقال مایع مغزی نخاعی (CSF) مترشحه از شبکه کوروئیدی دارند (٦).

به نظر می‌رسد که سلول های اپاندیم در نقش سلول های بنیادی نیز می توانند ظاهر شوند ولی به طور دقیق ثابت نشده است (۱).

هدف از این مطالعه، تعیین مورفوژنز سلول های اپاندیمی درطول دوره جنینی تا بدو تولد، در بطن های جانبی مغز گوسفند می باشد. مغز و نخاع از لوله عصبی در هفته چهارم جنینی ایجاد می شوند (۳). در این مطالعه تغییر و تحولاتی که در طول دوره تکامل جنینی در بافت پوششی اپاندیمی رخ می دهد و وضعیت تکثیر سلولی در نواحی V.Z و S.V.Z و گسترش شبکه کوروئیدی به داخل فضای بطن های جانبی، بررسی می شود و همچنین الگوی زمان رشد مژه ها در سلول های پوششی اپاندیمی و ارتباط آن ها با شبکه کوروئیدی مورد مطالعه قرار می گیرد.

مواد و روش کار

جامعه آماری در این مطالعه شامل گوسفندان ماده آبستن کشتار شده در کشتار گاه صنعتی تبریز و واحد نمونه گیری در این مطالعه حدود ۱۰۰ جنین جدا شده از رحم مادران آبستن بود. نمونه برداری به روش تصادفی (Random sampling) انجام گرفت.

بعد از نمونه برداری طبق فرمول $X = 2.1 \ (Y + 17)$ سن جنین ها محاسبه گردید. در این فرمول Y برابر طول درازای جنین از فوق سر تا کپل است. بعد از تعیین سن، جنین ها پلاک‌زنی شده و در دفتر اطلاعات ثبت و در نهایت جهت پایدارسازی بافت های مغزی، در فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شدند. سن جنین های جمع آوری شده از ٦ هفتگی تا ۱۵۰ روزگی (بدو تولد) متغیر بود (نگاره۱). بعد از پایدارسازی کامل جنین ها در فرمالین ۱۰٪ ، ابتدا تمامی سر جنین ها از بدن آنها جدا گردید و بعد از پوست کنی و ایجاد شکاف در استخوان‌های جمجمه، مغز جنین ها به طور کامل خارج و در نهایت برشی از مقطع عرضی در ناحیه خلف Optic ciasma به طور سرتاسری به ضخامت ۰/۵ cm جدا و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و در نهایت بعد از طی مراحل آماده سازی، مقاطع تهیه شده با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

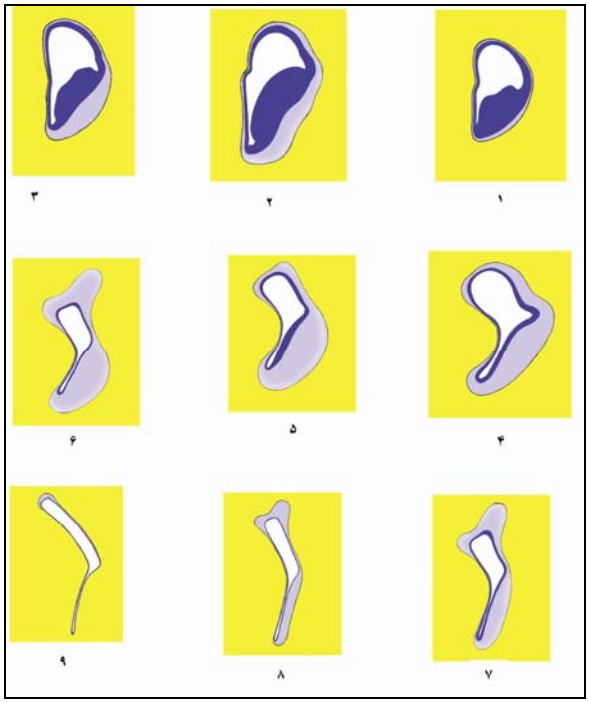
لازم به ذکر است که همزمان قطعات کوچکی از بافت مورد مطالعه جدا و از آنها، پس از پایدار سازی در گلوتارآلدئید ۳ درصد، برش هایی به ضخامت ۲۰ نانومتر طبق روش های رایج تهیه مقطع برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی ترانسمیشن تهیه گردید. برش ها پس از رنگ آمیزی با اورانیل استات و سیترات سرب با میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج

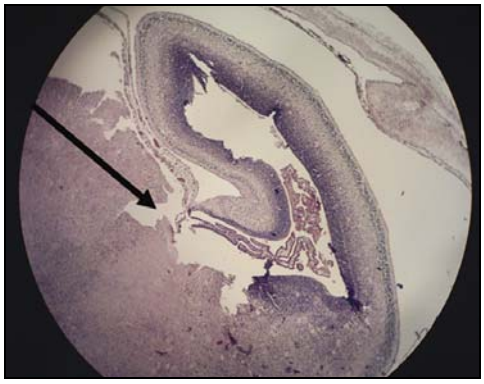
در مشاهدات ظاهری، اندازه حجم اشغال شده توسط بطن‌های جانبی نسبت به کل مغز در ماه های اول تکامل در مقایسه با فرم بالغ آن بیشتر بود و با افزایش سن جنین این حجم نسبت به کل مغز کاهش یافت. داخل فضای بطن ها توسط شبکه کوروئیدی اشغال شده بود. این گسترش شبکه قبل از هفته ششم آبستنی رخ داده بود. از لحاظ مورفوژنز، رشد بطن جانبی

در محور عمودی (Dorsoventral) بود و در هفته های پایانی آبستنی شکلی کاملاً باریک و کشیده داشت (نگاره۲). در هفته های ۱ ± ۲۲ از دیواره پشتی تا دیواره جانبی، چین‌خوردگی هایی به داخل فضای بطنی ظاهر گردید که از لحاظ مورفولوژی با سنین قبلی کاملاً متمایز بود. شبکه کوروئیدی نیز از ناحیه ای به نام شکاف کوروئیدی که در بخش دیواره داخلی بطن است وارد فضای بطن جانبی شده بود (نگاره۳). گسترش شبکه به داخل بطن ها قبل از هفته ششم رخ داده بود. سلول های شبکه کوروئیدی در ماه های اول آبستنی، با هسته هایی کروی شکل و کاملاً هتروکروماتینی و سیتوپلاسم روشن مشاهده شدند (نگاره٤). در حالیکه در هفته های ۱ ± ۲۲ آبستنی سلول ها با هسته های روشن یوکروماتینی و کشیده تر و سیتوپلاسم کف آلود دیده شدند (نگاره ۵). در بررسی انجام شده روی نواحی زایگر دور تا دور بطن های جانبی، روند تکامل در ناحیه زایگر Ventricular zone و Subvetricular zone دستخوش تغییرات قابل توجهی از لحاظ الگوی تکثیر و رشد سلولی بود. سلول های اپاندیم در ناحیه Ventricular zone تا روزهای ۵ ± ۵۰ آبستنی دارای بیشترین حجم توده سلولی در دور تا دور بطن های جانبی بودند و در ادامه تکامل، حدوداً از ماه دوم به بعد، سیر نزولی در تکثیر سلولی را نشان دادند. در حالی که الگوی رشد و تکثیر سلولی در ناحیه Subventricular zone حاکی از افزایش تدریجی ضخامت این ناحیه همراه با افزایش سلول های زیر اپاندیمی از روزهای ۵ ± ۵۰ به بعد بود که اوج ضخامت این ناحیه در روزهای ۱۰ ± ۸۰ آبستنی مشاهده شد ولی در ادامه رشد جنین، سیر نزولی را تا بدو تولد داشت، بطوریکه هر دو ناحیه Ventricular zone و Subventricular zone در زمان نزدیک به تولد کمترین تعداد سلول را داشتند.

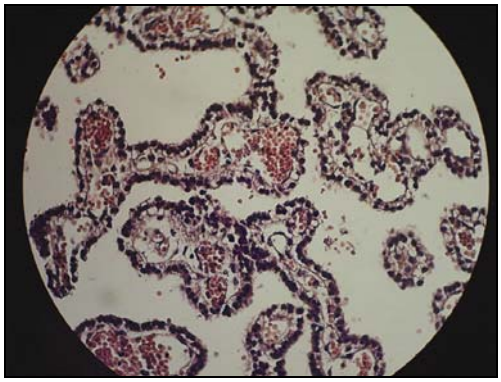
نگاره۱- نمونه هایی از مغزهای جنینی جمع آوری شده از سنین مختلف



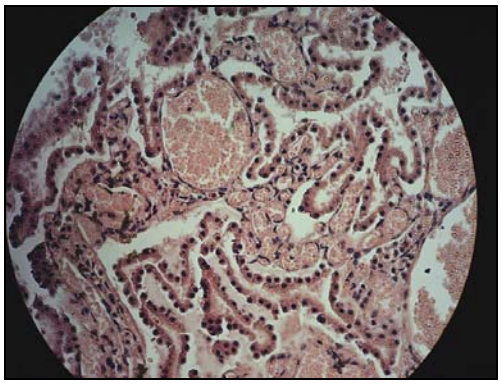
نگاره۲- مراحل مورفوژنز بطن جانبی در طول دوره آبستنی (ناحیه تیره:.V.Z و ناحیه روشن: S.V.Z).



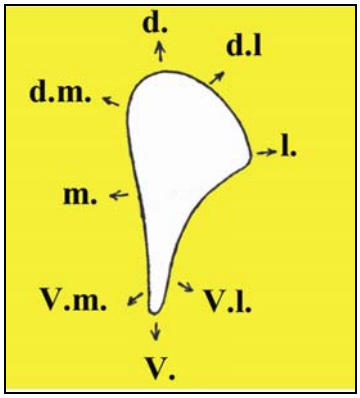
نگاره۳- مقطع بطن جانبی مغز جنین در هفته ششم، نفوذ شبکه کوروئید از شکاف کوروئیدی (فلش) به داخل فضای بطن (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×۱۰).



نگاره٤- مقطع بافتی شبکه کوروئید از بطن جانبی مغز جنین در هفته ششم آبستنی (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×٤٠).



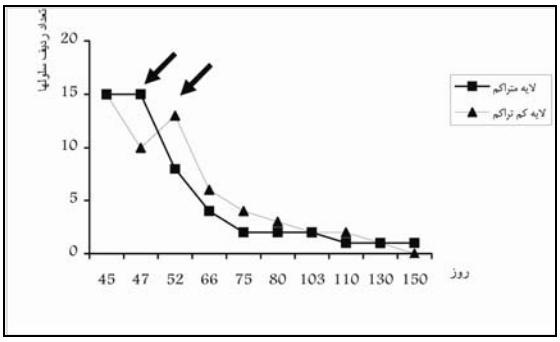
نگاره٥- مقطع بافتی شبکه کوروئیدی از بطن جانبی مغز جنین در هفته هیجدهم آبستنی. تراکم سلول های شبکه کوروئیدی و مویرگ های خونی در داخل سلول های شبکه کوروئیدی (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×٤٠).



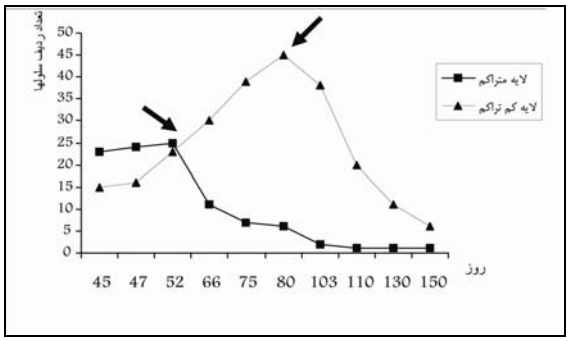
-dorsal: d.
-dorsolateral: d.l.
-lateral: l.
-ventrolateral: V.l.
-ventral: V.
-ventromedial: V.m.
-medial: m.
-dorsomedial: d.m.

نگاره٦- طرح شماتیک از بطن چپ برای نشان دادن مناطق مختلف (نمای خلفی مغز).

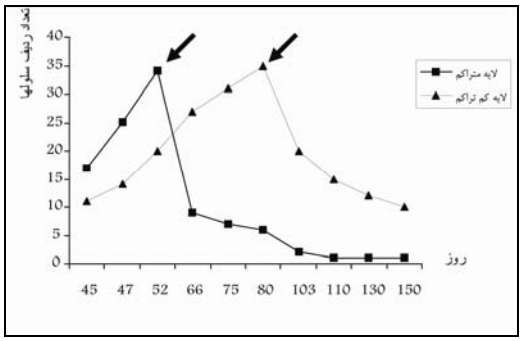
الگوی رشد و تکثیر سلولی در نواحی V.Z و S.V.Z در قسمت های مختلف دور تا دور بطن جانبی مغز جنین گوسفند (نگاره ٦) در نمودارهای ۱ تا ۸ نشان داده شده است.



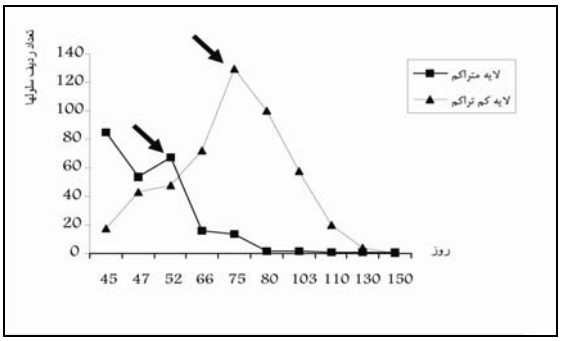
نمودار۱- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت میانی(.m) بطن جانبی



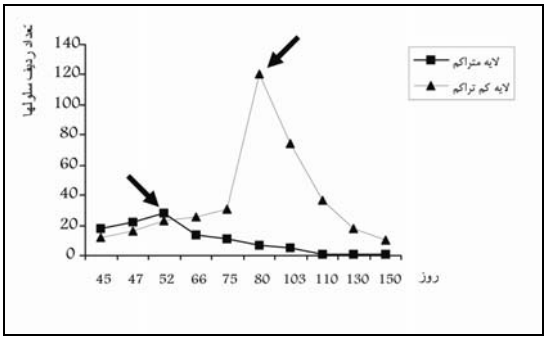
نمودار۲- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت پشتی- میانی (.d.m) بطن جانبی



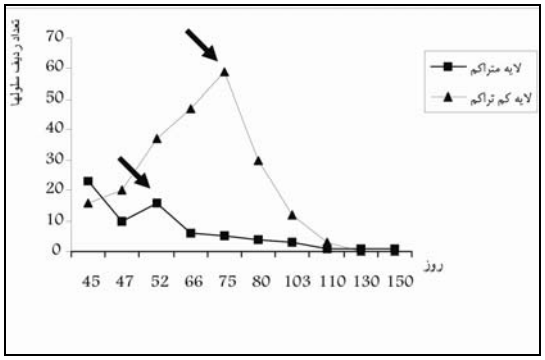
نمودار۳- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت پشتی (d.) بطن جانبی



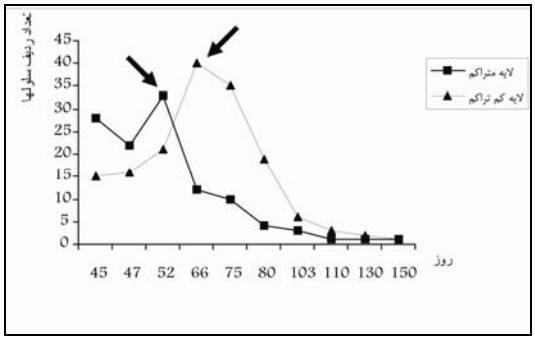
نمودار٦- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت تحتانی- جانبی (V.l.) بطن جانبی



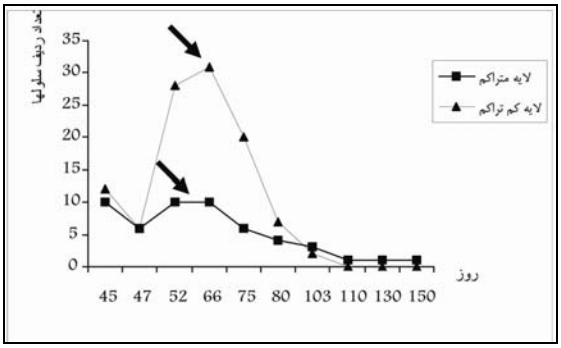
نمودار٤- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت پشتی- جانبی(d.l.) بطن جانبی



نمودار۷- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت تحتانی (V.) بطن جانبی



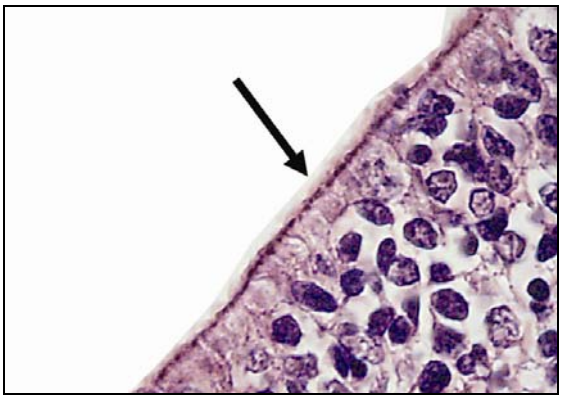
نمودار۵- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت جانبی (l.) بطن جانبی



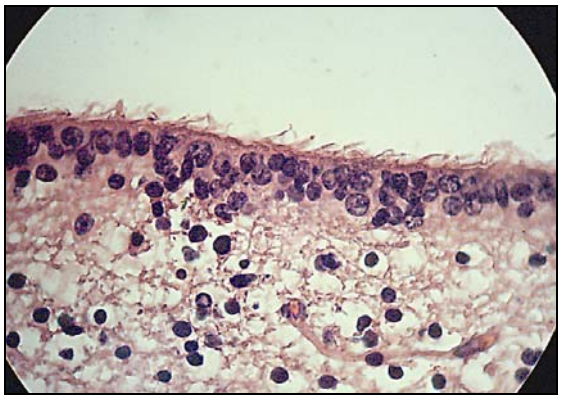
نمودار۸- تغییرات مربوط به تعداد ردیف سلول های قسمت تحتانی- میانی (V.m.) بطن جانبی

در مشاهدات ریزبینی، رشد و گسترش مژه ها در رأس سلول های ردیف اول ناحیه Ventricular zone به داخل بطن های جانبی مشخص بود. در هفته ۱ ± ۸ آبستنی نقاط تیره رنگی در سطح آزاد سیتوپلاسم این سلول ها دیده شد که به حالت نوار تیره رنگی در قسمت های پشتی ــ داخلی، داخلی و داخلی ــ تحتانی دیواره بطن جانبی ظاهر شدند(نگاره ۷).

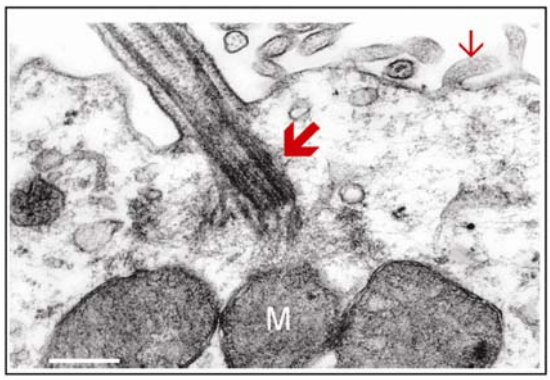
برای اولین بار در هفته یازدهم آبستنی مژه ها در سطح آزاد سیتوپلاسم سلول های پوششی اپاندیم دیده شدند. مژه ها در مناطقی از بطن ها دیده شدند که چند هفته پیش نقاط تیره رنگ اجسام قاعده ای در آنجا ظاهر شده بودند (نگاره۸). لازم به ذکر است که در مشاهده با میکروسکوپ الکترونی، اجسام قاعده ای (Basal body) در هفته هشتم رشد جنینی، در رأس سیتوپلاسم این سلول ها دیده شدند (نگاره های ۹ و ۱۰). در ادامه روند تکامل جنینی، تمامی سلول های پوششی اپاندیمی مژه دار شدند، با این تفاوت که رشد مژه ها در بخش های مختلف دور تا دور بطن در یک زمان نبود بلکه به تدریج اتفاق افتاد (نگاره ۱۱). در هفته های آخر آبستنی، مژه های سلول های پوششی اپاندیمی قسمت های تحتانی- میانی دیواره بطن جانبی، بتدریج محو شده و از تراکم آنها به شدت کاسته شده بود. این قسمت از دیواره بطن جانبی دورترین ناحیه ارتباطی با شبکه کوروئیدی بود. از تغییرات دیگر، نفوذ مویرگ های خونی از ناحیه قشری مغز به سمت بطن های جانبی بود (نگاره ۱۲). بافت پوششی اپاندیمی، از هفته شانزدهم به نوع استوانه ای تا مکعبی بلند با هسته کشیده تبدیل گردید. بافت پوششی اپاندیمی فاقد لایه بازال بود و سلول های این بافت بدون حضور لایه بازال در یک ردیف قرار داشتند (نگاره۱۳).



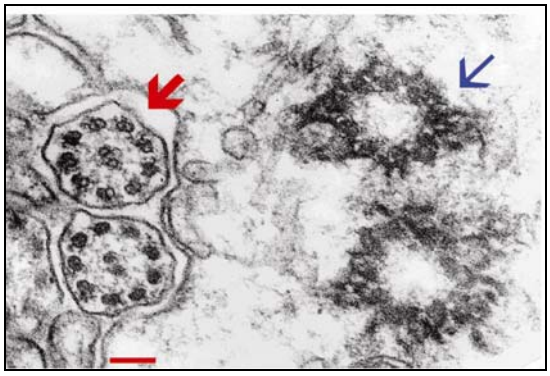
نگاره۷- مقطع بافت پوششی اپاندیم بطن جانبی در هفته هشتم آبستنی. حضور نوار ممتد تیره رنگ (فلش) در سطح آزاد سلول های اپاندیم (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×۱۰۰).



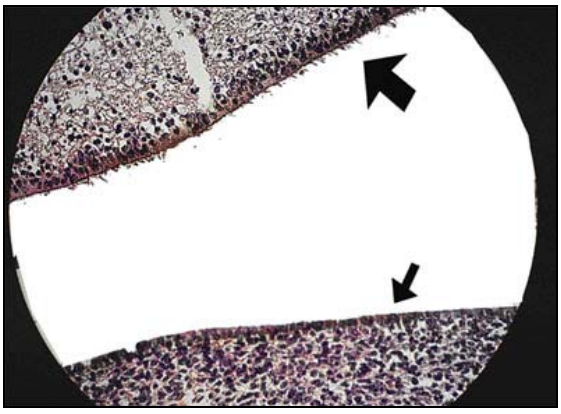
نگاره۸- مقطع بافت پوششی اپاندیم بطن جانبی در هفته یازدهم آبستنی. حضور مژه در سطح آزاد سلول های اپاندیم (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×۱۰۰).



نگاره۹- منظره میکروسکوپ الکترونی ترانسمیشن از بازال بادی (فلش ضخیم) و میکروویلی (فلش باریک) در سلول بافت پوششی اپاندیم بطن جانبی (رنگ آمیزی استات اورانیل و سیترات سرب، درشت نمایی ×۳۰۰nm).



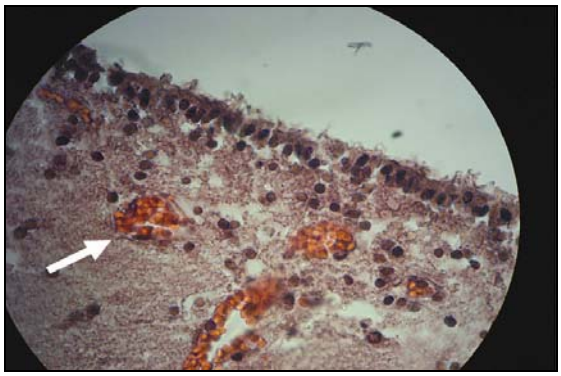
نگاره۱۰- منظره میکروسکوپ الکترونی ترانسمیشن از مقطع عرضی مژه (فلش ضخیم) و بازال بادی (فلش باریک) در سلول بافت پوششی اپاندیم بطن جانبی (رنگ آمیزی استات اورانیل و سیترات سرب، درشت نمایی ×۱۰۰nm).



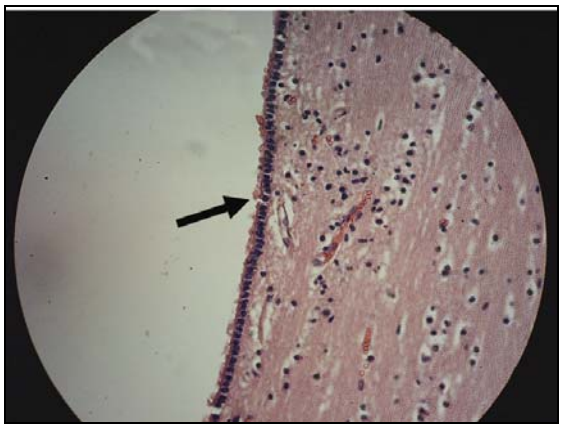
نگاره۱۱- مقطع بافت پوششی شبه مطبق اپاندیم بطن جانبی در هفته یازدهم آبستنی. حضور مژه در سلول های اپاندیم (فلش ضخیم) و عدم حضور مژه (فلش باریک) در سلول های دیواره بطنی مقابل (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×۱۰).

بحث

بر اساس نتایج حاصله از این مطالعه می توان نتیجه گیری کرد که، سلول های پوششی اپاندیمی از لحاظ مورفولوژی و آرایش سلولی در طول دوره آبستنی دارای اشکال مختلف بوده و در طول دوره تکامل دستخوش تغییراتی هستند، به طوریکه آرایش سلولی بافت پوششی اپاندیمی از هفته شانزدهم به بعد از حالت شبه مطبق به استوانه ای و در نهایت به مکعبی ساده مژه دار تبدیل می شود که نشانگر تکامل تدریجی این بافت پوششی



نگاره۱۲- مقطع بافت پوششی اپاندیمی بطن جانبی مغز در هفته شانزدهم آبستنی. نفوذ مویرگ های خونی (فلش) به ناحیه S.V.Z بافت اپاندیمی (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×۱۰۰).



نگاره۱۳- مقطع بافت پوششی مکعبی ساده اپاندیم بطن جانبی (فلش) در هفته هیجدهم آبستنی. عدم حضور لایه بازال در این نوع از بافت پوششی. (رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی ×٤۰).

است که در ثلث سوم تکامل جنینی رخ می دهد. لازم به ذکر است که در ناحیه Ventricular zone سطح درونی بطن ها و مجاری اپاندیم توسط یک ردیف سلول مکعبی پوشیده می شود (۲ و۱۰). در این مطالعه مشخص گردید که لایه پوششی اپاندیمی فاقد لایه بازال است. در سایر منابع نیز به عدم وجود لایه بازال در سایر حیوانات و انسان، اشاره شده است (٤ و۹). حضور میکرویلی در سطح آزاد سلول های شبکه کوروئیدی و گسترش این شبکه در داخل فضای بطن های جانبی از همان

اوایل رشد جنینی (قبل از هفته ٦) دیده شد و حضور گسترده مویرگ های خونی در بین آنها نشانگر فعالیت سلول های کوروئیدی از همان هفته های اول دوران جنینی است. با مطالعه‌ای که بر روی سطح آزاد سلول های پوششی اپاندیمی جنین انجام شد، به نظر می رسد که رشد مژه در این سلول ها به صورت تدریجی بوده و در نیمه دوم آبستنی بعد از ظهور اجسام قاعده‌ای و با تأخیر زمانی نسبت به آن صورت می گیرد. طبق نظر سایر مؤلفین نیز سلول های اپاندیمی در زمان جنینی مژه دار شده و این مژه ها تا زمان بلوغ پایدار می مانند (۵). الگوی تراکم این مژه ها در دیواره بطن های جانبی، به ارتباط مستقیم و تماس دیواره بطن ها با شبکه کوروئیدی پیرامون خود بستگی دارد، به طوریکه این سلول ها در نقاط کور دیواره بطنی، مژه‌های خود را از دست می دهند.

شبکه کوروئیدی در انسان در اثر نفوذ عروق لایه نرم شامه ای از شکاف کوروئیدی (Choroid fissure) به داخل بطن ها ایجاد می شود (۷ و۱۱). نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشانگر نفوذ شبکه کوروئیدی از شکاف کوروئیدی واقع در بخش دیواره داخلی بطن جانبی مغز گوسفند است که حاکی از عدم وجود اختلاف در تکامل شبکه کوروئیدی مغز انسان و گوسفند می باشد. از نتایج بدست آمده در مورد ضخامت نواحی V.Z وS.V.Z چنین تصور می گردد که چون V.Z در ادامه روند تکاملی باید منشاء لایه S.V.Z شود، پس منطقی است که اوج ضخامت و تکثیر سلولی در هفته های اول در V.Z رخ بدهد و در ادامه، در نیمه دوم آبستنی، اکثر سلول های نورونی و گلیالی در S.V.Z تکثیر یابند. بر اساس نتایج به دست آمده از این بررسی نیز اوج ضخامت سلولی V.Z در روزهای ۵۰ ± ۵ و اوج ضخامت و تکثیر سلولی S.V.Z در روزهای ۱۰ ± ۸۰ آبستنی رخ می دهد. بنابر این با توجه به نتایج فوق چنین بر می‌آید که تکامل ناحیه V.Z زودتر رخ می دهد.

ناحیه S.V.Z همانند تیغه عصبی (Neural crest) فقط دارای جمعیت سلولی مهاجری است که حاوی سلول های پیش ساز برای نورون ها و گلیاها است (۱). در حقیقت سلول های پیش‌ساز عصبی از ناحیه V.Z رویانی منشاء گرفته و به سمت بیرون مهاجرت کرده و ناحیه Adult subependyma را در مغز حیوان شکل می دهند.

با توجه به اینکه تعدادی از سلول های تمایز نیافته اپاندیمی در اطراف بطن های جانبی در سنین نزدیک به تولد همچنان دیده شدند، لذا به نظر میرسد که تکامل و تمایز سلول های عصبی بعد از تولد نیز ادامه خواهد داشت.

فهرست منابع

1- Bernard, J., Vincent, T., Morshead, B. and Van der Kooy, D. (1999): Adult mammilian forebrain ependymal and subependymal cells demonstrate proliferative potential , but only subpendymal cells have noural stem cell characteristics. The Journal of Neuroscience. 19(11).

2- Delahuta, A. (1994): Veterinary Neuropathology. Mosby, pp: 234-36.

3- Dellman, D.H. and Euaell, J. (1998): Veterinary Histology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, pp: 354-57.

4- Frye, L. and Aughey, E. (2001): Comparetive Veterinary Histology, Manson Publishing, London, pp: 78-82.

5- Mariano, S.H. and Difiore, K. (1998): Atlas of Neural Histology. 6th ed. Philadelphia, pp: 56-59.

6- Naria, D., Markle, H. and Flames, L. (2005): Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial gelial cells during embryogenesis, The Journal of Neuroscience. 25(1).

7- Richard, G. and Kessel, G. (1996): Basic Medical Histology. Oxford, pp: 255-57.

8- Sadler, T.W. (2000): Longmans Essential Medical Embryology. 8th ed. Williams & Wilkins, pp: 151-53.

9- Telford, B. (1995): Introduction to Functional Histology. 2nd ed. Harper Collins College Publishers, pp: 74-75.

10- Wheater, P.R, Burkitt, V.G. and Daniels, M. (1990): Functional Histology. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, pp: 151.

11- Williams, P.L., Warwick, R. and Bannister, L. (1989): Grays Anatomy. 3rd ed. Churchill Livingstone, New York, pp: 69.