

مطالعه بافت شناسی، هیستوشیمی و هیستومورفومتری پرده صماخ در گاومیش

رودخانه‌ای بالغ

سید رشید هاشمی، رسول شهروز، فرهاد سلطانعلی نژاد، غلامرضا نجفی،

۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. srashid.hashemi6586@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱

چکیده

زمینه و هدف: گاومیش بعنوان یک حیوان اقتصادی در مناطق دامخیز مطرح است. از نظر محیط زیست به دو نوع باتلاقی و رودخانه‌ای طبقه‌بندی می‌شوند. پرده صماخ، غشایی نازک است که گوش خارجی را از گوش میانی جدا می‌کند. در رابطه با بافت شناسی و هیستوشیمی این عضو در گاومیش تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است. روش کار: برای این مطالعه ۸ سر گاومیش نر و ماده بالغ تهیه و پرده صماخ آن مورد مطالعه عادی بافت‌شناسی همانوکیسلیب-انوزین، مطالعه هیستوشیمی با رنگ آمیزی ورهوف، پاس و ماسون تری کروم و همچنین مطالعه هیستومورفومتری شد. یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد پرده صماخ دارای سه لایه اپیتلیومی، بافت همبند و لایه مخاطی بود. در طبقه اپیتلیومی خارجی بافت پوششی از نوع سنگفرشی مطابق دیده شد و در طبقه مخاطی داخلی اپیتلیوم سنگفرشی ساده مشاهده شد. لایه همبندی ضخامت زیادی داشت و رشته‌های کلاژن از دو نوع شعاعی و مدور در آن دیده شد. سلول‌های همبندی نیز بیشتر از نوع فیروبلات است بود. رشته‌های الاستیک و کلاژن در هر دو بخش پرده صماخ مشاهده شد ولی قسمت نرم پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته الاستیک بوده و برخلاف آن قسمت سخت پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته کلاژن بود. بیشترین تراکم رشته کلاژن مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ گاومیش ماده و کمترین تراکم مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ گاومیش نر بود. نتیجه‌گیری: به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان ادعا داشت پرده صماخ گاومیش دارای مشابهت‌ها و تفاوت‌های بافتی با نشخوارکنندگان و سایر حیوانات است.

واژه‌های کلیدی: بافت شناسی، هیستوشیمی، هیستومورفومتری، پرده صماخ، گاومیش.

مقدمه

گاومیش بعنوان یک حیوان اقتصادی در مناطق دامخیز بویژه کشورهای جنوب آسیا، هند پاکستان، عراق، مصر، و ایران مطرح است که به علت مصرف فراوان شیر و گوشت، دارا بودن قدرت سازگاری با محیط سردسیری و گرمسیری، کار در مزرعه، مقاومت بیشتر نسبت به گاو در برابر بعضی بیماری‌ها و ... پرورش آن افزایش یافته است (1,13,14,15). گاومیش از نظر محیط زیست به دو نوع باتلاقی و رودخانه‌ای طبقه‌بندی می‌شوند. گاومیش آذربایجانی متعلق به گونه رودخانه‌ای می‌باشد (۸). پرده صماخ، غشایی نازک است که گوش خارجی را از گوش

میانی جدا می‌کند. دارای دو بخش است که بخش کوچک بالایی را بخش نرم یا شراپنل و بخش پایینی بزرگتر را بخش سخت می‌نامند. پرده صماخ به استخوان-های اطراف توسط ساختاری لیفی-غضروفی به نام حلقه صماخی متصل شده است (۷ و ۶). در مطالعات بافت شناسی صورت گرفته روی پرده صماخ گزارش شده است در میمون، گربه و خوکچه هندی بافت پوششی در لایه اپیتلیومی از نوع سنگفرشی مطابق می‌باشد، درحالی‌که در لایه مخاطی اپیتلیوم بیشتر از نوع سنگفرشی ساده است و در گربه نیز اپیتلیوم از نوع مکعبی و استوانه‌ای شبه مطابق

مژه‌دار نیز دیده شده است. در لایه همبندی پرده صماخ میمون، گریه و انسان به شکل شعاعی و مدور مشاهده گردید. در خوکیچه هندی بیشتر رشته شعاعی در قسمت سخت پرده صماخ قابل مشاهده بود و رشته‌های مدور بسیار کم بوده و فقط در نواحی حاشیه‌ای قابل مشاهده بود. در خوکیچه هندی بدلیل کوچک بودن قسمت نرم پرده صماخی فاقد قسمت همبندی بوده و رشته کلاژن مشاهده نشد (۱۷ و ۱۲ و ۹). در خرگوش رشته‌های همبندی قابل تفکیک به دو قسمت شعاعی و مدور نبود (۲). در لایه همبندی پرده صماخ اسب رشته‌های کلاژن از نوع مستقیم بود و به دو قسمت شعاعی و مدور تفکیک می‌شود (۳). در مطالعه حضور رشته‌ها در پرده صماخ اعلام شده است در پرده صماخ انسان و خرگوش، موش جربیل، همستر در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ رشته الاستیک و کلاژن حضور دارد. برخلاف حیوانات فوق در گریه، خوکیچه هندی و موش صحرائی در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ فقط رشته کلاژن حضور دارد. در موش خانگی نیز رشته کلاژن در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ دیده شده ولی رشته الاستیک فقط در قسمت سخت پرده صماخ مشاهده شده است (۴). به دلیل مشاهده تفاوت‌ها و مشابهت‌های پرده صماخ در حیوانات، پرده صماخ گاومیش را که تاکنون بررسی نشده بود مورد مطالعه بافت‌شناسی، هیستوشیمی و هیستومورفومتری قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام مطالعه حاضر تعداد ۸ عدد سر گاومیش رودخانه‌ای بالغ نر و ماده (در مجموع ۱۶ عدد پرده صماخ شامل سمت چپ و راست ۴ گاومیش نر و ۴ گاومیش ماده) از کشتارگاه شهرستان ارومیه تهیه و به سالن تشریح دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انتقال داده شد. برای خارج کردن پرده صماخ ابتدا پوست ناحیه سر و صورت برداشته شد. از ناحیه بین دو کندیل استخوان پس سری تا

محل استخوان ثنایایی بوسیله اهر برقی برش میانی طولی در سرها ایجاد و سر به دو قسمت برابر تقسیم شد. در مرحله بعد استخوان‌ها و بافت‌های اطراف حباب صماخی برداشته شد. پس از برداشتن انتهای پایینی حباب صماخی، فضای داخلی گوش میانی که شامل استخوانچه‌های گوش، پرده صماخی و عضلات گوش میانی بود نمایان گردید. بعد از رسیدن به محل پرده صماخی با استفاده از اهر مویی، اسکالپل و پنس کوچک مخصوص حلقه صماخی از قسمت انتهایی بریده شد و پرده صماخی متصل به استخوانچه‌های گوش میانی و حلقه صماخی جدا گردید. بعد از خارج کردن اتصالات بین استخوانچه‌ها، هر دو قسمت نرم و محکم پرده صماخ نمایان شد. برای مطالعات بافتی پرده صماخ از قسمت نرم و دو بخش قسمت سخت پرده صماخ (قسمت فوقانی و قسمت ابتدایی که متصل به استخوانچه‌های گوش میانی است) نمونه بافتی تهیه شد و در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از ثبوت و قالب‌گیری توسط پارافین، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از آنها تهیه و سپس رنگ آمیزی عادی بافتی (هماتوکسیلین و ائوزین) و رنگ آمیزی‌های اختصاصی بافت شامل ورهوف (برای مطالعه رشته‌های الاستیک)، رنگ آمیزی پریودییک اسید شیف (برای مطالعه میزان ذخیره گلیکوزآمینوگلیکان و کربوهیدرات‌ها) و همچنین رنگ آمیزی ماسون تری کروم (برای مطالعه رشته‌های کلاژن) انجام شد و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. در مرحله بعد مطالعه هیستومورفومتری پرده صماخ توسط دستگاه دینو کپچر انجام شد و برای این مطالعه لام رنگ آمیزی شده را زیر میکروسکوپ نوری قرار داده و ضخامت اپیدرم پوششی، تعداد ستیغ‌های اپیدرمی در واحد طول ۲۰۰ میکرومتر، ارتفاع ستیغ‌ها، ضخامت بافت همبند و تعداد سلول‌ها در واحد سطح ۳۰۰ میکرومتر محاسبه گردید. همچنین برای مطالعه تراکم رشته‌های کلاژن از نرم افزار Image pro-insight نسخه ۸

نرم پرده صماخ مشاهده شد. در قسمت سخت پرده صماخ تراکم و میزان رشته الاستیک کمتر بوده و رشته الاستیک در ناحیه ابتدایی قسمت سخت که متصل به استخوانچه‌های گوش میانی است از بخش فوقانی قسمت سخت حضور بیشتری داشت. تفاوت دیگر حضور رشته‌های الاستیک در مناطق مختلف پرده صماخ بدین گونه بود که در منطقه نرم و منطقه فوقانی قسمت سخت پرده صماخ تراکم رشته‌های الاستیک در بخش‌های اطراف و بخش‌های زیر و مجاور اپیتلیوم بیشتر بود در حالی که ناحیه ابتدای قسمت سخت پرده صماخ رشته‌های الاستیک بیشتر در قسمت میانی قرار گرفته بودند (شکل ۳). در رنگ آمیزی پاس نشان داده شد که واکنش پاس مثبت در ناحیه فوقانی قسمت سخت پرده صماخ به وضوح بیشتر از نواحی ابتدایی قسمت سخت و قسمت نرم پرده صماخ می‌باشد. در قسمت سخت پرده صماخ سلول‌های اپیدرمی در ناحیه طبقه قاعده‌ای، طبقه خاردار و همچنین تا قسمت‌های سطحی سیتوپلاسم سلول‌ها دارای واکنش پاس مثبت بوده و به صورت دانه‌های قرمز و مشخص مشاهده گردید. واکنش پاس مثبت در اپیدرم نواحی ابتدای قسمت سخت و همچنین در قسمت نرم پرده صماخ کم و بیش در داخل طبقه خاردار مشاهده گردید و از ناحیه فوقانی قسمت سخت پرده صماخ کمتر مشاهده گردید. واکنش پاس مثبت در ضخامت بقیه ساختار پرده صماخ شامل بافت همبندی و اپیتلیوم داخلی مشاهده نشد (شکل ۴). در رنگ آمیزی ماسون تری کروم مشخص گردید کل ضخامت پرده صماخ از رشته‌های کلاژن تشکیل شده است و به طور کلی تراکم رشته‌های کلاژن در قسمت سخت پرده صماخ بیشتر از قسمت نرم بود و رشته کلاژن در ناحیه زیر ناف استخوانچه چکشی از بخش فوقانی قسمت سخت حضور کمتری داشت که این نتایج کاملاً متفاوت با حضور رشته الاستیک در قسمت‌های مختلف پرده صماخ است. رشته‌های کلاژن در قسمت بافت همبندی به دو شکل شعاعی

به صورت محاسبه پیکسل در سطح انجام شد. در انتها نتایج پارامترهای اندازه‌گیری شده (اندازه پارامترهای مختلف هیستومورفومتری) توسط نرم افزار جامع آماری SPSS نسخه ۲۳ انتخاب گردید و تست تعقیبی Tukey مورد استفاده قرار گرفت و سطح $P \leq 0/05$ برای معنی دار بودن اختلاف بین داده‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بافت شناسی

پرده صماخ در گاو میش بیضی شکل بود و رنگ آن سفید تا سفید صورتی مشاهده شد. قسمت نرم کوچکتر بوده و نسبت به قسمت سخت پرده صماخ کمی رنگ روشن‌تر داشت. استخوانچه‌های گوش میانی به قسمت‌های ابتدایی و میانی قسمت سخت پرده صماخ متصل شده بودند (شکل ۱). در مطالعه بافت شناسی دو جنس نر و ماده مشابه یکدیگر بوده و تفاوت بافتی واضحی بین دو جنس دیده نشد. قسمت سخت پرده صماخ در اپیدرم بخش خارجی دارای ستیج‌های بلندی بوده و اپیتلیوم آن سنگفرشی مطبق بود. تعدادی از ستیج‌ها دارای انشعاب بوده و ستیج‌های ثانویه را تشکیل داده بود. در ناحیه میانی لایه همبندی ضخیم محتوی رشته‌های کلاژن و رشته‌های همبندی مشاهده شد. سلول‌های همبندی بیشتر از نوع فیروسیست یا فیروبلاست بودند. در لایه مخاطی نیز انتشاری از سلول‌های لکوسیتی مانند لنفوسیت‌ها مشاهده شد. طبقه مخاطی اپیتلیوم سنگفرشی ساده داشته که در زیر آن یک لایه نازک از بافت همبند نسبتاً رشته‌ای دیده شد. در طبقه مخاطی تراکم سلول در بین رشته‌های همبندی به وضوح کمتر از قسمت اپیتلیومی بود. به طور کلی در لایه اپیتلیالی پرده صماخ انتشار سلول‌های لکوسیتی بیشتر بوده و در لایه مخاطی نیز بیشتر فیروبلاست قابل مشاهده بود (شکل ۲).

نتایج هیستوشیمی

نتایج هیستوشیمی پرده صماخ نشان داد در رنگ آمیزی ورهوف بیشترین میزان حضور رشته الاستیک در قسمت

ماده مشخص شد که بیشترین تراکم رشته‌های کلاژن در پرده صماخ گوش گوش سمت چپ ماده بوده و کمترین تراکم این رشته‌ها نیز در پرده صماخ گوش سمت چپ حیوان نر می‌باشد (نمودار ۱).

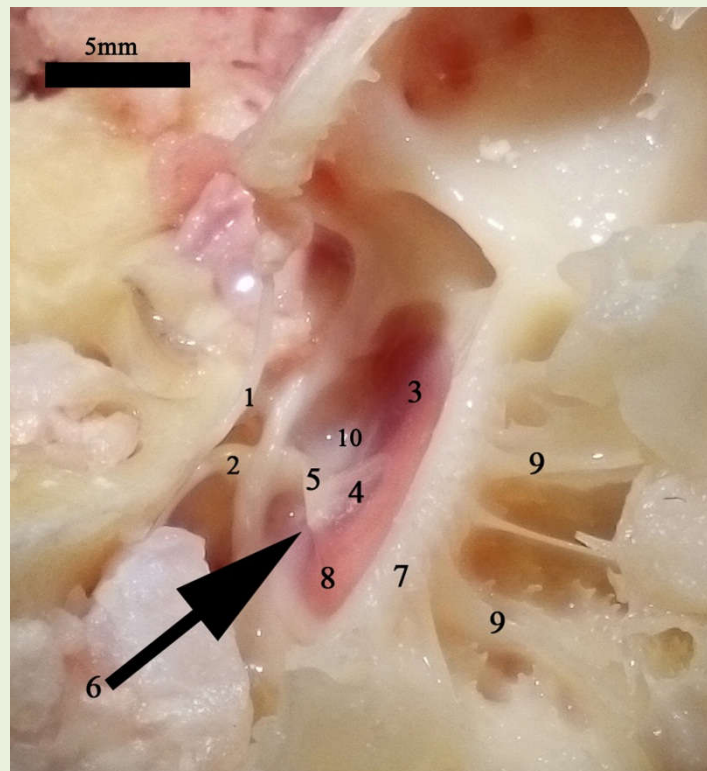
نتایج هیستومورفومتری پرده صماخ

نتایج هیستومورفومتری و آزمون آماری نشان داد میانگین ضخامت اپیدرم، تعداد ستیغ‌های اپیدرمی، ارتفاع ستیغ‌ها، ضخامت بافت همبند و تعداد سلول‌ها در جنس ماده بزرگتر از جنس نر می‌باشد (جدول ۲ و ۱، شکل ۶).

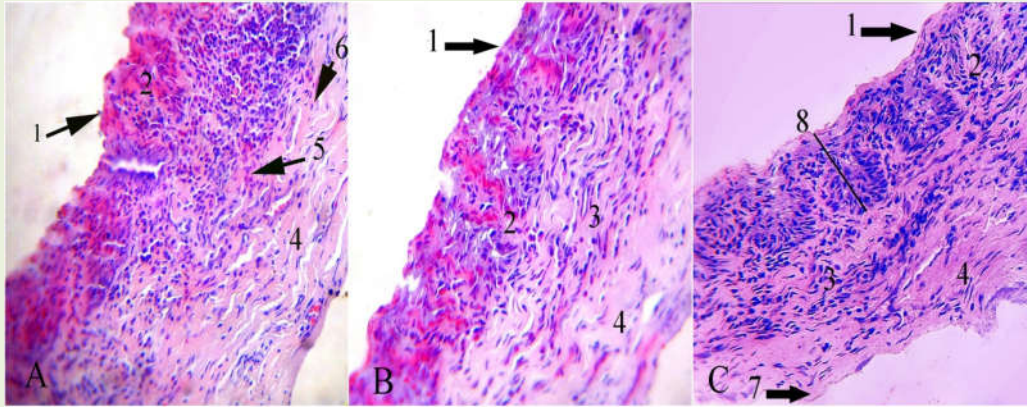
و مدور مشاهده شد. تراکم این رشته‌ها در بین ستیغ‌های اپیدرمی کمتر بوده و به طرف عمق و لایه مخاطی پرده صماخ رشته‌های کلاژن ضخامت بیشتری را نشان دادند (شکل ۵).

نتایج ارزیابی تعداد و تراکم رشته کلاژن پرده صماخ

بر اساس جداول استخراج شده از نرم افزار-Image pro insight مشخص گردید بیشترین تراکم رشته‌های کلاژن در ناحیه فوقانی قسمت سخت پرده صماخ وجود دارد. همچنین در مقایسه بین تراکم رشته‌های کلاژن در چهار پرده صماخ گوش سمت چپ و راست در دو جنس نر و



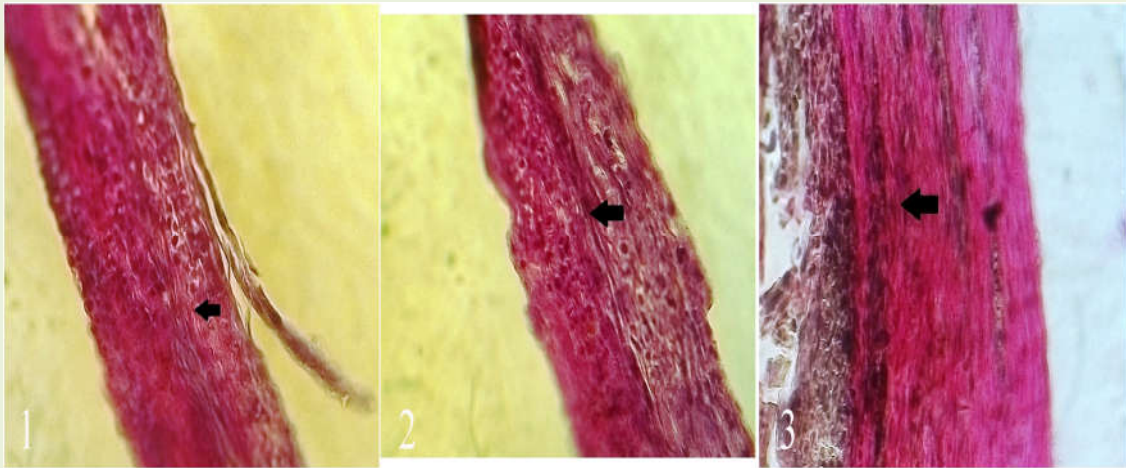
شکل ۱- توپوگرافی پرده صماخ در گوش میانی. ۱- عصب طناب صماخی، ۲- سر استخوانچه چکشی، ۳- بخش ابتدایی قسمت سخت پرده صماخ، ۴- ناحیه روشن قسمت سخت پرده صماخ، ۵- دسته استخوانچه چکشی، ۶- ناف دسته استخوانچه چکشی، ۷- حلقه صماخی، ۸- بخش فوقانی قسمت سخت پرده صماخ، ۹- تیغه‌های استخوانی شکل حلقه صماخی، ۱۰- قسمت نرم پرده صماخ.



شکل ۲- بافت شناسی قسمت‌های سخت و نرم پرده صماخ گاومیش. A: بخش فوقانی قسمت سخت پرده صماخ، B: بخش ابتدایی

قسمت سخت پرده صماخ، C: قسمت نرم پرده صماخ. ۱، $\times 240$ H&E

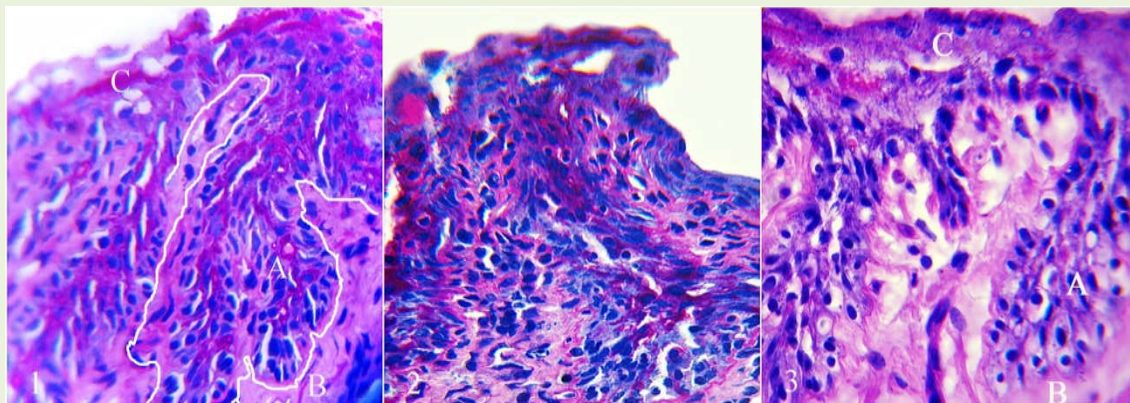
۱- اپیتلیوم سنگفرشی مطبق لایه اپیتلیومی ۲- ستیغ‌های اپیدرمی، ۳- لایه همبندی بخش درم مربوط به پوست، ۴- قسمت مخاطی لایه آندودرمی یا مخاطی پرده صماخ، ۵- فیبروبلاست، ۶- فیروسیت، ۷- اپیتلیوم سنگفرشی ساده لایه آندودرمی، ۸- ستیغ اپیدرمی.



شکل ۳. پرده صماخ گوش سمت راست گاومیش.

نوک فلش رشته الاستیک، $\times 100$ Verhoff.

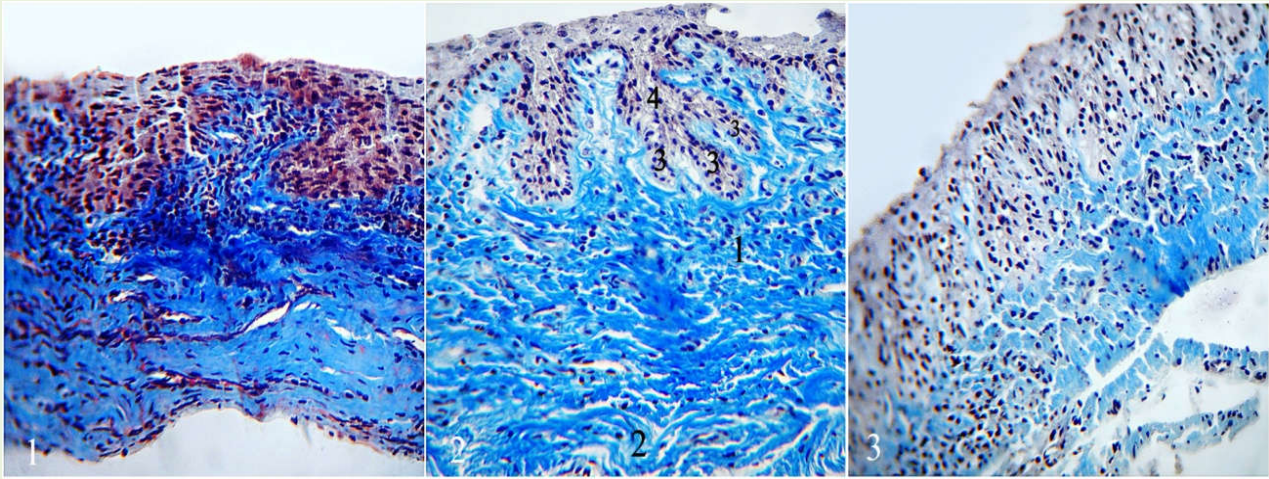
۱- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه فوقانی)، ۲- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه ابتدایی)، ۳- قسمت نرم پرده صماخ (تراکم بالاتر رشته‌های الاستیک در این قسمت با فلش مشخص شده است).



شکل ۴. قسمت‌های سخت و نرم پرده صماخ گاومیش. A: ستیغ پرده صماخ، B: بافت همبند پرده صماخ، C: اپیتلیوم پرده صماخ.

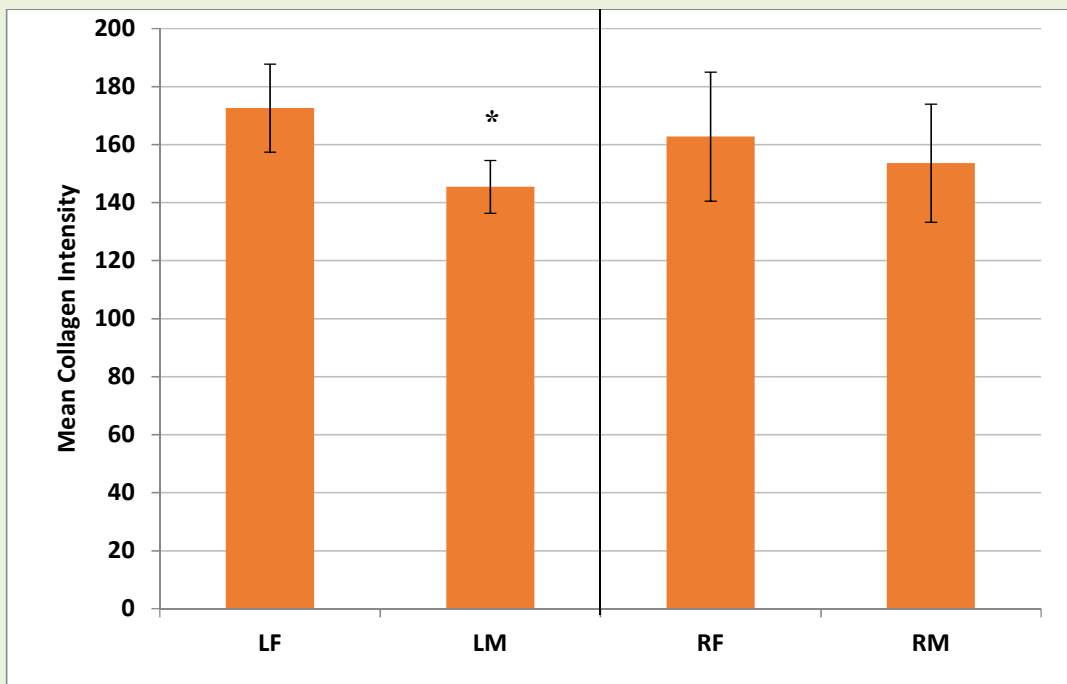
۱- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه فوقانی)، ۲- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه ابتدایی)، ۳- قسمت نرم پرده صماخ $\times 100$ PAS. توضیح: خط سفید

نشان‌دهنده حدود ستیغ‌های اپیدرمی می‌باشد.



شکل 5. قسمت‌های سخت و سست پرده صماخ گاومیش

1- رشته‌های کلاژن شعاعی پرده صماخ (مقطع عرضی)، 2- رشته‌های کلاژن حلقوی پرده صماخ (مقطع طولی)، 3- ستیغ‌های ثانویه، 4- ستیغ اولیه.
 1- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه فوقانی)، 2- قسمت سخت پرده صماخ (ناحیه ابتدایی)، 3- قسمت نرم پرده صماخ، $240 \times$ MTC.



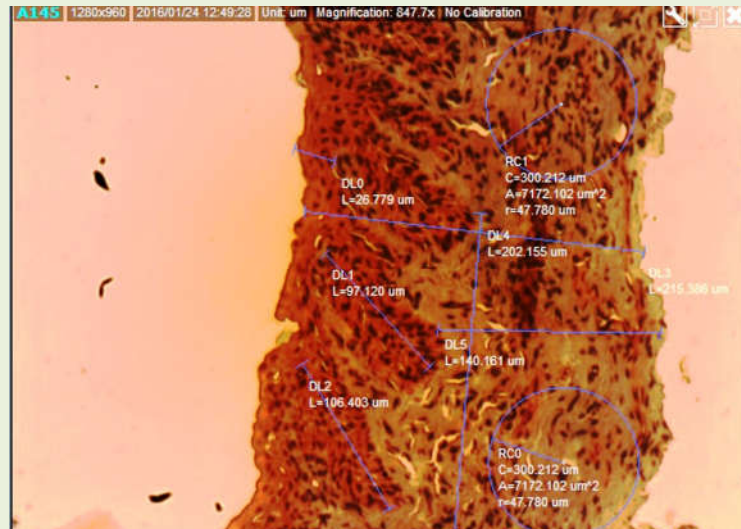
نمودار 1- نمودار ستونی تراکم رشته‌های کلاژن در گوش میانی گاومیش (تراکم بر حسب پیکسل در واحد سطح).

LF = پرده صماخ گوش سمت چپ گاومیش ماده. LM = پرده صماخ گوش سمت چپ گاومیش نر. RF = پرده صماخ گوش سمت راست گاومیش ماده.

RM = پرده صماخ گوش سمت راست گاومیش نر.

توضیح: بیشترین تراکم رشته کلاژن مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ گاومیش ماده و کمترین میزان مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ

گاومیش نر است. علامت (*) نشان‌دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).



شکل ۶- هیستومورفومتری قسمت محکم پرده صماخ سمت چپ گاو میش نر (بر حسب میکرومتر).

جدول ۱- نتایج هیستومورفومتری پرده صماخ در گاو میش نر و ماده و در سمت راست و چپ (Mean±se).

ماده	ضخامت اپیدرم		تعداد ستیغ ها در اپیدرم در طول ۲۰۰ میکرومتر		ارتفاع ستیغ ها در اپیدرم	
	راست	چپ	راست	چپ	راست	چپ
قسمت سخت (بخش فوقانی)	$25/22 \pm 1/38$	$26/98 \pm 3/71$	$4/6 \pm 0/50$	$5 \pm 0/54$	$77/32 \pm 2/72$	$75/47 \pm 6/15$
	$26/98 \pm 1/20$	$26/15 \pm 1/07$	$4/8 \pm 0/37$	$4/8 \pm 0/37$	$79/93 \pm 3/65$	$76/57 \pm 5/53$
قسمت نرم	$21 \pm 0/81$	$19/86 \pm 0/93$	$4/4 \pm 0/5$	$4/6 \pm 0/4$	$56/39 \pm 2/18$	$55/47 \pm 3/73$
کل	$24/40 \pm 0/91$	$24/33 \pm 1/49$	$4/6 \pm 0/25$	$4/8 \pm 0/24$	$71/23 \pm 3/22$	$69/17 \pm 3/81$
قسمت سخت (بخش فوقانی)	$22/37 \pm 0/58$	$20/19 \pm 1/08$	$4/2 \pm 0/37$	$4 \pm 0/44$	$66/11 \pm 4/36$	$63/77 \pm 2/32$
	$24/20 \pm 0/76$	$24/41 \pm 0/91$	$4/4 \pm 0/4$	$3/8 \pm 0/2$	$74/58 \pm 1/89$	$67 \pm 3/47$
بخش نرم	$21/03 \pm 1/08$	$18/10 \pm 0/94$	$3/8 \pm 0/37$	$3/8 \pm 0/37$	$50/34 \pm 0/81$	$49/36 \pm 0/85$
کل	$22/53 \pm 0/56$	$20/90 \pm 0/87$	$4/13 \pm 0/21$	$3/86 \pm 0/19$	$63/67 \pm 3/06$	$60/04 \pm 2/43$

حروف مشابه (a, b, c) در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P \leq 0/05$).

علائم (*) در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P \leq 0/05$).

جدول ۲- نتایج هیستومورفومتری ضخامت بافت همبند و تعداد سلول های همبندی پرده صماخ در گاو میش نر و ماده، و در سمت راست و چپ (Mean±se).

ماده	ضخامت بافت همبند		تعداد سلول در سطح ۳۰۰ میکرومتر مربع	
	راست	چپ	راست	چپ
قسمت سخت (بخش فوقانی)	$30/11 \pm 71/44$	$261/12 \pm 22/32$	$22/2 \pm 0/86$	$24/4 \pm 1/43$
قسمت سخت (بخش ابتدایی)	$313/27 \pm 05/53$	$296/8 \pm 57/51$	$26/6 \pm 1/16$	$26/4 \pm 1/72$
قسمت نرم	$272/15 \pm 03/09$	$240/8 \pm 90/95$	$21/6 \pm 1/28$	$23/8 \pm 1/85$
کل	$295/11 \pm 26/29$	$266/8 \pm 24/17$	$23/4 \pm 0/84$	$24/8 \pm 0/94$
قسمت سخت (بخش فوقانی)	$141/15 \pm 18/04$	$141/10 \pm 03/60$	$21/8 \pm 1/82$	$22 \pm 1/37$
	$130/16 \pm 84/45$	$175/16 \pm 90/90$	$24 \pm 0/89$	$23 \pm 1/22$
بخش میانی	$162/10 \pm 06/32$	$167/11 \pm 96/54$	$21/6 \pm 1/5$	$22/2 \pm 2/49$
بخش نرم	$144/8 \pm 69/31$	$161/8 \pm 63/15$	$22 \pm 1/72$	$22/4 \pm 0/96$

حروف مشابه (a, b, c) در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P \leq 0/05$).

علائم (*) در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P \leq 0/05$).

بحث و نتیجه گیری

در مطالعات بافت شناسی گزارش شده است بافت پوششی پرده صماخ انسان در قسمت اپیدرمی دارای اپیتلیوم سنگفرشی مطبق و استوانه‌ای ساده است در حالی که لایه مخاطی دارای اپیتلیوم از نوع سنگفرشی ساده است و گاهاً اپیتلیوم از نوع استوانه‌ای نیز در آن دیده شد. طبقه همبندی در انسان دارای رشته‌های کلاژن در دو لایه از نوع شعاعی و مدور می‌باشد. هم چنین در انسان پیرامون عروق در طبقه همبندی دارای فیروبلاست بود (۱۲). هم چنین در مطالعه پرده صماخ میمون، گوسفند، گربه و خوکیچه هندی گزارش گردید اپیتلیوم در لایه اپیتلیالی از نوع سنگفرشی مطبق می‌باشد در حالی که در لایه مخاطی اپیتلیوم بیشتر از نوع سنگفرشی ساده می‌باشد. در پرده صماخ گربه اپیتلیوم از نوع مکعبی و استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار نیز دیده شد. در بافت همبند انسان، گربه و میمون دو لایه عضلانی به شکل شعاعی و مدور مشاهده گردید در حالی که در خوکیچه هندی بیشتر رشته شعاعی در قسمت سخت پرده صماخ قابل مشاهده بود و رشته‌های مدور کمتر قابل مشاهده بود. در خوکیچه هندی به دلیل کوچک بودن قسمت نرم پرده صماخی فاقد بافت همبندی کامل و مشخصی بوده و رشته کلاژن مشاهده نشد (۱۷، ۱۶، ۹). در مطالعه پرده صماخی در اسب لایه همبندی دارای رشته‌های کلاژن از نوع مستقیم بود و به دو قسمت شعاعی و مدور تفکیک می‌شود (۳). در مطالعه بافت-شناسی پرده صماخ در سگ نیز برخلاف گربه اپیتلیوم بخش بیرونی فقط از نوع سنگفرشی مطبق بوده و نیز بخش داخلی سنگفرشی ساده بوده و گاهاً در بخش تحتانی اپیتلیوم از نوع مژده‌دار مشاهده شد. هم چنین در طبقه همبندی رشته‌های کلاژنی به صورت شعاعی ضخیم مشاهده می‌شود (۵). در مطالعه حاضر در پرده صماخ گاومیش در طبقه اپیتلیومی خارج تنها یک اپیتلیوم از نوع سنگفرشی مطبق دیده شد و نیز در لایه مخاطی تنها اپیتلیوم

سنگفرشی ساده قرار داشت و از این منظر فقط با گوسفند، میمون و خوکیچه هندی مطابقت داشت. هم چنین در بررسی حضور رشته‌های کلاژن در گاومیش در لایه همبندی رشته‌های کلاژن از دو نوع شعاعی و مدور به تفکیک قابل مشاهده بود و از این نظر با انسان، میمون، گربه، اسب، چین چپلا و موش صحرائی مشابهت داشته و با خرگوش، خوکیچه هندی و سگ متفاوت می‌باشد. هم چنین در بررسی سلول‌های همبندی در گاومیش میزان زیادی فیروبلاست در هر دو قسمت نرم و محکم پرده صماخ مشاهده شد که با انسان، گوسفند، موش صحرائی و چین چپلا مشابهت داشته و با سگ و گربه متفاوت بود. در مطالعه بافت شناسی برای بررسی حضور رشته‌های کلاژن و الاستیک گزارش شده است در انسان قسمت نرم پرده صماخ حاوی رشته‌های کلاژن و الاستیک بوده ولی قسمت سخت پرده صماخ فقط دارای رشته‌های کلاژنی است و رشته الاستیک حضور نداشته و یا به میزان کمی وجود دارد (۱۰، ۱۱، ۱۲). در سگ قسمت نرم پرده صماخ دارای رشته کلاژن بیشتری بوده ولی به ندرت رشته الاستیک نیز در این قسمت مشاهده می‌گردد. در قسمت سخت پرده صماخ سگ نیز فقط حضور رشته کلاژن گزارش شد و رشته الاستیک مشاهده نشد (۵). در اسب مطالعه بافت شناسی پرده صماخ فقط حضور رشته کلاژن را نشان داد و رشته الاستیک گزارش نشد (۹). در خوکیچه هندی و موش صحرائی فقط رشته‌های کلاژن مشاهده می‌گردد و رشته الاستیک وجود ندارد (۱۶، ۹). در مطالعه حضور رشته‌ها در پرده صماخ گزارش گردید در پرده صماخ انسان و خرگوش، موش جریل، همستر در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ رشته الاستیک و کلاژن حضور دارد. برخلاف حیوانات فوق در گربه، خوکیچه هندی و موش صحرائی در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ فقط رشته کلاژن مشاهده می‌شود. در موش خانگی نیز رشته کلاژن در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ

به عنوان نتیجه گیری کلی از انجام مطالعه حاضر می-توان اذعان داشت پرده صماخ گاو میش دارای مشابهت‌ها و تفاوت‌های بافتی با سایر حیوانات از جمله نشخوارکنندگان است. پرده صماخ در گاو میش دارای سه لایه اپیتلیومی، بافت همبند و لایه مخاطی بود. لایه همبندی ضخامت بالایی داشت و از دو لایه قبلی بزرگتر دیده شد. در طبقه اپیتلیومی خارجی بافت پوششی از نوع سنگفرشی مطبق دیده شد و نیز در طبقه مخاطی داخلی اپیتلیوم سنگفرشی ساده قرار داشت. در لایه همبندی رشته‌های کلاژن از دو نوع شعاعی و مدور دیده شد و سلول‌های همبندی نیز بیشتر از نوع فیروبلاست بود. رشته‌های الاستیک و کلاژن در هر دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ مشاهده شد. قسمت نرم پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته الاستیک بوده و برخلاف آن قسمت محکم پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته کلاژن بود. بیشترین تراکم رشته کلاژن مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ گاو میش ماده و کمترین میزان مربوط به پرده صماخ گوش سمت چپ گاو میش نر بود. میانگین ضخامت اپیدرم، تعداد ستیغ‌های اپیدرمی، ارتفاع ستیغ‌ها، ضخامت بافت همبند و تعداد سلول‌ها در جنس ماده بزرگ تر از جنس نر می‌باشد.

دیده شد ولی رشته الاستیک فقط در قسمت سخت پرده صماخ وجود داشت. تراکم رشته کلاژن نیز در انسان در هر دو بخش نرم و سخت پرده صماخ مشابه هم و پر تراکم بود در حالی که در خرگوش، گربه، موش صحرائی و موش جریبل قسمت سخت بسیار پر تراکم بود و در قسمت نرم تراکم رشته کلاژن کمتر مشاهده شد. در سگ و همستر نیز تراکم رشته‌های کلاژن در قسمت محکم پرده صماخ کمی بیشتر از قسمت نرم مشاهده شد (۴). در مطالعه حاضر رشته‌های الاستیک و کلاژن در هر دو بخش پرده صماخ مشاهده شد به طوری که قسمت نرم پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته الاستیک بوده و برخلاف آن قسمت سخت پرده صماخ دارای مقادیر بیشتر رشته کلاژن بود. از این منظر گاو میش بدلیل داشتن هر دو رشته کلاژن و الاستیک در دو قسمت نرم و سخت پرده صماخ با انسان خرگوش، موش جریبل و همستر مطابقت داشته و با سگ، گربه، اسب، خوکچه هندی، پستانداران آبی و موش صحرائی متفاوت بود. هم چنین این تفاوت حضور و تراکم رشته کلاژن مانند خرگوش، گربه، موش صحرائی و موش جریبل در قسمت سخت نسبت به قسمت نرم به شکل فاحش نبوده و قسمت سخت کمی بیشتر از قسمت نرم رشته کلاژن داشت. بنابراین نتایج تحقیق حاضر در خصوص تراکم رشته کلاژن در دو قسمت نرم و سخت مشابه سگ و همستر دیده شد.

منابع

1. Ardalani, G., Bagheri, D. (2002). Anatomy of facial veins of buffalo. *Journal of Veterinary Research*, 57; 1-6.
2. Alm, P.E., Bloom, G.D., Hellstrom, S., Stenfors, L.E., Widmer, L. (1983). Mast cells in the pars flaccid of the tympanic membrane. A quantitative morphological and biochemical study in the rat. *Experientia*, 39; 287-289.
3. Blanke, A., Aupperle, H., Seeger, J., Kubick, C. (2015). Histological study of the external, middle, and inner ear os horses. *anatomia histologia. Embryologia*, 44; 401-409.
4. Chole, R. A., Kodama, K. (1989). Comparative histology of the tympanic membrane and its relationship to cholesteatoma. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 98; 761-766.
5. Cole, L. K. (2009). Anatomy and physiology of the canine ear. *Veterinary Dermatology*, 20; 412-421.
6. Dyce, A. (1975). *Textbook of veterinary anatomy*. 4th ed. Saunders Company. 2010. Philadelphia.
7. Getty, R. (1975). *Sisson and Grossman's. The Anatomy of the Domestic Animals*. Vol 2. 5th ed. Philadelphia: 1975; Saunders company.
8. Hasanzadeh, S.H., Monazzah, S. (2011). Gross morphology, histomorphology and histomorphometry of the jejunum in the adult river

buffalo. Iranian Journal of Veterinary Research, 12; 99-106.

9. Johnson, F.R., McMinn, R.M., Field, G. N. (1968). Ultrastructural and biochemical observation on the tympanic membrane. Journal of Anatomy, 103(2); 297-310.

10. Lim, D. J. (1968). Tympanic membrane part ii.: pars flaccida. Acta oto-laryngologica, 66; 515-532.

11. Lim, D. J. (1968). Tympanic membrane: electron microscopic observation part I: pars tensa. Acta oto-laryngologica, 66; 181-198.

12. Lim, D. J. (1970). Human tympanic membrane. an ultrastructural observation. Acta oto-laryngologica, 70; 176-186.

13. Mohammadian, B., Nikvand, A.A., Haji Hajikolaie, M.R., Ghaddan Mashhadi, A.R., Ghorbanpoor, M. (2016). Pathological study of urinary bladder and kidney in slaughtered water buffalo (*Bubalus bubalis*) at Ahvaz abattoir. Iranian veterinary journal., 12(3); 69-75.

14. Nourinezhad, J., Moarabi, A.V., Mazaheri, Y., Karami, A.M. (2016). Anatomical features of ligaments of the tarsal joint in Khuzestan river buffalo (*Bubalus bubalis*). Iranian Veterinary Journal., 12(1); 108-116.

15. Rashnavadi, M., Nikvand, A.A., ESmaeizadeh, S., Nouri, M. (2017). Study of hormones (T3&T4) changes and their relation with hostopathology of thyroid glands in water buffalo in ahvaz, iran. Journal of Veterinary Research, 72(4); 419-424.

16. Schmid, S. H., Hellsrom, S. (1991). Tympanic membrane structure- New Views. Otolaryngology, 53; 32-36.

17. Soarez, H. B., Lavinsky, L. (2011). Histology of sheep temporal bone. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, 77(3); 285-292.



Histological, Histochemical and Histomorphometrical Study of Tympanic Membrane in the Adult River Buffalo

S. R. Hashemi¹, R. Shahrooz¹, F. Soltananejad¹, Gh. Najafi¹

1. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia. Iran.
srashid.hashemi6586@gmail.com

Received: 2019.22. 11

Accepted: 2019.22.12

Abstract

Introduction & Objective: Buffalo is an economic animal in Livestock areas. Buffalo has two types: swamp buffalo and river buffalo. The tympanic membrane or ear drum is a thin membrane that separates the outer ear from the middle ear. There is no histological and histochemical research performed on this organ in buffalo.

Material and Method: For this study 8 heads of male and female buffalo were purchased from slaughterhouse and their tympanic membrane were studied histomorphometry, histological and histochemically with H&E, Verhoff, PAS and MTC staining.

Results: The result showed Tympanic membrane had three layers of Epithelial layer, connective tissue and mucosal layer. In Epithelial layer Epithelium was stratified squamous and in mucosal layer epithelium was simple squamous. Connective tissue was very thick and its collagen fibers types was arranged in radial and circular manner. The most types of connective cells were fibroblast. Collagen and elastic fibers were in both parts of tympanic membrane, but pars flaccida of tympanic membrane had more elastic fibers and in contrast it's pars tensa of tympanic membrane had more collagen fibers. The highest density of collagen fiber observed in left tympanic membrane of female buffalo and lowest density of collagen fiber was in left tympanic membrane of male buffalo.

Conclusion: Overall result showed tympanic membrane in buffalo had Similarities and differences with ruminants and other animals.

Keywords: Histology, Histochemistry, Histomorphometry, Tympanic Membrane, Buffalo.