

## مطالعه آناتومیکی، بافت‌شناسی و هیستوشیمی شیپور استاش در گاو میش رودخانه‌ای بالغ

سیدرشیده‌هاشمی فرهاد سلطانعلی نژاد\* غلامرضا نجفی رسول شهروز

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(دریافت مقاله: ۲ اردیبهشت ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۳ تیر ماه ۱۳۹۶)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** شیپور استاش کانال استخوانی-غضروفی است که حفره صماخی را به ناحیه بینی ای حلق متصل می‌کند. هیچ تحقیق آناتومیکی و بافت‌شناسی بر روی این عضو در گاو میش انجام نشده است. **هدف:** مطالعه آناتومیکی و بافت‌شناسی شیپور استاش در گاو میش بالغ بعنوان اطلاعات پایه‌ای برای شناخت این عضو مورد استفاده قرار خواهد گرفت. **روش کار:** تعداد ۸ عدد سر گاو میش بالغ نر و ماده از کشتارگاه تهیه شد و شیپور استاش آن‌ها مورد مطالعه آناتومیکی قرار گرفت، سپس نمونه بافتی اخذ گردید. نمونه‌ها به روش‌های H&E برای مطالعه عمومی، Verhoff برای رشته‌های الاستیک، PAS برای کربوهیدرات‌ها و Masson's Trichrome برای رشته‌های کلاژن رنگ آمیزی شدند. **نتایج:** یافته‌های آناتومیکی نشان داد شیپور استاش سفید رنگ و به شکل لوله‌ای قیفی، بدون انحنا و تماماً غضروفی است و در هر دو جنس دارای ساختمان مشابه می‌باشد. نتایج بافت‌شناسی و هیستوشیمی نیز نشان داد اپیتلیوم شیپور استاش گاو میش استوانه‌ای شبه مطبق مژه دار است و در بعضی نواحی نیز به صورت سنگفرشی مطبق می‌باشد. غضروف در ابتدا از نوع الاستیک و سپس از نوع غضروف شفاف می‌باشد. غدد موجود در شیپور استاش گاو میش از نوع موکوسی بوده و بافت لنفاوی را به طور واضح می‌توان در دهانه حلقی به شکل لوزه لوله شنوایی غیر فولیکولار یافت. **نتیجه‌گیری نهایی:** یافته‌های حاصل از این تحقیق می‌تواند بعنوان اطلاعات پایه‌ای آناتومی و بافت‌شناسی شیپور استاش در گاو میش قابل ارائه باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آناتومی، بافت‌شناسی، هیستوشیمی، شیپور استاش، گاو میش

### مقدمه

اسب در سطح شکمی توسعه یافته و جیب حلقی (Guttural pouch) را می‌سازد که دارای ویژگی‌های ریزینی شبیه قسمت حلقی لوله است ولی فاقد حمایت غضروفی است (۳۱، ۲۶، ۲۱، ۱۱، ۸، ۶). Sucheston و Cannon در سال ۱۹۷۱ لوله شنوایی را در گوسفند و گوساله از نوع غضروفی گزارش کردند، در حالی که Yazici و همکاران در سال ۲۰۰۸ لوله شنوایی در موش صحرایی را دارای دو بخش استخوانی و غضروفی اعلام نمودند (۳۱، ۲۸). Bacher و Jose در سال ۱۹۱۲ نشان دادند شیپور استاش سگ دارای انحنا بوده در حالی که شیپور استاش در گوسفند، گوساله، گراز و گربه در مسیر مستقیم و فاقد انحنا می‌باشد. شکل دهانه ورودی لوله شنوایی در گراز و گوساله هلالی و کمانی شکل بوده و در سگ، گربه، خرگوش و گوسفند به شکل نیم‌دایره می‌باشد (۴). Sucheston و Cannon همچنین اپیتلیوم لوله شنوایی در اوپاسوم، گربه، خفاش، اسب و گوسفند را از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژه‌دار گزارش کردند. در گربه نیز از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژه‌دار بوده و فقط در قسمت انتهایی و نزدیک حفره صماخی از نوع استوانه‌ای ساده مشاهده می‌شود (۲۸). تحقیقات صورت گرفته توسط Endo و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Sucheston و Cannon نیز نشان داد بافت لنفاوی در شیپور استاش انسان، موش کور، موش صحرایی، گربه و گوسفند در قسمت دهانه حلقی تشکیل لوزه لوله شنوایی را می‌دهد، در حالی که در خرگوش، خفاش، اوپاسوم، کرگدن سفید و اسب لوزه لوله شنوایی یافت نشد (۲۸، ۹). با بررسی تحقیقات صورت گرفته می‌توان تفاوت‌های متعدد آناتومیکی و بافت‌شناسی را مشاهده نمود.

گاو میش بعنوان یک حیوان اقتصادی در مناطق دام‌خیز کشور مطرح است و به علت مصرف فراوان گوشت آن امروزه بیش از نصف کشتار نشخوارکننده بزرگ شمال غرب کشور را شامل می‌شود (۲). گاو میش از نظر محیط زیست به دو نوع باتلاقی و رودخانه‌ای طبقه‌بندی می‌شوند. گاو میش آذربایجانی متعلق به گونه رودخانه‌ای می‌باشد (۱۵). لوله شنوایی (Auditory tube) به احترام Bartholomaeus Eustachius آناتومیست قرن ۱۶ که اولین بار درباره این مجرا مطالعه کرد، شیپور استاش (Eustachian tube) نام‌گذاری شده است (۱۱). شیپور استاش یک لوله استخوانی-غضروفی است که حفره صماخی را به ناحیه بینی ای حلق (Nasopharynx) متصل می‌کند. دارای سه وظیفه تهویه و تعادل فشار هوای گوش میانی، درناژ و زهکشی ترشحات تولید شده و همچنین محافظت از حفرات گوش میانی است (۳۱، ۲۹). دیواره شیپور استاش در حالت عادی بر روی هم خوابیده است ولی در فرآیند بلع برای تعادل فشار هوای گوش میانی باز می‌گردد. دارای اپیتلیوم از نوع تنفسی در نزدیک دهانه حلقی و غیرتنفسی می‌باشد که بر روی بافت همبند سست قرار گرفته است. پارین در لوله شنوایی نازک و فاقد غدد در ناحیه استخوانی می‌باشد. پارین در ناحیه غضروفی لوله حاوی غدد ترشچی و ندول لنفاوی می‌باشد که در دهانه حلقی (Pharyngeal opening) این ندول‌های لنفاوی تشکیل لوزه لوله شنوایی (Tubal tonsil) را می‌دهند. لوله شنوایی در مجاورت گوش میانی توسط استخوان و به طرف حلق توسط غضروف ناکامل احاطه شده است. لوله شنوایی در



جدول ۱. مشخصات مورفومتری شیپور استاش بر حسب میلی متر.

جنسیت		میانگین ابعاد	
نر	ماده	میانگین	انحراف معیار
انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین
۰/۳۶	۹/۴۰	۰/۵۶	۹/۴۶
۰/۶۳	۸/۹۳	۰/۳۴	۹/۳۴
۰/۳۷	۵/۳۶	۰/۴۲	۵/۸۳
۰/۲۶	۵/۳۲	۰/۳۴	۵/۷۹
۱/۹۶	۴۵/۱۳	۱/۷۰	۴۷/۲۸
۱/۷۵	۴۴/۵۰	۱/۳۵	۴۷

ضخامت  $5 \mu$  از آن‌ها تهیه و آماده رنگ آمیزی گردید. علاوه بر رنگ آمیزی معمولی بافتی (H&E)، رنگ آمیزی ورهوف (Verhoff) برای مطالعه رشته‌های الاستیک، رنگ آمیزی پرپودیک اسید شیف (PAS) برای مطالعه مواد حاوی کربوهیدراتها مانند گلیکوز آمینوگلیکان و ترشحات موکوسی و نیز رنگ آمیزی ماسون تری کروم (Masson's Trichrome) برای مطالعه رشته‌های کلاژن انجام شد و در انتها توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه بافتی قرار گرفتند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** مقایسه آناتومیکی ابعاد شیپور استاش بین دو جنس نر و ماده و نیز بین سمت چپ و راست توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام پذیرفت و برای تحلیل آماری داده‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه و تست تعقیبی Tuckey استفاده و سطح  $p \leq 0.05$  برای معنی دار بودن اختلاف بین داده‌ها در نظر گرفته شد.

## نتایج

**آناتومی:** شیپور استاش به رنگ سفید و در حد فاصل حفره صماخی و ناحیه بینی‌ای حلق قرار داشت. از نظر آناتومیکی شیپور استاش به صورت لوله قیفی شکل مشاهده شد. بدنه از ابتدای دهانه حلقی تا مجرای گوش میانی کاملاً در مسیر قرار داشت. لوله شنوایی تماماً توسط غضروف حمایت شده و فاقد قسمت‌های استخوانی بود. دهانه حلقی شیپور استاش در تمامی نمونه‌ها به صورت نیم‌دایره دیده شد. در قسمت ابتدایی، مجرای شیپور استاش عریض بود و رفته رفته به سمت بخش میانی و انتها، از عرض آن کاسته شده و در مدخل گوش میانی با حداقل پهنا رویت شد. دهانه حلقی به صورت کلاپس شده مشاهده گردید. مجرای شیپور استاش، بجز در ناحیه ورود به گوش میانی، در سایر نواحی تنگ نبوده و پروب به راحتی و بدون وارد کردن فشار در مسیر کاملاً مستقیم و بدون انحنای وارد گوش میانی می‌شد (تصویر ۱، ۲).

**مورفومتری:** نتایج حاصل از پارامترهای اندازه‌گیری شده (طول شیپور استاش، طول دهانه حلقی و میزان تقعر دهانه حلقی) نشان داد که میانگین پارامترهای مذکور در جنس ماده بزرگتر از جنس نر می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که میانگین ابعاد شیپور استاش در سمت راست هر دو

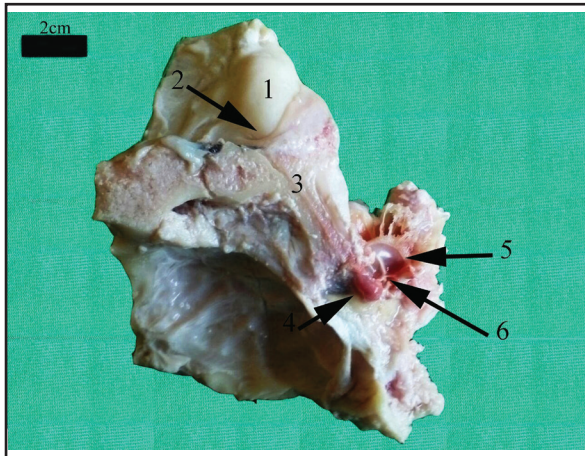
بنابراین به دلیل نقش مهم فیزیولوژیک شیپور استاش در گوش میانی، شیپور استاش گامیست همیشه بالغ که تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته بود انتخاب شد و آناتومی و بافت‌شناسی آن در هر دو جنس مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش کار

**جمع‌آوری نمونه:** برای این مطالعه، ۸ عدد سر گامیست رودخانه‌ای بالغ (۴ عدد نر و ۴ عدد ماده) با میانگین سنی ۲ تا ۳ سال، از کشتارگاه عمومی تهیه گردید و سرها به سالن تشریح دانشکده دامپزشکی منتقل شد. **مطالعه آناتومیکی:** به منظور مطالعه آناتومیکی، پوست ناحیه سر و صورت برداشته شد. سپس از ناحیه بین دو کندیل استخوان Occipital تا محل استخوان Incisive بوسیله اهر برقی برش میانی طولی در سرها ایجاد و سر به دو قسمت کاملاً برابر تقسیم گردید. سپس دیواره حلقی (Pharyngeal Septum) کنار زده شد تا دهانه حلقی شیپور استاش نمایان شود. در مرحله بعد برای رهیافت دقیق از محل دهانه حلقی یک پروب مناسب به داخل مجرای شیپور استاش وارد گردید تا محل انتهایی شیپور استاش مشخص گردد. سپس شیپور استاش با دقت از ابتدا تا انتها کاملاً از استخوان‌های مجاور بجز حفره صماخی (Tympanic cavity) جدا گردید. در انتها شیپور استاش از محل ورود به گوش میانی جدا شد. در مرحله بعد از کولیس دیجیتالی برای اندازه‌گیری طول دهانه حلقی، میزان تقعر دهانه حلقی، طول شیپور استاش از محل دهانه حلقی تا محل ورودی به گوش میانی استفاده شد. تمامی مراحل در هر دو شیپور استاش چپ و راست و در دو جنس نر و ماده انجام پذیرفت. برای دقت عمل بیشتر، اندازه‌گیری‌ها سه مرتبه تکرار و تصاویر لازم تهیه گردید. سرانجام نمونه‌ها برای نگهداری طولانی مدت به داخل فرمالین ۱۰٪ انتقال یافتند.

**مطالعه بافت‌شناسی و هیستوشیمی:** برای مطالعه بافتی، از ۱۶ شیپور استاش (شیپور استاش سمت چپ و راست ۴ گاومیش نر و ۴ گاومیش ماده) نمونه‌های بافتی به اندازه  $1 \times 1$  cm از چهار قسمت دهانه حلقی (برای مشاهده وجود یا فقدان لوزه لوله شنوایی)، بخش ابتدایی، قسمت میانی و بخش انتهایی (دهانه ورود به گوش میانی) اخذ گردید. پس از طی مراحل پاساژ بافتی، قالب‌گیری توسط پارافین انجام پذیرفت و سپس برش‌هایی به

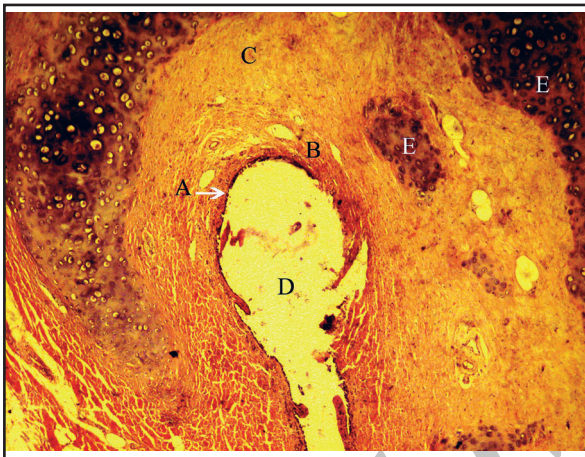




تصویر ۲. شیپور استاش گاو میش ماده بالغ ۱. شیپور استاش، ۲. دهانه حلقی، ۳. جدار استخوانی محافظ، ۴. عضله کشنده صماخی، ۵. پرده صماخ، ۶. استخوانچه چکشی.

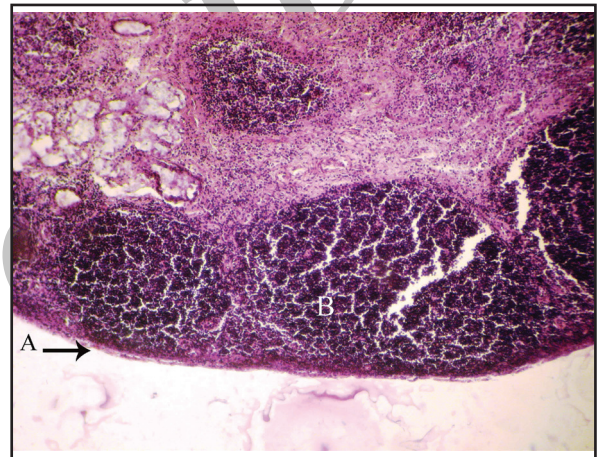


تصویر ۱. ناحیه شناسی شیپور استاش گاو میش نر بالغ ۱. دهانه حلقی شیپور استاش، ۲. پروب.



تصویر ۴. قسمت میانی شیپور استاش ماده بالغ. A. اپیتلیوم، B. بافت همبند سست، C. بافت همبند متراکم فیبروزی، D. مجرای لوله شنوایی، E. غضروف. H&E ۴۰.

غضروف سرتاسری مشاهده گردید. بین دیواره غضروفی و اپیتلیوم، لایه‌ای از بافت همبند مشاهده شد. بافت همبند زیر اپیتلیوم از نوع سست پرسلول بوده و تعدادی از سلول‌های لنفاوی به صورت پراکنده در داخل بافت دیده شد. این قسمت غنی از مویرگ بوده و به طرف عمق بافت همبند دارای رشته‌های همبندی فراوان بود. کندروسیت‌ها بصورت منفرد یا به تعداد دو یا بیشتر در داخل لاکونا یا آشیانه سلول قرار داشته و ماتریکس غضروف در پیرامون لاکونا نواحی سرحدی را به وضوح نشان می‌داد. اپیتلیومی سطح داخلی شیپور استاش، در ناحیه ویرگولی شکل و امتداد آن حالت استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار مشابه اپیتلیوم تنفسی را نشان می‌داد. در بعضی قسمت‌های ناحیه ویرگولی شکل، اپیتلیوم از نوع مکعبی یا سنگفرشی مطبق بود. بافت همبندی زیر اپیتلیوم در بعضی قسمت‌ها دارای انتشار بسیار متراکمی از سلول‌های لنفاوی بوده و ایجاد ندول لنفاوی می‌نمود. غدد موکوسی نیز در بخش ابتدایی مشاهده گردید. دیواره غضروفی در بخش میانی شیپور استاش فقط در یک سمت دیواره وجود داشت و این غضروف از نوع شفاف بوده و باعث استحکام مجرای شنوایی می‌گشت و در سمت



تصویر ۳. دهانه حلقی شیپور استاش گاو میش نر بالغ. A. اپیتلیوم، B. ندول لنفاوی H&E ۱۰۰.

جنس بزرگتر از سمت چپ می‌باشد. نتایج آنالیز آماری با استفاده از آزمون Tuckey نشان داد این اختلافات معنی‌دار نمی‌باشد. میانگین و انحراف معیار پارامترهای مختلف شیپور استاش چپ و راست در دو جنس نر و ماده در جدول ۱ نشان داده شده است.

**بافت‌شناسی:** یافته‌های بافت‌شناسی در دو جنس نر و ماده مشابه یکدیگر بوده و تفاوت بافتی واضحی بین دو جنس دیده نشد.

در مقطع عرضی دهانه حلقی بصورت یک حفره کشیده بوده و اپیتلیوم آن به صورت استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار مشاهده شد. اپیتلیوم در تمامی قسمت‌ها یکسان نبوده و در بعضی نواحی شدیداً تحت نفوذ لنفوسیت‌ها بود. بافت لنفاوی بطور متراکم بوده و ایجاد لوزه لوله شنوایی غیرفولیکولار می‌نمود (تصویر ۳).

در قسمت ابتدایی حفره داخلی شیپور استاش ویرگولی و یا C شکل بوده و دیواره آن نیز توسط غضروف به همین شکل حمایت می‌شد. در رنگ‌آمیزی H&E در ناحیه ابتدایی، غضروف بصورت شفاف (Hyaline Cartilage) دیده شد و قطعات غضروفی فرعی نیز بصورت مجزا از



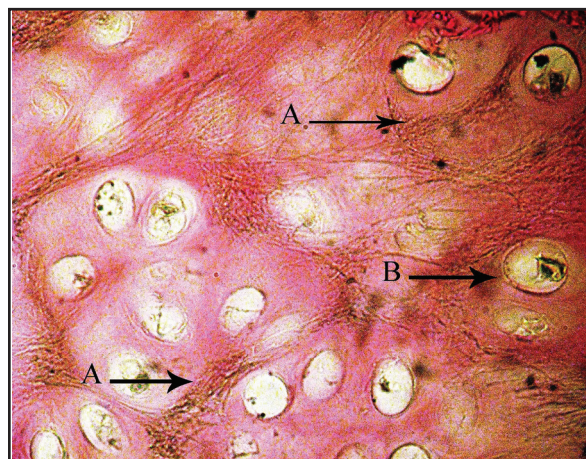


ارتفاع مژه‌ها کاسته می‌شد. در زیر اپیتلیوم، بافت همبند سست و پرسلول قرار داشت که میزان پراکندگی سلول‌های لنفاوی در آن، نسبت به بخش ابتدایی و مجاور حلقی بسیار کاهش یافته بود. بافت همبند زیر اپیتلیوم تقریباً به حالت سست بوده و این بافت همبند تا پریکندر غضروف ادامه می‌یافت و در نزدیکی‌های پریکندر از نوع متراکم نامنظم بوده و کاهش تعداد سلول‌ها در آن مشاهده گردید. در داخل این بافت همبند دستجات عصبی نیز مشاهده گردید. غدد موکوسی در اطراف غضروف حمایتی مشاهده شد. در بخش انتهایی شیپور استاش بطرف گوش میانی نیز، حمایت غضروفی بصورت ویرگولی شکل در یک طرف شیپور کاملاً مشهود بود، در حالی که در طرف مقابل حمایت غضروفی مشاهده نشد. ساختار غضروفی در بخش انتهایی نیز همانند بخش میانی بصورت غضروف شفاف دیده شد. بافت پوششی از نوع استوانه‌ای شبه منطبق بوده و در امتداد آن اپیتلیوم بصورت مکعبی یا استوانه‌ای ساده مشاهده گردید. اپیتلیوم در انتهای شیپور استاش در نزدیک مدخل حفره صماخی بطور کاملاً مشخصی از نوع سنگفرشی مطبق بود. زیر اپیتلیوم، بافت همبند سست نسبتاً پرسلول مشاهده شد و این بافت به طرف پریکندر غضروف، به بافت همبند متراکم نامنظم تبدیل می‌شد (تصویر ۴).

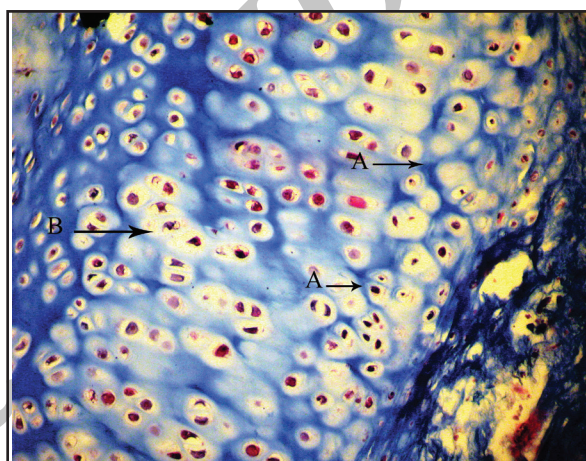
**هیستوشیمی (رنگ‌آمیزی ورهوف (Verhoff):** رنگ‌آمیزی اختصاصی ورهوف نشان داد که در قسمت‌های ابتدایی، غضروف شیپور استاش دارای رشته‌های الاستیک بوده و غضروف حالت الاستیکی را نشان می‌داد، در حالی که در رنگ‌آمیزی عادی بافتی، ویژگی غضروف شفاف را نشان داده بود. در قسمت‌های میانی و انتهایی رشته‌های الاستیک مشاهده نگردید و غضروف به حالت شفاف دیده شد. همچنین بافت همبند متراکم حمایت کننده دیواره شیپور استاش نیز وجود رشته‌های الاستیک را فقط در قسمت ابتدایی نشان می‌داد (تصویر ۵).

**رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم (Masson's Trichrome یا MTC):** با رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم مشخص گردید که در قسمت میانی و انتهایی شیپور استاش، بافت همبند مجاور بافت پوششی از نوع سست بوده و بافت همبند نواحی عمقی تر به شکل متراکم نامنظم می‌باشد. در حد فاصل کندروسیت‌های غضروف دارای رشته‌های کلاژن بوده و با این نوع رنگ‌آمیزی به رنگ آبی مشاهده گردید. همچنین برخلاف قسمت اولیه که غضروف حالت الاستیک را نشان می‌داد، در بخش میانی و انتهایی غضروف به حالت شفاف بود (تصویر ۶).

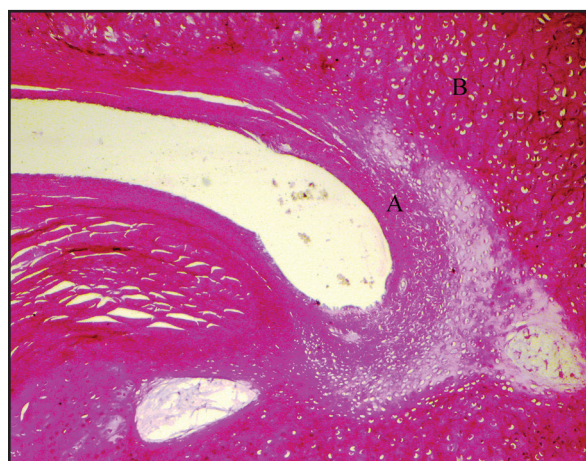
**رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف (PAS):** در ناحیه ویرگولی قسمت ابتدایی شیپور استاش، سیتوپلاسم سلول‌های پوششی دارای ویژگی‌های PAS مثبت بوده و این حالت در سلول‌های سطحی نسبت به سلول‌های عمقی بیشتر مشهود بود. در سایر قسمت‌های شیپور استاش شدت واکنش PAS نسبتاً کمتر بود. اپیتلیوم در روی غشای پایه‌ای قرار گرفته که با این رنگ‌آمیزی بطور مشخص بصورت یک خط قرمز تیره نمایان شد.



تصویر ۵. قسمت ابتدایی شیپور استاش گاومیش نر بالغ. A. رشته الاستیک (فلش‌ها). B. کندروسیت داخل لاکونا. ۴۰۰ Verhoff.



تصویر ۶. قسمت میانی شیپور استاش گاومیش ماده بالغ. A. رشته کلاژن، B. کندروسیت داخل لاکونا ۱۰۰ MTC.



تصویر ۷. قسمت ابتدایی شیپور استاش گاومیش نر بالغ. A. بافت همبند سست، B. غضروف. ۴۰ PAS.

دیگر فقط بافت چربی و بافت همبند سست قرار گرفته بود. قطعات غضروفی فرعی نیز در این قسمت مشاهده شد. بافت پوششی از نوع استوانه‌ای شبه منطبق مژه دار بوده که در قسمت راسی سلول‌ها کمی باریک شده و از

مستقیم قرار داشته و لوله شنوایی فاقد انحنا می‌باشد (۴) Mulder و Kuijpers نیز در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که در موش صحرایی بخش میانی شیپور استاش دارای انحنا است (۱۸،۲۳) و Goksu و همکاران نیز انتهای شیپور استاش را در خوچه هندی دارای انحنا و تقعر گزارش کردند (۱۱). Endo و همکاران گزارش کردند که لوله شنوایی کرگدن سفید در مسیر مستقیم و فاقد انحراف می‌باشد (۹). در تحقیق حاضر لوله شنوایی گاو میش با کرگدن سفید، گوسفند، گوساله، گراز و گربه مشابه بوده و بصورت قیفی شکل در مسیر مستقیم و فاقد انحنا می‌باشد.

Bacher و Jose در مطالعه دهانه حلقی شیپور استاش گزارش کردند که این دهانه در گراز و گوساله هلالی و کمائی شکل بوده و در سگ، گربه، خرگوش و گوسفند به شکل نیم‌دایره می‌باشد (۴). در تحقیق حاضر دهانه حلقی لوله شنوایی گاو میش به شکل نیم‌دایره می‌باشد و با سگ، گربه، خرگوش و گوسفند مشابه و با گراز و گوساله متفاوت است.

Morshedi، Mafee و Prades و همکاران، Sucheston و همچنین Aschan در سال ۱۹۵۴ نشان دادند اپیتلیوم لوله شنوایی انسان از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار می‌باشد (۳،۲۲،۲۵،۲۸) Ladman و Mitchell در سال ۱۹۵۵ و نیز Park و همکاران در سال ۱۹۹۲ اپیتلیوم لوله شنوایی را در موش از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار گزارش کردند که به مرور به مکعبی مژده‌دار تبدیل می‌شود (۱۹،۲۴) Lim و همکاران در سال ۱۹۶۷ عنوان کردند که این اپیتلیوم در خوچه هندی از نوع استوانه‌ای مطبق مژده‌دار بوده و در مناطقی نیز به شکل مکعبی و سنگفرشی مشاهده می‌شود (۲۰). Albins و همکاران Daniel و همکاران در سال ۱۹۸۲، Hanamure و Lim در سال ۱۹۸۷ و همچنین Kitajiri و همکاران در سال ۱۹۸۰ گزارش کردند اپیتلیوم شیپور استاش در موش صحرایی و چین چیل از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار بوده و در انتها به سمت گوش میانی در موش صحرایی از نوع سنگفرشی مطبق و در چین چیل از نوع مکعبی می‌باشد (۷،۱۳،۱۷). همچنین تحقیقات Harda در سال ۱۹۷۷ و Tojo و همکاران در سال ۱۹۸۵ بر روی لوله شنوایی سگ نشان داد که اپیتلیوم از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار می‌باشد و در قسمت مدخل حلقی و گوش میانی اپیتلیوم فاقد مژه بیشتر دیده می‌شود (۱۴،۳۰). Cannon و Sucheston نیز گزارش کردند در اوپاسوم، خفاش، گربه، اسب و گوسفند اپیتلیوم لوله شنوایی از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار می‌باشد و در گربه نیز از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار بوده و فقط در قسمت انتهایی از نوع استوانه‌ای ساده مشاهده می‌شود (۲۸). نتایج تحقیق حاضر منطبق با سایر تحقیقات می‌باشد و اپیتلیوم شیپور استاش گاو میش در ابتدا از نوع اپیتلیوم تنفسی استوانه‌ای شبه مطبق مژده‌دار بوده و نیز در انتها بصورت مکعبی یا استوانه‌ای ساده بوده و در محل ورودی گوش میانی سنگفرشی مطبق می‌باشد.

مطالعات Cannon و Sucheston نشان داد ساختار غضروف شیپور

این واکنش در بافت همبند متراکم بیشتر از بافت همبند سست بود. در غضروف دیواره شیپور استاش، رشته‌هایی که رنگ PAS را به خود گرفته بودند به شکل مارپیچی مشاهده شدند، در حالی که در بخش عمقی که غضروف حالت شفاف را نشان می‌داد ماتریکس بطور نسبتاً یکنواخت رنگ آمیزی PAS را بخصوص در نواحی بین سرحدی نشان داد. سیتوپلاسم کندروسیت‌ها در داخل آشیانه سلولی مملو از دانه‌های PAS مثبت بوده و این نشان دهنده ذخیره فراوان گلیکوژن و یا مواد حاوی کربوهیدرات‌ها در داخل این سلول‌ها بود. واکنش PAS مثبت در قسمت میانی و انتهایی شیپور استاش نیز مشاهده گردید، ولی به نظر می‌رسید این واکنش در قسمت انتهایی نسبت به قسمت‌های ابتدایی و میانی لوله شنوایی نسبتاً کاهش یافته بود. در داخل بافت همبند نیز واکنش PAS مثبت بیشتری دیده شد. در داخل بافت همبند زیر اپیتلیوم بخش مقابل ویرگولی شکل نیز واکنش PAS مثبت به مراتب کمتر بود (تصویر ۷).

### بحث

شیپور استاش یک لوله استخوانی-غضروفی است که دارای وظایف تهویه و تعادل فشار هوای گوش میانی، درناژ و زهکشی ترشحات و همچنین محافظت حفرات گوش میانی است.

Morshedi و Mafee در سال ۲۰۱۲ و Prades و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه شیپور استاش انسان، همچنین Albins و همکاران در سال ۱۹۸۳ و Yazici و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مطالعه شیپور استاش موش صحرایی گزارش کردند که لوله شنوایی در انسان و موش صحرایی به شکل لوله‌ای است که از دو بخش استخوانی و غضروفی تشکیل شده است که حداقل آن دارای یک تنگه (Isthmus) می‌باشد (۱،۲۲،۲۵،۳۱). تحقیقات Park و همکاران در سال ۱۹۹۲ در موش (۲۴)، Goksu و همکاران نیز در سال ۱۹۹۲ بر روی خوچه هندی (۱۱)، Sucheston و Cannon در سال ۱۹۷۱ در مطالعه بر روی موش کور، گوسفند، گوساله، گراز، گربه (۲۸)، Daniel و همکاران در سال ۱۹۸۲ در چین چیل (۷)، Bacher و Jose در سال ۱۹۱۲ در خرگوش و سگ (۴) و همچنین Endo و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه بر روی شیپور استاش کرگدن سفید با نتایج مشابه گزارش نمودند که لوله شنوایی در این حیوانات بصورت لوله‌ای تماماً غضروفی می‌باشد (۹). در تحقیق حاضر لوله شنوایی گاو میش با انسان و موش صحرایی متفاوت و همانند سایر جوندگان و حیوانات تماماً غضروفی است و بصورت لوله‌ای قیفی و فاقد قسمت تنگه (Isthmus) مشاهده گردید.

مطالعات همچنین نشان می‌دهد که لوله شنوایی در بعضی حیوانات به شکل لوله مستقیم نمی‌باشد. بطوری که Bacher و Jose گزارش نمودند شیپور استاش سگ دارای انحنا می‌باشد که در قسمت ابتدایی مشهودتر است در حالی که شیپور استاش در گوسفند، گوساله، گراز و گربه در مسیر





انحنا بوده و تماما غضروفی می‌باشد. نتایج مورفومتری نشان داد اختلاف معنی‌داری در اندازه قسمت‌های مختلف شیپور استتاش بین سمت چپ و راست و نیز بین دو جنس وجود ندارد. در مطالعه بافتی، اپیتلیوم شیپور استتاش گاو همیشه استوانه‌ای شبه مطبق مزه‌دار بوده و در انتها نیز بصورت سنگفرشی مطبق می‌باشد. غضروف شیپور استتاش در قسمت ابتدایی از نوع الاستیک بوده و سپس ویژگی‌های غضروف شفاف را تا انتها نشان می‌دهد. غدد موجود در لوله شنوایی گاو همیشه از نوع موکوسی بوده و بافت لنفاوی نیز در لوله شنوایی در دهانه حلقی تشکیل لوزه لوله شنوایی از نوع غیر فولیکولار را می‌دهد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارکنان سالن تشریح و آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی کمال تشکر را می‌نمایند.

### References

- Albins, N., Hellstorm, S., Salen, B. (1983) The anatomy of the Eustachian tube In the rat: A macro- and microscopic study. *Anat Rec.* 207: 513-521.
- Ardalani, G., Bagheri, D. (2002) Anatomy of facial veins of buffalo. *J Vet Res.* 57: 1-6.
- Aschan, G. (1954) The Eustachian Tube. *Acta Oto.* 4: 295-311.
- Bacher, J.A., Jose, S. (1912) The anatomy of the eustachian tube. *Laryngo.* 22: 21-37.
- Cocquyt, G., Baten, T., Simoens, P., Van Den Broeck, W. (2005) Anatomical Localization and Histology of the Ovine Tonsils. *Vet Immun.* 107: 79-86.
- Constantinesco, Gh.M. (2004) *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals.* (4<sup>th</sup> ed.) Schattauer Company. Stuttgart, Germany.
- Daniel, H.J., Fulghum, R.S., Brinn, J.K., Barrett, K.A. (1982) Comparative anatomy of Eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol.* 91: 82-89.
- Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. (2010) *Textbook of Veterinary Anatomy.* (4<sup>th</sup> ed.) Saunders Company, Philadelphia.
- Endo, H., Manglai, M., Fujisawa, M., Kurohmaru, M., Hayashi, Y. (1998) The Guttural pouch is not present in the White Rhinoceros (*Ceratotherium simum*); Morphology of the Eustachian tube and Nasopharynx. *Anat Histol Embryol.* 27:

استتاش انسان، خرگوش، اسب، گربه و گوسفند از نوع غضروف الاستیک می‌باشد که در انسان انتهای لوله شنوایی در مدخل گوش میانی، غضروف از نوع شفاف می‌باشد و علاوه بر غضروف سرتاسری در پیرامون اپیتلیوم نیز، دارای قطعات غضروفی فرعی (Accessory Cartilage) می‌باشد. در تحقیقات Daniel و همکاران، Endo و همکاران، Hanamure و Lim، Morshedi و Mafee و همچنین Prades و همکاران نیز عنوان شد شیپور استتاش در خوکچه هندی، موش صحرائی، موش کور، چین چپلا، خفاش و کرگدن سفید دارای غضروفی از نوع شفاف هستند و در اوپاسوم غضروف از نوع غضروف رشته‌ای (Fibrocartilage) می‌باشد. در گربه، گوسفند و اسب نیز قطعات غضروفی فرعی مشابه انسان در لوله شنوایی مشاهده می‌گردد (۲۸، ۲۵، ۲۲، ۱۳، ۹، ۷). در تحقیق حاضر غضروف شیپور استتاش فقط در قسمت ابتدایی بصورت الاستیک بوده و در بقیه قسمت‌ها بصورت غضروف شفاف می‌باشد و در مجموع ویژگی‌های غضروف شفاف را نشان می‌دهد و از این منظر با انسان، خرگوش، اسب، گربه، اوپاسوم و گربه متفاوت بوده و بیشتر منطبق با سایر چوندگان، خفاش و کرگدن سفید می‌باشد. همچنین لوله شنوایی گاو همیشه همانند انسان، گربه، گوسفند و اسب دارای قطعات غضروفی فرعی می‌باشد.

در مطالعات صورت گرفته توسط Daniel و همکاران، Harda و Kuyjpers و همکاران و نیز Cannon و Sucheston گزارش شده است که در ابتدا و بخش میانی شیپور استتاش انسان، موش صحرائی، خرگوش و چوند چپلا غدد از نوع سروموکو مشاهده می‌شود و در موش کور نیز از نوع سرروزی می‌باشد. در سگ نیز این غدد از نوع موکوسی مشاهده شد (۲۸، ۱۸، ۱۴، ۷). در مطالعه حاضر غدد موجود در شیپور استتاش گاو همیشه با سگ منطبق بوده و از نوع موکوسی می‌باشد و با انسان، موش کور و سایر چوندگان متفاوت است.

تحقیقات صورت گرفته توسط Endo و همکاران و Sucheston و Cannon و Ranjiti و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند بافت لنفاوی در شیپور استتاش انسان، موش کور، موش صحرائی، گربه، گوسفند و خوک وجود داشته و در دهانه حلقی تشکیل لوزه لوله شنوایی را می‌دهد در حالی که در خرگوش، خفاش، اوپاسوم، کرگدن سفید و اسب لوزه لوله شنوایی یافت نمی‌گردد (۲۸، ۲۷، ۹). در مطالعه Indu و همکاران در سال (۱۶) ۲۰۱۵ و Cocquyt و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۵) در بز و گوسفند لوزه لوله شنوایی از نوع غیر کپسول دار گزارش گردید. در تحقیق حاضر شیپور استتاش گاو همیشه برخلاف اسب، کرگدن سفید، خفاش و اوپاسوم دارای لوزه لوله شنوایی بوده و با انسان، چوندگان (بجز خرگوش)، گربه، گوسفند، بز و خوک مشابه می‌باشد. همچنین این لوزه از نوع غیر فولیکولر می‌باشد.

در نهایت به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان ادعا داشت شیپور استتاش گاو همیشه بالغ در هر دو جنس نر و ماده از نظر آناتومیکی بصورت لوله‌ای قیفی شکل است. همچنین مسیر لوله در جهت مستقیم و بدون

- 327-330.
10. Eurell, J.A., Frappier, B.L. Translated; Shahrooz, R. (2013) Dellmann, s Textbook of Veterinary Histology. ( 1<sup>th</sup> ed.) Urmia University Publication. Urmia, Iran.
  11. Goksu, N., haziroglu, R., Kemaloglu, Y., Kardemir, N., Bayramoglu, I., Akyldiz, N. (1992) Anatomy of the Guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 101: 699-704.
  12. Graves, G., Edwards, L. (1944) The Eustachian tube. A review of its descriptive, Microscopic, Topographic and Clinical anatomy. *Arch Otolaryngol.* 39: 359-397.
  13. Hanamure, Y., Lim, D.J. (1987) Anatomy of Chinchilla bulla and Eustachian tube. *Am J Otolaryngol.* 3: 127-143.
  14. Harda, Y. (1977) Scanning electron microscopic study on the distribution of epithelial cells in the eustachian tube. *Acta Otolaryngol.* 83: 284-290.
  15. Hasanzadeh, SH., Monazzah, S. (2011) Gross morphology, histomorphology and histomorphometry of the jejunum in the adult river buffalo. *Iran J Vet Res.* 12: 99-106.
  16. Indu, V.R., Lucy, K.M., Chungath, J.J., Ashok, N., Maya, S. (2015) Histology and Scanning Electron Microscopy of the Tubal Tonsil of Goats. *Vet Worl.* 8: 1011- 1014.
  17. Kitajiri, M., Yamashita, T., shinomiya, Masao., Ibata, Yasuhiko. (1980) Electron-microscopic Observation of Adrenergic innervation in Guinea pig Eustachian tube. *Arch Otorhinolaryngol.* 228: 123-126.
  18. Kuijpers, W., Van der beek, J.M., Jap, P.H.K., Tonnaer, E.L.G. (1984) The structure of the middle ear epithelium of the rat and effect of Eustachian tube obstruction. *Histochemi J.* 16: 807-818.
  19. Ladman, A.J., Mitchell, A.J. (1955) The topographic relations and histological characteristics of the tubulo- acinar glands of the Eustachian tube in mice. *Anat Rec.* 121: 167-185.
  20. Lim, D.J., Paparella, M.M., Kimura, R.S. (1967) Ultrastructure of the Eustachian tube and middle ear mucosa in the guinea pig. *Acta Oto Laryngol.* 63: 425-444.
  21. Mescher, A.L. Translated; Montazeri, S.M (2010) Junqueira, s Basic Histology. ( 1<sup>th</sup> ed.) Arjmand Publication. Tehran, Iran.
  22. Morshedi, M.M., Mafee, M.F. (2012) Calcification of the Eustachian tube. *Neuroradiol.* 54: 525-527.
  23. Mulder, J.J., Kuijpers, W. (1999) Rat eustachian tube and its musculature. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 108: 377-385.
  24. Park, K., Kazuyoshi, U., Lim, D.J. (1992) Developmental anatomy of the Eustachian tube and middle ear in mice. *Am J Otolaryngol.* 13:93-100.
  25. Prades, J., Dumolland, J.M., Callloch, F., Merzougui, N., Veyret, C., Martin, C. (1998) Descriptive anatomy of the human auditory tube. *Surg Radiol Anat.* 20: 335-340.
  26. Pousty, I., Adib moradi, M., Fazili, A. (2008) Comparative Histology. (7<sup>th</sup> ed.) Tehran University Publication. Tehran, Iran.
  27. Ranjit, P.K., Tej, P., Pawan, K., Ruchita, P., Gurdial, S. (2015) Histology, Histochemistry and Scanning Electron Microscopy of Tubal Tonsil of the Young Pigs. *Vet Res Int.* 3: 1-6.
  28. Sucheston, M.E., Cannon, M.S. (1971) Eustachian tube of several mammalian species. *Arch Otorhinolaryngol.* 93: 58-64.
  29. Takasaki, K., Sando, L., Balaban, C.D. Haginomori, S.I., Ishilima, K., Kitagawa, M. (1999) Histopathological changes of the Eustachian tube cartilage and tensor veli palatini muscle with aging. *Laryng.* 109: 1676-1683.
  30. Tojo, M., Masuda, H., Fukui, K., Sasai, H., Baba, E. (1985) Experimental induction of secretory and purulent otitis media by surgical obstruction of the Eustachian tube in dog. *J small Pract.* 26: 81-89.
  31. Yazici, Z.M., Sari, M., Uneri, C., Midi, A. Tugtepe, H. (2008) Histologic changes in Eustachian tube mucosa of rats after exposure to gastric reflux. *Laryng.* 118: 849-853.
  32. Yuceturk, A.V., Unlu, H.H., Okumus, M., Yildiz, T., Filiz, U. (1997) The evaluation of Eustachian tube function in patients with chronic otitis media. *Clin Otolaryngol.* 22: 449-245.



## Anatomical, histological and histochemical study of eustachian tube in the adult river buffalos

Hashemi, S.R, Soltananejad, F.\*, Najafi, GH., Shahrooz, R.

Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

(Received 9 May 2017, Accepted 15 August 2017)

### Abstract:

**BACKGROUND:** The Eustachian tube is an osteocartilaginous channel connecting the tympanic cavity with the nasopharynx. There is no anatomical and histological research performed on this organ in buffalo. **OBJECTIVES:** Anatomical and histological study of Eustachian tube in buffalo will be useful for basic knowledge of this organ. **METHODS:** For this study 8 adult male and female buffalos' heads were provided from slaughter house and their Eustachian tubes were studied anatomically, then tissue samples were obtained and paraffin sections were prepared for staining methods such as H&E (for general study), Verhoff (for elastic fibers), PAS (for carbohydrates) and Masson's Trichrome Staining Kit (for collagen fibers). **RESULTS:** Anatomical results showed Eustachian tube was a white and funnel-like tube, no curve and structurally supported by cartilage and in both sexes they had the same structure. Histological and Histochemical results showed the epithelium of buffalo Eustachian tube is pseudostratified ciliated columnar and in some regions of the Eustachian tube epithelium was stratified squamous. In the first portion of Eustachian tube cartilage was elastic and then Eustachian tube cartilage was hyaline. The glands of buffalo Eustachian tube were mucous and non follicular tubal tonsil could be found around the pharyngeal opening with obviously lymphoid tissue. **CONCLUSIONS:** The results of this research can be used as the basic Anatomical and Histological knowledge in buffalo.

**Keyword:** anatomy, histology, histochemistry, eustachian tube, buffalo

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Morphometric average of Eustachian tube (mm).

**Figure 1.** Topography of Eustachian tube in Male Adult Buffalo.

**Figure 2.** Eustachian tube in Female Adult Buffalo. 1- Eustachian tube, 2- Pharyngeal opening, 3- Protective bone, 4- Tensor Tympani muscle, 5- Tympanic membrane, 6- Malleus bone.

**Figure 3.** Pharyngeal opening of Eustachian tube in Male Adult Buffalo. (A) epithelium, (B) lymphoid nodole. H&E 100.

**Figure 4.** Middle part of Eustachian tube in Male Adult Buffalo. (A) Epithelium, (B) Loose connective Tissue, (C) Dense connective tissue, (D) Lumen of Eustachian tube, (E) Cartilage. H&E 40.

**Figure 5.** First Part of Eustachian tube in Male Adult Buffalo. (A) Elastic Fiber, (B) chondrocyte. Verhoff 400.

**Figure 6.** Middle part of Eustachian tube in Female Adult Buffalo. (A) collagen Fiber, (B) chondrocyte. (MTC 100).

**Figure 7.** First part of Eustachian tube in Male Adult Buffalo. (A) Loose connective Tissue, (B) Cartilage. PAS 40.

\*Corresponding author's email: [fsoltananejad@yahoo.com](mailto:fsoltananejad@yahoo.com), Tel: 044-32770508, Fax: 044-32771926