

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ (VET). ANABİLİM DALI

**LAKTASYON DÖNEMİNDEKİ KIL KEÇİSİNDE MEME  
DOKUSUNUN HÜCRESEL VE SIVISAL SAVUNMA SİSTEMLERİ  
ÜZERİNDE HİSTOLOJİK ve İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Erkan DELİGÖNÜL

**Danışman**  
Doç. Dr. Ahmet KOÇ

**Hatay - 2011**

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ (VET). ANABİLİM DALI

**LAKTASYON DÖNEMİNDEKİ KIL KEÇİSİNDE MEME  
DOKUSUNUN HÜCRESEL VE SIVISAL SAVUNMA SİSTEMLERİ  
ÜZERİNDE HİSTOLOJİK ve İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Erkan DELİGÖNÜL

**Danışman**  
Doç. Dr. Ahmet KOÇ

**Hatay - 2011**

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ (VET). ANABİLİM DALI

**LAKTASYON DÖNEMİNDEKİ KIL KEÇİSİNDE MEME DOKUSUNUN  
HÜCRESEL VE SIVISAL SAVUNMA SİSTEMLERİ ÜZERİNDE HİSTOLOJİK ve  
İMMUNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

Erkan DELİGÖNÜL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 28/01/ 2011 günü sözlü olarak yapılan  
tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri başkanı : Doç. Dr. Ahmet KOÇ .....

Üye :Yrd. Doç. Dr. Tolunay TURAN KOZLU.....

Üye :Yrd. Doç. Dr. Sevinç ATEŞ.....

Bu tez, Enstitümüz Histoloji-Embriyoloji (Vet) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

/ /2011

Prof. Dr. Oğuz YENİDÜNYA  
Enstitü Müdürü V.

## TEŞEKKÜR

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans eğitimim sırasında her zaman yanımda hissettiğim çalışmalarımdaya bana her türlü desteği gösteren ve özveri ile çalışmalarımdaya katkıda bulunan danışmanım sayın Doç. Dr. Ahmet KOÇ'a çok teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresince çok değerli katkılarını benimle paylaşan Yrd. Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT ve Yrd. Doç. Dr. Tolunay KOZLU'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca tez çalışmamın laboratuvar ve diğer aşamalarında her türlü desteği gösteren, iyi ve kötü zamanlarımda yanımda olduklarını hissettiğim Veteriner hekim Sadettin KUŞ ve Feyza BOZKURT'a tüm yakınlarıma ve dostlarıma çok teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	VII
ÖZET .....	VII
ABSTRACT.....	IX
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>2</b>
2.1. Memenin Anatomisi .....	2
2.2. Süt Bezlerinin Histolojisi .....	2
2.3. Laktasyon .....	4
2.4. Anatomik Savunma Mekanizmaları .....	5
2.5. Meme Başı Sistemini Sınırlayan Koruyucu Dokular .....	6
2.6. Meme Ucu Dokusu ve Kanalı .....	7
2.7. Hücresel Savunma Sistemi.....	8
2.8. Meme Başında Nötrofil Savunma Sistemi.....	9
2.9. Süt Lökositleri Savunmanın İkinci Hattı (Sınırı).....	10
2.10. Humoral Savunma .....	11
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>	<b>14</b>
3.1. Histolojik Prosedür .....	14
3.2. İmmunohistokimyasal Prosedür .....	14
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>16</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>24</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>27</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>28</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>31</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1 Meme dokusunun genel görünümü .....	4
Şekil 4.1 Meme başı kanalının epiteli ve keratin tabakasının görünümü, triple.....	18
Şekil 4.2 Bağ dokusunun genel görünümü, triple.....	18
Şekil 4.3 Meme başı kanalının Fürstenberg rozeti ile beraber görünümü, triple.....	19
Şekil 4.4 Fürstenberg rozetinin çift katlı prizmatik epitelyum hücreleri, HxE.....	19
Şekil 4.5 Fürstenberg rozeti epitel tabakası ve intra epitelyal lenfositler, HXE .....	20
Şekil 4.6 . Fürstenberg rozetinde mono nükleer hücre infiltrasyonu, HXE.....	20
Şekil 4.7 Fürstenberg rozetinde plazma hücreleri, Metil-Green pironin .....	21
Şekil 4.8 Mono nükleer ve parçalı çekirdekli hücre infiltrasyonu, HXE .....	21
Şekil 4.9 Fürstenberg bölgesinde yüksek endotelli venüllerin görünümü, HXE.....	22
Şekil 4.10 Bağ dokuda CD3 T lenfositlerin görünümü, immunohistokimya .....	22
Şekil 4.11 Bağ dokuda CD3 T lenfositlerin görünümü, immunohistokimya .....	23

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. Kullanılan monoklonal antikorlar, spesifiteleri ve sulandırmaları.....15

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- MGP: Metil green-pyronin  
NLD: Nonlaktatif Dönem  
NKC: Doğal Katil Hücreler  
IMI: Intra Mammary İnfeksiyon  
IgA: İmmunoglobulinA  
IgG: Immunglobulin G  
IgG<sub>2</sub>: Immuglobulin G<sub>2</sub>  
IgM: Immunglobulin M  
PNL: Polimorf Nükleer Lökosit  
PBS: Phosphate Buffered Saline  
PMN: Polimorfonükleer nötrofiller  
SCC: Somatik Cell Count



## ÖZET

### **Laktasyon Dönemdeki Kıl Keçisinde Meme Dokusunun Hücresel ve Sıvısal Savunma Sistemleri Üzerinde Histolojik ve İmmunohistokimyasal Çalışmalar**

Bu çalışmada, özellikle normal yapıya sahip olan laktasyondaki meme başı dokusunun, parenşim bölgesindeki savunma hücresi yoğunluklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada araştırma materyali olarak bölge mezbahalarında kesimi yapılan erişkin, sağlıklı 10 adet kıl keçisinin meme başı kullanıldı. Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku örnekleri, %10'luk nötür Formol ve Formol-alkol ile tespit edildi. Triple, hematoxilem-eozin, toluidin blue ve metil green-pironin boyama yöntemleri uygulandı. İmmunohistokimyasal boyama için CD3 boyaması yapıldı.

Memenin, meme sarnıçından duktus papillaris geçiş bölgesinde lümeneye doğru kıvrımlı mukoza dükümlerinin oluştuğu Fürstenberg rozeti meme sinusu ile duktus papiller arasında bir geçiş bölgesidir. Lamina epitalyalin iki katlı prizmatik nonkeratinize epitelden oluştuğu gözlemlendi. Bağ doku içinde bol miktarda kollojen ve elastik iplikler mevcuttur. Ayrıca submukozada venöz damarlardan oluşan bir tabaka görülmektedir. Fürstenberg rozeti lamina epitalyalis tabakasında lümeni çıkmak için epitalyum arasına girmiş intraepitalyal lenfositler belirgindi. Fürstenberg rozetinin çevresinde ise çoğunlukta olan hücreler ise plazma hücreleri ve mononükleer savunma hücrelerinden T hücreler özellikle gevşek bağ dokuda ve lamina propirya da mevcuttur. Toluidun blue ile yapılan boyamalarda deri kısmında da mast hücrelerine rastlanmaktadır. Fürstenberg rozeti çevresinde yüksek endotelli venüller görülmektedir. Metil gren pronin boyamasında fürstenberg rozetinde bol miktarda plazma hücrelerine rastlandı. Yapılan immunohistokimyasal boyamalarda deriye yakın kısımda ve bağ dokuda CD3 (olgun T lenfositler) görüldü.

Meme başı kanal epitalin çok katlı yassı epitalyum olduğu ve geniş bir keratin tükaca sahip olduğu gözlemlendi. Keratin tabakası ise triple boyamada eozinofilik olarak boyanmıştı. Meme başı kanalı epitalyum tabakası dış derinin lamina epitalyalisine göre daha fazla katlı bir tabakaya sahipti.

**Anahtar Kelimeler:** Meme başı kanalı, Fürstenberg rozeti, immün sistem

## ABSTRACT

### **Histological and immunohistochemical studies on the cellular and humoral defense systems of the mammary tissue during Lactation goats**

This study aimed at determining the defense cell densities in the parenchyma of the lactating nipple tissue. The research materials were obtained from 10 healthy domestic goats in slaughterhouse. Tissue samples for light microscopic examination were fixed by 10 % neutral formaldehyde and formaldehyde-alcohol combination. Triple, Hematoxylin-eosin, toluidine blue and methyl green-pyro staining methods were applied to the samples. Yet, CD3 staining technique was performed for immunohistochemistry. The Fürstenberg rosette formed by the curved duct mucosa into the lumen is a gate way between the sinus region and papillary duct. Columnar epithelium was observed in two-story nonkeratinize epithelial lamina. Abundant collagen and elastic fibers were present in the connective tissue. A layer comprised by submucosal venous rete, was also seen. Intraepithelial lymphocytes were observed in the epithelial layer of the Fürstenberg rosette.

Plasma cells and mononuclear cells particularly T cells were present in the loose connective tissue and the lamina propria of the vicinity of Fürstenberg rosette. Mast cells were found in the skin by Toluidun blue staining. High endothelial venules were seen around the Fürstenberg rosette. Plenty of plasma cells were determined around the Fürstenberg rosette by the application of Methyl-Green Pyronin staining. Immunohistochemical staining showed CD3 positive cells in the connective tissue and the areas closer the skin. Teat canal epithelium and the squamous epithelium were found to have a wide range of keratin. Eosinophylic staining was determined by the Triple staining in the keratin layer. The lamina epithelialis layer of the teat canal had thicker layers in nature than that of the skin.

**Key Words:** Breast teat duct, Fürstenberg rosette, immune system

## 1.GİRİŞ

Ruminatlarda meme bezinin savunma sisteminin oldukça karmaşık bir yapıya sahip olduğu bildirilmektedir. Mastitise karşı güçlü bir koruma sisteminin geliştirilebilmesi, büyük oranda bu sistemin özelliklerinin aydınlatılmasına bağlıdır. Meme savunmasında en önemli fonksiyonları hücresel ve humoral faktörler yerine getirmektedir. Süt, erken kuru dönem salgıları ve kolostrum üzerinde yapılan çalışmalar, memenin farklı fizyolojik dönemlerinde ve yangıda bu salgılardaki hücresel ve humoral faktörler de oluşan değişiklikler ortaya konmuştur. Kolostrumda çeşitli hücre tiplerinin varlığı, 1944 yılından beri bilinmesine rağmen, bunların fonksiyonları ve meme savunmasındaki önemleri üzerindeki bilgiler son yıllarda yapılan çalışmalarla elde edilmiştir. Keçilerin normal meme salgılarında nötrofil, lenfosit, monosit/makrofaj, eozinofil ve epitel hücrelerinin bulunduğu bildirilmektedir. Meme dokusunda yerleşmiş olan savunma hücrelerinin memedeki dağılımları ve lokalize oldukları bölgelerin belirlenmesi amacıyla yapılmış olan çalışmalar, genellikle meme alveolar yapısında yoğunlaşmıştır. Bu çalışmada, özellikle normal yapıya sahip olan laktasyondaki meme başı dokusunun, parenşim bölgesindeki savunma hücresi yoğunluklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca hem meme hastalıklarının teşhis ve tedavisine yardımcı olunması hem de süt üretimindeki kaybın en aza indirilmesi ve memenin bu savunma bariyeri incelenerek iyi süt veren keçi ırklarının seçimine katkıda bulunulması düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Memenin anatomisi

Memenin fonksiyonunu tam olarak anlamak için memenin embriyolojisi, histolojisi, anatomisi ve vücudun diğer bölümleri ile olan ilişkisinin bilinmesi gerekir. Embriyonik dönemde meme bezi meme sürgünü olarak belirir. Kanalların şekillenmesinden önce meme başı deliği, meme başı ve meme bezi sisternaları gelişir. Bunu takiben sinuslar, büyük ve küçük kanallardan ibaret olan ve çok yönlü süt akımını sağlayan sistem şekillenir. Sinuslar sisternanın uzantısıdır ve sisterna gibi sütü depolama görevi görürler. Kanallar, bez bölümünde üretilen sütün sinus ve sisternaya indirilmesini sağlarlar. Sisternalar süt kanalları ve bezlerin son kısımları ile birlikte memenin kanal sistemini oluştururlar. Doğuma kadar, her cinsiyet içinde rudimenter kanal sistemi ile birlikte rudimenter bir meme başı bulunur. Bu dönemde henüz herhangi bir salgılama yapan doku görülmez. Meme ya da meme bezleri modifiye kutanöz bir deri bezidir. İnek, kısrak, koyun ve keçide vücudun prepubik (inguinal) bölgesinde yer alır (Anderson 1985).

Meme bezinin temel işlevi yeni doğanları beslemektir. Memeler, gövdenin ventral duvarları üzerinde, median hattının sağ ve solunda simetrik olarak bulunur. İnsan, küçük ruminant ve tek tırnaklılarda her bir yarımında 1, büyük ruminantlarda 2, çok ender olarak 3, kedilerde 4, köpeklerde 4-5, çok nadiren 6 domuzlarda ise ortalama 7 meme bulunur. Memeler insan, maymun ve filde torakal, kedide torakoabdominal, köpek ve domuzda torakoinguinal, ruminant ve tek tırnaklılarda ise ingual olarak yerleşmiştir. Meme başında dışarıya açılan kanal sayısı ruminantlarda 1, kısraklarda 2, köpekte 8-20, kedide 1-7 adettir (Wilson ve Hayes 1983).

### 2.2. Süt bezlerinin Histolojisi

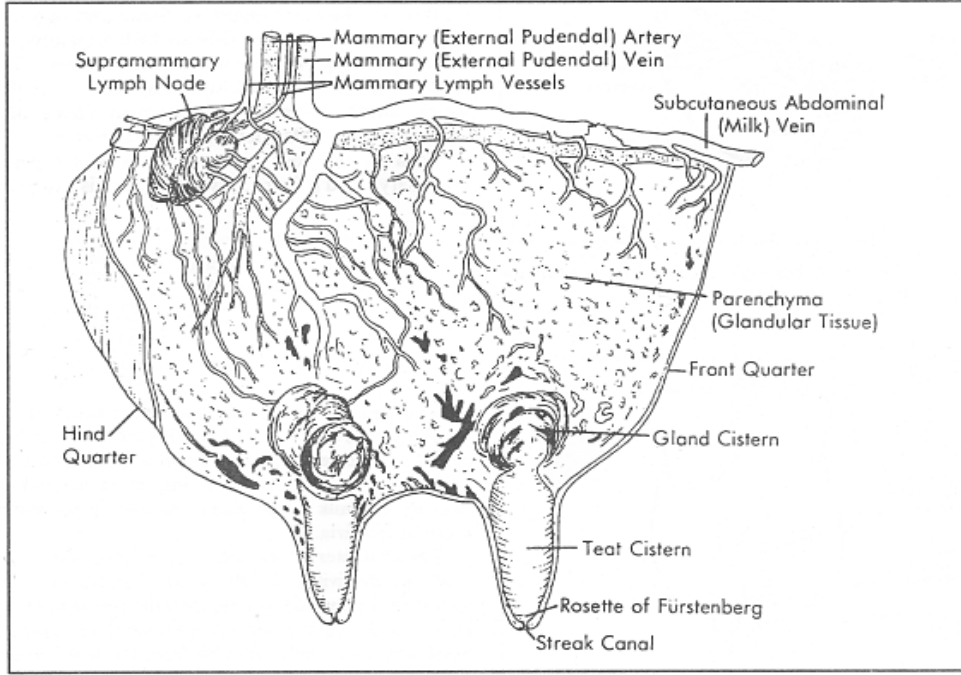
Memeler alveolar yapıda korpus glandulaları ve tübuler yapıda akıtıcı kanalları bulunduran modifiye olmuş deri bezleridir. Dış yüzü deri tarafından örtülü olan memeler, derialtı fasyası tarafından vücuda bağlanır ve askıda tutulur. Meme lobunu çevreleyen bağ dokusu, loblar (interlober), lobçuklar (interlobuler) gittikçe azalarak yayılır. Alveoller çevresinde retikulum ve elastik iplik ağı ile yoğun damar yapısı bulunur. Akıtıcı kanallar çoğunlukla spiral dizilimli elastik ipliklerle çevrelenmiştir (Artan 1988).

Parenşim üniteleri intersistiyumda sarılı olarak bulunur. Süt yapım yerleri olan alveoller, ilk akıtıcı kanal interlobuler duktus laktiferusa açılırlar. Tek katlı kübik epitelli interlobuler duktus latiferalar, tek katlı prizmatik interlobuler duktusa, bu kanallarda çok katlı prizmatik interlobuler duktus laktiferuslara açılırlar. İnterlobuler duktus laktiferuslar ise süt salgısının toplandığı sinus laktiferuslara açılırlar. Sinus laktiferuslar ise meme başı kanalı (duktus laktiferus) ile dışarı açılırlar (Kural 1963).

### **Meme başı:**

Duktus papillarisler (memebaşı kanalı) çok katlı epitelle kaplıdır. Dış yüzünü kaplayan epidermiste yoğun pigment bulunur. Epidermisin altındaki bağ dokusunda ter bezleri, yağ bezleri ve özel kokulu apokrin bezler bulunur. Bezlerin salgısı meme başını nemlendirir. Epidermis ile duktus papillaris epiteli arasında, sık örgülü, sirküler dizilmiş düz kas telleri ve elastik iplikler bulunur. Sinus laktiferus ile memebaşı kanalının birleştiği sınırdaki epitelium ve çevreleyen bağ dokusu ışınal kıvrımlar yaparak Fürstenberg rözeti denilen yapıyı oluşturarak sütün dışarı akmasını önler (Giesecke ve ark. 1972).

Keçilerde meme başının büyüklüğü farklılık gösterir. Bazı hayvanlarda elle dahi sağlamayacak kadar küçük olmasının yanı sıra bazılarında oldukça büyüktür. Meme başı, memenin bazisinde genişler ve memeden dışarı huni şeklinde çıkıntı yapar. Keçilerde meme başı sisternası meme bezine nazaran daha büyüktür. Meme başı duvarı deri, kas ve mukoza olmak üzere 3 ayrı kattan ibarettir. Kas katını iç, orta ve dış fibroz kat olarak ayırt edip 5 ayrı kattan oluştuğunu da söyleyebiliriz. Meme başının ventral kısmında 8-12 mm (5-13mm) uzunluğunda meme başı kanalı bulunur. Kanal içinde 5-7 adet konveks, yıldız şeklinde yarığı andıran epitelium çıkıntıları bulunur. Her bir meme başının uç kısmında, yaklaşık 1 cm uzunluğunda ve güçlü bir kastan ibaret olan meme başı sfinkteri bulunur. Meme başı deliğinin (ostium papillare) hemen dorsalinde bütün yönlerde doğru uzanan 4-8 adet kıvrımlar bulunur ve bu yapıya Fürstenberg rozeti adı verilir (Resim 1) (Anderson 1985).



Şekil 2.1. Meme dokusunun genel görünümü.

### 2.3. Laktasyon

İneklerde doğumdan sonraki 2-6 hafta içinde süt veriminde belirgin bir artış görülür ve bu artış 12. haftaya kadar devam eder. Bu dönemden sonra giderek azalır. Laktasyonun devamı alveoler hücre sayısının sürdürülmesi, her meme hücresinin sentezleyici aktivitesi ve süt indirme refleksinin etkinliğinin olmasına bağlıdır. Kuru dönem, memelerin yeni enfeksiyonlara karşı en duyarlı olduğu dönemdir. Memeler enfeksiyonlara erken involusyon döneminde laktasyon dönemine nazaran 7 kat daha duyarlıdır. Bu nedenle kuru dönem sırasında antibiyotik tedavisi mastitis kontrol programlarının en önemli öğelerindedir. Bunun yanı sıra meme içi uygulanan ilaçların memenin savunma mekanizmalarını kısmen etkileyebileceği de unutulmamalıdır (Alaçam 1992).

İnek ve keçilerde süt üretimi genellikle doğumdan 3-4 hafta sonra en yüksek düzeye ulaşır ve üçüncü haftadan sonra düzenli olarak azalır. Diğer türlerden farklı olarak inek ve keçilerde hamilelik ve laktasyon dönemi iç içedir. Gebe ineklerin % 60-70'i laktasyondadır. Ama keçilerde ılıman iklimlerde üretim sezonluktur ve belli laktasyon döneminde olanların % 20'si gebedir. Doğumdan önce süt sağımına ara verildiğinde meme bezleri laktasyona hazırlanır. Keçilerde erken laktasyon döneminde meme içi hücre sayısının arttığını göstermiştir Laktasyon siklusunun gerileme fazında hücre sayısı azaldığı

ve süt verimi de buna bağlı olarak düştüğü belirtmiştir. Bununla beraber laktasyon sonlarında keçi gebe kaldığında hücresel aktivitenin azaldığı görüldü. Keçiler de meme salgı bezlerinin aktivitesinin hızlı artmasından dolayı genelde süt sağımını sıklaştırmak süt üretimini artırır (Knight ve Peaker 1984).

#### **2.4. Anatomik Savunma Mekanizmaları**

Süt sağımın aniden kesilmesiyle meme bezinin involusyona zorlanmasından 2-3 hafta sonra meme içi enfeksiyonlara duyarlılık ciddi bir artış gösterir (Jain 1979). Bu duyarlılık artışı kısmen bakteriyel penetrasyona karşı primer koruma bariyeri olan meme başı kanalının değişimine bağlıdır. Bu dönemde enfeksiyona karşı direni azaltan fiziksel değişimler olur.

1) Meme içinde sütün kalmasıyla artan basınç, meme kanalının kısılmasına ve bakteriyel penetrasyona izin veren genişlemeye yol açar.

2)Süt fişkırması sırasında kanalda koloni yapmış bakterileri yerinden oynatır.

3)Meme başının temizlenmesi; memenin hazırlanması olmadığından meme başı derisindeki bakteri populasyonları artış gösterir.

İnvolusyon devam ettikçe, meme enfeksiyonlara daha dirençli hale gelir. Bu kısmen, meme başı kanalında oluşan ve bakterilerin yukarı doğru hareketini engelleyen keratin tıpadan kaynaklanır (Cousins ve arkadaşları 1980). Mastitise dirençli memelerdeki keratin yüksek konsanstrasyonlarda lauric, myristic ve palmitoleic asit içerdiği halde stearic, linoleic ve oleic asit meme başı duyarlılığını daha fazla artırır. Keratinden izole edilen ubiquitin gibi katyonik proteinler *staphylococcus aureus* ve *staphyococcus agalactiae* gibi bakterilerin büyümesini inhibe eder. Bu proteinler bakterilere bağlanıp negatif yönde indüklerler. Bakterilerin osmoreglatr mekanizmalarını tahrip ederek hücrenin şişmesi ve lizize uğramasını sağlar. Meme kanalın düz kas sfinkterleri, kanalı sıkıca kapatarak bakterilere karşı koruma sağlar ve organizmaların geçişini kısıtlar (Appleman 1973).

Morfometrik alışmalar, meme başı kanalını çapsal ve kesitsel (enine/boyuna) bölgenin kuruya çıkarmadan 7. gün sonra 1, 16 ve 30.günlere oranla daha geniş olduğunu göstermiştir (Comalli ve ark. 1984). Meme başı kanalının lümeninde bir genişlemenin olduğu erken involusyon döneminde yeni meme içi enfeksiyon sıklığının fazla olmasına

karşın meme başının daraldığı dönemde ise memenin enfeksiyonlara daha dirençli olduğunu tespit edilmiştir. Meme başı kanalının epitelinin kornifikasyonunun devam etmesi, involusyon ilerledikçe keratin bir tıpanın oluşmasına neden olur. Bu kanal lümenini tamamen kapatır ve invaziv tipteki organizmaların yukarı hareketini önler (Cousin ve ark 1980).

Doğum yaklaştıkça, kolostrum üretimi meme içi basıncın artmasına neden olur. Sonuçta meme kanalının kısılması ve genişlemesi bakteriyel penetrasyona yatkınlığı artırır. Ek olarak; laktogeneziste sekresyonun yapılandırılması aşamasında, keratin tıpanın yapısı bozulur ve muhtemelen de yerinden çıkarak bezi organizmalara maruz bırakır. Dahası, meme başı ödeminin oluşması, meme kanalının sıkıca kapanmasını sağlayan sfinkter kasına da mani olur. Meme kanalındaki fişkırmaya sayesinde kolonize olmuş bakteri ve toksinleri uzaklaştırır. Doğum öncesi süt sağımının aynı zamanda doğum sonrası birinci ayda mastitis insidensini azaltmaya da yardımcı olduğu bulunmuştur (Greene ve ark. 1988). Bakteriler genelde meme başı kanalındaki keratine kolonize olmakta, burada aylarca kalmakta ve sisternal bölgelere penetre olabilmek için mekanik yardıma ihtiyaç duyabilmektedir. Mastitis tedavisinin önerilen prosedürlerinde şırınga kanülünün tamamının meme başından içeri sokulması ve böylece içeriğin meme lobuna tamamen boşaltılması bulunur. Kanülün tamamen içeri yerleştirilmesi, keratini meme başı duvarından uzaklaşmaya zorlar, sfinkter kasının normalden daha fazla açılıp daralmasına neden olur ve bakteriyel penetrasyonu artırır. Bu tamamen içeri yerleştirme, meme başı kanalı keratininde yerleşmiş bakteri kolonilerini meme başı sisternlerine de itebilir. Çünkü süt sağılmayan dönemde sekret yerinden kıpırdatılmamıştır ve enfeksiyon oluşturmak için daha iyi bir şansları olmuştur (Nickerson 1987).

## **2.5. Meme Başı Sisternini Sınırlayan Koruyucu Dokular**

Laktasyon süresince doku değişimini belirleyen araştırmalar meme başı sisternasını sınırlayan epitelyal koruyucu mekanizmaları ortaya çıkartmıştır. Süt sağılmayan dönemde bakterilere karşı savunmada epitelyal hücrelerin fagositik yeterlilikleri olabileceği de eklendi. Kuru memenin sisternal epitelyal sınırına *E.coli* sitotoksinin infüzyonundan sonra ek bir koruyucu mekanizmanın oluştuğu gösterildi. Bu toksin süt veren bezlerin sisternal epitellerini yok ettiği halde, kuru meme de hiçbir etkisi olmadı ve bu dönemde epitelyal duyarlılıkta belirgin bir azalma gösterdi. Meme bezi kuru dönemde *E. coli*



enfeksiyonlarına dirençli görünür, çünkü meme başı ucunda adheransın önlenmesi ve toksinlere epitelyal duyarlılığın azalması laktasyon siklusunun bu döneminde dirençte bir rol alıyor olabilir (Eberhart 1977).

## **2.6. Meme Ucu dokusu ve kanalı**

Meme başı kanalının önemli savunma mekanizması fonksiyonundan dolayı erken involusyon döneminde artış gösteren yeni enfeksiyonların önlenmesinde yetersiz kaldığı görülmektedir. Meme ucu kanalı kuru dönemin başlarında süt verme döneminin orta ve son dönemlerine nazaran bakteriler tarafından daha kolay olarak infekte edilirler (Cousins ve ark. 1980). Laktasyon sırasında meme başı kanalının histolojik yapısı hakkında iyi kanıtlar olmasına rağmen kanalın involusyonu sırasındaki histolojik özellikleri yeterince çalışılmamıştır. Meme ucu kanal epitelyumu (keratin tabaka içeren) fizyolojik olarak meme involusyonu sırasında atrofiye olur. Bu fizyolojik atrofi; stratum granulosumun daha çok alanında ve kalınlığında azalma ile kendini belli eder. Bazı meme başı kanalı lümenleri özellikle kuru dönemin 16. ve 30. günlerinde meme ucu kanallarında atılan keratin materyali ile kaplıdır. Keratin meme iltihabı patojenlerine karşı direnç sağlayabilir ve involusyon sırasında keratin tabakasının kalınlığının artması saldıran patojenlere karşı kanalın fiziksel bir bariyer olarak etkinliğini artırır (Murphy ve Stuart 1953). Bakterilerin süt kanalına çok yakın olması laktasyon süresinde varsayılan sıvı (süt) akımı ile temizlemede bir etken olabilir. İnvolusyon sırasında stratum granulosumdaki hücrelerin sitolojik değişikliği hücre metabolizmasının doğası veya orandaki belli başlı temel değişikliği yansıtabilir. Kuru dönemin 0. gününde stratum granulosumdaki hücrelerin ileri hücre çekirdeği bozulması ve işaretli perinüklear (çekirdeği çevreleyen yapı) vacuolizationdan anlaşılacağı üzere hücre olgunlaşmanın ileri aşamalarında olduğu görülür (Jarrett 1973). Bununla beraber kuru dönemin 30. gününde toplanan örneklerde düşük düzeyde perinüklear vakuolizasyon ve daha düşük çekirdek dejenerasyonu göstermektedir. Bu hücreler hücre olgunlaşmanın ilk aşamalarındadır. Bu gözlemler involusyon sırasında epitelyum hücre olgunlaşmasının orandaki düşüşü gösterir. İlâveten meme ucu kanal epitelyumundaki mitotik işaretler kuru dönem boyunca düşmüştür. Kuru dönem 0. ve 7. günlerinde toplanan örnekler involusyon sırasında epitelyum hücrelerin hızla çoğalma oranlarının azaldığını göstermektedir. Cousin 1980 ve diğerlerinde ve bu çalışmada gösterildiği gibi involusyonun son aşamalarında keratindeki bakteri yok edici

aktivitelerdeki artışın artması bu hücre metabolizmasındaki değişiklikle ilgili olabilir. Görünüşe göre kuru dönemdeki meme ucu kanal değişikliği involusyonun ileriki safhalarındaki keratindeki bakteri yok edici aktivitelerin artması kanal değişikliğinin gelişmesini sağlar (Cousin ve ark. 1980). Non laktatif bezlere *E. coli* sitotoksin girişini engelleyen bir diğer koruyucu mekanizmanın da sarnıç mukoza olduğu ispatlandı (Grommers ve ark. 1971).

Meme dokusu, yeni doğanları beslemek ve bunları hayatlarının ilk günlerinde çeşitli ve tehlikeli infeksiyonlardan korumada gerekli olan pasif immunitiyi sağlamak gibi çok önemli görevleri üstlenmiştir. Bu doku, aynı zamanda, kendisini ve dolayısıyla da anayı savunmak için de bazı mekanizmaya sahip bulunmaktadır. Bütün bu önemli görevleri, meme dokusu sekresyonunda (kolostrum ve süt) bulunan bazı hücresel ve sıvısal faktörler yardımıyla yerine getirir. Bunlarda kısaca şöyledir:

I-hücre sel savunma sistemi; Polimorf nükleer lökositler (nötrofiller, PNL), Makrofajlar, Lenfositler (B- ve T-lenfositler) ve Öldürücü hücreler (CTL, NKC, LACKC) oluşmaktadır. II-sıvısal savunma sistemi ise; Spesifik olmayan faktörler, Demir bağlayan proteinler (laktoferrin), Laktoperoksidase-tiyosiyanate-hidrojen peroksid sistemi, Lizozimler, Komplement, Spesifik faktörler ve İmmunglobulinler (İgA, İgG, İgM)'den oluşmaktadır (Baştan 2009).

## 2.7. Hücre sel Savunma Sistemi

Kolostrum ve sütte çeşitli lökosit türlerine rastlanmaktadır. Bunlar arasında meme dokusunu korumada polimorfların (PNL) ve makrofajların görevleri daha fazla olup tüm hücre popülasyonunun %80-90'ını oluştururlar. Polimorf nükleer lökositler (PNL) ise; Kuvvetli fagositozis yeteneğine sahiptir ve hücrelerin sitoplâzmalarında çok sayıda kazein ve yağ globullerine rastlanmaktadır. Sütte spesifik opsoninlerin (İgG, İgM) yeterince bulunmaması veya çok az olması gibi nedenlerle de fagositozis genellikle çok zayıf bir etkinliğe sahip olmaktadır. Meme dokusunda bulunan PNL de, aynen makrofajlarda olduğu gibi, mikrobisidal özellikte olan superoksidi meydana getiren peroksidase sentezlerler. Bu substans PNL de, mikroplar üzerine çok etkili olan laktoperoksidase-tiyosiyanate-hidrojen peroksid sisteminde bulunmaktadır ki bu mekanizma makrofajlarda yoktur. Yavru midesine kolostrum ve sütle ulaşan PNL in etkinliği çok kısa süreli ve

zayıftır (Erganiş ve İstanbulluoğlu 1993). Meme içi enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı meme başı kanalıdır. Bu bariyeri geçen bakteriler meme başı sarnıcının girişinde ikinci savunma hattı olan fagositotik lokositlerle karşılaşırlar. Makrofaj ve nötrofiller tarafından yapılan fagositoz mastitisli patojenleri sindirmek ve onları yok etmekten ibaret bir olaydır. Nötrofiller istilacı organizmalar tarafından üretilen kimyasal habercilere doğru göç ederler ve sonuçta sütte nötrofil birikimi görülür. Keçi sütündeki somatik hücre sayımı ineklerin sütündeki somatik hücre sayımından daha yüksektir (Dulin ve ark. 1983). İnek sütündeki hücre sayısındaki artışın süt verimini azalttığı sonucu tanılanmasına rağmen bu durumun keçi sütündeki üretimde de böyle olduğunu dair kanıt yoktur. Pek çok faktör bu yüksek hücre sayısına katkıda bulunmaktadır.

## **2.8. Meme Başında Nötrofil Savunma Sistemi**

Nötrofillerin meme içi dokusuna diyapedezis yolu ile g meme başı kanalına fiziksel olarak giren bakteriler karşı ilk immunolojik savunma hattını oluşturur. Bir yangısal olay başladığında enfeksiyonun oluştuğu bölgeye ilk olarak nötrofiller ulaşır. Nötrofillerin tükenmesi olarak ortaya çıkan ve bakteri invazyonuna imkn veren nötrofil kaçması olayı sonucunda meme içi enfeksiyonlarına karşı duyarlılıkta önemli miktarda bir artış ortaya çıkar (Schalm ve ark. 1976). Sağlıklı hayvanlarda nötrofillerin retilimi ve yıkımı çok sıkı bir şekilde düzenlenir. Bu da onların doku, kan ve sütte sabit oranda kalmalarını sağlar (Jain 1986). Nötrofiller kemik iliğinde olgunlaşır ve dokulara geçmeden yaklaşık dokuz saat önce dolaşıma geçerler (Carlson ve Kaneko 1975). Nötrofillerin meme dokusuna geçtikten sonra bağışık yanıtı oluşturabilmeleri için en az bir iki gün canlı kalmaları gerekmektedir. Yaşlanmış nötrofiller makrofajlar tarafından sindirilmeden önce apaoptozise uğrarlar. Nötrofiller meme dokusuna hızlı bir şekilde g ederler ve bu da sütte hızlı bağışık yanıt oluşturur (Squier ve ark. 1995). Antikorlar ve komplement sistemi bakterileri opsonizasyon adı verilen bir işleme bağlayarak nötrofillerin patojenleri sindirmesine aracılık eder. İmmunglobulinler ve komplementler için nötrofillerde bulunan reseptörler nötrofil ile patojenler arasında bir köprü vazifesi görür. Dolaşımda nötrofiller ve Ig'ler bağlanırlar. Diyapedezis sırasında bazı yeni Ig ve komplement ligandlar yeniden oluşabilir (Berning ve ark. 1991). Yangısal reaksiyonlara bir cevap olarak salgılanan İnterferon-gamma da IgG<sub>2</sub> reseptörlerinin oluşumunu 4-5 kat daha fazla uyarabilir (Worku ve ark. 1994b). Böylece nötrofiller daha fazla reseptörle opsonize olmuş bakterilere karşı

etkin savaşa bilmektedir ve daha hızlı olarak bakteriyi sindirmekte ve ortamdan uzaklaştırmaktadır (Paape ve Wergin 1977).

### **2.9. Süt Lökositleri Savunmanın İkinci Hattı (Sınırı)**

Bakteriler bir kez meme başı kanalına girdikten sonra makrofaj, nötrofil ve lenfositlerinde dahil olduğu lokal lökosit popülasyonunun önemli bir savunma mekanizması olarak görev yapar. Makrofajlar ve nötrofiller yabancı partiküllerin tanınması, fagosite edilmesi, sindirilmesinde rol oynarlar (Paape ve ark.1979). Lenfositler immün cevabın indüksiyonunu ve süpresyonunu, spesifik antijenlere maruz kalıp, bunlara duyarlı hale gelerek ve sonraki antijen maruziyetine amnestik bir cevap oluşturmaya yetecek şekilde düzenler (Concha 1986). Bu lökosit tiplerinin tümü SCC'yi (Somatik hücre sayımı) oluşturur. Daha önce de anlatıldığı gibi, involüsyonun çeşitli dönemlerinde total ve differensiyal sayımlarında SCC çeşitlilik gösterir (Concha 1986). Başlangıçtaki SCC artışı muhtemelen süt sağımının durdurulması kadar süt bileşenlerinin de rezorpsiyonu ile ilgilidir. Aktif involüsyonun bu döneminin sonunda farklılaşmış hücrelerin % 43'ü makrofaj, % 38'i lenfosit ve % 19'u nötrofillerdir (Jensen ve Eberhart1981). Makrofaj ve fagositik hücreler enfekte olmayan loplarda baskın lökosit tipidir ve bakterileri uzaklaştırmak kadar durağan süt bileşenlerini ve doku artıklarını da uzaklaştırır. Ek olarak, memedeki makrofajlar, memeye nötrofil migrasyonunu sağlayan post fagositik faktörleri salgırlar (Craven 1983). Ancak, araştırmacılar fagositik olarak en aktif lökositin nötrofiller olduğu konusunda hem fikirdir. Bu fagositik hücrelerin aktiviteleri, süt bileşenlerini ve hücrel artıkları azaltmaya yönelik involüsyonun erken dönemlerinde azaltılabilirler (Paapeve ark. 1979).

Makrofajlar, mikrobisidal karakterde olan superoksid meydana getiren peroksidase sistemine sahiptirler. Makrofajların, meme dokusunda bulunan B-ve T-lenfositlerini uyarmada rolleri bulunmaktadır. İnsan kolostrumunda yaklaşık  $3.3 \times 10^6$  hücre/ml'den % 30-47'si makrofaj % 40-60'ı PNL ve % 5,2-8,9'u da lenfositlerden meydana gelmektedir. Koyunlarda ise yaklaşık % 8-40 makrofaj, % 41-84 PNL ve % 6-11 lenfosit'in bulunduğu açıklanmıştır. Sığırlarda % 10-57 makrofaj, % 35-80 PNL ve % 10-15 lenfosit varlığı belirlenmiştir. Makrofaj sayısı, laktasyonun devam ettiği süre içinde artmaya başlar ve % 80-86'ya kadar ulaşabilir. Buna karşın, lenfosit popülasyonunda önemli bir değişiklik göze çarpmaz ve sayısal düzeyini az çok muhafaza eder. Sütte glikoz bulunmaması nedeniyle,

makrofajların sütteki laktozdan yararlanma olanağını da ortadan kaldırmaktadır. Yavru midesine kolostrum veya sütle giden makrofajların etkinliği çok azdır (Harding ve ark. 1988).

İnsan, rat, domuz, koyun, sığır, vs. hayvanlarda meme sekresyonunda bulunan lenfositler total hücre sayısının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadırlar. İnsanlardaki lenfositlerin % 50'sini T-, % 30-34'ünü B-ve % 20'sini de NKC hücrelerinin ve sığırlarda total lenfositlerin % 46,5 kadarını T-hücreleri, % 20'sini B-ve geri kalanını da NKC hücrelerinin oluşturduğu bildirilmiştir. Ancak, sığırlarda, sütte çok fazla rastlanılan İgG<sub>1</sub> antikorlarını sentezleyen plazma hücreleri az oranda bulunmaktadır. Bu immunoglobulinlerin çoğunun kandan geçerek gelebileceği düşünülmektedir. Son yıllarda, meme dokusunda tesadüf edilen lenfositlerin bir bölümünün gastrointestinal sistemden köken aldıklarını ve sonradan meme dokusuna geldiklerini kanıtlayan bazı çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca, hücre populasyonlarının meme dokusuna yerleşmesinin hormonal (östrojen, progesteron, prolaktin) kontrol altında bulunduğu, meme dokusunun ise özellikle İgA sentezleyen B hücrelerinin yerleşmesine uygun ortam hazırladığı da bildirilmiştir. Bunların dışında, lokal antijenik uyarımlarında lenfositlerin meme dokusuna göçüne yardımcı olmaktadır. (Regnault 1988).

## **2.10. Humoral Savunma**

Lakteal sekresyonlardaki total immunoglobulin konsantrasyonları, laktasyon sırasında ve enfekte olmayan memenin erken kuru döneminde normal olarak düşüktür. Ancak involusyon devam ettikçe azalır ve doğumdan hemen önce pik yapar (Sordillo ve ark. 1987). Peripartum döneminde kolostral sekretlerde İgG<sub>1</sub> 60 mg/ml, İgG<sub>2</sub> 2,5 mg/ml, İgA 4,5 mg/ml ve İgM 6,0 mg/ml'dir ve süttekinin hayli üzerindedir (Watson 1980). Sığırlarda meme bezi sekretlerinde immunoglobulinlerin asıl görevi, bakterilerin lökositler tarafından fagositozu sırasında opsonizasyonudur ama antitoksin olarak da fonksiyon görürler. Sığırdaki immunoglobulinler bakteriye yalnız ya da komplemantle (c3b) bağlanır (Targowski 1983) İgG<sub>1</sub> kandan selektif olarak meme sekresyonlarına taşınır, bu nedenle laktasyonun tüm dönemlerinde meme sekretlerindeki major izotiptir (Brandon ve ark. 1971). İgA ve İgM lokal olarak plazma hücreleri tarafından glandüler epitelyumda sentezlenirler (Watson ve Lascelles 1973).

Genel olarak aktif involusyon sırasında plazma hücre konsantrasyonlarının arttığı, kuruya çıkarmadan 14 gün sonra buzağlamadan 14 gün önce pik yaptığı ve sonra düştüğü tespit edilmiştir. Her bir birim dokuda plazma hücre sayısı IgG<sub>1</sub>, IgA, IgM izotipleri enfekte olan ve olmayan memede kuruya çıkarma gününden kuruya çıkarmanın 7. gününe kadar artmış, 14. gününde ise IgG<sub>2</sub> üreten plazma hücreleri artmış, tüm sınıflar için pik konsantrasyonlara kuruya çıkarmanın 14.gününde buzağlamadan 14 gün önce ulaşılmıştır. IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> üreten plazma hücreleri, örnek alınan dönemin çoğunda predominant hücrelerdi, IgA ve M üreten plazma hücreleri daha baskındı (Watson 1980).

Son çalışmalar, meme başı ucunda bulunan lökositlerin enfeksiyona dirençte rol alabileceğini ortaya çıkarttı (Nickerson ve ark. 1989). Distal meme başı dokularında sisternlerin longitudinal katlanmaları bulunur ve bunlar Füstenberg rozetini oluştururlar. Lökosit infiltrasyon alanları subepitelyal bağ dokusu kadar epitelyal dokuda da bulunur. Laktasyonda olmayan enfekte ve enfekte olmayan ineklerde lökosit infiltrasyonları meme başı sisternlerinden itibaren Füsternberg rozetine, bu rozetin squamokolumnar bağlantısına ve proksimal meme başı kanalına kadar progresif olarak artış gösterir. *Staph. aureus* antijenlerine duyarlı hale getirilen meme başı ucu dokularında tüm lökositler, özellikle plazma hücreleri ve lenfositler artış gösterir. Plazma hücreleri epitelyal sınırın arasında bulunan bölgelerde bulunur, buralarda antikorlar epitelyum sitoplazması ile süt arasında kolayca taşınabilir durumdadır. Ek olarak, çevreleyen bağ dokuya antikor difüzyonu muhtemelen daha azdır, bu nedenle de sitoplazmal transport ve mukozal yüzeylerde daha yüksek antikor konsantrasyonlarına daha kolay ulaşabilir. Meme ucundan kuru dönemin 1. ve 3. haftasında alınan dokular laktasyondakilere oranla tüm lökositlerinde azalma göstermiştir. *Mycobacter bovis* ve *Staph. aureus*'a karşı lokal olarak aşılamanın meme uçlarında lenfoid hücre popülasyonu artışı histolojik olarak gösterilmiştir (Nickerson ve ark. 1986). Sitolojik analizler aşıllılarda tüm lökosit tiplerinde, özellikle lenfosit ve plazma hücrelerinde artış gösterdi. Bu da meme ucunda belirgin immün reaksiyonun antijenik sitümülasyona neden olarak sonuçlanabileceğini gösterdi. Kompetan lökosit üretecek dokuları aktif hale getiren ajanlar mastit kontrolünde önemli bir yer tutar. Antikor üreten plazma hücreleri ve lenfositler bu dokuda dominant hücrelerdir ve bunların yayılımına vurgu yapar. Lenfoid hücre sayısı kuru dönemin erken evresinde ve kolostrogenesis sırasında azalır, yani bu dönem lokal sitümülasyon için optimum olarak kabul edilebilir (Cousins ve ark 1980).

Bu çalışmada, özellikle normal yapıya sahip olan laktasyondaki meme başı dokusunun, paranşim bölgesindeki savunma hücreyi yoğunluklarının belirlenerek, memede oluşan antijenik uyarımın bu hücre yoğunlukları üzerindeki etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Ayrıca hem meme hastalıklarının teşhis ve tedavisine yardımcı olunması hem de süt üretimindeki kaybın en aza indirilmesi ve meme'nin bu savunma bariyeri incelenerek iyi süt veren keçi ırklarının seçimine katkıda bulunulması düşünülmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada araştırma materyali olarak bölge mezbahalarında kesimi yapılan erişkin, sağlıklı 10 adet kıl keçisinin meme başı kullanıldı.

#### 3.1. Histolojik Prosedür:

Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku örnekleri, %10'luk nötür Formol ve Formol-alkol ile tespit edildikten sonra, 24 saatlik yıkama işlemi takiben dereceli alkollerden geçirildi. Ksilolde bekletildikten sonra parafin içine gömülerek bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. meme dokusunun genel yapısını ortaya koymak amacıyla Crossman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, plazma hücrelerini demonstre edebilmek için Methyl green- Pyronin boya yöntemi, bağdokudaki Mast hücrelerini gösterebilmek için Toluidin Blue (Bancroft ve Cook, 1984) uygulandı. Olympus BX50 model araştırma mikroskopunda uygun görülen bölgelerin fotoğrafları çekilerek çalışma içerisinde kullanıldı.

#### 3.2. İmmunohistokimyasal Prosedür:

Seçilen parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler adezivli lamlara alınarak, bir gece öncesinden 57°C'lik etüvde bekletildi. Ksilol ile 3 kez 5'er dk.lık deparafinizasyon işlemi yapıldıktan sonra, sırasıyla %100, %96, %80 ve %70'lik etil alkolde bekletilerek rehidre edildi. PBS yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Ardından antijen retrieval (geri kazandırma) işlemi uygulandı. Antijen retrieval amacıyla plastik taşıyıcıya alınan kesitler, kesit yüzeyini örtecek şekilde pH; 6 sitrat buffer solüsyonu içerisine yerleştirildi. Üç kez 5'er dakikalık sürelerle toplam 15 dakika mikrodalga fırında şoklandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Kesitler distile su ile yıkandı. Dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve kesitler PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandı. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesinin ortadan kaldırılması için, kesitler % 1'lük hidrojen peroksitte (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile 10 dakika süreyle tutulduktan sonra kesitler PBS yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Non-spesifik bağlanmaları engellemek amacıyla kesitler üzerine 10 dakika süreyle Ultra V Block Nonspecific Blocking Reagent (Lab Vision Corporation, CA, USA) uygulandı. Bu işlemi takiben, kesitler üzerine primer antikorlar



damlatılarak inkübasyona bırakıldı (Tablo 1). PBS yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandıktan sonra sekonder antikor olarak Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (Lab Vision Corporation, CA, USA) uygulandı ve 10 dakika bekletildi. Kesitler tekrar PBS yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı ve kesitlerin üzerine immun reaksiyonu gözlemek için işaretleyici (label) olarak Strepto-avidin Peroxidase (Lab Vision Corporation, CA, USA) damlatılarak 10 dakika beklendi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine immun reaksiyonu gözlemek için AEC kromojen sistemi (AEC Substrate System, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA, USA) kullanıldı. 20 µl AEC kromojen, 1ml AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra kesitlere 10 dakika süre ile uygulandı. Daha sonra kesitler distile su ile yıkanıp, zıt boya olarak 1 dakika süre ile Mayer'in hematoksileni ile boyandı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak kesitler kapatıldı.

İmmun reaktivitenin değerlendirilmesi için, pozitif ve negatif kontroller yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesi kesitlerin Olympus BX50 model araştırma mikroskopunda incelenmesi ile yapıldı ve uygun görülen bölgelerin fotoğrafları çekilerek çalışma içerisinde kullanıldı.

**Çizelge 3.1.** Kullanılan monoklonal antikorlar, spesifiteleri ve sulandırmaları .

Antikorlar mAb (monoklonal antikor)	Spesifite- Yüzey molekülü	Gösterdiği hücre	Kaynak	Sulandırma (Dilüsyon)
				Mikrodalgada Sitrat buffer solüsyonunda
SP7	CD3	Olgun T lenfosit	Abcam	1:100 ve 1:1000

**CD3:** +4°C 1:1000 ve 1:100 sulandırmalarda meme dokusu reaksiyon gösterdi.

## 4. BULGULAR

Meme başı kanal epitelin çok katlı yassı epitel olduğu ve geniş bir keratin tıkaçı sahip olduğu gözlemlendi. Stratum bazaldeki hücreler ile spinozum katmanı, granulozum katmanı, lusidum ve korneum katmanı belirgin olarak seçilmekteydi. Stratum granulozumdaki sitoplazmik granüller çok belirgindi. Keratin tabakası ise triple boyamada eozinofilik olarak boyanmıştı. Lamina epitelyalisin altında kompakt bir lamina propriya, gevşek bağ doku ile submukoza seçilmekteydi (Şekil 4.1. k:keratin, e:lamina epitelyalis). Deriye doğru kıl follikülleri ve ter bezlerinden oluşan bir katman ve devamında deriye ait submukoza lamina propriya ve keratinize çok katlı yassı lamina epitelyalis, deri tarafında kıl folliküllerin köküne açılan yağ bezleri bariz olarak görülmektedir. Deri bölgesinde yine kas hücrelerinden oluşan lamina muskularis görülmektedir. Lamina propriyada bol miktarda kapiller damar izlendi. Kapiller damarlar çevresinde bağ dokusu hücrelerinden özellikle fibroblastların bol miktarda olduğu buna bağlı olarak sıkı bir kollejen iplik yapısı tespit edildi. Bağ doku içinde bol miktarda kollajen ve elastik iplikler mevcuttu. Ayrıca submukoza da venöz damarlardan oluşan bir tabaka görülmektedir. Venöz damarlar orta büyüklükte ve geniş bir subendotel tabakası ve onun etrafında media tabakası ile ayırt edilmekteydi. Submukoza ve bağ dokunun değişik bölgelerinde sinir telleri yaygın olarak görülmektedir. Ter bezlerin etrafında miyoepitel hücreleri ise belirgin olarak seçilmekteydi. Gevşek bağ doku içinde elastik ipliklerde düzenli bir şekilde görülmekteydi (Şekil 4.2 k:kıl follikülü, t:ter bezleri, y:yağ bezleri).

Memenin, meme sarnıçından duktus papillaris geçiş bölgesinde lümenine doğru kıvrımlı mukoza düğümlerinin olduğu Fürstenberg rozeti meme sinusu ile duktus papiller arasında bir geçiş bölgesidir. Fürstenberg rozetinin devamı olarak venöz damar ağı ve ter bezleri ile yağ bezleride bu bölgede mevcuttu. Deri olan kısmı ise çok katlı keratinize epitelten oluşmaktaydı. Meme başı kanalı epitelyum tabakası dış derinin lamina epitelyalisine göre daha fazla katlı bir tabakaya sahipti. Fürstenberg rozetinden beri devam eden kas tabakası bu bölgede de bulunmaktaydı. Bağ dokuda baskın olan kollejen iplikler baskın iplik türüydü. Bağ dokusunda ise fibroblastlar yoğunlukta olan hücre gruplarındadır (Şekil 4.3 f:Fürstenberg rozeti, k:keratin). Fürstenberg rozetinin tunika mukoza tabakasının lümeninden deriye doğru lamina epitelyalis, lamina propriya, kompakt ve ince bir lamina

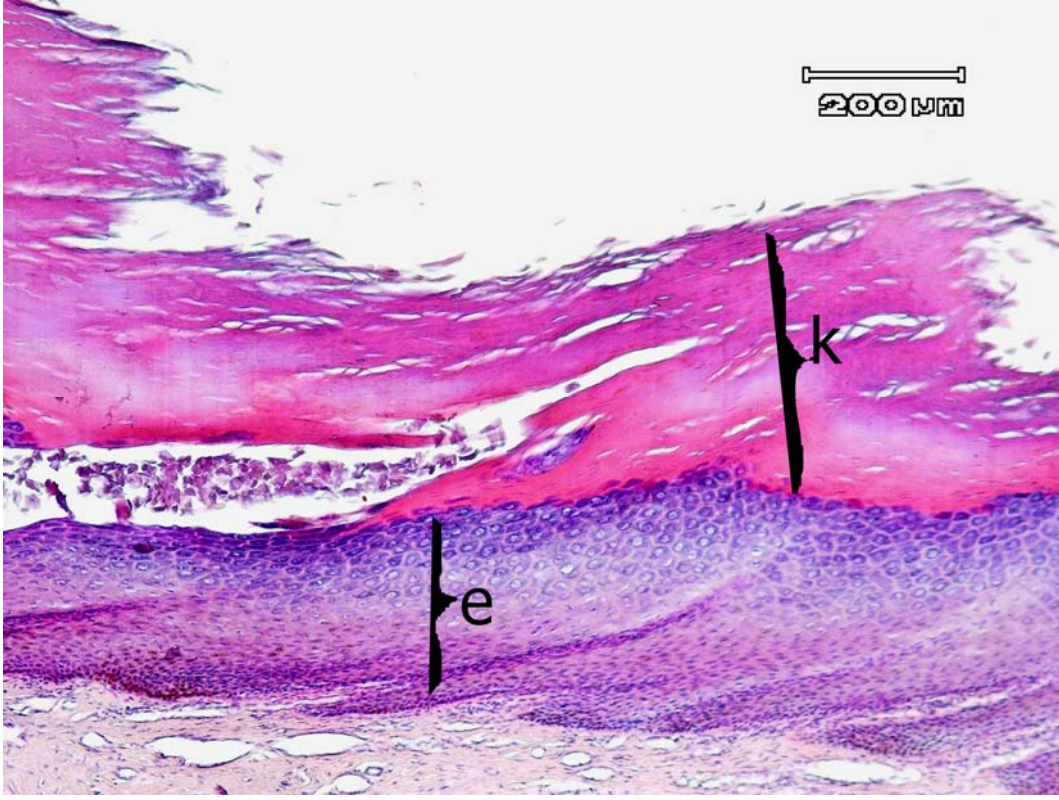
propriya tabakası ve düz kas tabakasından oluşan lamina muskularis ve devamın da submukoza tabakası görülmektedir (Şekil 4.4 e:lamina epitelyalis, m:lamina muskularis).

Bu tabakanın lamina epitalyalisinin iki katlı prizmatik nonkeratinize epitelden oluştuğu gözlemlendi. Fürstenberg rozeti lamina epitelyalis tabakasında lümeni çıkmak için epitelyum arasına girmiş intraepitelyal lenfositler belirgindi (Şekil 4.5 oklar:intraepitelyal lenfositler ve Şekil 4.6).

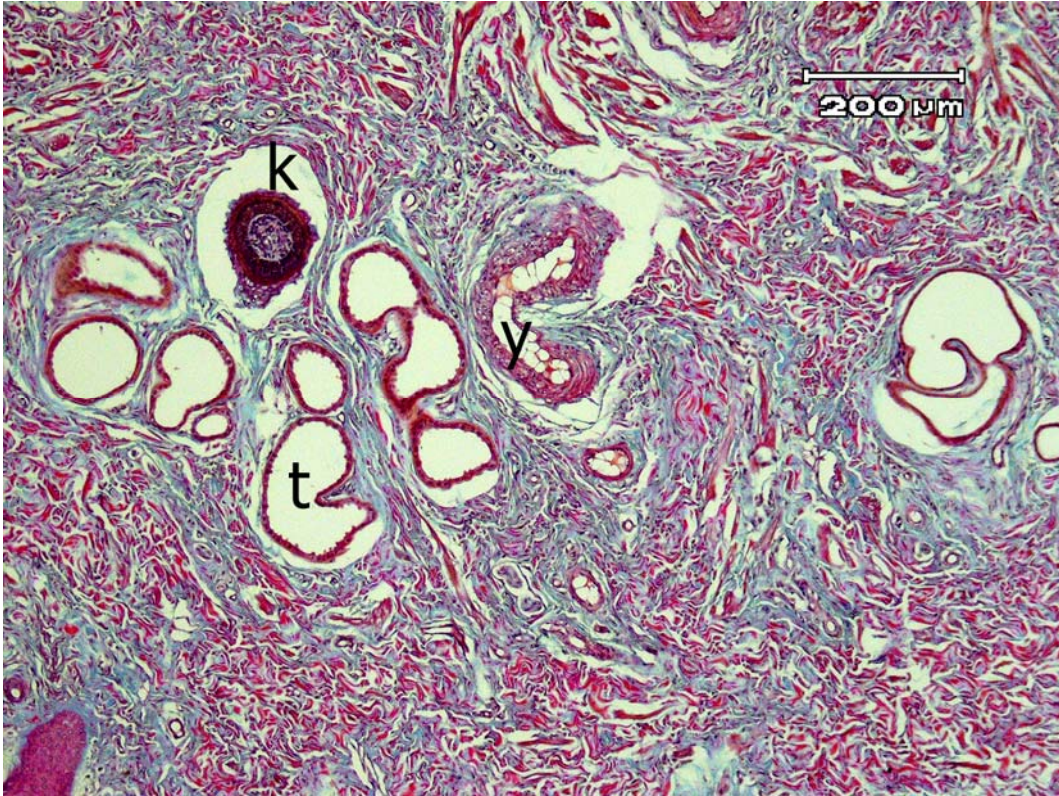
Metil green pronin boyamasında Fürstenberg rözetinde, submukozasında ve lamina propriya da bulunan kapiller damarlar çevresinde de bol miktarda plazma hücrelerine rastlandı. (Şekil 4.7 oklar:plazma hücreleri) Mononükleer savunma hücrelerinden T hücreler özellikle gevşek bağ dokuda ve lamina propriya da mevcuttur. Fürstenberg rozetinin lamina epitelyalisindeki bazal hücreler triple boyaması ile bazal hücrelerin aşırı şekilde eozinofilik bir sitoplâzmaya sahip oldukları gözlemlendi. Burada ayrıca parçalı çekirdekli hücrelerde bol miktarda görülmektedir (Şekil 4.8 yıldız:mono nükleer hücreler).

Toluidun blue ile yapılan boyamalarda Fürstenberg rözetinin lamina propriya ve gevşek bağ dokuda yapılan incelemede mast hücrelerine rastlanmamıştır. Fürstenberg rözeti çevresinde yüksek endotelli venüller görülmektedir (Şekil 4.9 ok:yüksek endotelli venül).

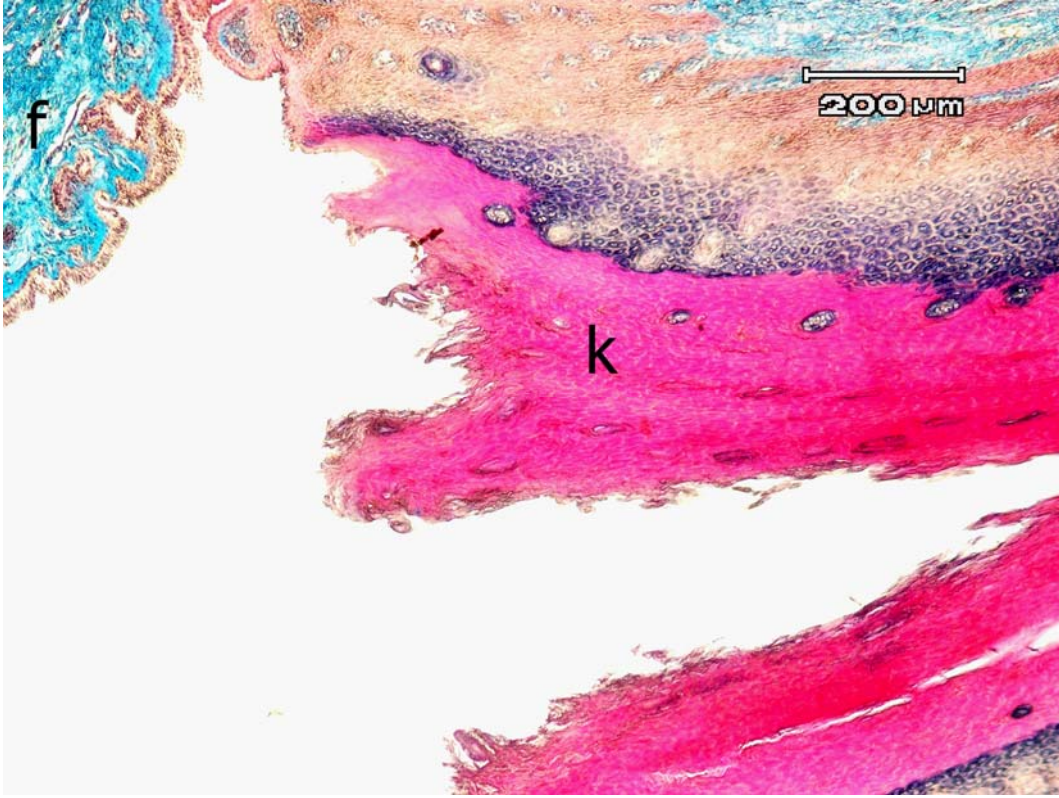
Yapılan immunohistokimyasal boyamalarda deriye yakın kısımda ve bağ dokuda CD3 (olgun T lenfositler) görüldü (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11).



Şekil 4.1 Meme başı kanalının epiteli ve keratin tabakasının görünümü, triple



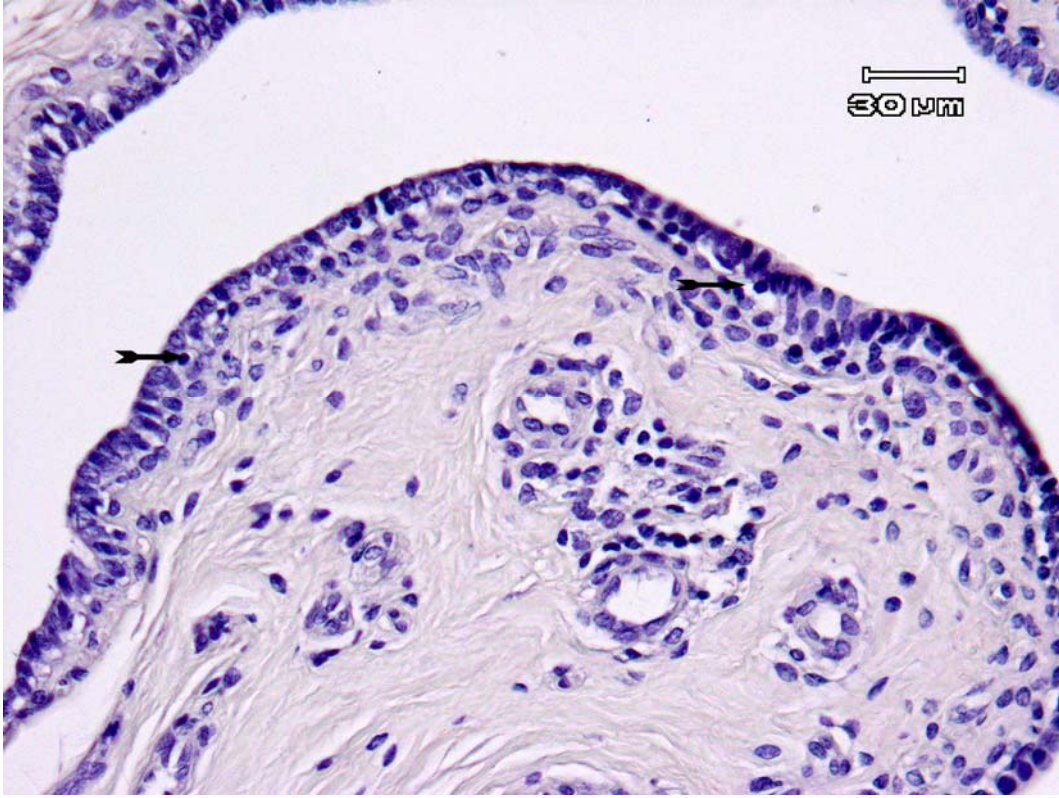
Şekil 4.2 . Bağ dokusunun genel görünümü, triple.



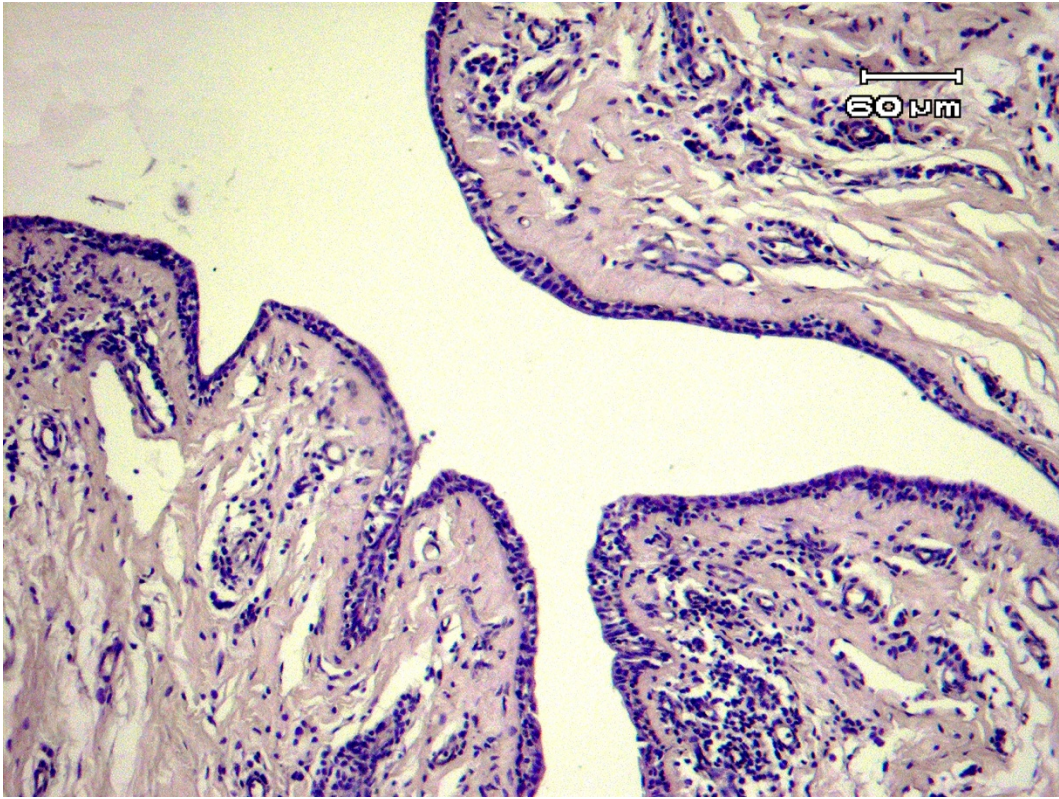
Şekil 4.3 Meme başı kanalının tabakasının Fürstenberg rozeti ile beraber görünümü, triple



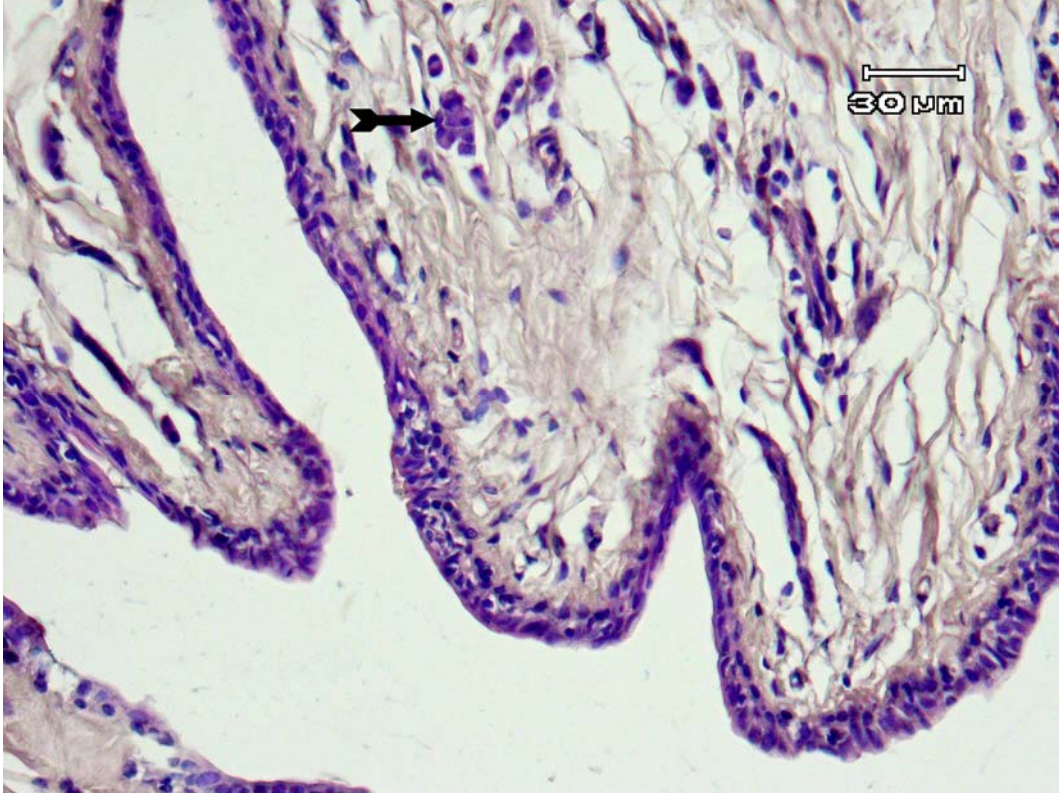
Şekil 4.4 Fürstenberg rözetinin çift katlı prizmatik epitelyum hücreleri, HxE



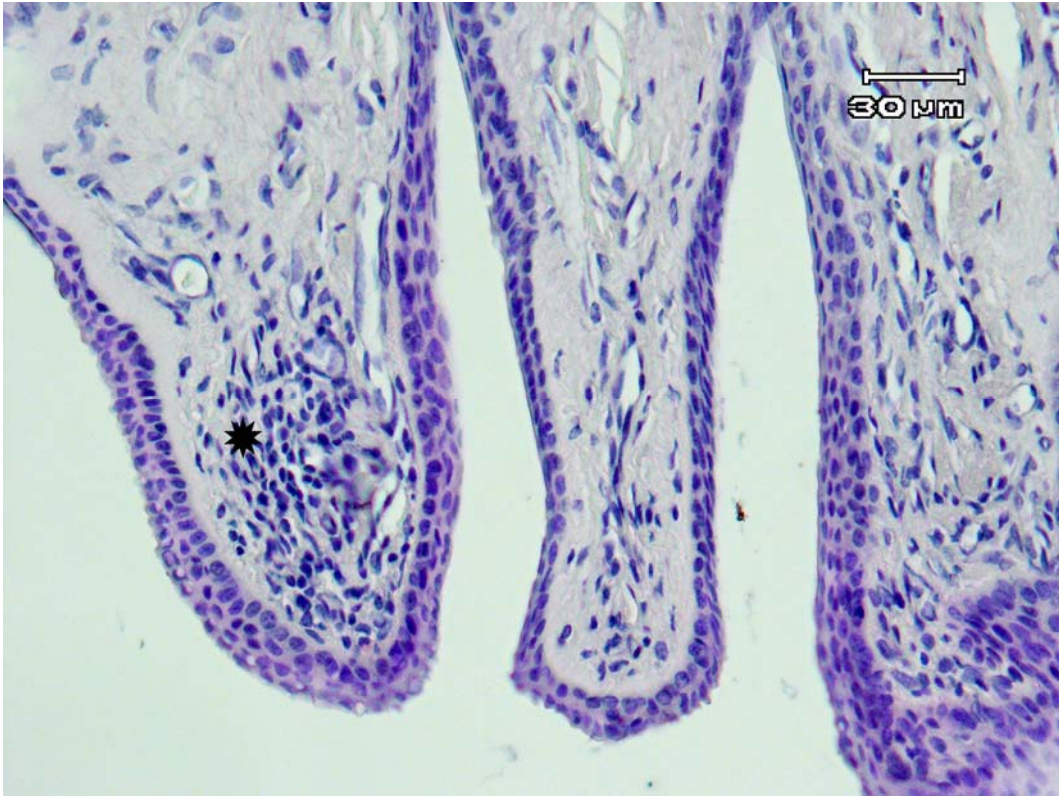
Şekil 4.5 Füstenberg rozeti lamina epitelyalis tabakası ve intra epitelyal lenfositler, HXE



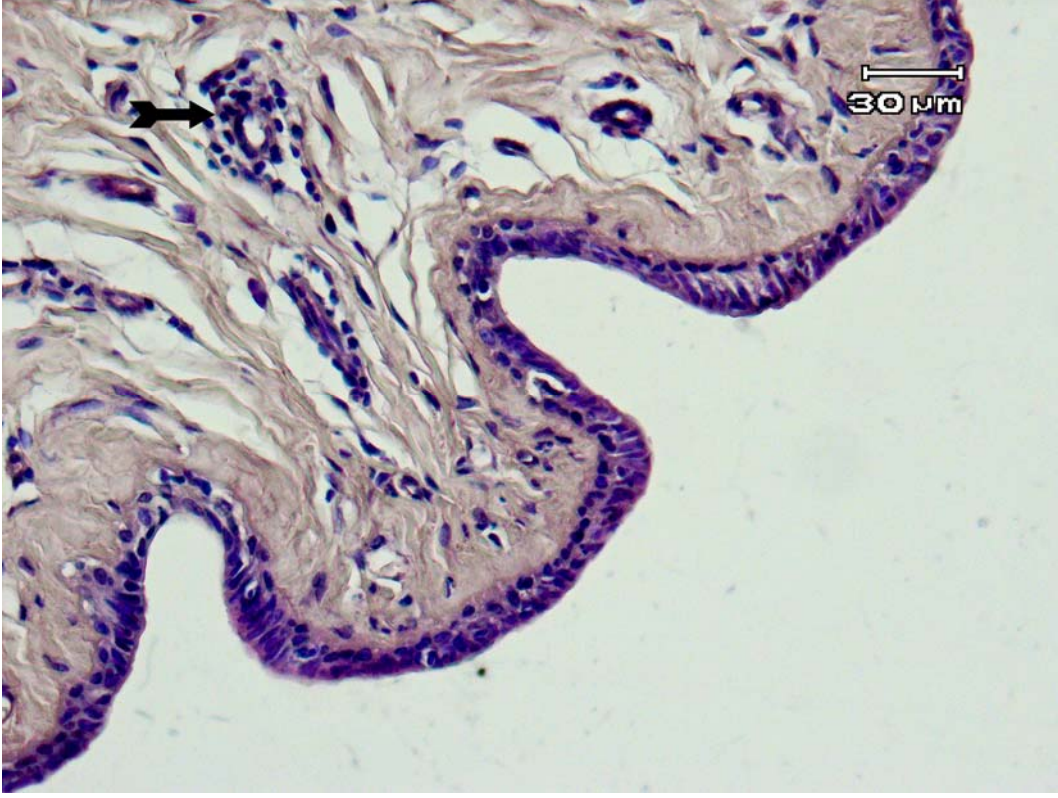
Şekil 4.6. Füstenberg rozetinde mono nükleer hücre infiltrasyonu, HXE



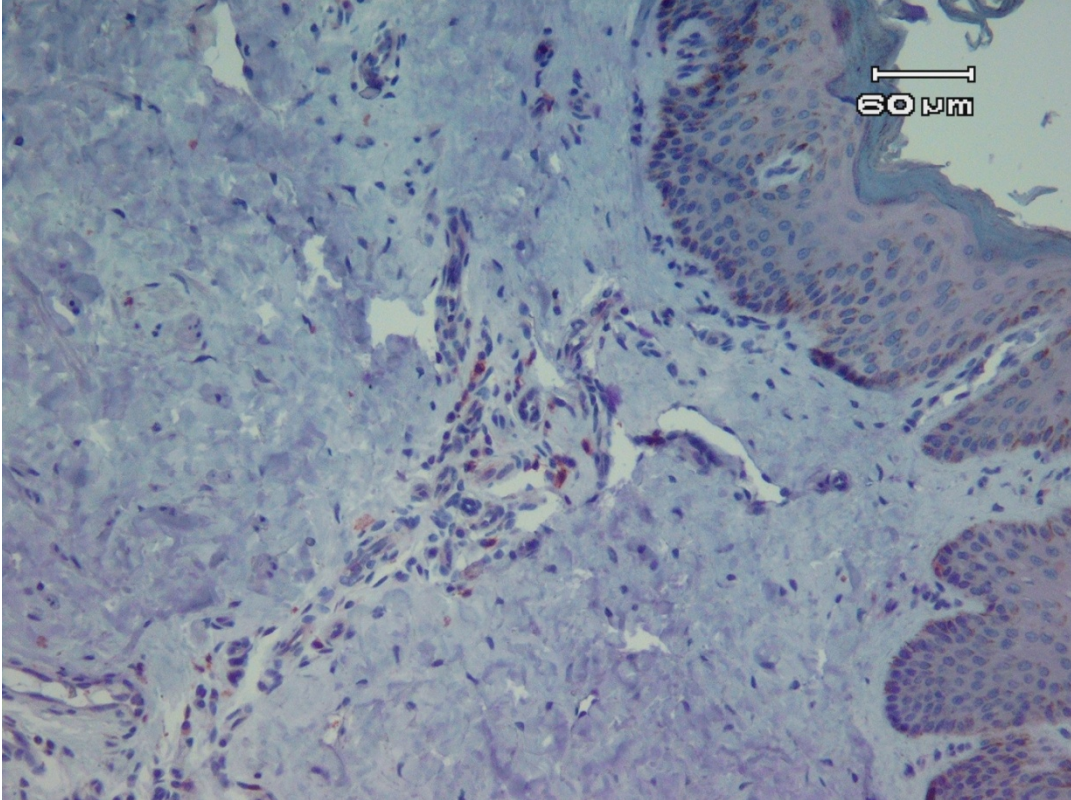
Şekil 4.7 Füstenberg rozetinde plazma hücreleri, Metil-Green pironin



Şekil 4.8. Mono nükleer ve parçalı çekirdekli hücre infiltrasyonu, HXE

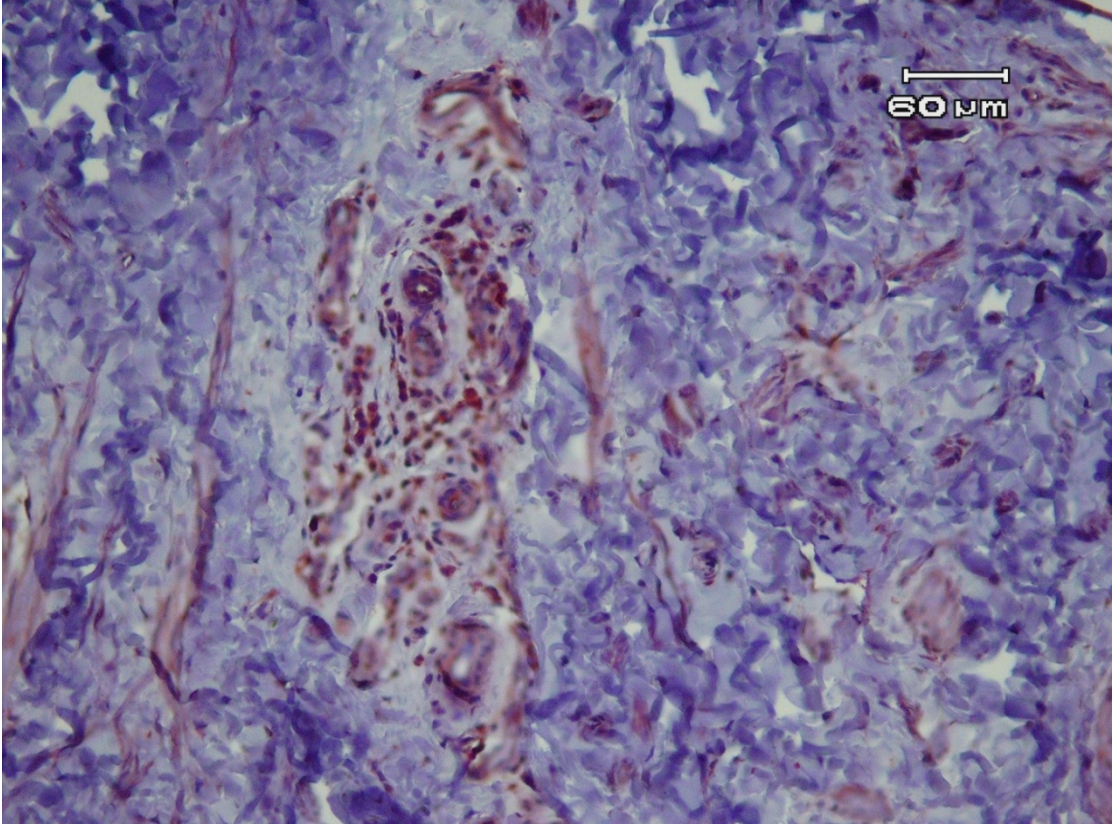


Şekil 4.9 Fürstenberg bölgesinde yüksek endotelli venüllerin görünümü, HXE



Şekil 4.10 Bağ dokuda CD3 T lenfositlerin görünümü, immunohistokimya





Şekil 4.11 Bağ dokuda CD3 T lenfositlerin görünümü, immunohistokimya

## 5.TARTIŞMA

Meme bezinini temel işlevi yeni doğanları beslemektir. Memeler, gövdenin ventral duvarları üzerinde, median hattının sağ ve solunda simetrik olarak bulunur. Küçük ruminant ve tek tırnaklılarda her bir yarımda 1, büyük ruminantlarda 2 meme bulunur. Ruminant ve tek tırnaklılarda ise ingual olarak yerleşmiştir. Meme başında dışarıya açılan kanal sayısı ruminantlarda 1, kısıraklarda 2, köpekte 8-20, kedide 1-7 adettir (Appleman 1973). Yaptığımız çalışmada keçilerde her bir yarımında bir olmak 2 adet meme dokusu gözlemlendi.

Keçilerde meme başının büyüklüğü farklılık gösterir. Bazı hayvanlarda elle dahi sağılamayacak kadar küçük olmasının yanı sıra bazılarında oldukça büyüktür. Meme başı, memenin bazisinde genişler ve memeden dışarı huni şeklinde çıkıntı yapar. Meme başı duvarı deri, kas ve mukoza olmak üzere 3 ayrı kattan ibarettir. Meme başının ventral kısmında 8-12 mm (5-13mm) uzunluğunda meme başı kanalı bulunur. Kanal içinde 5-7 adet konveks, yıldız şeklinde yarığı andıran epitelyum çıkıntılar bulunur. Her bir meme başının uç kısmında, yaklaşık 1 cm uzunluğunda ve güçlü bir kastan ibaret olan meme başı sfinkteri bulunur. Meme başı deliğinin (ostium papillare) hemen dorsalinde bütün yönlere doğru uzanan 4-8 adet kıvrımlar bulunur ve bu yapıya Fürstenberg rozeti adı verilir (Anderson 1985). Keçilerde yapılan bu çalışmadaki bulgularımız Anderson'un bulguları ile paralellik arz etmektedir.

Duktus papillarisler (memebaşı kanalı) çok katlı epitelle kaplıdır. Epidermisin altındaki bağ dokusunda ter bezleri, yağ bezleri ve özel kokulu apokrin bezler bulunur. Epidermis ile duktus papillaris epiteli arasında, sık örgülü, sirküler dizilmiş düz kas telleri ve elastik iplikler bulunur. Sinus laktiferus ile memebaşı kanalının birleştiği sınırdaki epitelyum ve çevreleyen bağ doku ışınal kıvrımlar yaparak Fürstenberg rozeti denilen yapıyı oluşturarak sütün dışarı akmasını önler (Giesecke ve ark. 1972). Çalışmamızda da yukarıdaki literatür bulgularla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Laktasyon süresince doku değişimini belirleyen araştırmalar meme başı sisternasını sınırlayan epitelyal koruyucu mekanizmaları ortaya çıkartmıştır. Süt sağılmayan dönemde bakterilere karşı savunmada epitelyal hücrelerin fagositik yeterlilikleri olabileceği de buna eklendi. Meme bezi kuru dönemde *E. coli* enfeksiyonlarına dirençli görünür, çünkü meme

başı ucunda adheransın önlenmesi ve toksinlere epitelyal duyarlılığın azalması laktasyon siklusunun bu döneminde dirençte bir rol alıyor olabilir (Eberhart 1977). Meme ucu kanal epitelyumu (keratin tabaka içeren) fizyolojik olarak meme involusyonu sırasında atrofiye olur. Bu fizyolojik atrofi; stratum granulosumun daha çok alanında ve kalınlığında azalma ile kendini belli eder. Keratin meme iltihabı patojenlerine karşı direnç sağlayabilir ve involusyon sırasında keratin tabakasının kalınlığının artması saldıran patojenlere karşı kanalın fiziksel bir bariyer olarak etkinliğini artırır (Murphy ve Stuart 1953). Bu çalışmada keratin ile ilgili bulgularımız laktasyondaki korunma mekanizmalarını açıklanmasında literatür ile benzerlik göstermektedir.

Meme başı dokusunu korumada polimorfların ve makrofajların görevleri daha fazla olup tüm hücre popülasyonunun %80-90'ını oluştururlar. Polimorf nükleer lökositler ise kuvvetli fagositozis yeteneğine sahiptir ve hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda kazein ve yağ globullerine rastlanmaktadır. Sütte spesifik opsoninlerin (İgG, İgM) yeterince bulunmaması veya çok az olması gibi nedenlerle de fagositozis genellikle çok zayıf bir etkinliğe sahip olmaktadır. Meme dokusunda bulunan PNL de, aynen makrofajlarda olduğu gibi, mikrobisidal özellikte olan superoksidi meydana getiren peroksidase sentezlerler. Bu substans PNL de, mikroplar üzerine çok etkili olan laktoperoksidase-tiyosiyanate-hidrojen peroksid sisteminde bulunmaktadır ki bu mekanizma makrofajlarda yoktur. Yavru midesine kolostrum ve sütle ulaşan PNL in etkinliği çok kısa süreli ve zayıftır (Erganiş ve İstanbulluoğlu 1993). Bu çalışmada meme başı dokusunun bağ dokusunda benzer hücreler gözlenmiştir. Dolayısıyla savunma sisteminde bu hücrelerin aktif olarak görev yapması yukarıda araştırmacıların bulguları ile örtüşmektedir.

Murphy ve Stuart (1986) tarafından yapılan çalışmalarda meme başı kanalı ve devamındaki dokuların meme içi enfeksiyonların önlenmesinde ilk bariyer olarak görev yaptığı gösterilmiştir (Murphy ve Stuart 1986). Ayrıca keratindeki bakteri yok edici aktivitelerdeki artışın artması hücre metabolizmasındaki değişikliklerle ilgili olduğu ve kuru dönemdeki meme ucu kanal değişikliği meme involusyonunun ileriki safhalarındaki keratindeki bakteri yok edici aktivitelerin artması kanal değişikliğinin gelişmesini sağlar. Bundan dolayı meme ucu kanalının büzülmesindeki değişiklik büzülme sürecinde yeni meme içi enfeksiyonlara duyarlılıkta önemli faktörler olabilir (Chang ve ark 1981). Yapılan çalışmada meme başı kanalının laktasyonda keratin tabakası ile kaplı olması çalışmamız bulgularının yukarıdaki araştırmacılarla paralellik göstermiştir.

Son çalışmalarda ineklerin sütünden elde edilen çok çekirdekli lökositlerin fagositik kapasitesi, papiller dokuların yüksek nüfus edebilirliğine sahip olduğu veya fağositik kapasite ve kanal nüfus edebilirliği arasında karşılıklı ilişki var olup olmadığını tanımlamak için ölçülen nüfus edebilirliğe karşı yüksek dirençli kanallara sahip olduğu bulundu (Cousins ve ark 1980). Laktasyonda infekte olmayan ineklerden alınan meme ucu dokusunun histolojik olarak incelenmesinde, meme ucu kanalının sisternasından meme ucuna doğru sızan plazma hücreleri ve lenfositlerin aşamalı olarak artığı gözlenmiştir (Giesecke ve ark 1972). Bu bulgu meme başında savunma mekanizmasında bu temel hücrelerin bakteri penetrasyonuna karşı koruyucu görevleri olduğunu göstermektedir (Comali ve ark 1984). Ayrıca Fürstenberg rözetinde plazma hücrelerin artığı gösterilmiştir (Wilson ve ark 1972). Bu çalışmada da benzer şekilde özellikle Fürstenberg rozeti çevresinde ve meme başı bağ dokusunda benzer hücrelere rastlanmıştır.

İneklerin meme uçları birbirini izleyen laktasyonlar ile ve laktasyon süreci gibi daha fazla genişlediğinden dolayı önemli olabilir. Meme içi enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı meme başı kanalıdır. Bu bariyeri geçen bakteriler meme başı sarnıcının girişinde ikinci savunma hattı olan fagositotik lökositlerle karşılaşılır. Makrofaj ve nötrofiller tarafından yapılan fagositoz mastitisli patojenleri sindirmek ve onları yok etmekten ibaret bir olaydır. Nötrofiller istilacı organizmalar tarafından üretilen kimyasal habercilere doğru göç ederler ve sonuçta sütte nötrofil birikimi görülür. Keçi sütündeki somatik hücre sayımı ineklerin sütündeki somatik hücre sayımından daha yüksektir. İnek sütündeki hücre sayısındaki artışın süt verimini azalttığı sonucu tanılanmasına rağmen bu durumun keçi sütündeki üretimde de böyle olduğunu dair kanıt yoktur. Pek çok faktör bu yüksek hücre sayısına katkıda bulunduğu bildirilmiş olabilir (Wright 1989). Benzer bulgular bu çalışmada da elde edilmiştir.

## 6. SONUÇ

Meme dokusu, yeni doğanları beslemek ve bunları hayatlarının ilk günlerinde çeşitli ve tehlikeli infeksiyonlardan korumada gerekli olan pasif immunitiyi sağlamak gibi çok önemli görevleri üstlenmiştir. Bu doku, aynı zamanda, kendisini ve dolayısıyla da anayı savunmak için de bazı mekanizmaya sahip bulunmaktadır. Bütün bu önemli görevleri, meme dokusu sekresyonunda (kolostrum ve süt) bulunan bazı hücresel ve sıvısal faktörler yardımıyla yerine getirir. Ruminantlarda meme başı içerisinde yer alan küçük bir sarnıç, meme başı akıtıcı kanalıyla sonlanarak dışarıya açılır. Sarnıçla akıtıcı kanalın birleşim yerinde, 7-8 katlı müköz yapısında Fürstenberg rozeti denilen, bir yapı yer alır. Bu yapı, sağım dışında, sütün meme başından dışarıya akmasına engel olur. Ayrıca meme başının, sütün çıkış noktasındaki sfinkter görevi gören kas telleri de aynı amaca hizmet eder. Bununla birlikte meme başı etrafında bulunan elastik bağ dokusu da bu konuda etkindir.

Meme başı sinüsünün üst kısmında yer alan meme sarnıçına çok sayıda akıtıcı kanal açılmaktadır. Bu kanallar birçok yan dallarda ve sonunda alveol olarak adlandırılan salgı birimlerinde sonlanır. Yaptığımız çalışmada, meme başında Fürstenberg rozetinin bu bölgede antijen alınıp işlenerek spesifik immun yanıtın oluşturulduğu belirlendi. Meme dokusu ile ilgili yapılan kaynak taramaları doğrultusunda, yapılan çalışmaların genellikle fizyolojik ve biyokimyasal alanda olduğu ve meme bezlerinin genel yapısı ile süt salgılanması üzerinde olduğu gözlemlendi. Bu nedenle yaptığımız çalışma, meme başı dokusunun immünolojik bariyerini ortaya koyması açısından histolojik olarak yapılan deskriptif bir çalışma niteliğindedir. Çalışmamızda laboratuvar koşullarımız da dikkate alınarak immun sistem hücrelerinin yapısal içeriklerinin belirlenebilmesi amacıyla immunohistokimyasal yöntemlerde kullanıldı. Çalışmadan elde edilen bulguların, daha sonra bu alanda yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Alaçam E.** Süt ineklerinde Kuru Dönem tedavisinin önemi. *Hay. Araş. Der*, **1992**, s.2, 1: 1-3.
2. **Artan ME.** Histoloji. *İstanbul üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*, **1988** s. 29-32
3. **Appleman R D,** Subjective evaluation of teat canal anatomy. *J. Dairy Sci*, **1973**, s. 56:411.
4. **Anderson RR.** Mammary Gland. In : B. L. Larson, (ed.), Lactation. *The Iowa State University Press, Ames, Iowa*, **1985**, s. 3-38.
5. **Berning LM, Paape MJ, and Peters RR.** Alterations in phagocytosis and the binding of immunoglobulin to bovine neutrophils after chemotaxis. *Comp. Haematol. Int* ,**1991**, s. 1:129
6. **Baştan A.** İneklerde meme Hastalıkları. *Hatipoğlu yayınevi*, **2009**, 3. Baskı.
7. **Brandon MR, Watson DL, Lascelles AK.** The mechanism of transfer to immunoglobulin intomammary secretion of cows. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci*, **1971**, s. 49:613.
8. **Cousins CL, Higgs TM, Jackson ER, Neave FK, and Dodd FH.** Susceptibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period. *J. Dairy Res*, **1980**, s. 47:11.
9. **Comalli MP, Eherhart RJ, Griel LC, Tothenbacher H.** Changes in the microscopic anatomy of the bovine teat canal during mammary involution. *Am. J. Vet. Res*, **1984**, s. 45:2236.
10. **Concha C.** Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretions-are view of the literature. *Nord. Veterinaarmed*, **1986**, s. 38:257.
11. **Craven N.** Generation of neutrophil chemoattractants by phagocytosing bovine mammary macrophages. *Res. Vet. Sci*, **1983**, s. 35:310
12. **Chang CC, Winter AJ, Norcross NL.** Immune response in the bovine mammary gland after intestinal, local, and systemic immunization. *Infect. Immun*, **1981**, s. 31:650.
13. **Cousins CL, Higgs TM ve ark.** Suspectibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period. *J Dairy Res*, **1980**, s. 47:11-18.
14. **Carlson GP, Kaneko JJ.** Intravascular granulocytekinetics in developing calves. *Am. J. Vet. Res*, **1975**, s. 36:421.
15. **Dulin AM, Paape MJ, Schultze WD, Weinland BT.** Effect of parity, stage of lactation, and intramammary infectionon concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk. *J. Dairy Sci*, **1983**, s. 66:2426.

16. **Erganiş O, İstanbulluoğlu E.** İmmunoloji. *Mimoza Yayınları*, **1993**, Konya
17. **Eberhart RJ.** Coliform mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **1977**, 170 (part2): s. 1160.
18. **Giesecke WH, Gerneke WH, von Rensburg IBJ.** The morphology of the bovine teat canal: A preliminary report. *J S Afr Vet Assoc*, **1972**, s. 43:351-354.
19. **Greene WA, Galton DM, Erb HN.** Effects of prepartum milking on milk production and health performance. *J. Dairy Sci*, **1988**, s. 71:1406.
20. **Grommers FJ ve ark.** Direct trauma of the mammary gland in dairy cattle I. Variations in incidence due to animal variable *Vet. J.* **1971** Jun:127(6) s. 271-8
21. **Harding CV, Cobian FL, Unanue ER.** Mechanism of antigen processing. *Immunol. Rev*, **1988**, s. 106:77-91.
22. **Jain NC.** Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *J. Dairy Sci*, **1979**, s. 62:128.
23. **Jensen DL, Eberhart RJ.** Total and differential cell counts in secretions of the nonlactating bovine mammary gland. *Am. J. Vet. Res*, **1981**, s. 42:743.
24. **Jarrett A.** The Physiology and Pathophysiology of the Skin, ed 1. *London, Academic Press Inc*, **1973**, sayı 1, s. 11-15, 91-97
25. **Jain NC.** EdClinical interpretation of changes in leukocyte numbers and morphology. In: Schalm's Veterinary Hematology. *Lea and Febiger, Philadelphia*, **1986**, s 12-17
26. **Kural Ş.** Evcil hayvanların komparatif, Sistematik Anatomi ve Histolojisi. *Ankara Üniversitesi Basımevi*, **1963**, Kısım:2. s. 22-25
27. **Knight CH, Peaker M.** Mammary development and regression during lactation in goats in relation to milk secretion *Physiol.* **1984** Apr:(69) s. 331-8
28. **Murphy JM, Stuart OM.** The effect of introducing small numbers of *Streptococcus agalactiae* (Cornell 48 strain) directly into the bovine teat cavity. *Cornell Vet*, **1953**, s. 43:290-310.
29. **Nickerson SC, Thompson WJ, Kortem WM, Boddie NT.** Histological response of bovine mammary tissue to an intra cisternal device. *J. Dairy Sci*, **1987**, s. 70:687.
30. **Nickerson SC, Baker PA, Trimdad P.** Local immunostimulation of the bovine mammary gland with interleukin-2. *J. Dairy Sci*, **1989**, s. 72

31. **Nickerson SC, Nonnecke BJ.** Tuberculin-elicited cellular immune response in the lactating bovine mammary gland vaccinated intramammarily with *Mycobacterium bovis*. *Vet. Immunol. Immunopathol* , **1986**, s. 13:39.
32. **Regnault JP.** Immunologie Generale. *Vigot Publishing Company*, **1988**, Lausanne-Canada.
33. **Sordillo LM, Nickerson SC, Akers RM, Oliver SP.** Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. *Int. J. Biochem*, **1987**, s. 29:1165.
34. **Schalm OW, Lasmanis J, Jain NC.** Conversion of chronic staphylococcal mastitis to acute gangrenous mastitis after neutropenia in blood and bone marrow produced by an equine anti-bovine leukocyte serum. *Am. J. Vet. Res.*, **1976**, s. 37:885.
35. **Squier MKT, Sehnert AJ, Cohen JJ.** Apoptosis in leukocytes. *J. Leukocyte Biol*, **1995**, s. 57:2.
36. **Targowski SP.** Role of immune factors in protection of mammary gland. *J. Dairy Sci*, **1983**, s. 66:1781.
37. **Paape MJ, Wergin WP.** The leukocyte as a defense mechanism. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, **1977**, s. 36:337.
38. **Paape M J, Wergin WP, Guldry AJ, Pearson RE.** Leukocytes-second line of defense against invading mastitis pathogens. *J. Dairy Sci*, **1979**, s. 62:135.
39. **Watson DL.** Immunological functions of the mammary gland and its secretion. Comparative review. *J. Biol. Sci*, **1980 Aust**, s. 33:403.
40. **Watson DL, Lascelles A K.** Mechanisms of transfer of immunoglobulins into mammary secretion of ewes. *J. Exp. Biol. Med Sci*, **1973 Aust**, s. 51:247.
41. **Wilson MR, Duncan JR, Heistand F, Brown P.** The influence of preparturient intramammary vaccination on immunoglobulin levels in bovine mammary secretions. *Immunology* , **1972**, s. 23:313.
42. **Wilson GP, Hayes HM.** Mammary glands. In: *M. J. Bojrap, (ed.), Current Techniques in small Animal Surgery, 2nd ed*, 1983, s. 414-419, Lea and Febiger, Philadelphia.
43. **Worku M, Paape MJ, Marquardt WW.** Effect of in vitro and in vivo migration of bovine neutrophils on binding and expression of Fc receptors for IgG2 and IgM. *Am. J. Vet. Res*, **1994b**, s. 55:234.
44. **Wright SD, Ramos RA, Ulevitch RJ.** Lipopolysaccharide (LPS) binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages. *J. Exp. Med*, **1989**, s. 70:1231
45. **Ishikawa H, Shimizu H, Hirano N, Nakano T.** Protein composition of whey from subclinical mastitis and effect of treatment with levamisole. *Dairy Sci* **1982**, s. 65:65346.



## ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. İlköğretimini Şahinkaya Kasabası İlkokulunda, ortaokulu Kahramanmaraş Yatılı Bölge İlköğretiminde ve lise öğrenimini Kahramanmaraş Hoca Ahmet Yesevi Lisesinde tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2007 yılında bitirdi. 2008 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji programında yüksek lisans eğitimine başladı. İngilizce bilmektedir.