



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI



**FARELERDE LİPOPOLİSAKKARİT (LPS) İLE
OLUŞTURULAN MASTİTİS MODELİNDE MAST
HÜCRELERİNİN ALDIKLARI ROLLERİN İNCELENMESİ**

Ayşe Meriç MUTLU

(DOKTORA TEZİ)

BURSA - 2022





**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**



**FARELERDE LİPOPOLİSAKKARİT (LPS) İLE OLUŞTURULAN
MASTİTİS MODELİNDE MAST HÜCRELERİNİN ALDIKLARI
ROLLERİN
İNCELENMESİ**

**Ayşe Meriç MUTLU
(DOKTORA TEZİ)**

**DANIŞMAN:
Prof. Dr. Ahmet AKKOÇ**

1180893 – TÜBİTAK 1001 Programı

BURSA-2022

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum “Farelerde Lipopolisakkarit (LPS) ile Oluşturulan Mastitis Modelinde Mast Hücrelerinin Aldıkları Rollerin İncelenmesi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Ayşe Meriç MUTLU

24.06.2022

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

24/06/2022

Adı Soyadı: Ayşe Meriç MUTLU

Anabilim Dalı: Veteriner Patoloji Anabilim Dalı

Tez Konusu: Farelerde Lipopolisakkarit (LPS) ile Oluşturulan Mastitis Modelinde Mast Hücrelerinin Aldıkları Rollerin İncelenmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	☒	☐	
Dış Kapak Sayfası	☒	☐	
İç Kapak Sayfası	☒	☐	
Kabul Onay Sayfası	☒	☐	
Sayfa Düzeni	☒	☐	
İçindekiler Sayfası	☒	☐	
Yazı Karakteri	☒	☐	
Satır Aralıkları	☒	☐	
Başlıklar	☒	☐	
Sayfa Numaraları	☒	☐	
Eklerin Yerleştirilmesi	☒	☐	
Tabloların Yerleştirilmesi	☒	☐	
Kaynaklar	☒	☐	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Ahmet AKKOÇ

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak

İç Kapak

ETİK BEYAN	II
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	XI
İNGİLİZCE ÖZET	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mastitis.....	3
2.1.1. Mastitisin Tanımı ve Önemi	3
2.1.2. Mastitislerin Etiyolojisi	4
2.1.3. Mastitislerin Sınıflandırılması.....	5
2.1.4. Mastitislerin Teşhisi ve Terapötik Yaklaşım.....	7
2.2. Mast Hücreleri	8
2.2.1. Mast Hücrelerinin Kökeni, Farklılaşması ve Olgunlaşması	8
2.2.2. Yerleşim Yerleri.....	8
2.2.3. Morfolojik Özellikleri ve Heterojenite	9
2.2.4. Mast Hücrelerinin Aktivasyonu ve Mediyatör Salınımı.....	11
2.2.5. Mast Hücrelerinin Görevleri	12
2.2.5.1. Mast Hücrelerinin Fizyolojik Rollerini.....	12
2.2.5.2. Mast Hücrelerinin Patolojideki Rollerini	15
2.2.6. Terapötik Yaklaşım	17
2.2.6.1. Mast Hücre Aktivasyonunun İnhibisyonu.....	17
2.2.6.2. Mast Hücre Mediyatörlerini İnhibe Eden Bileşikler	19
2.2.6.3. Mast Hücre Sayısının Azaltılması	21
2.2.6.4. Glukokortikoidler	21
2.3. Fibrozis	22
2.3.1. Fibrozisin Tanımı ve Önemi	22

2.3.2. Ekstraselüler Matriks (Extracellular Matrix, ECM) ve Fibrozis	23
2.3.3. Normal Yara İyileşmesi ve Fibrozis	25
2.3.4. Fibrozis Oluşum Mekanizmaları	27
2.3.5. Mast Hücreleri ve Fibrozis.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. GEREÇ	32
3.1.1. İnek Meme Dokusu Örneklerinin Temini	32
3.1.2. <i>In Vivo</i> Deneylerde Kullanılan Farelerin Temini.....	32
3.1.3. Hücre Kültürü Çalışmalarının Gerçekleştirildiği Deneysel Ortam	33
3.2. YÖNTEM.....	33
3.2.1. <i>In Vivo</i> Fare Deneyleri.....	33
3.2.2. Dokuların İşlenmesi	35
3.2.3. Histopatolojik İncelemeler.....	36
3.2.4 Meme Dokusu Kesitlerinde Mast Hücrelerinin Gösterilmesi.....	37
3.2.5. Meme Dokularındaki Bağ Doku Miktarının Belirlenmesi	37
3.2.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler.....	38
3.2.7. Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)	40
3.2.7.1. Fare Meme Bezi Homojenatlarının Hazırlanması.....	40
3.2.7.2. Test Solüsyonlarının Hazırlanması.....	41
3.2.7.3. Standart Kuyucuklarının Hazırlanması	41
3.2.7.4. Test Protokolü.....	41
3.2.7.5. Sitokin ve Proteaz Miktarlarının Hesaplanması.....	42
3.2.8. Dokularda Yangının Şiddetinin Değerlendirilmesi / Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Ölçümü.....	43
3.2.8.1. Test Solüsyonlarının Hazırlanması	43
3.2.8.2. Test Protokolü.....	44
3.2.8.3. MPO Değerlerinin Hesaplanması	45
3.2.9. Hücre Kültürü	45
3.2.9.1. Meme Dokusu Örneklerinin Temini.....	45
3.2.9.1.1. İnek Meme Dokusu Örneklerinin Temini.....	45

3.2.9.1.2. Fare Meme Dokusu Örneklerinin Temini.....	46
3.2.9.2. Hücrelerin İzolasyonu.....	46
3.2.9.3. Pasajlama İşlemleri.....	47
3.2.9.4. Hemositometre ile Hücrelerin Sayımı.....	48
3.2.9.5. Hücrelerin Karakterizasyonu.....	49
3.2.9.5.1. Diff Quik Boyama	49
3.2.9.5.2. İmmünohistokimyasal Boyama	50
3.2.9.6. Proliferasyon Testi	50
3.2.9.6.1. Test Protokolü	51
3.2.9.6.2. Proliferasyon Derecesinin Değerlendirilmesi	52
3.2.9.7. Hidroksiprolin Ölçüm Testi	52
3.2.9.7.1. Örneklerin Hazırlanması	52
3.2.9.7.2. Test Solüsyonlarının Hazırlanması	53
3.2.9.7.3. Standart Kuyucuklarının Hazırlanması	53
3.2.9.7.4. Test Protokolü	53
3.2.9.7.5. Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması	54
3.2.10. Mikrobiyolojik Analizler	54
3.2.11. İstatistiksel Analizler	55
4. BULGULAR	56
4.1. Makroskobik İnceleme	56
4.1.1. İnek Meme Dokularında ve Süt Numunelerinde Gözlenen Makroskobik Değişiklikler.....	56
4.1.2. Fare Meme Dokularında Gözlenen Makroskobik Değişiklikler	57
4.2. Histopatolojik İnceleme	57
4.2.1. İnek Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler.....	57
4.2.2. Fare Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler.....	59
4.2.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarından Elde Edilen Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler	59
4.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarından Elde Edilen Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler	60
4.3. Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri.....	61
4.3.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	61

4.3.2. Fare Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	62
4.3.2.1. Akut Mastitis Modeli ve Mast Hücreleri.....	62
4.3.2.1.1. Akut Mastitis Modeli Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	62
4.3.2.1.2. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Lenf Yumrularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	66
4.3.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri....	67
4.3.2.2.1. Kronik Mastitis Modeli Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	67
4.3.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Lenf Yumrularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri	70
4.4. İmmunohistokimyasal İncelemeler	71
4.4.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri.....	71
4.4.1.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri	72
4.4.1.2 İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri.....	72
4.4.1.3. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri	73
4.4.2. Fare Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri.....	73
4.4.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri.....	73
4.4.2.1.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri	73
4.4.2.1.2 Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri	75
4.4.2.1.3. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri	76
4.4.2.2 Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri.....	77
4.4.2.2.1 Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri	77
4.4.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri.....	78
4.4.2.2.3. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri.....	79

4.5. İnek ve Fare Meme Dokularında Bağ Doku Miktarının İncelenmesi	81
4.5.1. İnek Meme Dokularında Bağ Doku Miktarının İncelenmesi.....	81
4.5.2. Fare Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi	82
4.5.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi	82
4.5.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi	82
4.6. Yangısal Sitokin ve Proteaz Değerleri.....	84
4.6.1. Akut Mastitis Modelinde Ölçülen Değerler	84
4.6.1.1. IL-1 β Değerleri	84
4.6.1.2. IL-13 Değerleri	85
4.6.1.3. IL-6 Değerleri	87
4.6.1.4. TNF- α Değerleri.....	89
4.6.1.5. Triptaz Değerleri	89
4.6.1.6. Kimaz Değerleri.....	90
4.6.2. Kronik Mastitis Modelinde Ölçülen Değerler	91
4.6.2.1. IL-1 β Değerleri	91
4.6.2.2. IL-13 Değerleri	92
4.6.2.3. IL-6 Değerleri	94
4.6.2.4. TNF- α Değerleri.....	95
4.6.2.5. Triptaz Değerleri	95
4.6.2.6. Kimaz Değerleri.....	96
4.7. Dokularda Yangının Şiddetinin/ MPO Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	97
4.7.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Ölçülen MPO Değerleri	97
4.7.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Ölçülen MPO Değerleri	98
4.8. Hücre Kültürü	99
4.8.1. Hücre Proliferasyon Testi	100
4.8.1.1. İnek Meme Fibroblastlarında Hücre Proliferasyon Testi.....	100
4.8.1.2. Fare Meme Fibroblastlarında Hücre Proliferasyon Testi.....	102
4.8.2. Hidroksiprolin Ölçüm Testi	104
4.8.2.1. İnek Meme Fibroblastlarında Hidroksiprolin Ölçüm Testi.....	104

4.8.2.2. Fare Meme Fibroblastlarında Hidroksiprolin Ölçüm Testi.....	106
4.9. Mikrobiyolojik Analizler	108
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	151
6. KAYNAKLAR.....	169
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	189
8. EKLER	191
9. TEŞEKKÜR.....	211
10. ÖZGEÇMİŞ	212



TÜRKÇE ÖZET

Dünya genelinde ve ülkemizde süt sığırlarının en yaygın ve en önemli hastalıklarından olan mastitis, ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalığın akut safhasında şekillenen süt verimi, hayvan sağlığı ve hayvan refahı ile ilişkili problemlere ek olarak, kronik yangısal süreçte şekillenen fibrozis, fonksiyonel ünite kaybı ve ilerleyen dönemlerde meme dokusunun tamamen körelmesi ile sonuçlanabilir. Bağışıklık sisteminin nöbetçi hücreleri olarak bilinen mast hücreleri, çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde ve fibrozis oluşumunda aktif olarak rol oynarlar. Bu hücrelerin farklı doku ve organlarda yangısal süreçte aldıkları görevler kapsamıca bilinse de mastitisler sırasında aldıkları rollere ilişkin bilgiler son derece sınırlıdır. Tez çalışmada ineklerin doğal mastitis vakalarında ve farelerde oluşturulan akut ve kronik mastitis modelinde mast hücrelerinin mastitis patojenezindeki olası rolleri bu hücrelerin ilgili dokudaki varlıklarının tespiti, mikroanatomik yerleşimleri, immunofenotipleri ve aktiviteleri incelenerek sorgulanmıştır. Çalışmada ayrıca mast hücre stabilizasyonunun yangısal reaksiyon profiline ve fibrozis oluşumuna etkileri de *in vivo* model dahilinde araştırılmıştır. Son olarak, kültüre edilen meme dokusu fibroblastlarının proliferatif kapasiteleri ve kollajen sentez potansiyelleri mast hücrelerine ait triptaz ve kimaz enzimleri varlığında değerlendirilmiştir. Mastitisli meme dokularında mast hücre sayısının ve aktivitesinin artış gösterdiği ve bu artışın fibrozisin şiddeti ile doğrudan ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Mast hücre stabilizasyonunun yangının şiddetini azalttığı ve fibrozisi hafiflettiği de ortaya konmuştur. Triptaz enziminin inek ve fare meme fibroblastları üzerinde proliferatif etkiye sahip olduğu ve bu hücrelerin kollajen sentez kapasitelerini artırdığı görülmüştür. Kimaz enzimi ile kültüre edilen fibroblastlarda da benzer proliferatif etkinin şekillendiği tespit edilmiştir. Bu bulguların ışığında, mast hücrelerinin mastitis patojenezinde önemli roller üstlendikleri görülmüş ve hem yangının hem de fibrozisin şiddetinin hafifletilmesi için bu hücrelerin stabilizasyonunun yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mastitis, mast hücreleri, fibrozis, triptaz, kimaz

İNGİLİZCE ÖZET

Investigation of the Roles of Mast Cells in Lipopolysaccharide (LPS) Induced Mastitis Model in Mice

Mastitis, one of the most important and the most widespread disease of dairy cattle worldwide and in our country, causes serious economic losses. In addition to milk yield, public health and animal welfare issues presented during acute phase, chronic inflammation associated fibrosis can result in functional unit loss and eventually total loss of mammary tissue. Mast cells, the sentinel cells of the immune system, play active roles during diverse physiological and pathological processes and fibrosis. Although the roles of these cells in the inflammatory process of different organs and tissues are widely known, the information about their roles in mastitis is extremely limited. In this thesis, presence, microanatomical localization, immunophenotypes, and activities of mast cells and the presence of fibrosis were examined in the mammary glands of naturally occurring mastitis cases and in LPS induced acute and chronic mastitis model in mice. In addition, the effects of mast cell stabilization on inflammatory reaction profile and fibrosis were investigated *in vivo*. Finally, the proliferative capacity and collagen synthesis potential of cultured bovine and mouse mammary tissue fibroblasts were evaluated in the presence of mast cell tryptase and chymase enzymes. Mast cell number and activity were increased in mammary tissues with mastitis and were correlated with the severity of fibrosis. Mast cell stabilization reduced the severity of inflammation and alleviated fibrosis. Tryptase increased proliferative activity of bovine and mouse mammary fibroblast and stimulated collagen synthesis. Similar proliferative effect were also detected in fibroblasts cultured with chymase enzyme. In this regard, it was concluded that mast cells play important roles in the pathogenesis of mastitis and mast cell stabilization may be beneficial to alleviate the severity of inflammation and fibrosis.

Keywords: Mastitis, mast cells, fibrosis, tryptase, chymase

1. GİRİŞ

Mastitis, kısaca meme dokusunun enfeksiyöz veya non-enfeksiyöz etkenlerden kaynaklanan yangısı olarak tanımlanabilir. Süt sığırlarının en yaygın ve en önemli hastalıklarından biri olan mastitis, ülkemizde ve tüm dünyada ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Cobirka, Tancin, & Slama, 2020; Gomes, & Henriques, 2016). Mastitis, süt endüstrisinde yol açtığı kayıpların yanında zoonotik hastalıkların yayılmasındaki potansiyel, antibiyotik dirençliliği, gıda güvenliği ve hayvan refahı açısından da son derece önemli bir hastalıktır (Cheng, & Han, 2020; (Pal, Regasa, & Gizaw, 2019; Petersson-Wolfe, Leslie, & Swartz, 2018; Yılmaz ve ark., 2018). Mastitisler etkenlerin bulaşma şekillerine göre (çevresel ve kontagiyöz), klinik görünümüne göre (klinik, subklinik), hastalığın süresine göre (perakut, akut, subakut, kronik) ve hastalığa yol açan enfeksiyöz ajanlara göre (Stafilokokal, Streptokokal, Koliform mastitis vb.) klasifiye edilmektedir (Hamadani ve ark., 2013). Sınıflandırma başlığı her ne olursa olsun, eğer hayvan enfeksiyonun erken dönemlerinde uygun ve yeterli bir süre tedavi görmemişse ve özellikle subklinik seyirli enfeksiyonlar söz konusu ise, kronik yangısal süreç meme dokusunda ilerleyici fibrozis ile sonuçlanır. Aktif üretim yapan meme parenşiminin yerini fibröz bağ dokunun alması süt sentezinin azalması veya tamamen kaybıyla sonuçlanabilir.

Fibrozis, dokularda ve organlarda ekstraselüler matriks (extracellular matrix, ECM) bileşenlerinin aşırı miktarda birikimi ve bağ doku hücrelerinin artışıdır (Distler ve ark., 2019). Farklı doku ve organlarda çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı olarak şekillenebilse de sıklıkla kronik yangısal reaksiyonların sonucunda meydana gelir (Henderson, Rieder, & Wynn, 2020). Parenkimal hücrelerin yerini fibrotik dokunun alması organların fizyolojik yapısının ve fonksiyonlarının bozulmasına ve ilerleyen dönemlerde organ yetmezliklerine neden olur. Fibrozisi engellemek, yavaşlatmak veya geri döndürmek adına bu süreçte önemli olan hücreleri, mediyatörleri ve moleküler yolları hedef alan tedavi stratejileri kısmen mevcut olsa da etkin bir tedavi henüz mevcut değildir. Fibrozis ile ilgili terapötik yaklaşımlar kapsamında, araştırmacıların güncel odaklarından birisi mast hücreleri ve bu hücrelere ait proteazlardır. Alerjik reaksiyonların, paraziter enfeksiyonların, doğal ve kazanılmış immun yanıtların da dahil olduğu çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde etkin roller üstlenen mast hücrelerinin, fibrozis oluşumu üzerindeki etkileri de son yıllarda öne

çıkmaya başlamıştır. Farklı doku ve organlarda doğal olarak şekillenen veya deneysel olarak oluşturulan fibrozis olgularında mast hücrelerinin rolleri sorgulansa da bu hücrelerin inek meme dokusundaki yangısal sürece olan katkıları ve özellikle de fibrozis ile seyreden kronik enfeksiyonlar sırasında aldıkları rollere ilişkin bir literatür bilgisi bulunmamaktadır. Tez çalışması bahsi geçen açığın kapatılmasına yönelik, mast hücrelerinin mastitis patojenezinde aldıkları olası rollerin incelenmesi için tasarlanmıştır. Toplamda üç farklı kapsamda organize edilen çalışmanın birinci basamağında, lokal mezbahalardan inek meme dokusu örnekleri ve aynı meme dokularına ait olan süt numuneleri temin edilmiştir. Meme dokusu ve süt örnekleri makroskobik, mikroskobik ve mikrobiyolojik analizler kullanılarak sağlıklı, akut ve kronik mastitisli olarak klasifiye edilmiştir. Meme dokusu örneklerinde histokimyasal ve immunohistokimyasal boyama teknikleri kullanılarak mast hücrelerinin varlığı, yerleşim yerleri, sayıları, aktiviteleri ve immunofenotipleri incelenmiştir. Sağlıklı ve yangılı meme dokularında interstisyel bağ doku ve fibrozisin varlığı gösterilerek fibrozisin şiddeti ile mast hücre sayısı arasındaki olası korelasyon değerlendirilmiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda izole edilen bakteri türü ile meme dokusuna infiltre olan mast hücre immunofenotipi arasında bir ilişki olup olmadığı da sorgulanmıştır. Çalışmanın ikinci basamağında, deneysel olarak farelerde LPS ile akut ve kronik mastitis indüklenmiş ve meme dokularında mast hücrelerinin varlığı, mikroanatomik yerleşimleri, sayıları, aktiviteleri ve immunofenotipleri incelenmiştir. Fibrozisin indüklendiği kronik yangı modelinde mast hücrelerinin olası rolleri irdelenmiştir. Ek olarak bu hücrelerin stabilizasyonunun yangısal profil üzerindeki etkileri doku IL-1 β , IL-6, IL-13 ve TNF- α seviyeleri ve myeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri ölçülerek araştırılmıştır. Çalışmanın üçüncü basamağında ise inek ve fare meme dokularından izole edilen fibroblastlar triptaz ve kimaz enzimleri ile inkübe edilmiştir ve bu enzimlerin fibroblastlar üzerindeki proliferatif etkileri ve kollajen sentezi kapasitelerine etkileri sorgulanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mastitis

2.1.1. Mastitisin Tanımı ve Önemi

Meme dokusunun yangısı olarak tanımlanabilen mastitis, süt sığırlarının en yaygın ve en önemli hastalıklarından birisidir (Cobirka ve ark., 2020). Ülkemizde ve tüm dünyada süt sığırıcılığı işletmelerindeki ekonomik kayıplarının en önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Bu kayıplara, enfekte meme dokularından elde edilen ve kullanılamayan sütler, antibiyotik kalıntıları nedeni ile oluşan üretim kayıpları, veteriner hekim ve tedavi masrafları, hayvanların erken laktasyon yaşında sürüden çıkarılması ve onların yerine hayvan konulması, enfekte süt ile temas eden her türlü ekipmanın dezenfeksiyonu için gereken masraflar ve hayvan ölümleri sebep olmaktadır. Tüm bunların yanında azalmış süt verimi, süt kalitesinde meydana gelen azalma, fertilitenin düşmesi, her bir tohumlama başına verilen ek ücretler, buzağılama aralığının ve yavru kayıplarının artması gibi gelecekteki risk oranlarında da önemli bir artış şekillenmektedir (Cobirka ve ark., 2020; Gomes, & Henriques, 2016; Rollin, Dhuyvetterb, & Overton, 2015). Türkiye’de mastitisin neden olduğu ekonomik kaybın tek bir hayvan için 528,4 - 1207,6 ₺’ye ulaşabileceği; mastitise bağlı yıllık ekonomik kaybın ise 1,3 milyar ₺’nin üzerinde olabileceği bildirilmiştir (Sarıözkan, 2019). Hollanda’da yapılan bir çalışmada, her bir mastitis olgusunda ortalama maliyetinin etiyolojik ajana bağlı olarak 149 – 570 € arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir (Sørensen, Mark, Sørensen, & Østergaard., 2010). Ekonomik kaybın Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde yıllık 2 milyar \$, Kanada’da 400 milyon \$ ve Avustralya’da ise 130 milyon \$ civarında olduğu tahmin edilmektedir (Dego, 2020). Mastitis neden olduğu ekonomik verim kaybının yanı sıra zoonotik hastalıklar, antibiyotik dirençliliği, gıda intoksikasyonları ve gıda güvenliği açısından insan sağlığına da önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Cheng, & Han, 2020; Garcia, Osburn, & Cullor, 2019). Brusellozis, kampilobakteriyozis, Q humması, listeriyozis ve tüberkülozis gibi pek çok zoonotik hastalık enfekte süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile insanlara bulaşabilmektedir (Pal ve ark., 2019). Enfekte inek süt ve süt ürünlerinde bulunabilen *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Listeria* spp. türleri ve bunlar tarafından oluşturulan bakteriyel toksinler ile birlikte *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp.’nin de dahil olduğu fungal etkenlerin

ürettiği mikotoksinler gıda intoksikasyonlarına yol açabilmektedir (Becker-Algeri ve ark., 2016; Early, & Tamine, 2017). Sütte bulunan antibiyotik kalıntıları bireylerde alerjik ve anafilaktik reaksiyonlara ve toksikasyonlara neden olurken antibiyotik direnci oluşumu açısından da bir risk faktörü oluşturmaktadır (Yılmaz ve ark., 2018). Kalıntı içeren süt tüketimi karsinojenik, mutajenik, teratojenik etkiler de dahil olmak üzere insanlar için son derece tehlikeli olabilen ve ölüm ile sonuçlanabilen sayısız sendroma yol açabilmektedir (Kyuchukova, 2020). Ek olarak, mastitis etkilenen hayvanlar için de ciddi bir hayvan refahı problemidir (Petersson-Wolfe ve ark., 2018).

2.1.2. Mastitislerin Etiyolojisi

Mastitis enfeksiyöz ajanlara, bireysel faktörlere (örneğin ırk, genetik faktörler, hayvanın yaşı, süt verimi ve meme loblarının şekli) ve çevresel etmenlere (örneğin işletmenin idaresi ve hijyeni, sağım makinesinin çalışma şekli, sürünün büyüklüğü, iklim koşulları ve beslenme) bağlı olarak şekillenen multifaktöriyel bir hastalıktır (Benić ve ark., 2018; Hamadani ve ark., 2013). Enfeksiyöz ajanlar kapsamında bakteriler, virüsler, mantarlar ve algler de dahil olmak üzere 135'ten fazla mikroorganizma mastitis oluşturabilse de bu etkenler arasında en büyük paya sahip olanlar bakterilerdir (Dego, 2020; Kabelitz, Aubry, van Vorst, Amon, & Fulde, 2021). Örnek olarak, Kanada'da yürütülen ve 91 çiftliğin dahil olduğu bir çalışmada, mastitise neden olan 16.000'den fazla bakteri türünün izole edildiği bildirilmiştir (Dufour, Labrie, & Jacquesa, 2019). Bazı kaynaklarda mastitis etkenleri insidensleri ve meme dokusunda yol açtıkları tahribatın derecesine göre majör (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trueperella pyogenes*, *Mycoplasma bovis*, *Enterococcus* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp. ve *Yersinia* spp.) ve minör mastitis patojenleri (*S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. sciuri*, *Corynebacterium bovis*, mantarlar ve mayalar) olarak da sınıflandırılmaktadır (Cobirka ve ark., 2020; Hamadani ve ark., 2013). Etkenler tek başına veya miks enfeksiyonlar halinde meme dokusunda yangı oluşturabilirler. Enfeksiyöz ajanlara ek olarak, fiziksel travmalara ve kimyasal ajanlara (örneğin meme başlarının temizlenmesi için kullanılan solüsyonların uygun dilüsyonlarda bulunmaması) bağlı olarak da non-enfeksiyöz mastitis şekillenebilir (Ashraf, & Imran, 2020; Pal ve ark., 2019).

2.1.3. Mastitislerin Sınıflandırılması

Klasik olarak, hastalığa yol açan etkenin taksonomik özelliklerine göre (örneğin bakteriyel, viral ve fungal gibi) mastitisler klasifiye edilebilir. Detaylandırılacak olursa primer rezervuar, epidemiyolojik özellikler ve etkenlerin bulaşma şekline göre (çevresel ve kontagiyöz mastitis), klinik görünümüne göre (klinik ve subklinik mastitis), hastalığın süresi ve histopatolojik özelliklerine göre (perakut, akut, subakut ve kronik mastitis), hastalığa yol açan enfeksiyöz etkenlere göre (Stafilokokal, Streptokokal, Koliform mastitis vb.) sınıflandırılabilirler (Hamadani ve ark., 2013).

Hayvanların bulunduğu ortamdan (örneğin idrar, dışkı, kontamine sağıım makineleri, kontamine altlık ve temizleme solüsyonları) köken alan çevresel mastitis patojenleri, travmatize olmuş veya sağıımı takiben açık olan meme başı deliği veya penetran yaralar vasıtası ile meme dokusunu enfekte ederler (Cobirka ve ark., 2020; Kabelitz ve ark., 2021). Çevresel mastitis patojenleri arasında koliform bakteriler (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. ve *Citrobacter* spp.), çevresel streptokoklar (*S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. equinus*, *S. canis*, *S. parauberis*), çevresel koagülaz negatif stafilokok türleri (*S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. sciuri*, *S. lugdunensis*, *S. caprae*, *S. saccharolyticus*) ve diğerleri (*T. pyogenes*, *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Aerococcus* spp., *Listeria* spp., algler ve mantarlar) sayılabilir (Dego, 2020; Pal ve ark., 2019). Enfekte meme bezlerinde ve meme başı derisinde bulunan kontagiyöz mastitis etkenleri, sağıım makinesi veya sağıım yapan kişinin elleri vasıtası ile aynı hayvanın farklı meme loblarını ve diğer hayvanları enfekte eder. Kontagiyöz mastitis patojenleri arasında ise *S. agalactiae*, *S. aureus*, *C. bovis* ve *Mycoplasma* spp. sayılabilir (Pal ve ark., 2019).

Mastitisler yangısal reaksiyon ile ilişkili semptomların varlığına göre klinik ve subklinik mastitisler olarak sınıflandırılabilirler. Klinik mastitisler meme dokusundaki kızarıklık, şişkinlik ve ağrı gibi akut yangısal bulgular ile birlikte letarji, iştahta azalma, vücut sıcaklığında ve kalp atım hızında artış gibi genel klinik bulgular ile karakterizedir. Süt veriminde meydana gelebilecek azalma ile birlikte etkilenen meme loblarından alınan süt örneklerinin yer yer pıhtılar içerdiği, normalden daha sulu bir

kıvama veya farklı bir renge sahip olduğu, kısaca karakteristik özelliklerini kaybettiği gözlenir (Dego, 2020). Klinik olguların aksine, subklinik mastitisler meme dokusunda ve sütte belirgin makroskobik değişikliklerin bulunmaması ile karakterizedir. Klinik vakalar kadar şiddetli olmasa da gözle görünür enfeksiyon bulgularına yol açmamaları, subklinik enfeksiyonların meme dokusunda uzun süre tahribat meydana getirmesine, fonksiyonel ünitelerin kaybına ve böylece süt veriminde geri dönüşümsüz düşüşlere yol açması ile sonuçlanır (Dego, 2020; Kabelitz ve ark., 2021). Bir ineğin yalnızca tek bir meme lobunda şekillenen subklinik enfeksiyonun tüm bir laktasyon dönemi boyunca %10-12 oranında süt üretimini düşürdüğü bildirilmiştir (Akers, & Nickerson, 2011). Kolaylıkla tespit edilemeyen subklinik vakalar, sürüdeki diğer hayvanlar için sürekli bir bulaşma kaynağı oluştururlar ve sürü içerisinde klinik olgulara göre yaklaşık olarak 15-40 kat daha yaygındırlar (Cobirka ve ark., 2020; Kabelitz ve ark., 2021). Böylece subklinik mastitisler bireysel olmaktan ziyade bir sürü problemi haline gelirler.

Klinik mastitisler sürelerine göre perakut, akut, subakut veya kronik mastitisler olarak sınıflandırılabilirler (Dego, 2020). Akut mastitisler ateş ve anoreksi gibi genel klinik bulgular ile birlikte meme dokusunda meydana gelen lokal yangısal değişiklikler ve süt karakteristiğindeki farklılıklar ile karakterizedir. Perakut mastitisler sırasında son derece hızlı gelişen şiddetli lokal yangısal değişiklikler ile birlikte şiddetli sistemik klinik bulgular şekillenir. Subakut mastitisler klinik mastitislerin en sık karşılaşılan formudur ve meme dokusunda hafif yangısal değişiklikler ile birlikte sütte meydana gelen fiziksel ve biyokimyasal değişiklikler ile karakterizedir (Dego, 2020). Mastitisler hangi sınıflandırma başlığı altında olursa olsun, eğer hayvan erken enfeksiyon döneminde ölmemişse, uygun bir tedavi protokolü uygulanmadıysa, tedaviye uygun şekilde cevap alınamamışsa veya subklinik seyirden dolayı yangı süreci uzamışsa bu durum kronik mastitislerin oluşumu ile sonuçlanır. Kronik yangısal süreçte süt üretimini gerçekleştiren fonksiyonel ünitelerin yani alveollerin yerini fibröz bağ dokunun alması, süt üretiminde geri dönüşümsüz bir azalmayla, şiddetli olgularda süt üretiminin tamamen durmasıyla ve hayvanların sürüden çıkarılmasıyla sonuçlanabilir.

2.1.4. Mastitislerin Teşhisi ve Terapötik Yaklaşım

Hastalığın tanısı meme dokusunda ve sütte şekillenen makroskobik lezyonların ve bazı vakalarda bunlara eşlik eden genel klinik semptomların varlığı göz önünde bulundurularak yapılmaktadır (Benić ve ark., 2018). Ancak bu bulgular hastalığın klinik safhalarında daha belirgin olduğu için farklı tanı tekniklerine de ihtiyaç duyulmaktadır (Ashraf, & Imran, 2020).

Mastitis tanısında en sık kullanılan yöntemlerden birisi somatik hücre sayımıdır (Hamadani ve ark., 2013). Süt üretimini gerçekleştiren hücrelerin ve immün sistem hücrelerinin bir bütünü olarak tanımlanabilen somatik hücreler, hastalığın varlığı, safhası ve şiddetinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Alhussien, & Dang, 2018). Somatik hücre sayısı metilen mavisi ile boyanan hücrelerin mikroskop altında direkt olarak sayılması ile elde edilebilir (Ashraf, & Imran, 2020). Saha şartlarında uygulanabilen somatik hücre bazlı teşhis yöntemleri Kaliforniya mastitis testi (California Mastitis Test, CMT) ve Surf Field mastitis testi (SFMT)'dir (Ashraf, & Imran, 2020). Numerik verilerin elde edilemediği bu testler, somatik hücre sayısının yalnızca düşük veya yüksek olduğunu ifade etmektedir. Coulter hücre sayım cihazı elektrik alanı boyunca hücrelerin ve partiküllerin sayımını gerçekleştirir. Floresan boyama bazlı olan Fossomatic somatik hücre sayım cihazı selüler DNA'yı tespit ederek, Somascope cihazı ise flow sitometri tekniği ile somatik hücre sayımını gerçekleştirir (Ashraf, & Imran, 2020). Bu sayılan yöntemler son derece pratik ve teknolojik olsa da mastitise yol açan enfeksiyöz etkenin identifikasyonu mümkün değildir. Uygun ve efektif bir tedavi protokolünün oluşturulabilmesi için enfeksiyöz ajanın ortaya konulması gerekmektedir. Bu nedenle klasik bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyon çalışmaları mastitis teşhisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Pal ve ark., 2019). Ancak polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction, PCR) ve PCR bazlı testler, bakteriyolojik kültüre kıyasla yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olmaları ve daha hızlı sonuç vermeleri nedeni ile araştırmacılar tarafından daha fazla tercih edilmeye başlamıştır (El-Sayed, & Kamel, 2021).

Terapötik yaklaşımlar kapsamında antibiyotik ve aşılamların yanı sıra, bakteriyofajlar, nanopartiküller, sitokinler, bitkisel ekstratlar, hayvan ve bakteri kaynaklı antimikrobiyal moleküllerin ve bileşiklerin kullanımını araştıran çalışmalar söz konusudur (El-Sayed, & Kamel, 2021; Cheng, & Han, 2020; Gomes, & Henriques, 2016).

2.2. Mast Hücreleri

2.2.1. Mast Hücrelerinin Kökeni, Farklılaşması ve Olgunlaşması

Mast hücreleri, kemik iliğinin CD34⁺ pluripotent hematopoetik progenitör hücrelerinden köken alır (Johnzon, Rönnberg, & Pejler, 2016; Valent ve ark., 2020). Kemik iliğinden ayrıldıktan sonra dolaşımda kısa bir süre kalan immatür prekürsörler, olgun mast hücrelerinin morfolojik ve biyokimyasal karakteristiklerini kazandıkları organlara ve dokulara göç ederler (Boyce, & Fanning, 2019; Krystel-Whittemore, Dileepan, & Wood, 2016). Yerleştikleri bölgelerde stem hücre faktörü (stem cell factor, SCF), interlökin-3 (IL-3), IL-4, IL-10, IL-33, stromal hücre kökenli faktör-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1), sinir büyüme faktörü (nerve growth factor, NGF) ve transforme edici büyüme faktörü- β (transforming growth factor- β , TGF- β) gibi büyüme faktörlerinin etkisi altında son farklılaşma ve olgunlaşmalarını gerçekleştirirler (Caslin ve ark., 2018; Elieh Ali Komi, Wöhr, & Bielory, 2020). Kesin süresi bilinmemekle birlikte yerleştikleri doku ve organlarda aylarca hatta yıllarca hayatta kalabildikleri bildirilmektedir (Caslin ve ark., 2018; Valent ve ark., 2020; Yamanishi, & Karasuyama, 2016). Örneğin, Wistar ırkı ratlarda dermal mast hücrelerinin 12 aya kadar hayatta kalabildikleri gösterilmiştir (Kiernan, 1979).

2.2.2. Yerleşim Yerleri

Mast hücreleri tüm vücutta yaygın bir şekilde dağılım gösterse de özellikle deri, sindirim kanalı, solunum sistemi, genital ve üriner kanal gibi dış çevre ile etkileşimi olan bölgelerde ve damarları, sinirleri, bezleri ve kıl foliküllerini çevreleyen interstisyel dokuda bol miktarda bulunurlar (Collington, Williams, & Weller, 2011; da Silva, Jamur, & Oliver, 2014). Böylece, doğal ve kazanılmış immun yanıtları koordine edecekleri, organizma için zararlı olabilecek moleküllere ve patojenlere karşı ilk savunma hattını oluşturacakları ve çevresel değişikliklere karşı diğer hücreler ile

iletişime geçebilecekleri stratejik bölgelerde yerleşim göstererek bağışıklık sisteminin nöbetçi hücreleri olarak görev yaparlar (Agier, Pastwińska, & Brzezińska-Błaszczuk, 2018; da Silva ve ark., 2014; Varrichi, Paulis, Marone, & Galli., 2019).

2.2.3. Morfolojik Özellikleri ve Heterojenite

Bu hücrelerin en belirgin morfolojik özelliği, olgun bir mast hücre sitoplazmasının önemli bir kısmını kaplayan lizozom benzeri sekretuar granülleridir. Mast hücrelerinin keşfinden beri, bu hücrelerin identifikasyonundaki ana kriter sekretuar granüllerin varlığı olmuştur. Bu granüller klasik metakromatik boyanma özelliğini açığa çıkaran çeşitli katyonik boyalar (örneğin toluidine blue) ile kolayca gösterilebilirler (Wernersson, & Pejler, 2014).

Yerleştikleri bölgelerde maruz kaldıkları sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri, mast hücrelerinin fenotipik farklılaşmalarını sağlarken tüm yaşam süreleri boyunca fenotiplerinin değişmesine de olanak tanır (Caslin ve ark., 2018; da Silva ve ark., 2014). Dokularda yaygın bir şekilde dağılım göstermeleri, bu bölgelerde etkileşime geçtikleri moleküller veya karşılaştıkları patojenler, mast hücrelerini son derece heterojen bir hücre popülasyonu haline getirmektedir (da Silva ve ark., 2014). Mast hücre fenotipleri farklı dokularda hatta aynı dokunun farklı anatomik bölgelerinde bile farklılık gösterebilir. Örneğin, son yıllarda yapılan çalışmalarda kaşıntı oluşumu ile son derece yakından ilişkili olduğu tespit edilen MAS-iliskili G proteinine bağlı reseptör-X2 (MAS-related G protein-coupled receptor-X2, MRGPRX2)'nin deride yerleşim gösteren mast hücrelerinde yüksek miktarlarda ekprese edilirken akciğerde bulunan mast hücrelerinde ekprese edilmediği ortaya konmuştur (Varricchi ve ark., 2019; Yang ve ark., 2021). Ek olarak, hayvan türü ve genetik yapı da mast hücre fenotipini etkilemektedir (da Silva ve ark., 2014). Bu nedenle mast hücreleri fonksiyonel, yapısal ve biyokimyasal karakteristikleri göz önüne alınarak farklı şekillerde sınıflandırılabilirler (Möllerherm, von Köckritz-Blickwede, & Branitzki-Heinemann, 2016). İnsanlarda ve rodentlerde, mukozal ve konnektif doku mast hücreleri olmak üzere iki mast hücre alt tipi tanımlanmıştır. “Mukozal mast hücreleri” akciğer ve gastrointestinal kanal mukozasında bulunurken “konnektif doku mast hücreleri” intestinal submukozada, peritonda ve deride bulunurlar. Mukozal mast hücreleri sadece triptaz ekprese ederken konnektif doku

mast hücreleri kimaz, triptaz ve karboksipeptidaz ekspresyonunu gerçekleştirebilirler (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whittemore ve ark., 2016; Möllerherm ve ark., 2016). Ek olarak, bu iki tip arasında histamin ve lipid mediyatörlerinin salınımında da farklılıklar söz konusudur. Aktivasyonlarını takiben mukozal mast hücreleri az miktarda histamin ve yüksek konsantrasyonda lökotrien (leukotriene, LT) salınımını gerçekleştirirken konnektif doku mast hücreleri prostaglandin D₂ (PGD₂) ve daha yüksek miktarda histamin sekresyonu yaparlar (da Silva ve ark., 2014). Mast hücreleri sitoplazmalarında sahip oldukları granüllerin enzim içeriklerine göre triptaz (+) mast hücreleri (MC_T), kimaz (+) mast hücreleri (MC_C) ve triptaz-kimaz (+) mast hücreleri (MC_{TC}) olarak 3 farklı immunofenotipe ayrılmaktadır (Moon, Befus, & Kulka, 2014). Ek olarak pro-inflamatuvar, anti-inflamatuvar ve immunosupresif etkileri göz önüne alındığında bu hücreler fonksiyonel bir heterojeniteye de sahiptir (Blank, Falcone, & Nilsson, 2013). Örneğin, Lennon ve arkadaşları (2018), mast hücrelerinin ve mast hücreleri tarafından üretilen IL-10'un kolitis patojenezine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarına C57Bl/6 ırkı fareleri dahil etmiştir. Kolitis oluşumuna yatkınlığı ile bilinen C57Bl/6 ırkı farelerden genetik modifikasyonlar ile (1) IL-10'dan yoksun olan fareler, (2) mast hücrelerinden ve IL-10'dan yoksun olan fareler geliştirilmiştir. IL-10'dan yoksun olan fareler ile karşılaştırıldığında, mast hücreleri ve IL-10'dan yoksun olan farelerde kolonda çok daha şiddetli yangısal değişikliklerin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Dahası, mast hücreleri ve IL-10'dan yoksun olan farelere vahşi tip (wild-type, WT) ve IL-10'dan yoksun olan farelerden alınan kemik iliği kökenli mast hücreleri verildiğinde ise yangısal değişikliklerin belirgin derecede hafiflediği; böylece hem mast hücrelerinin hem de mast hücreleri tarafından üretilen IL-10'un anti-inflamatuvar görevler üstlendiğini tespit edilmiştir. Mast hücrelerinin immunosupresif etkileri ile ilişkili olarak, bu hücrelerin T hücrelerini ve doğal öldürücü hücreleri (natural killer cells, NK cells) inhibe ederek tümör ilişkili immun yanıtları baskıladığı da gösterilmiştir (Huang ve ark., 2008).

İnek ve fare meme dokularında mast hücrelerinin varlığı ve immunofenotipleri ile ilgili bütünleşik bir veri sözkonusu değildir. Düvelerde ve ineklerde gelişmekte olan ve erişkin meme dokusundaki mast hücrelerinin varlığı histoşimik ve elektron mikroskopik olarak incelenmiş olsa da ilgili çalışmalarda mast hücrelerinin immunofenotipleri ile ilgili herhangi bir veriye rastlanmamış ve yapılan literatür

taramalarında da ineklere ve farelere ait meme dokularında var olan mast hücrelerinin immunofenotipleri ile ilgili bilgiye ulaşamamıştır (Nielsen, 1975; Beaudry, Parsons, Ellis, & Akers, 2016). Şu ana dek mastitislerin histopatolojik özellikleri ile ilgili olarak inekler üzerinde yapılan çalışmalarda (Nickerson, & Heald, 1982), meme dokusunda infiltre olan yangı hücreleri incelenirken, ismen mast hücrelerinden bahsedilmiş olsa da, salt bu hücrelerin varlıkları ile birlikte immunofenotiplerini ve fonksiyonlarını irdeleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.2.4. Mast Hücrelerinin Aktivasyonu ve Mediyatör Salınımı

Mast hücreleri, yüzeylerinde bulunan sayısız reseptörün çeşitli moleküller ile uyarılması sonucunda aktive olabilir. Bunlar arasında immünglobulin E (immünglobulin E, IgE) reseptörünün çapraz bağlanması, motif tanıma reseptörlerine (pattern recognition receptors, PRRs) patojen-ilişkili moleküler motiflerin (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) bağlanması, komplement komponentleri (örneğin C3a ve C5a), nöropeptitler (örneğin substans P), sitokinler, büyüme faktörleri, immun kompleksler, fiziksel stimülasyonlar, endojen (örneğin endotelin 1) veya eksojen (örneğin bakteriyel peptitler ve venom) kaynaklı peptitler, immun sistem hücreleri ve bu hücrelerden açığa çıkan mediyatörler sayılabilir (Azouz, Hammel, & Sagi-Eisenberg, 2014; da Silva ve ark., 2014; Wernersson, & Pejler, 2014; Yu, Blokhuis, Garssen, & Redegeld, 2016). Aktivasyonu takiben, granüllerinde depolanmış olan moleküllerin ekstraselüler alana salınımını degranülasyon adı verilen bir süreç dahilinde gerçekleştirirler (Wernersson, & Pejler, 2014). Bu sitoplazmik granüllerin içerisinde biyojenik aminler (örneğin histamin ve serotonin), çeşitli serin ve diğer proteazlar (örneğin α -, β 1-, β II-, β III-, γ -triptaz, kimaz, katepsin G, granzim B ve karboksipeptidaz A3), lizozomal enzimler (örneğin β -glukuronidaz, β -hekzosaminidaz, arilsülfataz), sitokinler [örneğin tümör nekroz faktörü (tumor necrosis factor, TNF), temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor, bFGF), IL-4, SCF], proteoglikanlar (örneğin heparin ve kondroitin sülfatlar) gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol oynayan pek çok molekül bulunmaktadır (Moon ve ark., 2014). Daha önceden sentezlenmiş olan granül içeriklerinin ortama salınmasının haricinde, aktive olan mast hücreleri LTC₄, PGD₂ ve platelet aktive edici faktör (platelet-activating factor, PAF) gibi lipid mediyatörlerinin; çeşitli sitokinler ve

kemokinler gibi pek çok biyoaktif molekülün *de novo* sentezini de gerçekleştirebilirler (Wernersson, & Pejler, 2014).

2.2.5. Mast Hücrelerinin Görevleri

2.2.5.1. Mast Hücrelerinin Fizyolojik Roller

Mast hücreleri organizmaya giren antijenler, toksinler ve patojenler ile ilk etkileşime geçen hücrelerden biridir (Krystel-Whittemore ve ark., 2016). Stratejik yerleşim yerlerine ek olarak, yüzeylerinde ekprese ettikleri çeşitli reseptörler vasıtası ile organizma için zararlı olabilecek sinyalleri tespit ederek diğer immun sistem hücrelerinin fonksiyonlarını ve yanıtlarını koordine eden, enfeksiyonların ortadan kaldırılmasına katkı sağlayan ve gerektiği durumlarda kazanılmış immun yanıtların oluşmasını destekleyen mediyatörlerin salınımını gerçekleştirirler (Moon vd., 2010; da Silva vd., 2014). Mast hücreleri (1) yüzeylerinde bulunan PRR'lere bağlanan patojenleri ve patojen komponentlerini direkt olarak tanıyabilirler, (2) antikorlar ile veya komplement komponentleri ile kaplı olan bakterileri komplement veya immunglobulin reseptörlerine bağlanması tanıyabilirler, (3) enfekte veya hasara uğramış hücreler tarafından üretilen endojen peptitler vasıtası ile patojenleri tanıyabilirler (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whittemore ve ark., 2016). Toll-benzeri reseptörler (Toll-like receptors, TLRs), NOD-benzeri reseptörler (NOD-like receptors, NLRs), RIG-benzeri reseptörler (RIG-like receptors, RLRs), AIM2 benzeri reseptörleri (absent in melanoma-2-like receptors, ALRs) gibi PRR'ler ile birlikte komplement ve immunglobulin reseptörlerinin uyarılması, mast hücreleri tarafından oluşturulan doğal bağışıklık ilişkili yanıtların pek çoğunun açığa çıkması ile sonuçlanır (da Silva ve ark., 2014; Yu ve ark., 2021).

Mast hücreleri, damar geçirgenliğini artıran ve nötrofil lökositler, eozinofil lökositler ve NK hücreleri gibi immun sistem hücrelerinin yangı bölgesine gelmelerini sağlayan yangısal mediyatörlerin salınımını gerçekleştirerek bakterilerin eliminasyonuna yardımcı olurlar. Mast hücrelerinin ürettiği (1) CC-kemokin ligandı 11 (CCL11 veya eotaksin) eozinofiller için, (2) CXCL8 ve IL-8 NK hücreleri için, (3) IL-8, CCL3, CXCL1/CXCL2, TNF- α , LTB₄, LTC₄ nötrofil lökositler için kemotaktik özelliktedir (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whittemore ve ark., 2016; Urb &

Sheppard, 2012). Mast hücreleri yapısında DNA parçaları, histon proteinleri, triptaz enzimi ve antibakteriyel peptitler bulunan ekstraselüler tuzakların üretimi ile fagosite edilemeyen bakteri kümelerinin ekstraselüler alanda öldürülmesine hizmet ederler (von Köckritz-Blickwede ve ark., 2008; Möllerherm ve ark., 2016). Mast hücreleri tarafından üretilen histaminin, epitelyal mukus üretimini artırarak patojenlerin immobilizasyonunda ve hücrelerin korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (Urb ve Sheppard, 2012). Mast hücre kaynaklı TNF- α , endotel hücrelerine bağlanarak bu hücrelerin yüzeyinde ekprese edilen adezyon moleküllerinin sayısında bir artışa neden olur. Lökositler bu adezyon moleküllerine bağlanarak yangı bölgesine daha efektif bir şekilde göç edebilirler (Krystel-Whittemore ve ark., 2016). Mast hücreleri tarafından üretilen siklooksijenaz-1 (cyclooxygenase-1, COX-1) ve COX-2 enzimleri araşidonik asitten prostaglandinlerin ve tromboksanların üretilmesini sağlar. Prostaglandinler damar geçirgenliğini artırıp ve nötrofil lökositlerin yangı bölgesine göç etmesini sağlarken lökotrienler düz kas kontraksiyonuna, hava yollarında konstrüksiyona ve mukus üretimine neden olurlar. PAF lökositler için kemotaktik olmakla birlikte nötrofil lökositleri, eozinofilleri ve plateletleri aktive eder. Fagositoz ve reaktif oksijen türlerinin (reactive oxygen species, ROS) üretimi ile direkt olarak bakterileri öldürebilen mast hücreleri katolisidinler, defensinler ve psidinler gibi antibakteriyel etkili peptitlerin salınımı ile de patojenlerin eliminasyonunda önemli roller oynarlar (Krystel-Whittemore ve ark., 2016; Möllerherm ve ark., 2016; Urb, & Sheppard, 2012).

Mast hücreleri tarafından üretilen NFG, platelet-kaynaklı büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF), fibroblast büyüme faktörü-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2), vasküler endotelyal büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF), histamin ve triptaz epitel hücre ve fibroblast proliferasyonunu indükler. Doku onarımı sürecinin her bir aşamasında, başlangıç yangısal reaksiyonundan ekstraselüler matriksin (extracellular matrix, ECM) yeniden modellenmesine kadar, aktif olarak rol oynarlar. Doku hasarını takiben, zarar görmüş olan yüzeyin kapatılması için PAF, lökotrienler ve sitokinlerin (IL-1 ve IL-8) salınımını gerçekleştirerek platelet aktivasyonu, platelet agregasyonu ve fibrin birikimine katkıda bulunurlar. Yangısal reaksiyonlar sırasında, sirkülasyondaki lökositleri bölgeye çağırarak etkenlerin ve sonrasında debrisin ortadan kaldırılmasına

yardımcı olurlar (Moon ve ark., 2010). İyileşmenin proliferatif fazında, mast hücre mediyatörleri endotel hücrelerinin, fibroblastların ve keratinositlerin büyümesini, migrasyonunu ve proliferasyonunu stimüle ederek anjiyogeneze, kollagen birikimine, granülasyon dokusu oluşumuna, ve epitelizasyona katkıda bulunurlar (Moon ve ark., 2010). Vazoaktif aminler, triptaz, IL-4 ve NGF hasar gören sinir tellerinin onarımını desteklerler. Mast hücreleri tarafından salınan proteolitik mediyatörler yalnızca geçici matriks birimini desteklemekle kalmaz, aynı zamanda geçici matriksin konnektif doku ile değiştirilmesini de koordine eder. Yara iyileşmesinin ileri safhalarında, mast hücre sitokinleri (IL-1, IL-4 ve IL-6) ve büyüme faktörleri (FGF ve TGF), aktive olmuş fibroblastların myofibroblastlara farklılaşmasında rol oynayarak yara kontraksiyonunda son derece önemli olan bu hücrelerin oluşumuna da katkıda bulunurlar (da Silva ve ark., 2014).

Mast hücreleri tarafından üretilen VEGF, FGF, TGF- β , TNF- α , IL-8, anjiyopoietin-1 (ANGPT-1), histamin, triptaz ve kimazın yeni damar oluşumunu stimüle ettiği bilinmektedir (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whittemore ve ark., 2016). Bu mediyatörler, ECM'nin yıkımlanması, endotel hücrelerinin proliferasyonu, ECM'nin yeniden sentezlenmesi ve perisit mobilizasyonu gibi anjiyogenezinin farklı safhalarında etkili olabilirler. Mast hücreleri tarafından üretilen triptazın, anjiyogenezinin başlangıç aşamalarında matriks metalloproteinazları (matrix metalloproteinase, MMP) ve plazminojen aktivatörlerini aktive ederek ECM'nin yıkımlanmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (da Silva ve ark., 2014). Ek olarak, kimaz proteini MMP-2 ve MMP-9 enzimlerini aktive ederek ECM'nin modellenmesinde ve anjiyogeneziste önemli roller üstlenir. Katepsin G, elastaz ve kollajenaz da ECM komponentlerinin yıkımlanmasında rol oynar (da Silva ve ark., 2014).

Mast hücreleri tarafından tetiklenen vasküler permeabilite ve düz kas kontraksiyonu artışı, kusmayı ve ishali indükleyerek gastrointestinal kanalda bulunan parazitlerin dışarı atılmasını kolaylaştırır (Krystel-Whittemore vd., 2016).

Dendritik hücreler, kazanılmış bağışıklığın özelleşmiş antijen sunan hücreleridir (antigen presenting cells, APCs). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mast hücrelerinin antijenleri işleyip majör histokompatibilite kompleksi-I (major

histocompatibility complex, MHC-I) ve MHC-II molekülleri vasıtası ile sunabildikleri gösterilmiştir (Urb ve Sheppard, 2012). Dahası, mast hücreleri ve mediyatörleri dendritik hücrelerin aktivasyonunu ve lenf yumrularına göç etmelerini teşvik ederler. Mast hücreleri tarafından üretilen IL-1 β ve TNF- α 'nın, dendritik hücrelerin enfeksiyon bölgesine ve bölgesel lenf yumrularına göç etmelerini indüklediği gösterilmiştir (Moon ve ark., 2010; Urb ve Sheppard, 2013). Mast hücreleri tarafından üretilen TNF- α , direkt olarak T lenfositleri aktive edebilir. Ek olarak, IL-10 ve TGF- β gibi anti-inflamatuvar sitokinler vasıtası ile immun yanıtları baskılayabilirler (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whittemore ve ark., 2016; Nakae ve ark., 2006).

Mast hücrelerinin viral enfeksiyonlar sırasında aldıkları olası rolleri irdeleyen çalışmaların sayısı nispeten çok daha sınırlıdır. Bu hücrelerin viral antijenler ile aktivasyonu IL-1 β , IL-6, CCL3, CCL4, CCL5 ve CCL8 gibi sitokinlerin ve kemokinlerin salınımı ile sonuçlanır (da Silva ve ark., 2014). Mast hücreleri TNF- α ve interferon- β (IFN- β) üreten CD8⁺ T hücrelerini bölgeye çağırarak antiviral yanıtlara katkıda bulunabilir (Krystel-Whittemore ve ark., 2016).

2.2.5.2. Mast Hücrelerinin Patolojideki Roller

Alerjik astım, kaşıntı, atopik dermatitis ve alerjik rinitis gibi IgE-aracılı alerjik reaksiyonlar, çeşitli uyarımlara bağlı olarak gelişen ve başta mast hücreleri olmak üzere farklı immun sistem hücrelerinin katıldığı son derece kompleks bir yangısal sürecin sonunda şekillenirler (Moon ve ark., 2010; Thangam ve ark., 2018). Alerjik reaksiyonların sensitizasyon fazı alerjenlerin tanınıp işlendiği, APC'ler tarafından naif T lenfositlere sunulduğu ve naif T lenfositlerin ve yardımcı T₂ hücrelerine (T helper 2 cells, T_{H2}) farklılaştığı evredir. T_{H2} lenfositler tarafından üretilen sitokinler, B lenfositler tarafından antijen spesifik IgE üretimini indükler. Mast hücreleri antijenleri işleyip MHC-I ve MHC-II molekülleri vasıtası ile sunabilme yeteneğine sahiptir. Dahası, mast hücrelerinin kendisi de sensitizasyon fazında rol oynar (da Silva ve ark., 2014). Efektör faz kapsamında, polivalent alerjen ile yüksek affiniteli IgE reseptörünün (the high-affinity IgE receptor, Fc ϵ RI) aktivasyonu, mast hücrelerinden mediyatörlerin salınımı ile sonuçlanır. Bu mediyatörler eritem, ödem, artmış vasküler permeabilite, düz kas kontraksiyonu ve artmış mukus üretimi gibi alerjik semptomların oluşmasına neden olur. Histamin, PGD₂ ve LTC₄ salınımı bronkokonstriksiyon, mukus

üretimi ve solunum sisteminde mukozal ödeme neden olarak astım semptomlarına katkıda bulunurlar. Geç faz reaksiyonları kapsamında, mast hücreleri tarafından salınan inflamatuvar sitokinler eozinofiller, bazofiller ve T hücrelerinin yangı bölgesine çağırılmasını sağlar ve kronik fazın oluşumunda rol oynarlar (da Silva ve ark., 2014; Moon ve ark. 2010).

Kardiyak mast hücreleri aterosklerozis, kardiyak iskemi, myokard infarktüsü, kardiyomyopatiler, hipertansiyon ve koroner yangı oluşumuna katkıda bulunurlar (Varricchi ve ark., 2019). Mast hücreleri tarafından üretilen triptaz ve kimaz yüksek yoğunluktaki lipoprotein (High density lipoprotein, HDL) partiküllerinin yıkımını indükleyerek makrofajlarda kolesterol birikimine ve böylece ateromları oluşturan köpük hücrelerinin oluşmasına sebep olurlar (da Silva ve ark., 2014).

Mast hücrelerinin multipl skleroz, romatoid artrit, insülin bağımlı diabetes mellitus, bullöz pemfigoid, kronik idiyopatik ürtiker gibi otoimmün hastalıklar ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Xu, & Chen, 2015).

Tümör mikroçevresi fibroblastlar, myofibroblastlar, ECM, yangı hücreleri ve damarlardan oluşan son derece kompleks ve dinamik bir yapıdır. Mast hücreleri, yangı ve kanser arasındaki ilişki oldukça karmaşık olmak ile birlikte mast hücreleri tümör oluşumunu hem destekleyen hem de progresyonunu engelleyen fonksiyonları yerine getirmektedir. İnsanlarda ve rodentlerde, neoplastik kitlelerin çevresinde mast hücre birikimlerinin şekillendiği ve bu birikimin pek çok kanser tipinde kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Varricchi ve ark., 2019). Neoplastik hücreler tarafından üretilen bazı faktörler, SCF, VEGF, ANGPT-1, çeşitli sitokinler [kemokin (C-X-C Motif) ligandı-1(CXCL1), CXCL2, CXCL8, CXCL10], PGE₂ de dahil olmak üzere, mast hücrelerinin tümör mikroçevresine çağırılmasına neden olmaktadır (Varricchi ve ark., 2019). Bu faktörlerin arasında bulunan SCF, mast hücre infiltrasyonuna ve aktivasyonuna neden olarak dokunun yeniden modellenmesi sürecine katkıda bulunan ve özellikle immunosupresyona neden olan yangısal mediyatörlerin salınımına yol açar. Neoplastik süreçte mast hücrelerinin aldıkları roller arasında immunosupresyon (IL-10, TNF), ECM'nin yıkılması, pro-anjiyogenik ve mitojenik faktörlerin salınması sayılabilir. Mast hücreleri tarafından üretilen VEGF, FGF-2, TGF- β , TNF- α ve IL-18 anjiyogenezi stimüle eder. MMP-2 ve MMP-9 vasıtası ile ECM'nin

yıkımlanması metastatik sürece katkıda bulunur (da Silva ve ark., 2014). Mast hücreleri tarafından üretilen pro-anjiyojenik mediyatörler, tümör oluşumunu desteklerken aynı zamanda solid tümörlerin metastazını da kolaylaştırır (Moon ve ark., 2010). Ek olarak, mast hücrelerinin anti-neoplastik etkileri arasında hücre büyümesinin inhibisyonu, apoptozisin indüklenmesi ve hücre mobilitesinde azalma sayılabilir (da Silva ve ark., 2014).

2.2.6. Terapötik Yaklaşım

Çeşitli hastalıklarda aktif olarak rol oynamaları, mast hücrelerini ve mast hücre ürünlerini uzun yıllardır önemli bir hedef haline getirmiş ve farklı terapötik stratejiler geliştirilmiştir. Tedavi yaklaşımları kapsamına (1) mast hücre aktivasyonunu veya mediyatör salınımını engelleyen ajanlar, (2) mast hücre mediyatör antagonistleri, (3) mast hücre gelişimini ve hayatta kalmasını engelleyen ajanlar sayılabilir (Moon ve ark., 2010; Paivandy, & Pejler, 2021).

2.2.6.1. Mast Hücre Aktivasyonunun İnhibisyonu

Kromoglisik asit (kromolin veya kromoglikat), genelde kromolin sodyum veya sodyum kromoglikat tuzları şeklinde bulunan, nadiren yan etkilerin görülmesi nedeni sıklıkla tercih edilen son derece güvenli bir mast hücre stabilizatörüdür. Bu bileşikler alerjik astım, alerjik konjunktivitis, alerjik rinit gibi alerjik reaksiyonların, üremik kaşıntının ve mastositozisin tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Ben-Eli, & Solomon, 2018; Sinniah, Yazid & Flower, 2017; Vessal, Sagheb, Shilian, Jafari, & Samani, 2010). Ek olarak, çeşitli hastalık tablolarında mast hücrelerinin ve mast hücre ürünlerinin fonksiyonlarının irdelendiği *in vivo* ve *in vitro* çalışma düzeneklerinde de stabilizatör ajan olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Gan ve ark., 2013; Gan ve ark., 2016; Jiang, Fang, Septer, Apte, & Pritchard, 2018). Kromolin sodyum mast hücre degranülasyonunu önler; fosfolipaz A₂ (phospholipase A₂; PLA₂)'yi inhibe ederek membran fosfolipitlerinden eikosanoidlerin sentezini engeller (Ng, & Ohlsson, 2020). Kromolin sodyum primer olarak mast hücre stabilizatörü olarak kullanılsa da nötrofil lökosit aktivasyonunu önlediğini ve makrofaj aktivasyonunu inhibe ettiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (Xie ve ark., 2018; Yazid ve ark., 2010). Ek olarak, adezyon molekülü ekspresyonunda meydana getirdiği azalma nedeni ile kemotaksisi önlediği de gösterilmiştir (Netzer Küpper, & Voss 2012; Ng, & Ohlsson, 2020).

Monoklonal IgG₁ antikor (omalizumab), IgE molekülünün Fc bölgesine bağlanarak IgE'nin mast hücre yüzeyinde bulunan FcεRI ile etkileşime geçmesini engeller. Böylece mast hücrelerinin aktivasyonunu bloke eder ve sirkülasyondaki IgE düzeyini azaltır (Pelaia ve ark., 2018). Astım hastalarında bronkodilatör olarak kullanılan β₂ reseptör agonistleri (örneğin albuterol ve levalbuterol), mast hücrelerinin IgE aracılı degranülasyonunu engelleyerek hastalığın şiddetinin azaltılmasına yardımcı olur (Kay, & Peachell, 2005).

Polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve kumarinler) meyvelerde, sebzelerde ve tahıllarda bol miktarda bulunan ve antioksidan, antialerjik, anti-inflamatuvar, antibakteriyel, antiviral ve anti-neoplastik aktiviteye sahip olan çok sayıda metaboliti kapsayan bileşiklerdir (Cory, Passarelli, Szeto, Tamez, & Mattei, 2018; Shaik, Caraffa, Ronconi, Lessiani, & Conti, 2018). Flavonoidler, doğada en fazla bulunan ve üzerinde en çok çalışılan polifenollerdir. Flavonoidler (örneğin kuersetin, lüteolin, fisetin ve rutin) çeşitli sinyal yolları vasıtası ile mast hücreleri de dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinin fonksiyonlarını modifiye ederler (Finn, & Walsh, 2013). Flavonoidlerin mast hücrelerinde TNF-α, IL-1β, IL-6 ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunu ve üretimini azaltır (kuersetin, lüteolin, fisetin ve rutin); histamin salınımını inhibe eder (kuersetin, lüteolin, fisetin ve rutin); histamin sentezinde son derece önemli olan histidin dekarboksilaz enziminin mRNA transkripsiyonunu azaltır (kuersetin); (4) intraselüler kalsiyum artışını ve böylece degranülasyonu engeller (kuersetin fisetin ve rutin) (Finn, & Walsh, 2013; Kim, Quon, & Kim, 2014; Min ve ark. 2007; Park ve ark., 2008). Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration, FDA) onaylı bir preparatı henüz bulunmasa da flavonoidlerin çeşitli hastalık tablolarında, özellikle de mast hücrelerinin rol oynadığı alerjik ve yangısal durumlarda stabilizatör olarak kullanılabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Weng ve ark., 2012). Polifenollere dahil olan diğer bazı metabolitlerin, doğal (örneğin metilksantinler), yarı sentetik (örneğin 1-indanon ve pterisin Z) veya sentetik (örneğin ketotifen, olopatadin) pek çok bileşiğin de mast hücre mediyatör üretimi ve degranülasyonu üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Finn, & Walsh, 2013).

Ek olarak, çeşitli hücre içi sinyalleşme yollarını ve proteinleri inhibe ederek mast hücre aktivasyonunu ve degranülasyonunu engellediği tespit edilen farklı

bileşikler (örneğin protein kinaz C inhibitörleri, janus kinaz inhibitörleri) de mevcuttur (Siebenhaar, Redegeld, Bischoff, Gibbs, & Maurer, 2017).

2.2.6.2. Mast Hücre Mediyatörlerini İnhibe Eden Bileşikler

Mast hücrelerine yönelik bir diğer terapötik yaklaşım da mast hücre mediyatörlerinin hedef alınmasıdır. Bu amaçla, ilgili mediyatörün inhibisyonu, reseptör antagonistleri veya nötralize edici antikorların kullanımı gerçekleştirilebilir (Paivandy, & Pejler, 2021).

Mast hücre reseptör antagonistleri arasında (1) histamin H_{1-4} reseptör antagonistleri, (2) T_H2 hücreleri tarafından ekprese edilen kemoatraktan reseptör-homolog molekülü (chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on T_H2 cells, CRT_{H2}), (3) sisteinil-lökotrien tip 1 reseptör antagonistleri (Cysteinyl-leukotriene type 1 receptor antagonists, $CysLT_1$) bulunmaktadır. Bu moleküller mast hücreleri tarafından üretilen histamin, PGD_2 ve lökotrienler için reseptör ekprese eden hücrelerin aktivasyonunu inhibe ederler.

Mast hücreleri tarafından üretilen ve alerjik reaksiyonlar ile ilişkili en önemli mediyatör olan histamin, hedef hücrelerdeki H_1 , H_2 , H_3 ve H_4 reseptörlerini kullanarak etkilerini yerine getirir (Thangam ve ark., 2018). H_1 reseptörlerinin uyarımı, alerjik ve yangısal reaksiyonlar ile ilişkili bulguların açığa çıkması ile sonuçlanır. Endotel hücrelerinde bulunan H_1 reseptörlerinin uyarılması damar geçirgenliğinde artış ile; düz kas hücrelerinde bulunan reseptörlerin uyarılması ise düz kas kontraksiyonu, hava yollarının daralması ve mukus sekresyonu ile sonuçlanır (da Silva ve ark., 2014; Krystel-Whitemore ve ark., 2016). H_2 reseptörleri gastrik asit sekresyonunu, hava yolları mukus üretimini ve vasküler permeabiliteyi modifiye eder (Thangam ve ark., 2018). Yalnızca nöronlar tarafından ekprese edilen H_3 reseptörleri, uyku-uyanık kalma siklusunun, bilişsel fonksiyonların ve nöroinflamasyonun regülasyonunda son derece önemlidir (Gemkow ve ark., 2009). Alerjik ve yangısal reaksiyonlarda görev alan H_4 reseptörleri ise mast hücrelerinin aktive olmasını ve alerjik yanıtın gerçekleştiği bölgeye göç etmelerini sağlar; $Fc\epsilon RI$ reseptör ekspresyonda artışa neden olur ve mast hücre degranülasyonunu indükler (Thurmond, 2015). H_{1-4} reseptörleri ve histamin interaksiyonları ile meydana gelen etkileri ve patolojileri önlemek amacıyla H_{1-4} reseptör antagonistleri kullanılmaktadır. Bu amaçla, H_1 reseptör antagonistleri

(örneğin klorfenamin, prometazin, loratidin, desloratadin, feksofenadin ve ketotifen) alerjik reaksiyonlar sırasında ve aktive olmuş mast hücrelerinin rol oynadığı hastalık tablolarında; H₂ reseptör antagonistleri (örneğin simetidin, famotidin ve nizatidin) gastrik asit sekresyonunun düzenlenmesinde; H₃ reseptör antagonistleri (pitolisant) narkolepsinin tedavisinde kullanılmaktadır. Henüz klinik deneme aşamasında olan ve gelecek vadede H₃ ve H₄ reseptör antagonistleri de mevcuttur (Thangam ve ark., 2018).

PGD₂ çoğunlukla mast hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve T_{H2} hücreleri tarafından üretilen ve alerjik reaksiyonlar sırasında son derece önemli roller oynayan bir lipid mediyatörüdür. (Domingo, Palomares, Sandham, Erpenbeck, & Altman, 2018). Bu molekülün, başta T_{H2} hücreleri olmak üzere, eozinofiller, bazofiller ve mast hücreleri tarafından ekprese edilen CRT_{H2} reseptörlerine bağlanması, T_{H2} yanıtı ile ilişkili mediyatörlerin salınımı ile sonuçlanır. Bu mediyatörler eozinofillerin farklılaşmasını, olgunlaşmasını, bölgeye göç etmesini ve aktive olmasını sağlar (IL-4 ve IL-5); goblet hücrelerinde hiperplaziye ve artmış mukus üretimine yol açar (IL-13); aktive olmuş B hücreleri ve plazma hücrelerinde immunoglobulin sınıfının IgM'den IgE'ye değişimine neden olarak mast hücrelerinin bölgeye gelmesine, aktivasyonuna ve böylece yangı bölgesinde PGD₂ üretimine neden olur (IL-4 ve IL-13); pro-inflamatuvar sitokinlerin üretiminin artmasını sağlar (IL-8 ve IL-9) (Domingo ve ark., 2018; Liu, Min, Jiang, & Mao, 2018; Singh, Ravi, & Southworth, 2017).

Mast hücresi spesifik proteazlar olan triptaz ve kimaz enzimleri, PAR-2 reseptörleri aracılığı ile biyolojik etkilerini ortaya çıkardığı için, bu iki proteazın etkilerinin araştırıldığı *in vivo* ve *in vitro* çalışma düzeneklerinde PAR-2 reseptör antagonistlerinden olan FSLLRY-NH₂ sıklıkla kullanılmaktadır (Lohman ve ark., 2012; Narita ve ark., 2021; Tripathi, Abdi, & Alizadeh, 2014; Wang ve ark., 2017).

Mast hücreleri tarafından üretilen IL-4, IL-13 ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin de etkileri, nötralize edici antikörler kullanılarak baskılanabilmektedir (Paivandy, & Pejler, 2021).

2.2.6.3. Mast Hücre Sayısının Azaltılması

Mast hücrelerinin rol oynadığı hastalıklar, son derece kompleks ve birbirleri ile ilişkili olan sayısız sinyalleşme yolağı ve mediyatör etkileşimleri sonucunda gerçekleştiği için, mast hücre sayısının, dolayısı ile tüm hücre aktivitesinin azaltılması da efektif bir tedavi yaklaşımıdır. Bu amaçla, mast hücrelerinin hayatta kalma sürelerini azaltarak veya mast hücre apoptozisini indükleyerek dokularda bulunan hücre sayısını azaltan ilaçlar geliştirilmektedir (Paivandy, & Pejler, 2021).

SCF mast hücrelerinin proliferasyonu, hayatta kalmaları, farklılaşmaları ve olgunlaşmaları için son derece önemli bir büyüme faktörüdür (Caslin ve ark., 2018). SCF ve tirozin kinaz aktivitesine sahip olan reseptörü c-kit'in interaksiyonları bahsi geçen biyolojik etkileri meydana getirdiği için, SCF ve c-kit aksisi dokulardaki mast hücre sayısının azaltılması için potansiyel bir tedavi seçeneği haline gelmiştir (Paivandy, & Pejler, 2021).

Mast hücreleri, hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerine (örneğin tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL-R) bağlanan agonistlerinin kullanımı ve böylece pro-apoptotik yolakların aktivasyonu ile apoptozise sürüklenebilir. Ancak pek çok hücre tipi bu reseptörleri yüzeylerinde ekprese ettiği için bu ajanların kullanımına ilişkin prelinik ve klinik çalışmalar devam etmektedir. Bir diğer yaklaşım olarak, anti-apoptotik proteinlerin inhibisyonunun mast hücrelerini apoptozise sürüklediği gösterilse de spesifiteye ilişkin problemler bu ilaçların kullanımını kısıtlamaktadır (Paivandy, & Pejler, 2021).

2.2.6.4. Glukokortikoidler

Mast hücre fonksiyonları üzerinde çok yönlü etkileri bulunduğu için glükokortikoidlere ilişkin bilgiler ayrı bir başlık altında verilmiştir. Glukokortikoidler (örneğin deksametazon ve prednizolon) alerjik reaksiyonlar, dermatolojik, oftalmik ve nörolojik problemler, otoimmün hastalıklar ve farklı kanser tipleri de dahil olmak üzere pek çok hastalığın tedavisinde sıklıkla kullanılan steroid yapıdaki hormonlardır (Cruz-Topete, & Cidlowski, 2015; Pufall, 2015). Anti-inflamatuvar ve immunsupresif etkili bu moleküller mast hücrelerini, T hücrelerini, nötrofilleri, bazofilleri ve eozinofilleri apoptozise sürükleyerek yangısal cevabı hafifletebilirler. Pro-

inflatuvar sitokinleri, kemokinleri, hücre adezyon moleküllerini, çeşitli enzimleri ve reseptörleri kodlayan genlerin ekspresyonunu azaltarak yangısal reaksiyonları baskılayabilirler (Cruz-Topete, & Cidlowski, 2015). Ek olarak, intraselüler kalsiyum mobilizasyonunu azaltarak ve degranülasyon ile ilişkili hücre içi sinyalleşme moleküllerinin ekspresyonunu baskılayarak mast hücre degranülasyonunu engelleyebilirler (Oppong, Flink, & Cato, 2013).

2.3. Fibrozis

2.3.1. Fibrozisin Tanımı ve Önemi

Fibrozis farklı doku ve organlarda bağ doku hücrelerinin artışı ve ECM komponentlerinin aşırı birikimi olarak tanımlanabilir (Distler ve ark., 2019). Fibrozis temel olarak kronik enfeksiyon, iskemi, alerjik ve otoimmün reaksiyonlar, kimyasal ajanlar ve radyasyon gibi doku tahribatı ile seyreden persiste yangılar sonucunda meydana gelir (Kis, Liu, & Hagood, 2011; Henderson ve ark., 2020). Organlarda asıl iş yapan ünitelerin yani parenkimal hücrelerin kaybı ve bu hücrelerin yerlerinin fibrotik doku ile doldurulması organların anatomik yapısının ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olur; artan bağ doku besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu engelleyerek hücre hasarının şiddetini artırır ve bu süreç ilerleyen dönemlerde organ yetmezlikleri ve ölüm ile sonuçlanabilir (Dees, Chakraborty, & Distler.,2020; Distler ve ark., 2019). Örneğin, myokardiyal fibrozis kalp kontraksiyonlarını ve sistemik perfüzyonu azaltarak diastolik kalp yetmezliğine neden olur. Akciğer fibrozisi respirasyon esnasında akciğerlerin genişlemesini ve gaz değiş tokuşunu büyük ölçüde engeller. Benzer şekilde, hepatik fibrozis hepatoselüler disfonksiyona ve portal hipertansiyona; renal fibrozis böbrek perfüzyonunun azalmasına ve filtrasyona bozukluklarına neden olur (Theocharis, Manou, & Karamanos, 2019).

Fibrozis organları bireysel olarak etkileyebileceği (örneğin pulmoner idiyopatik fibrozis) gibi sistemik bir hastalık olarak da (örneğin sistemik sklerozis) karşımıza çıkabilir (Dees ve ark., 2020). Tek başına fibrotik hastalıkların insidensi düşük olsa da astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (chronic obstructive pulmonary disease, COPD), aterosklerozis ve yangısal bağırsak hastalığı (inflammatory bowel disease, IBD) gibi fibrotik doku yanıtlarının şekillendiği kronik hastalıkların insidensi

son derece yüksektir (Distler ve ark., 2019). Ek olarak, fibrotik doku yanıtları, hastalık doğrudan fibrozis ile ilişkili olmasa da, hastalığın nasıl sonuçlanacağı ve mortalitesini etkilemektedir. Örnek olarak kalp yetmezliğinde şekillenen myokardiyal yeniden modellenme, aterosklerozisteki vasküler yeniden modellenme, tümörlerdeki desmoplastik reaksiyonlar ve astımda şekillenen hava yollarının yeniden modellenmesi sayılabilir (Distler ve ark., 2019; Wynn, 2004).

Mastitisler ile ilişkili olarak, kronik yangısal süreçte meme dokusunda şekillenen ilerleyici fibrozis, süt üretimini gerçekleştiren ünitelerin yerini alarak süt veriminin azalmasına ve şiddetli olgularda süt üretiminin tamamen durmasına neden olabilir. Bu durum ciddi ekonomik kayıplarla ve hayvanların erken sürüden çıkarılması ile sonuçlanabilir.

Fibrozis oluşumunda önemli olan hücreleri, mediyatörleri veya moleküler yolları hedef alan terapötik yaklaşımlar mevcut olsa da fibrozis oluşumunu engelleyen, fibrozisin şiddetini azaltan veya fibrotik dokuları ortadan kaldırarak organ fonksiyonlarının yeniden kazandırılmasını sağlayan etkin bir tedavi ne yazık ki mevcut değildir. Ek olarak, dünyadaki ölümlerin yaklaşık %45'inin fibrozis ile seyreden çeşitli hastalıklar nedeniyle şekillendiği düşünüldüğünde, anti-fibrotik tedaviye olan talep büyüktür ve artmaya devam edecektir (Distler ve ark., 2019).

2.3.2. Ekstraselüler Matriks (Extracellular Matrix, ECM) ve Fibrozis

Ekstraselüler matriks (ECM) tüm dokularda ve organlarda hücreler arası alanı dolduran ve hücreleri destekleyen son derece özelleşmiş makromoleküler bir ağdır (Kusindarta, & Wihadmadyatami, 2018). ECM farklı dokularda farklı hücre tipleri tarafından üretilir. Yumuşak dokularda fibroblastlar ve myofibroblastlar ECM üretimini gerçekleştirirken, osteoblastlar kemik matriksini, kondroblastlar kıkırdak matriksini, fibroblastlar ve epitel hücreleri ise bazal membran ECM'sini üretirler (Kusindarta, & Wihadmadyatami, 2018). ECM'nin ana bileşenleri glikozaminoglikanlar (GAG'lar) (hyaluronik asit, kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat ve keratin sülfat) ve proteoglikanlar ile birlikte kollajenler, elastin, fibronektin, vitronektin ve lamininlerin dahil olduğu çeşitli fibröz proteinlerdir (Kusindarta, & Wihadmadyatami, 2018; Theocharis ve ark., 2019). ECM bileşenlerinin miktarı dokudan dokuya hatta aynı doku içerisinde farklı

kompartmanlarda bile farklılık gösterebilir (Kular, Basu, & Sharma, 2014). Bu bileşenlerin birbirleri ile interaksyonları, çeşitli hücre tiplerini barındıran yapısal bir ağ oluştururlar (Theocharis ve ark., 2019).

Fiziksel yapısı itibariyle dokuları desteklemekle kalmaz, ECM aynı zamanda dokuları ve organları oluşturan hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyen dinamik ve işlevsel bir yapı görevini de görür (Theocharis ve ark., 2019). ECM her bir organın biyokimyasal özellikleri ile birlikte gerilme, basınç dayanımı ve elastikiyet gibi mekanik özelliklerini belirler (Frantz, Stewart, & Weaver, 2010). ECM tarafından hücrelere iletilen kimyasal ve mekanik sinyaller hücrelerin proliferasyonunu, hayatta kalmasını ve farklılaşmasını düzenleyerek doku homeostazinin ve fonksiyonlarının korunmasını sağlar (Chang ve ark. 2012; Theocharis, Skandalis, Gialeli, & Karamanos, 2016; Yamada vd., 2019). Kemotaktik gradyan boyunca sirkülasyonu terk edip ekstraselüler alana göç eden lökositler, ECM proteinlerine bağlanarak hareket ederler. Ek olarak, çeşitli proteazlar, büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler için bir rezervuar görevi de görür (Kular ve ark., 2014; Theocharis ve ark., 2016).

Fizyolojik ve patolojik koşullar altında sürekli yeniden modellenen bir yapı olduğu düşünüldüğünde, uygun ECM kompozisyonunun korunması doku bütünlüğü ve fonksiyonlarının devamlılığı açısından son derece önemlidir (Theocharis ve ark., 2019). ECM'nin yıkılmasını ve böylece yeniden modellenmesine yardımcı olan enzimler arasında MMP'ler, ADAM'lar (a disintegrin and metalloproteinases), trombospodin motifleri taşıyan ADAM'lar (ADAMs with thrombospodin motifs, ADAMTs), plazminojen aktivatörleri, intraselüler katepsinler ve granzimler gibi atipik proteazlar; sırası ile hyaluronik asit ve heparan sülfat degradasyonunu sağlayan hyaluronidaz ve heparanaz gibi non-proteolitik enzimler sayılabilir (Theocharis ve ark., 2016; Theocharis ve ark., 2019). MMP'ler ve bunların inhibitörleri (tissue inhibitors of MMPs, TIMPs) arasındaki denge ECM'nin normal birikimi ve degradasyonu için oldukça önemlidir. Son derece kompleks olan ve sıkı bir şekilde regüle edilen yeniden modellenme sürecinde meydana gelen aksaklıklar fibrozise sebep olabilir. Sağlıklı dokular ile kıyaslandığında, fibrotik dokularda gerçekleşen ECM modellenmesi, daha katı, daha yoğun ve düzensiz bir ECM biriminine neden olarak ECM sinyalleşme mekanizmalarının büyük ölçüde bozulması ile sonuçlanır (Theocharis ve ark., 2019). Fibrotik ECM'den köken alan biyokimyasal ve mekanik

sinyaller, profibrotik pozitif bir geri bildirim mekanizması oluşturarak fibrozisin devamlılığını sağlarlar (Parker ve ark., 2014). Örneğin, fibronektin fragmentleri hücrelerin ECM üzerinde mekanik stres oluşturduğu bölgelere bağlanırlar. Hücre kontraksiyonları fibronektin moleküllerinde konformasyonel değişikliklere yol açarak diğer ECM komponentlerinin bağlanabileceği bölgelerin açığa çıkmasına ve böylece ECM birikiminin artmasına neden olur (Zollinger, & Smith 2017).

2.3.3. Normal Yara İyileşmesi ve Fibrozis

Normal yara iyileşmesi ve fibrotik hastalıklar pek çok yönden benzerlik göstermektedir. Her iki durumda da organ bütünlüğünün ve fonksiyonlarının korunması ve hasara yol açan faktörün elimine edilmesi adına vasküler ve hücrel yanıtları kapsayan, son derece düzenli ancak bir o kadar da karmaşık bir onarımsal süreç başlar (Weiskirchen, Weiskirchen & Tacke, 2018). Kanamanın durdurulması ve sıvı kaybının önlenmesi adına hasara uğramış olan kan damarlarında vazokonstriksiyon, platelet agregasyonu ve fibrin iplikleri meydana gelir (Gonzalez, Costa, Andrade, & Medrado, 2016; Kahraman, 2016). Hemostatik rollerinin yanında, fibrin iplikleri mikroorganizma invazyonuna karşı bir bariyer oluşturur; diğer ECM komponentleri ile birlikte bölgeye göç eden lökositler, fibroblastlar, endotel hücreleri ve keratinositler için bir yapı iskeleti gören ve büyüme faktörlerinin de bağlandığı geçici matriks oluşumunu sağlarlar (Kahraman, 2016; Reinke, & Sorg, 2012; Shaw, & Martin, 2009). Geçici vazokonstriksiyonu takiben, hasara uğramış olan dokuda yerleşim gösteren lokal immun sistem hücreleri ve plateletler PRR'leri vasıtası ile PAMP'ları ve hasar ilişkili moleküler motifleri (damage associated molecular patterns, DAMPs) tanıyarak vazodilatasyona ve artmış vasküler permeabiliteye neden olan, immun sistem hücreleri için kemotaktik olan mediyatörlerin üretimini ve salınımını gerçekleştirirler. Ek olarak, bölgede yerleşim gösteren ve bölgeye infiltre olan hücrelerden kaynaklanan mediyatörler akut yangısal süreci modüle ederek (IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α), kollajen sentezini stimüle ederek (FGF-2 ve TGF- β), myofibroblast oluşumunu sağlayarak (TGF- β), yeni kan damarı oluşumunu [FGF-2, VEGF-A, TGF- β , hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)] ve reepitelizasyonu (EGF, FGF-2, IGF-1 ve TGF- α) stimüle ederek iyileşme sürecini destekler ve koordine ederler. (Maouia, Rebetz, Kapur, & Semple 2020; Reinke, &

Sorg, 2012; Weiskirchen ve ark., 2018). Bölgeye gelen nötrofil lökositler ve makrofajlar, mikroorganizmaların ve debrisin ortadan kaldırılması adına mikrobisidal ve fagositik fonksiyonları yerine getirirler (Shaw, & Martin, 2009). İyileşmenin proliferatif fazında yeni kan ve lenf damarlarının oluşumu, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve reepitelizasyon gerçekleşir. Geçici matrikse doğru göç eden fibroblastlar burada proliferer olur ve ECM komponentlerinin (örneğin kollajen ve fibronektin) üretimini gerçekleştirirler (Kis ve ark., 2011). Göç eden fibroblastların bir kısmı ECM üretim kapasitesi son derece yüksek olan, kontraktıl proteinlerin ekspresyonunu gerçekleştiren ve yara kontraksiyonunda görev alan myofibroblastlara farklılaşırlar (Henderson ve ark., 2020; Kahraman, 2016). Geçici matriksin yerine içerisinde çok sayıda fibroblast ve myofibroblastın olduğu, bu hücreler tarafından üretilen ve çoğunluğunu kollajenin oluşturduğu ECM'nin, granülositlerin, makrofajların ve çok sayıda yeni kan damarının bulunduğu granülasyon dokusu meydana gelir. (Reinke, & Sorg, 2012; Kahraman, 2016). Son aşamada ise granülasyon dokusunda bulunan yeni kapillar damarların gerilemesi, ECM'in yeniden organize edilmesi, yıkımlanması ve sentezlenmesi süreci başlar (Gonzalez ve ark., 2016). Bu süreç içerisinde granülasyon dokusu yeniden modellenerek daha az selüler ve daha az vasküler olan skar dokusunu meydana getirir. Kollajen ipliklerin konsantrasyonunda meydana gelen artış ile birlikte proliferatif fazla bol miktarda sentezlenen tip III kollajen iplikler yıkımlanarak yerini tip I kollajen ipliklerden zengin olan bir dokuya bırakır (Reinke, & Sorg, 2012; Kahraman, 2016). Bu aşamada doku hasarını takiben şekillenen yangısal ve onarımsal süreçler yavaşlar, sona erer; makrofajların ve myofibroblastların büyük bir çoğunluğu apoptozise uğrar (Bochaton-Piallat, Gabbiani, & Hinz, 2016; Kahraman, 2016).

Eğer hasar şiddetli değilse, tekrar etmezse ve bahsedilen tüm bu yanıtlar hasara karşı savunmada yeterli olursa doku homeostazisi yeniden sağlanır (Henderson ve ark., 2020; Weiskirchen ve ark., 2018). Ancak hasar şiddetliyse, tekrar ediyorsa veya savunma yetersiz ise hasara yol açan etken uzaklaştırılmaz, yangısal yanıt persiste hale gelir ve immun sistem hücreleri doku hasarını daha da şiddetlendiren mediyatörlerin üretimini gerçekleştirmeye devam ederler. Bu süreç parankimal hücre ölümüne, takiben hücre ölümü ile ilişkili ürünlerin kontrolsüz bir biçimde ekstraselüler ortama salınmasına ve böylece pro-fibrojenik hücre popülasyonlarının stimülasyonuna

yol açar (Henderson ve ark., 2020; Weiskirchen ve ark., 2018). Fibroblast aktivasyonu kronik ve kontrol edilemeyen bir süreç haline gelir. ECM sentezi, birikimi ve yeniden modellenmesi devam eder, TIMP üretimi MMP sentezinden baskın hale gelir (Frantz ve ark., 2010). Kronik ekstraselüler fibrotik çevre myofibroblastlarda epigenetik modifikasyonlara neden olarak aktif fenotipin fonksiyonlarının devam etmesini sağlar ve bu hücreleri apoptotik sinyaller de dahil olmak üzere bazı dış uyarımlara karşı bağımsız hale getirir (Distler ve ark., 2019). Tüm bu nedenlerden dolayı, fibrozis bir hastalık olmaktan ziyade aşırı, düzensiz, kontrolsüz ve sonlandırılmayan bir doku onarımı yanıtı olarak kabul edilmektedir (Distler ve ark., 2019; Henderson ve ark., 2020).

2.3.4. Fibrozis Oluşum Mekanizmaları

Aktive olmuş fibroblastlar ve myofibroblastlar fibrozisin ana efektör hücreleridir (Kendall ve Feghali-Bostwick, 2014). Hasara uğramış olan bölgelerde fibroblastların aktivasyonu, proliferasyonu ve ECM komponentlerinin artmış birikimi farklı doku ve organlarda fibrozis oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Wynn, & Ramalingam, 2012). Son yıllarda yapılan çalışmalar, farklı hücre tiplerinin çeşitli moleküler yollar vasıtası ile fibroblastlara ve myofibroblastlara farklılaştığını ortaya koymuştur. Mezotel hücreleri, sirkülasyondaki fibrositler, epitel hücreleri, endotel hücreleri, perisitler, vasküler düz kas hücreleri, Gli1 (+) perivasküler mezenkimal stem hücre benzeri hücreler ve diğer özelleşmiş hücre tiplerinin hücrel aktivasyon, transformasyon, proliferasyon, infiltrasyon, epitelyal-mezenkimal geçiş (epithelial to mesenchymal transition, EMT), mezotelyal-mezenkimal geçiş (mesothelial to mesenchymal transition, MMT), endotelyal-mezenkimal geçiş (endothelial to mesenchymal transition, EndoMT) gibi mekanizmalar vasıtası ile mezenkimal hücreleri oluşturarak fibrotik sürece katkıda bulundukları gösterilmiştir (Di Gregorio ve ark., 2020; Liu ve ark., 2021; Ma, Sanchez-Duffhues, Goumans, & Dijke, 2020; Weiskirchen vd., 2018). Aktive olmuş fibroblastlar ve myofibroblastlar fibrotik hastalıkların patojenezinde merkezi konumda oldukları için, fibrozis araştırmalarının en temel amacı fibroblastların aktivasyonunu ve myofibroblast farklılaşmasını başlatan, sürdüren ve sonlandıran moleküler ve immünolojik mekanizmaların aydınlatılması olmuştur (Wynn, & Ramalingam, 2012; Zeisberg, & Kalluri, 2012). Bu doğrultuda, doğal ve kazanılmış bağışıklığa ait olan pek çok elementin, parankimal

hücrelerin, farklı sinyalleşme yollarının ve moleküllerin bu sürece katkıda bulunduğu ortaya konmuştur. Fibrozis açısından son derece önemli olan TGF- β 1, Wingless/Int (WNT) ve YAP/TAZ (yes-associated protein 1 [YAP]/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif [TAZ]) sinyalleşme yollarının çeşitli yollarla aktivasyonu çoğu doku ve organda fibrozis ile sonuçlanmaktadır (Burgy, & Königshoff 2018; Meng, Nikolic-Paterson, & Lan, 2016; Noguchi, Saito, & Nagase, 2018; Piersma, Bank, & Boersema, 2015). Tip II pnömositler (Parimon, Yao, Stripp, Noble, & Chen, 2020), hepatik stellat hücreleri (Higashi, Friedman, & Hoshida 2017) ve podositler (Black, Lever, & Agarwal, 2019; Lu ve ark., 2019) gibi parankimal hücreler ile birlikte peritoneal ve plöral mezotel hücrelerinin (Liu ve ark., 2020) EMT ve mediyatör salınımı aracılığı ile fibrozise katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Makrofajlar, mast hücreleri ve T lenfositler gibi doğal ve kazanılmış bağışık hücrelerinin de fibrotik süreçte son derece önemli roller oynadığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur (Gieseck, Wilson, & Wynn, 2018; Wick ve ark., 2010; Zhang, & Zhang, 2020)

2.3.5. Mast Hücreleri ve Fibrozis

Akciğer, böbrek, karaciğer ve kalp gibi farklı organlarda çeşitli sebeplerden kaynaklanan veya deneysel olarak indüklenen fibrozis tablolarında mast hücrelerinin ve mast hücre mediyatörlerinin rollerinin irdelendiği araştırmalar mevcuttur. Çeşitli yöntemler ile mast hücrelerinin inhibe edildiği doku ve organlarda fibrozisin şiddetinin belirgin ölçüde azaldığı; mast hücrelerinden yoksun olan hayvanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda ise bu hayvanların fibrozisten korunduğunu veya fibrosis oluşum şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir (Lennon, Borst, Edwards, & Moeser, 2018; Overed-Sayer ve ark., 2020; Summers ve ark., 2012; Veerappan vd., 2013). Ek olarak, kronik yangısal değişikliklerin görüldüğü pek çok doku ve organda özellikle fibrotik alanlar içerisinde yerleşim gösteren mast hücre sayısının artış gösterdiği de gösterilmiştir (Hargrove vd., 2016; Lombardo ve ark., 2019; Pattabiraman ve ark., 2021; Piersma ve ark., 2015; Veerappan ve ark., 2013; Wygrecka ve ark., 2013). Örneğin, IBD'ye sahip olan bireylerin bağırsak dokusunda ve disodyum sülfat (disodium sulphate, DSS) ile intestinal fibrozisin indüklendiği farelerde sağlıklı olanlara kıyasla toplam ve degranüle mast hücre sayısında belirgin bir artışın

şekillendiği tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2021). Aynı çalışmada IBD’de sahip olan bireylerin bağırsak dokusunda yerleşim gösteren mast hücre sayısı ile fibrozisin şiddeti arasında pozitif yönde bir ilişkinin bulunduğu gösterilmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda TGF- β 1, VEGF, PDGF, FGF, CCL-2, CCL-5, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-13, TNF- α CCL-2, CCL-5, histamin, rennin gibi mast hücre ürünlerinin ve bu hücrelere spesifik olan triptaz ve kimaz enzimlerinin pro-fibrotik fonksiyonları ortaya konmuştur (Duval ve ark., 2015; Overed-Sayer, Rapley, Mustelin, & Clarke, 2014; Overed-Sayer ve ark., 2020; Shimbori ve ark., 2018). Tez çalışması kapsamında yer aldığı için ilerleyen kısımlarda TGF- β 1, triptaz ve kimaz enzimleri ile ilişkili ayrıntılı bilgiler aktarılacaktır.

Mast hücrelerinin ürettiği pro-fibrotik büyüme faktörlerinden olan TGF- β 1’in fibroblast proliferasyonunu, migrasyonunu, myofibroblast oluşumunu desteklediği ve fibroblastlarda kollajen sentezini indüklediği pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Meng ve ark., 2016; Shimbori ve ark., 2018; Tang ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2018). Ek olarak, bu sitokinin EMT vasıtasıyla fibrosis oluşumuna da katkıda bulunduğu bilinmektedir (Overed-Sayer ve ark., 2014).

Mast hücre granül içeriğinin büyük bir kısmını oluşturan ve yalnızca mast hücreleri tarafından üretilen en önemli proteazlar olan triptaz ve kimaz, hücrelerin yüzeyinde bulunan PAR-2 reseptörleri vasıtasıyla biyolojik etkilerini meydana getirir (Bagher ve ark., 2018; Payne, & Kam, 2004; Sharma ve ark., 2007). Bu proteazların fibrotik süreç üzerine olan etkileri farklı doku ve organlarda irdelenmiştir. Triptaz enziminin fibroblast proliferasyonunu, migrasyonunu ve kollajen sentezini artırdığı, fibroblastların myofibroblastlara farklılaşmasını indüklediği, fibroblastlarda apoptozisi inhibe ettiği ortaya konmuştur. Örnek olarak, triptaz enzimi ile kültüre edilen insan akciğer fibroblastlarında proliferatif kapasitenin son derece yükseldiği; kültür ortamında oluşturulan yara iyileşmesi modelinde ise bu enzimin fibroblast migrasyonunu arttırdığı ortaya konmuştur (Bagher ve ark., 2018). Triptaz enziminin psöriyazis ilişkili artritiste MMP’leri aktive ederek matriks komponentlerinin yıkımlanmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Chimenti ve ark., 2018). Romatoid artritise sahip olan bireylerden elde edilen sinoviyal fibroblastlarda apoptozisi inhibe ettiği saptanmıştır (Sawamukai ve ark., 2010). Triptazın TGF- β 1’i aktive ederek

fibrozis oluşumuna da katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Bradding, & Pejler, 2018; Tatler, Porte, Knox, Jenkins, & Pand, 2008). Fibrozisle seyreden hastalıklarda fibrotik alanlar içerisinde çok sayıda MC_T hücresinin bulunduğu ve doku triptaz düzeylerinde bir artışın şekillendiği de bildirilmiştir (Kondo ve ark., 2001; Wygrecka ve ark., 2013). Liu ve arkadaşları (2021), DSS ile indüklenen IBD modelinde, IBD'nin oluşturulduğu farelerin bağırsak dokusunda kontrol grubu ile kıyaslandığında triptaz düzeyinin artış gösterdiğini; triptaz inhibitörünün uygulandığı farelerde ise fibrozisin şiddetinin ve ECM komponentlerinin gen ekspresyonunun azaldığını göstermiştir.

Kimaz enziminin farklı sinyalleşme yolları ve farklı mekanizmalar vasıtası ile fibrozis oluşumuna katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Chen ve arkadaşları (2017), sağlıklı deri ile kıyaslandığında, hipertrofik skar dokularında yerleşim gösteren mast hücre sayısının ve MC_C hücrelerinin sayısının belirgin ölçüde artış gösterdiğini tespit etmiştir. Aynı çalışmada kimaz enziminin TGF- β 1'i aktive ettiği ve bu yolla hipertrofik skar fibroblastlarının proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırarak fibrosis oluşumunda rol oynadığı tespit edilmiştir. Kimaz enzimi ile inkübe edilen kardiyak fibroblastlarda proliferatif kapasitenin ve kollajen üretiminin artış gösterdiği tespit edilmiştir (Zhao ve ark., 2008). Rennin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin önemli bir komponenti olan Ang II kardiyak fibroblastların proliferasyonu, farklılaşması, migrasyonu ve kollajen sentezini artırarak kardiyak fibrozis oluşumuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018). Kimaz enziminin anjiyotensin II oluşumu vasıtası ile fibroblastları aktive ettiği ve fibrozis oluşumuna katkıda bulunduğu ortaya konmuştur (Komeda ve ark., 2008). Bu örneklerin yanı sıra, kimaz inhibisyonunun farklı doku ve organlarda fibrozisin şiddetini hafiflettiğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur. Matsumoto ve arkadaşları (2003), kardiyak fibrozise sahip olan köpeklerin kalp dokusunda yerleşim gösteren MC_C hücrelerinin sayısında kontrol grubuna kıyasla önemli bir artışın şekillendiğini ve kimaz inhibitörlerinin kardiyak fibrozisten koruduğunu rapor etmiştir. Benzer şekilde, Kanemitsu ve arkadaşları (2008), kimaz inhibitörlerinin uygulandığı ratların myokardiyal infarktüsü takiben oluşan myokardiyal fibrozisten korunduğunu göstermiştir. Hamster'larda karbon tetraklorür ile indüklenen karaciğer fibrozisi modelinde, kimaz inhibitörlerinin karaciğer enzim aktivitesini azalttığı ve fibrozisi hafiflettiği gösterilmiştir (Komeda ve ark., 2010). Hamster'ların bleomisin ile indüklenen pulmoner fibrozis modelinde,

kimaz inhibitörlerinin akciğer fibrozisini hafiflettiği de ortaya konmuştur (Kosanovic ve ark., 2015).

Özetlenecek olursa, mast hücrelerinin farklı doku ve organlarda şekillenen yangısal süreçlerde ve fibrotik reaksiyonlarda aldıkları rolleri irdeleyen çalışmalar mevcut olsa da mast hücrelerinin mastitisler sırasında aldıkları olası rolleri ve özellikle kronik mastitislerin seyri sırasında oluşan fibrotik reaksiyonlar üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışma henüz gerçekleştirilmemiştir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu araştırma başvurusunun, çalışmanın amacının ve yöntemlerin etik açıdan uygun olduğuna karar vermiştir (etik kurul onay numarası: 2019-07/04).

Tez çalışmasında mast hücrelerinin mastitislerin, özellikle fibrozis ile seyreden kronik olguların patojenezinde aldıkları olası rollerin incelenmesi amaçlanmıştır. Farelerde oluşturulan *in vivo* mastitis deneyleri, konakçı-etken interaksiyonlarının değerlendirilmesine olanak tanıyan ve böylece inek mastitislerinin patofizyolojisinin ve patojenezinin anlaşılması amacıyla sıklıkla kullanılan çalışma modelleridir. İneklerde oluşturulan *in vivo* mastitis deneylerinin maliyetinin son derece yüksek olması, ineklerin idaresinin güç olması ve üreme sikluslarının farelere kıyasla uzun olması nedeniyle çalışma kapsamına lokal mezbahalardan elde edilen inek meme dokuları dahil edilmiştir. Bu iki türden elde edilecek olan sonuçların karşılaştırmalı ve aynı zamanda bir bütün olarak değerlendirilmesi standart ve daha güvenilir sonuçların elde edilebilmesini mümkün kılmıştır. Ek olarak, mast hücrelerine ait triptaz ve kimaz enzimlerinin fibrozisin anahtar hücreleri olan fibroblastlar üzerindeki olası etkileri ise hücre kültürü çalışmalarında irdelenmiştir.

3.1. GEREÇ

3.1.1. İnek Meme Dokusu Örneklerinin Temini

Et ve Balık Kurumu Bursa Kombinasi'ndan toplam 264 adet meme dokusu ve 237 adet süt numunesi (körelmiş olanlardan süt numunesi temin edilememiştir) örneklenmiştir (**Resim 1-6**). Dokuların dikkatli inspeksiyonu ve palpasyonu yapıldıktan sonra her bir meme lobunun farklı bölgelerinden numuneler alınmıştır.

3.1.2. *In Vivo* Deneylerde Kullanılan Farelerin Temini

Deneylerde Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden 8 haftalık yaşta çiftleştirilmiş ve gebe olarak temin edilen Balb-c ırkı dişi fareler kullanılmıştır. Fareler %60-70 nem oranına, 20-22 °C ortam sıcaklığına ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusuna sahip olan odalarda bireysel kafeslerin içerisinde, pelet yeme ve suya sürekli serbest erişimleri olacak şekilde barındırılmışlardır. Doğumları takiben, anne farelerin 7 gün

boyunca yavrularını emzirmelerine izin verilmiştir ve deneylere başlamadan 2 saat önce yavrular annelerinin yanından ayrılmıştır. Yavruların yetiştirilmesine süt anneler ile devam edilmiştir.

3.1.3. Hücre Kültürü Çalışmalarının Gerçekleştirildiği Deneysel Ortam

Hücre kültürü çalışmaları Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na ait olan hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışma boyunca laboratuvar ısısı 25°C'de tutulmuştur ve ultraviyole sterilizasyon lambaları kullanılarak düzenli aralıklar ile laboratuvar sterilize edilmiştir. Hücrelerin beslenmesi ve pasajlama işlemleri gibi steril koşulların gerektiği tüm manipülasyonlar, biyolojik emniyet kabini (MSC 12 Class II A2 BioSafety Cabinet, Jouan, Fransa) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Cam malzemelerin ve cerrahi aletlerin sterilizasyonu için kuru hava sterilizatörü (FN 120, Dry Air Sterilizer, Nüve, Türkiye) (165°C'de 90 dakika) kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. *In Vivo* Fare Deneyleri

Farelerde genel anestezinin indüksiyonu için sevofluran (Sevorane likit, 250 ml, Abbvie, North Chicago IL, Amerika) ile inhalasyon anestezisi tercih edilmiştir. Anesteziye başlamadan önce, portatif anestezi cihazı (AMS Minor 612, Türkiye) vaporizatörü üzerindeki kırmızı çizgiyi geçmeyecek şekilde cihazın içerisine sevofluran doldurulmuştur. Ardından oksijen silindirin üzerindeki vana açılarak anestezi cihazına gaz akışı (0.5-1 lt/dakika) başlatılmıştır. Sevofluran vaporizatörü üzerindeki ayar düğmesi %4 anestezi madde çıkışı olacak şekilde ayarlanmıştır. Fareler plastik bir indüksiyon konteynerine alındıktan sonra yaklaşık 2-3 dakika içerisinde anestezinin indüksiyonu tamamlanmıştır. Hayvanlar sırt üstü pozisyonda yatırılmış ve enjeksiyon bölgeleri %70'lik etanol ile dezenfekte edilmiştir. Meme içi enjeksiyonlarda 4. sağ ve sol meme başı ince uçlu dişsiz bir pens yardımı ile nazikçe tutulmuş ve meme başı kanalına 30 gauge' luk küt uçlu iğne (BD – Ultra Fine 0.5 mL insulin syringe, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, Amerika) ile girilerek enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir (steril makas yardımı ile kesilip kütleştirilen iğne uçları %70'lik etanolle dezenfekte edildikten sonra deneylerde kullanılmıştır) (**Resim 10** ve **11**). İntraperitoneal (IP) enjeksiyonlarda, abdominal

organları travmatize etmemek için karın duvarı dışsız bir pens yardımıyla hafifçe yukarı kaldırılmış, ardından insülin enjektörü ile solüsyonlar enjekte edilmiştir. Deney grupları, her bir grup için hazırlanan solüsyonların dozu ve uygulama şekli sırası ile **Tablo 1** ve **Tablo 2**'de gösterilmiştir. Akut mastitis grubundaki hayvanlar enjeksiyonlardan 24 saat sonra, kronik mastitis grubundaki hayvanlar ise deneyin 14. gününde yüksek dozda aneztezik maddeye maruz bırakılarak ötenazi edilmiştir. Sağ 4. meme bezleri (**Resim 11**) histopatolojik, histokimyasal ve immunohistokimyasal incelemelerin yapılması için %4'lük paraformaldehit solüsyonuna alınmıştır. Sol 4. meme bezleri moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere örneklenmiş, meme bezlerinden homojenatlar hazırlanmış (meme bezi homojenatlarının hazırlanışı "3.2.7.1. Fare Meme Bezi Homojenatlarının Hazırlanması" başlığı altında anlatılmıştır) ve deneylerin yapılacağı zamana kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Akut mastitis modeli grupları.

Gruplar	Yöntem ve Açıklamalar
I. Grup <i>Kontrol Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlar üzerinde herhangi bir manipülasyon gerçekleştirilmemiştir. Kontrol grubundaki fareler diğer gruplara dahil olanlar ile yaş, doğum zamanı ve emzirme dönemi eşleniktir.
II. Grup <i>LPS Grubu (n:6)</i>	LPS grubundaki hayvanlara steril fosfat tamponlu tuz çözeltisi (phosphate-buffered saline, PBS) solüsyonunda (P4417, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, Amerika) çözündürülerek hazırlanan 0,2 µg/µl'lik LPS solüsyonundan (LPS from <i>Escherichia coli</i> O111:B4, L4391, Sigma Aldrich) sağ ve sol meme başı kanalı yolu ile 50 µl enjekte edilmiştir.
III. Grup <i>PBS Grubu (n:6)</i>	Hayvanlara sağ ve sol 4. meme başı kanalı yoluyla 50 µl steril PBS solüsyonu enjekte edilmiştir. Bu grup LPS'in çözündürüldüğü steril PBS'in etkilerini gözlemlemek için çalışmaya dahil edilmiştir.
IV.I. Grup <i>İntraperitoneal (IP) Kromolin Grubu (n:6)</i>	Steril PBS içerisinde 50mg/kg dozda olacak şekilde çözündürülen kromolin sodyum (C0399, Sigma Aldrich) solüsyonundan IP yolla 50 µl enjekte edilmiştir.
IV.II. Grup <i>Meme içi (IM) Kromolin Grubu (n:6)</i>	Steril PBS içerisinde 50mg/kg dozda olacak şekilde çözündürülen kromolin sodyum (C0399, Sigma Aldrich) solüsyonundan sağ ve sol 4. meme başı kanalına 50 µl enjekte edilmiştir.
V. Grup <i>IM Kromolin + LPS Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlara LPS enjeksiyonundan 2 saat önce grup IV.II'de belirtilen doz ve uygulama yoluyla kromolin sodyum solüsyonu verilmiş, takiben grup II'deki doz ve uygulama şekliyle LPS enjekte edilmiştir.
VI. Grup <i>IP Kromolin + LPS Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlara LPS enjeksiyonundan 2 saat önce grup IV.I'de belirtilen doz ve uygulama yoluyla kromolin sodyum solüsyonu verilmiş, takiben grup II'deki doz ve uygulama şekliyle LPS enjekte edilmiştir.
VII. Grup <i>Deksametazon (DEX) + LPS Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlara LPS enjeksiyonundan 1 saat önce 5 mg/kg'lık deksametazon (D4902, Sigma Aldrich) solüsyonundan IP yolla 50 µl enjekte edilmiş, sonrasında grup II'deki doz ve uygulama şekliyle LPS enjekte edilmiştir. LPS enjeksiyonunu takip eden 12. saatte deksametazon enjeksiyonu belirtilen doz ve uygulama yoluyla tekrarlanmıştır.

Tablo 2. Kronik mastitis modeli grupları.

	Gruplar	Yöntem ve Açıklamalar
1.	I. Grup <i>Kontrol Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlar üzerinde herhangi bir manipölasyon gerçekleştirilmemiştir. Kontrol grubundaki fareler diğer gruplara dahil olanlar ile yaş, doğum zamanı ve emzirme dönemi eşleniktir.
2.	II. Grup <i>LPS Grubu (n:6)</i>	LPS grubundaki hayvanlara 1. 5. ve 10. günlerde steril PBS solüsyonunda (P4417, Sigma Aldrich) çözülürülerek hazırlanan 0,2 µg/µl'lik LPS solüsyonundan (LPS from <i>Escherichia coli</i> O111:B4, L4391, Sigma Aldrich) sağ ve sol meme başı kanalı yolu ile 50 µl enjekte edilmiştir.
3.	III. Grup <i>PBS Grubu (n:6)</i>	Hayvanlara 1. 5. ve 10. günlerde sağ ve sol 4. meme başı kanalı yoluyla 50 µl steril PBS solüsyonu enjekte edilmiştir. Bu grup LPS'in çözülürüldüğü steril PBS'in etkilerini gözlemlemek için çalışmaya dahil edilmiştir.
4.	IV.I. Grup <i>İntraperitoneal (IP) Kromolin Grubu (n:6)</i>	Steril PBS içerisinde 50mg/kg dozda olacak şekilde çözülürülen kromolin sodyum (C0399, Sigma Aldrich) solüsyonundan 1. 5. ve 10. günlerde IP yolla 50 µl enjekte edilmiştir.
5.	IV.II. Grup <i>Meme içi (IM) Kromolin Grubu (Stabilizatör Grubu) (n:6)</i>	Steril PBS içerisinde 50mg/kg dozda olacak şekilde çözülürülen kromolin sodyum (C0399, Sigma Aldrich) solüsyonundan 1. 5. ve 10. günlerde sağ ve sol 4. meme başı kanalına 50 µl enjekte edilmiştir.
6.	V. Grup <i>IM Kromolin + LPS Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlara 1. 5. ve 10. günlerde LPS enjeksiyonundan 2 saat önce grup IV.II'de belirtilen doz ve uygulama yoluyla kromolin sodyum solüsyonu verilmiş, takiben grup II'deki doz ve uygulama şekliyle LPS enjekte edilmiştir.
7.	VI. Grup <i>IP Kromolin + LPS Grubu (n:6)</i>	Bu gruptaki hayvanlara 1. 5. ve 10. günlerde LPS enjeksiyonundan 2 saat önce grup IV.I'de belirtilen doz ve uygulama yoluyla kromolin sodyum solüsyonu verilmiş, takiben grup II'deki doz ve uygulama şekliyle LPS enjekte edilmiştir.

3.2.2. Dokuların İşlenmesi

Mikroskopik inceleme için alınan meme dokusu örneklerinin tespit işlemi %4'lük paraformaldehit solüsyonu (158127, Sigma Aldrich) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Cam bir beher içerisine 800 ml PBS ve 40 gram paraformaldehit eklenmiş, takiben beher, ısıtma özelliği bulunan bir manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilmiştir. Paraformaldehit tamamen çözünene kadar karıştırma işlemine devam edilmiştir. Karıştırma işlemi devam ederken berrak bir solüsyon elde edene kadar beherin içerisine damla damla 1M sodyum hidroksit (NaOH) eklenmiştir. Tüm bu işlem boyunca solüsyonun sıcaklığının 60°C'yi geçmemesine özen gösterilmiştir. Paraformaldehit tamamen çözündükten ve solüsyon berrak hale geldikten sonra cam beher oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Beher içerisine 200 ml PBS daha ilave edilmiş, takiben solüsyonun pH'ı 6,9-7,2 aralığına ulaşana kadar 1M hidroklorik asit (HCl) ilave edilmiştir. Hazırlanan bu solüsyon 4°C'de en fazla 2 hafta muhafaza edilmiştir.

Mikroskopik inceleme için alınan meme dokusu örnekleri %4'lük paraformaldehit solüsyonu içerisinde 4°C'de 24 saat tespit edildikten sonra ince trimleri yapılarak kapaklı parafin kasetlerinin (074.03.001, Isolab, İstanbul, Türkiye) içerisine yerleştirilmiştir. Tespit solüsyonunun uzaklaştırılması için kasetler bir gece boyunca akarsuda yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından dokularda bulunan fazla miktardaki suyun giderilebilmesi için kasetler artan dereceli alkollerde (sırası ile %70, %80, %96, saf alkol I, saf alkol II) (920.026, Isolab) birer saat inkübe edilmiştir. Kasetler ksilol-I'de (990.019, Isolab) bir saatlik inkübasyonun ardından ksilol-II'de bir gece boyunca tutulmuştur ve böylece dokular saydamlaştırılmıştır. Saydamlaştırmanın ardından kasetler sıcaklığı 58-60°C olan etüvün içerisinde sırası ile parafin-I, parafin-II ve parafin-III'te (18634, Sigma Aldrich) birer saat tutulmuştur. Bu sürenin sonunda kasetlerin içerisinden çıkarılan dokular metal doku baz kalıplarının içerisine yerleştirilmiştir, kalıpların içerisi parafin tankından alınan 58-60°C'lik parafin ile doldurulmuştur ve kalıpların üzeri parafin kasetlerinin kapakları ile kapatılmıştır. Elde edilen parafin bloklar 1 gece boyunca 4°C'de muhafaza edildikten sonra mikrotom cihazı (RM2125 RTS, Leica, Wetzlar, Almanya) ile bloklardan 4 µm kalınlığında seri kesitler alınmıştır ve kesitler Poly-L-Lysine (P8920, Sigma Aldrich) (1 ml Poly-L-Lysine, 99 ml distile su) kaplı lamlara çekilmiştir. Seri kesitler 37°C'lik etüvde 1 gece tutulduktan sonra lam saklama kutularına yerleştirilmiş ve boyamaların yapılacağı zamana kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Histopatolojik İncelemeler

İnek ve fare meme dokularının histolojik ve histopatolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ve fare meme dokularında mastitis indüksiyonunun doğrulanması için Hematoksilen&Eozin (H&E) boyama prosedürü kullanılmıştır. Boyama yapılacak olan lamlar 4°C'den çıkarılmıştır ve boyamadan önce 37°C'lik etüvde (WiseCube Digital Fuzzy Control & Digital LCD-Back Light System, WIG-50, Daihan Scientific, Güney Kore) 1 gece tutulmuştur. Lam boyama sepeti içerisine yerleştirilen lamlar ksilol I, ksilol-II ve ksilol-III'te beşer dakika tutulduktan sonra azalan dereceli alkollerde (sırası ile saf alkol-I, saf alkol-II, %96, %80, %70) üçer dakika inkübe edilmiştir ve ardından akarsuda 3 dakika yıkanmıştır. Böylece kesitler deparafinize ve rehidre edilmiştir. Hematoksilen solüsyonunda (105174, Merck Millipore, MA, Amerika) 10 dakika boyanmayı takiben lamlar 3 dakika boyunca akarsuda

tutulmuştur. Lam boyama sepeti asit alkol (100 ml %70'lik alkol, 1 ml HCl) (HCl, 07102, Sigma Aldrich) solüsyonuna bir defa daldırıp çıkarıldıktan sonra kesitler mavi renk alana kadar amonyak (903.016, Isolab) (100 ml distile su, 0,2 ml amonyak) solüsyonu içerisinde inkübe edilmiştir. Lamalar eozin solüsyonu (109844, Merck Millipore) içerisinde 5 dakika tutulduktan sonra akarsuda yıkanmıştır ve artan dereceli alkollerden geçirilmiştir. Kuruyan lamalar ksilol içerisinde 10 dakika tutularak lamaların üzerine entellan (1.07961, Merck, Darmstadt, Almanya) damlatılıp lam ve lamel arasında hava kabarcığı kalmayacak şekilde kesitlerin üzeri kapatılmıştır.

Akut ve kronik yangı ile ilişkili hücresel ve damarsal değişiklikler ışık mikroskobu (CX41, Olympus Corporation, Shinjuku City, Tokyo, Japonya) altında değerlendirilmiştir. Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli olarak klasifiye edilen meme dokuları arasından 20'şer adet seçilmiştir ve takip eden histokimyasal ve immunohistokimyasal analizler bu olgular kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Meme Dokusu Kesitlerinde Mast Hücrelerinin Gösterilmesi

Fare ve inek meme dokularında yerleşim gösteren mast hücrelerinin histokimyasal olarak gösterilebilmesi için toluidine mavisi boyama prosedürü kullanılmıştır. Kesitler deparafinize ve rehidre edildikten sonra 5 ml toluidine mavisi (198161, Sigma Aldrich) stok solüsyonu (1 gr toluidine mavisi O, 100 ml %70'lik alkol) ve 45 ml %1'lik sodyum klorid solüsyonu ile hazırlanan çalışma solüsyonu içerisinde lamalar 2 dakika boyunca tutulmuştur. Takiben lamalar distile suda yıkanmıştır, artan dereceli alkollerden geçirilmiş, ksilolde berraklaştırılmış ve son olarak entellan ile lamaların üzeri kapatılmıştır. Mast hücrelerinin sayısı, yerleşim yerleri ve aktiviteleri (granüle/degranüle) x200'lük büyütmede rastgele seçilen 10 mikroskop sahasında değerlendirilmiştir. Granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısı her bir grup için ortalama sayı ve kat artışları şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.5. Meme Dokularındaki Bağ Doku Miktarının Belirlenmesi

Fare ve inek meme dokularından hazırlanan kesitlerde bağ dokunun gösterilmesi ve fibrozisin ortaya konması için Masson's Trichrome boyama prosedürü uygulanmıştır. Boyamalar ticari olarak satın alınan kit kullanılarak (04-010802, Bio Optica, Milano, İtalya) ve üretici firmanın talimatlarına uyularak gerçekleştirilmiştir. Bağ doku miktarı Olympus Stream Motion yazılımı (Shinjuku, Tokyo, Japonya)

kullanılarak x200'lük büyütmede rastgele seçilen 10 mikroskop sahasından çekilen fotoğraflarda incelenmiştir. Analizler sırasında tüm fotoğraflardaki saturasyon değeri %1'e ayarlandıktan sonra bağ doku veya parankim alanlarının seçilebilmesi için renk eşik değeri menüsünden kırmızı, mavi ve beyaz rengin yoğunluk değerleri artırmak ve azaltmak suretiyle arzu edilen düzeye getirilmiştir. Bağ doku ve parankim alanlarının sahip olduğu piksel değeri, fotoğrafın piksel değerine oranlanarak mavi (bağ doku) veya kırmızı (parankim) renkte boyanan alanlar yüzdelik olarak ifade edilmiştir. Alveol, kanal ve damar lümenleri ve dokular arasındaki beyaz renkli sahalar hesaplama dahil edilmemiştir. Elde edilen yüzde değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar her bir grup için bağ doku miktarı ve kat artışları şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Fare ve inek meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) (MC_T), kimaz (+) (MC_C) ve triptaz-kimaz (+) (MC_{TC}) mast hücrelerinin gösterilebilmesi için ticari olarak satın alınan kit (UltraVision Detection System Anti-Polyvalent HRP/DAB, TP-015-HD, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Amerika) kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar gerçekleştirilmiştir. Boyamadan önce, Poly-L-Lysine (P8920, Sigma Aldrich) ile kaplanan lamalar 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde muhafaza edilmiştir. Kesitler deparafinize ve rehidre edildikten sonra içerisinde sodyum sitrat (antijen retrieval solüsyonu, pH 6,0; ab93678, Abcam, Cambridge, İngiltere) (99 ml distile su, 1 ml sitrat buffer) bulunan ısıya dayanıklı dik bir şale içerisine yerleştirilmiştir. Dik şale, içerisindeki solüsyonun hızla buharlaşmasını önlemek adına içi su dolu olan başka bir kabın içerisine koyulmuştur, takiben mikrodalga fırında 600W'ta 2x5 dakika tutulmuştur. Preparatlar oda ısısına geldikten sonra PBS (PBS tablet, P4417, Thermo Fisher Scientific) (1 tablet, 200 ml distile su) içerisinde 3x5 dakika yıkanmıştır. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için lamalar hidrojen peroksit solüsyonu ile 15 dakika inkübe edilmiştir, takiben 3x5 dakika PBS ile yıkanmıştır. Preparatlar protein bloklama solüsyonu ile 5 dakika muamele edildikten sonra solüsyon uzaklaştırılmıştır ve yıkama yapılmaksızın primer antikorlar uygulanmıştır. Antikorlar sulandırılmadan önce vialin duvarına yapışan antikorların çöktürülmesi için vialler 10,000 x g'de 20 saniye santifüj edilmiştir (Scanspeed 1524, Labogene, Danimarka) ve takiben 500 x g'de nazikçe vortekslenmiştir (Topmix FB15012 Vortex Mixer, Fisher Scientific, Waltham, MA, Amerika). Lamalar,

içerisinde su ve pamuk bulunan nemli ortam kabının içerisine yerleştirilmiştir, sonrasında uygun dilüsyonlarda sulandırılan anti-triptaz (mouse anti-human tryptase antibody, 1:500, Sc-59587, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, Amerika; rabbit anti-human tryptase antibody 1:200, MA538007, Invitrogen, Waltham, MA, Amerika) ve anti-kimaz (rabbit anti-human chymase antibody, 1:200, orb584539, Biorbyt Ltd, St Louis, MO, Amerika) primer antikorları ile 1 gece boyunca 4°C’de inkübe edilmiştir. Kesitler oda ısısına geldikten sonra primer antikor uzaklaştırılmıştır ve lamalar 3x5 dk PBS ile yıkanmıştır. Bu işlemi takiben, kesitlerin üzerine HRP enzimi ile işaretli sekonder antikor (goat anti-rabbit IgG [H+L] - HRP conjugated, 1:500, A16110, Invitrogen, Waltham, MA, Amerika; fare meme dokuları için kitin içeriğinde bulunan sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz kullanılmıştır) uygulanmıştır ve kesitler karanlık bir ortamda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. PBS ile 3x5 dakika yıkamanın ardından bir damla (40 µl) DAB Plus kromojen solüsyonu ile 2 ml DAB Plus substrat solüsyonu karıştırılmıştır ve kesitler bu solüsyon ile 3 dakika muamele edilmiştir. Preparatlar 3x5 dakika distile su ile yıkanmıştır, sonrasında çekirdek boyaması için Harris Hematoksin solüsyonu (HHS16, Sigma Aldrich) ile 45 saniye inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda preparatlar akarsuda yıkanmıştır ve artan dereceli alkollerden geçirilerek dehidre edilmiştir. Kuruyan preparatlar ksilol içerisinde berraklaştırılmıştır ve son olarak, kesitlerin üzeri entellan kullanılarak lamelle kapatılmıştır.

Triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin gösterilmesi için, seri kesitlerde MC_T ve MC_C mast hücreleri immunohistokimyasal olarak tespit edilmiştir. Her iki lamda aynı sahalardan çekilen fotoğraflar karşılaştırılmıştır ve her iki fotoğrafta pozitif olduğu tespit edilen hücreler triptaz-kimaz (+) mast hücreleri olarak değerlendirilmişlerdir.

Triptaz (+) ve kimaz (+) mast hücreleri, x200’lük büyütmede rastgele seçilen 10 mikroskop sahasında sayılarak her bir grup için ortalama mast hücre sayısı ve kat artışları şeklinde ifade edilmiştir. Triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayımı ve sayım sonuçları, diğer immunofenotipler için ifade edilen yöntem dahilinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

Fare meme dokularının IL-1 β , IL-6, IL-13 TNF- α , triptaz ve kimaz düzeylerinin ölçümü, ticari olarak satın alınan enzim bağlı immünosorbent testi (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) kitleri (**Tablo 3**) kullanılarak ve üretici firmanın talimatlarına uyularak gerçekleştirilmiştir. IL-1 β , IL-6, IL-13 ve TNF- α , mast hücreleri tarafından da üretildiği bilinen pro-inflamatuvar ve pro-fibrotik etkili sitokinlerdir. Akut ve kronik yangının oluşturulduğu fare meme dokularında yangının varlığının doğrulanması ve mast hücre stabilizasyonunun yangısal profil üzerinde olan etkilerinin araştırılması için meme bezi homojenatlarından yangısal sitokin ölçümü gerçekleştirilmiştir. Sitokine ek olarak, mast hücrelerine spesifik olan triptaz ve kimaz enzimlerinin dokulardaki düzeyleri de ölçülerek deney ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan ELISA kitleri.

Sıra No.	Yangısal Sitokin	Katalog No.	Üretici Firma
1.	IL-1 β	orb219699	Biorbyt Ltd
2.	IL-6	orb219727	Biorbyt Ltd
3.	IL-13	orb219706	Biorbyt Ltd
4.	TNF- α	orb315038	Biorbyt Ltd
5.	Triptaz	orb442715	Biorbyt Ltd
6.	Kimaz	orb439958	Biorbyt Ltd

3.2.7.1. Fare Meme Bezi Homojenatlarının Hazırlanması

Fare meme dokusu örnekleri -80°C'den çıkarıldıktan sonra mermer bir havan içerisine yerleştirilmiştir ve meme dokularının üzerine yüzeylerini kaplayacak kadar sıvı azot ilave edilmiştir. Meme dokusu örnekleri mermer bir havaneli yardımı parçalanarak homojen hale getirilmiş, ardından dokularının üzerine her 1 gr'lık doku için 10 ml donma soğukluğunda PBS ilave edilmiştir. Elde edilen meme dokusu homojenatları 2 ml'lik temiz santrifüj tüplerine (S.078.03.003, İnterlab) aktarılmıştır. Meme dokusu homojenatları 10 saniyelik aralıklar ile 3 saniye boyunca ve 2-3 kez tekrar edecek şekilde 40 kW güçte sonike (Sonopuls GM mini 20, Bandelin, Berlin, Almanya) edildikten sonra tüpler 5000 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Takiben süpernatantlar temiz bir santrifüj tüpüne aktarılarak testlerin gerçekleştirileceği zamana kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.7.2. Test Solüsyonlarının Hazırlanması

Teste hazırlık aşamasında, kitin içinde bulunan bazı kimyasalların ve solüsyonların dilüsyonları gerçekleştirilmiştir. ELISA deneyleri boyunca çalışılan örnek sayısına yetecek kadar solüsyonun hazırlanmasına özen gösterilmiştir. Liyofilize standart vialinin içerisine 1000 µl standart/örnek sulandırıcı solüsyonu eklenerek standart stok solüsyonu hazırlanmıştır. Biotin ile işaretli antikor, antikor sulandırıcı solüsyon ile 1:100 oranında dilüe edilmiştir. Straptavidin-HRP, Streptavidin-HRP sulandırıcı solüsyon ile 1:100 oranında karıştırılmıştır. Yıkama solüsyonunun hazırlanması için, kitin içerisinde bulunan konsantre yıkama solüsyonu (30 ml), 600 ml distile su ile dilüe edilmiştir.

3.2.7.3. Standart Kuyucuklarının Hazırlanması

Standart solüsyonlarının hazırlanması aşamasında, santrifüj tüpleri 1'den 8'e kadar numaralandırılmıştır. Birinci tüpün içerisine 1000 µl standart stok solüsyonu ve 2-8 numaralı tüplerin her birinin içerisine 500 µl standart/örnek sulandırıcı solüsyonu eklenmiştir. Mikropipet ile 1. tüpten 500 µl standart stok solüsyonu alınmıştır, 2. tüpe aktarılmıştır ve pipetlenerek karıştırılmıştır. Ardından 2. tüpten 500 µl solüsyon çekilerek 3. tüpe aktarılmıştır. 3. tüpteki solüsyon pipetlendikten sonra içerisinden 500 µl alınmıştır ve solüsyon 4. tüpe eklenmiştir. 8. tüpe kadar aynı işleme devam edilmiştir. Son aşamada 8. tüp içerisinden 500 µl solüsyon uzaklaştırılmıştır. Böylece standart stok solüsyonunun 2 kat seri dilüsyonları hazırlanmıştır.

3.2.7.4. Test Protokolü

Standart kuyucuklarının içerisine santrifüj tüplerinde hazırlanan standart solüsyonlarından (1-8) 100 µl, test kuyucuklarına ise meme dokusu homojenatlarından 100 µl eklenmiştir. 96 kuyucuklu plakanın üzeri koruyucu film ile kapatıldıktan sonra oda sıcaklığında 90 dakika inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda koruyucu film plakanın üzerinden ayrılmış, kuyucukların içerisindeki solüsyonlar uzaklaştırılmış ve kuyucuklar 3x1 dakika yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır. Yıkamalar arasında, 96 kuyucuklu plaka havlu peçete üzerine nazikçe vurularak kuyucuklar içerisindeki fazla yıkama solüsyonu uzaklaştırılmıştır.

Her bir kuyucuğun içerisine 100 µl biotin ile işaretli antikör eklenmiştir, 96 kuyucuklu plakanın üzeri koruyucu film ile kaplanmıştır ve plaka 37°C’lik etüvde 60 dakika inkübe edilmiştir. Takiben, plaka belirtilen yöntem dahilinde 3x1 dakika yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.

Her bir kuyucuğun içerisine 100 µl Streptavidin-HRP solüsyonu eklenmiştir, 96 kuyucuklu plakanın üzeri koruyucu film ile kaplanmıştır, plaka 37°C’lik etüvde 45 dakika inkübe edilmiştir. Takiben, plaka belirtilen yöntem dahilinde 5x1 dakika yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.

Her bir kuyucuğa kitin içerisinde bulunan 100 µl TMB substrat solüsyonu eklenmiştir, 96 kuyucuklu plakanın üzeri koruyucu film ile kaplanmıştır ve plaka 37°C’lik etüvde 30-45 dakika boyunca karanlık bir ortamda inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu ilavesini takiben 1-3. standart kuyucuklarında mavi renk oluşana kadar inkübasyona devam edilmiştir.

Yıkama yapmaksızın her bir kuyucuğa kitin içerisinde bulunan 100 µl reaksiyon durdurucu solüsyon eklenmiştir. Reaksiyon durdurucu solüsyon ilavesini takiben kuyucukların içerisindeki sıvının sarı bir renk aldığı gözlenmiştir (**Resim 214**).

Her bir kuyucuğun sahip olduğu absorbands değeri ELISA mikroparka okuyucu kullanılarak (51119000, Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific) 450 nm dalga boyunda llmştir.

3.2.7.5. Sitokin ve Proteaz Miktarlarının Hesaplanması

rnek ve standart kuyucuklarında okunan absorbands değerleri, Microsoft Office Excel 2016 programına aktarılmıştır. rnek ve standart kuyucuklarında okunan absorbands değerlerinden boş (blank) kuyucuklarında ölçülen absorbands değerinin ortalaması çıkarılmıştır. Takiben, standart kuyucuklarında okunan absorbands değerleri kullanılarak bir çizgisel grafik oluşturulmuştur ve grafiğe ilişkin eğilim çizgisi denklemi ve R² değeri hesaplanmıştır. Elde edilen eğilim çizgisi denklemi kullanılarak tüm kuyucuklarda ölçülen absorbands değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Son olarak, standart kuyucuklarında okunan absorbands değerlerine karşılık gelen sitokin miktarları (pg/ml) baz alınarak doku homojenatlarında bulunan sitokin miktarları hesaplanmıştır.

3.2.8. Dokularda Yangının Şiddetinin Değerlendirilmesi / Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Ölçümü

Yangının şiddeti, ticari olarak satın alınan kit kullanılarak (MAK068, Sigma Aldrich) ve üretici firmanın talimatlarına uyularak ölçülmüştür. Akut ve kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında yangının şiddetinin belirlenmesi ve mast hücre stabilizasyonunun yangının şiddeti üzerine olan etkilerinin gösterilebilmesi için MPO ölçüm testi uygulanmıştır.

Myeloperoksidaz (myeloperoxidase, MPO), halit iyonlarının (flor $[F^-]$, klor $[Cl^-]$, brom $[Br^-]$, iyot $[I^-]$) hidrojen peroksit (H_2O_2) aracılı oksidasyonu ile hipokloröz asit ($HClO$) oluşumunu katalize eden hem-içeren bir enzimdir. MPO, nötrofil lökositler ve makrofajlar tarafından yüksek miktarlarda ekprese edilen ve bu hücrelerin stimülasyonunun bir sonucu olarak meydana gelen antimikrobiyal aktivitede önemli roller oynayan bir lizozomal proteindir. Bu nedenle, akut ve kronik yangının güvenilir bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. MPO $HClO$ oluşumunu katalize eder ve takiben $HClO$ 'un taurin ile tepkimesi, taurin kloramin oluşumu ile sonuçlanır. Taurin kloramin, kromofor bir bileşik olan 1,3,5-trinitrobenzen (TNB) ile reaksiyona girerek 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) oluşturur. Bir birim MPO aktivitesi, $25^\circ C$ 'de 1 dakikada substratı hidrolize eden ve 1 μmol TNB'yi tüketen taurine kloramin enzim miktarı olarak tanımlanabilir.

3.2.8.1. Test Solüsyonlarının Hazırlanması

Teste hazırlık aşamasında, kitin içeriğinde bulunan bazı kimyasalların ve solüsyonların dilüsyonları gerçekleştirilmiştir. 5 μl MPO substrat stok solüsyonu, 300 μl distile su ile dilüe edilmiştir. İçerisinde 20 μl durdurucu miks solüsyonu bulunan vial 200 μl distile su eklenmiştir. MPO pozitif kontrol vial, 100 μl MPO test solüsyonu ile sulandırılmıştır. Test edilecek olan her bir örnek ve standart eğri kuyucuğu için, 0,5 μl DTNB probu solüsyonu, 0,5 μl TCEP solüsyonu [tris(2-karboksiletıl) fosfin] ve 49 μl MPO test solüsyonu karıştırılarak 1mM'lük (1 nmol/ μl) TNB standart solüsyonu elde edilmiştir.

3.2.8.2. Test Protokolü

- Standart kuyucuklarının içerisine sırası ile 150, 140, 130, 120, 110 ve 100 µl MPO test solüsyonu eklenmiştir.
- Örnek kuyucuklarının içerisine 20 µl homojenat ilave edilmiş, takiben MPO test solüsyonu ile kuyucuk içerisindeki sıvı miktarı 50 µl'ye tamamlanmıştır. Pozitif kontrolleri hazırlamak için, pozitif kontrol kuyucuklarının içerisine 20 µl MPO pozitif kontrol solüsyonu ve 30 µl MPO test solüsyonu ilave edilmiştir.
- Örnek, pozitif kontrol ve boş (blank) kuyucuklarına 50 µl reaksiyon miksi solüsyonu ilave edilmiştir. Standart kuyucuklarının içerisine reaksiyon miksi solüsyonu eklenmemiştir. Kuyucukların içerisindeki solüsyonların homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak için 96 kuyucuklu plaka orbital karıştırıcı (WiseShake digital orbital shaker, SHO-1D, Daihan Scientific) üzerine yerleştirilmiştir. Reaksiyon miksi solüsyonunun formülasyonu **Tablo 4**'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Reaksiyon miksi solüsyonunun hazırlanması.

Solüsyon	Boş (blank) kuyucuklarına eklenen miktar (µl)	Örnek ve pozitif kontrol kuyucuklarına eklenen miktar (µl)
MPO test solüsyonu	40 µl	40 µl
MPO substrat solüsyonu	-	10 µl
Distile su	10 µl	-
Toplam	50 µl kuyucuğa eklenen miktar	50 µl kuyucuğa eklenen miktar

- 96 kuyucuklu plaka, gün ışığından korunacak şekilde oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda reaksiyonun sonlandırılması için standart kuyucukları hariç olmak üzere tüm kuyucukların içerisine 2 µl durdurucu miks solüsyonu eklenmiştir ve plaka 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından standart kuyucukları hariç olmak üzere tüm kuyucuklara 50 µl TNB standart solüsyonu eklenmiştir.
- 0 (blank, boş), 10, 20, 30, 40 ve 50 µl (1nmol/kuyucuk) TNB standart solüsyonu, örneklerin inkübasyon periyodunu takiben aynı sıralama dahilinde standart eğri kuyucuklarına ilave edilmiştir ve plaka 10 dakika daha inkübe edilmiştir.

- Son olarak, her bir kuyucuğun sahip olduğu absorbands değeri ELISA mikropłaka okuyucu kullanılarak (51119000, Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific) 412 nm dalga boyunda ölçölmüştür (**Resim 215**).

3.2.8.3. MPO Değerlerinin Hesaplanması

Örnek ve standart kuyucuklarında okunan absorbands değerleri, Microsoft Office Excel 2016 programına aktarılmıştır. Örnek ve standart kuyucuklarında okunan absorbands değerlerinden boş (blank) kuyucuklarında ölçölen absorbands değerinin ortalaması çıkarılmıştır. Takiben, standart kuyucuklarında okunan absorbands değerleri kullanılarak program üzerinden bir çizgisel grafik oluşturulmuştur ve grafiğe ilişkin eğilim çizgisi denklemi ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Elde edilen eğilim çizgisi denklemi kullanarak tüm kuyucuklarda ölçölen absorbands değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Üretici firmanın önerdiği [Normalize Edilen Değerler (Tüketilen TNB Miktarı) x Örneğin Dilüsyon Faktörü] / [Reaksiyon Süresi x Kuyucuklara Eklenen Örnek Miktarı (ml)] formülü kullanarak her bir kuyucuğun MPO değeri mU/ml cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.9. Hücre Kültürü

3.2.9.1. Meme Dokusu Örneklerinin Temini

3.2.9.1.1. İnek Meme Dokusu Örneklerinin Temini

Lokal mezbahadan temin edilen 3 adet taze meme dokusu örneği, numune kaplarının içersine yerleştirilmiştir ve soğuk zincir içersinde laboratuvara nakledilmiştir. Meme dokularına steril bistüri ve bistüri uçları yardımı ile ensizyonlar yapılmıştır ve dış ortam ile temas etmemiş olan kısımlarından örnekler alınmıştır. Meme dokusu örnekleri %70'lik alkol içersine yerleştirilerek doku yüzeyinin sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Steril petri kaplarının içersine yerleştirilen meme dokusu örnekleri yaklaşık 0,5 cm x 0,5 cm x 0,5 cm boyutlarındaki parçalara ayrılmıştır ve ardından 50 ml'lik steril konik tabanlı santrifüj tüplerine aktarılmıştır. İçersinde 5X Penisilin-Streptomisin (P4344, Sigma Aldrich) (500.000 U penisilin ve 500 mg streptomisin) bulunan DPBS (D5652, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Sigma Aldrich) solüsyonu tüplerin içersine eklenmiştir ve meme dokusu örnekleri 4°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.9.1.2. Fare Meme Dokusu Örneklerinin Temini

Hücre kültürü çalışmalarında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ve emzirme periyodunu tamamlamak üzere olan (emzirmede 2. haftanın sonunda) 3 adet Balb-c ırkı dişi fareden alınan meme dokusu örnekleri kullanılmıştır. Öncelikle, fareler yüksek dozda sevoflurana maruz bırakılarak ötenazi edilmiştir. Hayvanlar %70'lik alkol içerisine batırılıp çıkartılarak ensizyon yüzeyinin ve kontaminasyona neden olabilecek vücut yüzeylerinin sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar %70'lik alkol ile dezenfekte edilmiş diseksiyon sahasında sırt üstü yatar pozisyonda yerleştirilmiş ve steril iğneler kullanılarak tespit edilmiştir. Steril cerrahi aletler kullanılarak meme dokusu örnekleri alınmıştır ve örnekler içerisinde 5X Penisilin-Streptomisin (P4344, Sigma Aldrich) (500.000 U penisilin ve 500 mg streptomisin) bulunan 50 ml'lik steril konik tabanlı santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Meme dokusu örnekleri 4°C'de 1,5 saat inkübe edilmiştir.

3.2.9.2. Hücrelerin İzolasyonu

İnkübasyonu takiben çalışmalara biyolojik emniyetli kabin içerisinde devam edilmiştir. Tüpteki DPBS solüsyonu, biyolojik emniyetli kabin içerisinde bulunan vakum pompası (Millivac-Mini Vacuum Pump, XF54 230 50, Merck) ile uzaklaştırılmıştır. Ardından meme dokuları steril cam pastör pipetleri (084.01.002, İsolab, İstanbul) kullanılarak steril petri kaplarının (100 mm TC-treated Culture Dish, 430167, Corning®, New York, ABD) içerisine yerleştirilmiştir. Steril bistüri uçları kullanılarak yaklaşık 3 mm x 3 mm boyutlarındaki parçalara ayrılan meme dokusu örnekleri, steril cam pastör pipetleri kullanılarak 6 kuyucuklu hücre kültür tabaklarına (92006, Techno Plastic Products, TPP®, İsviçre) aktarılmıştır. Dokuların yüzeye yapışması için, hücre kültür tabakları %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde (IGO 150, Jouan) 10 dakika inkübe edilmiştir. Süre bitiminde otomatik pipet (Stripettor Plus, Corning®) ve steril pipet ucu (94005, TPP®, İsviçre) yardımıyla her bir kuyucuğun içerisine eksplant dokuların üzerini kaplayacak şekilde fetal sıgır serumu (fetal bovine serum, FBS, F9665, Sigma Aldrich) eklenmiştir. Altı kuyucuklu hücre kültür tabakları %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 1 gece inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda meme dokusu eksplantları invert mikroskop (CKX41, Olympus) altında incelenerek

kontaminasyon ve ekplant adezyonu önünden değerlendirilmiştir. Takiben, kuyucukların içerisine eklenen FBS vakum pompası ve steril cam pastör pipetleri ile uzaklaştırılmıştır. Eksplantlar 5X Penisilin-Streptomisin içeren DPBS ile 5 dakika yıkandıktan sonra solüsyon vakum pompası ve steril cam pastör pipetleri kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların içerisine 2,5 ml, %30 FBS ve 2X Penisilin-Streptomisin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, D6429, Sigma Aldrich) eklenmiştir ve 6 kuyucuklu hücre kültür tabakları %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreleri boyunca invert mikroskop altında düzenli aralıklar ile kontaminasyon varlığı, hücrelerin, hücre çıkışlarının ve hücre kültürü tabanındaki yayılma derecesinin kontrolü yapılmıştır. Hücreler gün aşırı beslenmiştir ve istenilen konfluensiye ulaştıklarında pasajlama işlemlerine başlanmıştır.

3.2.9.3. Pasajlama İşlemleri

Tripsinasyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi için, 6 kuyucuklu hücre kültür tabakları biyolojik emniyet kabinine alınmış ve hücre kültür tabaklarının içerisindeki hücre besleme medyumunu steril cam pastör pipetleri ve vakum pompası kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların içerisine otomatik pipet ve cam pastör pipetleri ile 5X Penisilin-Streptomisin içeren DPBS solüsyonundan 4-5 ml ilave edilmiştir ve kuyucuklar nazıkçe sallanarak 5 dakika boyunca yıkanmıştır. Yıkama işlemi ile hücre besleme solüsyonu içerisinde bulunan ve tripsin aktivitesini azaltabilecek maddelerin kuyucukların içerisinden uzaklaştırılması sağlanmıştır. Takiben kuyucukların içerisine 0,5 ml tripsin-EDTA solüsyonu (1109199, Biological Industries, İsrail) eklenmiştir ve solüsyonun kuyucuk tabanında yayılabilmesi için hücre kültür tabağı nazıkçe hareket ettirilmiştir. Altı kuyucuklu hücre kültür tabağı inkübatörün içerisine yerleştirilmiştir ve hücreler yaklaşık 2-3 dakika tripsin-EDTA solüsyonu ile muamele edilmiştir. Bu süre boyunca 6 kuyucuklu hücre kültür tabağı birkaç defa inkübatörden çıkarılarak invert mikroskop altında hücrelerin hücre kültür tabağı tabanından ayrılma dereceleri değerlendirilmiştir. Hücreler tabandan tamamen ayrıldıktan sonra 6 kuyucuklu hücre kültür tabağı biyolojik emniyetli kabinin içerisine yerleştirilmiştir. Otomatik pipet ve steril pipet ucu yardımıyla kuyucukların içerisine %20 FBS ve 2X Penisilin-Streptomisin içeren DMEM solüsyonundan 2 ml ilave edilmiştir ve bu şekilde tripsin aktivitesi sonlandırılmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu otomatik pipet ve steril

pipet ucu kullanılarak önceden etiketlenmiş olan 25 cm²'lik (430372, Corning®) flasklara aktarılmıştır. Yirmibeş cm²'lik flasklar, kapakları inkübatörün hava akışının gerçekleştiği deliklere bakacak şekilde ve kapaklar gevşetilerek inkübatörün içerisine yerleştirilmişlerdir. Düzenli aralıklar ile beslenen hücreler, istenilen konfluensiye ulaştıklarında 75 cm²'lik flasklarda (Becton, Dickinson and Company, BD, Franklin Lakes, New Jersey, ABD) aktarılmıştır. Bu flasklardaki hücreler yeterli konfluensiye eriştiklerinde pasajlanarak hücre süspansiyonu 2 adet 75 cm²'lik flaska paylaştırılmıştır.

3.2.9.4. Hemositometre ile Hücrelerin Sayımı

Rutin tripsinasyon işlemi elde edilen hücre süspansiyonu 50 ml'lik steril konik tabanlı santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler 1000 rpm'de 3 dakika santrifüj (BR4i, Jouan) edildikten sonra üstte kalan hücre besleme medyumunu dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır ve altta kalan hücre peletinin üzerine %10 FBS ve 2X Penisilin-Streptomisin içeren DMEM solüsyonundan eklenerek hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. Hücre süspansiyonundan 100 µl alınarak 2 ml'lik bir santrifüj tüpünün içerisine aktarılmıştır ve bunun üzerine 100 µl tripan mavisi eklenmiştir. Hemositometre ve lameller kullanmadan önce %70'lik alkol ile temizlenmiştir. Hemositometreye iyice yapışması ve hareket etmemesi için, lamellerin uç kısımları suyla hafifçe nemlendirilmiştir ve hemositometrenin üzerine yerleştirilmiştir. Mikropipet yardımı ile hücre süspansiyonu-tripan mavisi solüsyonundan alınmıştır ve sayım alanından taşmayacak şekilde lam ve lamel arasına solüsyon yüklenmiştir. Hemositometrenin merkezindeki 1 mm²'lik karenin ve buna komşuluk eden 1 mm²'lik 4 adet dış karenin içerisinde bulunan canlı hücrelerin sayımı gerçekleştirilmiştir. Sayım sırasında karelerin sol ve üst çizgilerine temas eden hücreler sayıma dahil edilirken karelerin sağ ve alt çizgilerine temas eden hücreler sayılmamıştır. 5 adet karenin içerisinde sayılan hücrelerin ortalaması alınmıştır. Elde edilen rakam dilüsyon faktörü (final hacim/hücre süspansiyonu hacmi) ve 10⁴ ile çarpılarak hücre süspansiyonunun 1 ml'sinde bulunan hücre sayısı elde edilmiştir.

3.2.9.5. Hücrelerin Karakterizasyonu

Meme dokularından elde edilen hücreler, morfolojik değerlendirme için 1. pasajları sırasında Diff Quik boyama prosedürü ile boyanmışlardır. Ek olarak, hücreler 1. pasajları sırasında anti-sitokeratin ve anti-vimentin antikorları ile boyanarak epitelyal ve mezenkimal orijinleri doğrulanmıştır. Yirmidört kuyucuklu hücre kültür tabağının kuyucuklarına 15 mm çapa sahip olan steril yuvarlak lameller (C911350, Deckgläser, Almanya) yerleştirilmiştir. 1. pasaj sırasında elde edilen hücre süspansiyonları, tabanında yuvarlak lamel bulunan kuyucuklara eklenmiştir ve 24 kuyucuklu hücre kültür tabağı %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilerek hücrelerin lamel yüzeyine yapışmaları sağlanmıştır. Süre bitiminde kuyucuklarda bulunan hücre besleme medyumunu uzaklaştırılmıştır ve kuyucuklar PBS ile 5 dakika yıkanmıştır. PBS uzaklaştırıldıktan sonra hücrelerin tespit edilebilmesi için kuyucukların içerisine -20°C'de muhafaza edilen olan metanol (65543, Fluka, Buchs, İsviçre) solüsyonundan 0,5 ml eklenmiş ve hücreler 10 dakika boyunca oda ısısında inkübe edilmiştir. Tespit işlemini takiben kuyucukların içerisinde bulunan metanol uzaklaştırılmıştır ve kuyucuklar 2x5 dakika PBS ile yıkanmıştır. Ucu kıvrılmış bir insülin iğnesi ve ince uçlu dişsiz bir pens yardımı ile kuyucuklardan çıkarılan yuvarlak lameller, hücrelerin yapıştığı yüzeyler üstte olacak şekilde lamaların üzerine yerleştirilmiştir.

3.2.9.5.1. Diff Quik Boyama

Temiz lamaların üzerine yerleştirilen yuvarlak lamellerin üzerine Diff Quik kırmızı solüsyonu (1.11956, Rapid staining of blood smear, Solution 2: colour reagent red, Merck) eklenmiştir ve hücreler 1 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Takiben, yıkama yapmaksızın solüsyon uzaklaştırılmıştır ve lamelin üzeri Diff Quik mavi solüsyon (1.11957, Hemacolor® Rapid staining of blood smear, Solution 3: colour reagent blue, Merck) ile kaplanarak 1 dakika boyanmıştır. Süre bitiminde lameller distile su ile yıkanmıştır ve saf alkol ile dehidre edilmiştir. Ksilolde berraklaştırmayı takiben temiz bir lamın üzerine bir damla entellan (1.07961, Merck) damlatılmıştır ve hücrelerin bulunduğu yüzey entellan ile temas edecek şekilde lamel ters çevrilerek yapıştırılmıştır.

3.2.9.5.2. İmmunositokimyasal Boyama

İmmunohistokimyasal boyamalar için satın alınan kitte bulunan protein bloklama solüsyonu, temiz lamaların üzerine yerleştirilmiş olan lamellerin üzerini kaplayacak şekilde uygulanmıştır ve lameller 5 dakika boyunca oda ısısında inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda protein bloklama solüsyonu yıkama yapılmaksızın uzaklaştırılmıştır. Uygun dilüsyonlarda sulandırılmış olan anti-vimentin (mouse anti-human vimentin antibody, 1:100, Sc-6260, Santa Cruz Biotechnology; rabbit anti-human vimentin antibody, 1:500, PA5-27231, Invitrogen) ve anti-sitokeratin (mouse anti-human cytokeratin antibody, 1:200, Sc-57004, Santa Cruz Biotechnology; rabbit anti-human cytokeratin antibody, 1:500, PA529609, Invitrogen) primer antikorları hücrelerin üzerine eklenmiştir ve lamalar 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Süre bitiminde primer antikorlar uzaklaştırılmıştır ve lameller 2x5 dakika PBS ile yıkanmıştır. Ardından sekonder antikor (goat anti-rabbit IgG [H+L] - HRP conjugated, 1:500, A16110, Invitrogen; fare meme fibroblastları için satın alınan kitin içeriğinde bulunan sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz kullanılmıştır) lamellerin üzerine eklenmiştir ve hücreler karanlık ortamda 1 saat boyunca sekonder antikor ile muamele edilmiştir. PBS ile 2x5 dakika yıkamanın ardından bir damla (40 µl) DAB Plus kromojen solüsyonu ile 2 ml DAB Plus substrat solüsyonu karıştırılmış ve hücreler bu solüsyon ile 3 dakika inkübe edilmiştir. Lameller 2x5 dakika distile su ile yıkanmıştır ve sonrasında çekirdek boyaması için Harris Hematoksilin solüsyonu (HHS16, Sigma Aldrich) ile 45 saniye muamele edilmiştir. Hücreler ksilolde berraklaştırıldıktan sonra temiz bir lamın üzerine bir damla entellan damlatılmıştır ve hücrelerin bulunduğu yüzey entellan ile temas edecek şekilde lamel ters çevrilerek yapıştırılmıştır.

3.2.9.6. Proliferasyon Testi

Triptaz ve kimazın bağ doku hücreleri üzerindeki olası proliferatif etkileri ticari olarak satın alınan kit (The CellTiter 96® A_{Queous} One Solution Cell Proliferation Assay, G3582, Promega, Madison, WI, Amerika) kullanılarak değerlendirilmiştir. Test, üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. CellTiter 96® A_{Queous} One solüsyonunda bulunan MTS tetrazolyum bileşiği [3-(4,5 dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum], kültüre edilen

hücreler tarafından hücre kültürü medyumunda çözünebilen renkli bir ürün olan formazana indirgenir. Bu dönüşüm, metabolik olarak aktif olan hücrelerde bulunan dehidrojenaz enzimlerince üretilen NADPH veya NADH molekülleri sayesinde gerçekleşir. Test sonunda, 490 nm dalga boyunda ölçülen formazan miktarı direkt olarak canlı ve metabolik olarak aktif olan hücrelerin sayısı ile eş değerdir.

3.2.9.6.1. Test Protokolü

Hücre proliferasyon testi üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. 96 kuyucuklu hücre kültür tabağının ilgili kuyucukları etiketlenmiştir, ardından her bir kuyucuğuna %10 FBS ve 2X Penisilin-Streptomisin içeren DMEM solüsyonu ile birlikte 5000 hücre ekilmiştir. Hücreler %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. Bu sürenin sonunda kuyucukların içerisindeki hücre besleme medyumunu steril cam pastör pipeti ve vakum pompası kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların içerisine otomatik pipet ve steril pipet uçları ile 5X Penisilin-Streptomisin içeren DPBS solüsyonundan 200 µl ilave edilmiştir ve kuyucuklar 5 dakika boyunca DPBS ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından ilgili kuyucuklara deney solüsyonlarından 100 µl eklenmiştir. Hücre kültürü deney grupları, kimyasalların verilmiş şekilleri ve dozları **Tablo 5**'te verilmiştir. Doksanaltı kuyucuklu hücre kültür tabağı %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda her bir kuyucuğa The CellTiter 96® AQueous One solüsyonundan 20 µl ilave edilmiştir ve hücre kültür tabağı inkübatörde 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her bir kuyucuğun sahip olduğu absorbans değeri ELISA mikroparka okuyucu kullanılarak (51119000, Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific) 490 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Tablo 5. Hücre kültürü grupları.

Grup No.	Triptaz	Kimaz
1. Grup	Kontrol Grubu: Kontrol grubunu oluşturan hücreler sadece %2 FBS içeren DMEM ile kültüre edilmiştir.	Kontrol Grubu: Kontrol grubunu oluşturan hücreler sadece %2 FBS içeren DMEM ile kültüre edilmiştir.
2. Grup	Deney Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan triptaz ile kültüre edilmiştir. Triptaz 100 mU/ml, 75 mU/ml ve 50 mU/ml dozlarında verilmiştir.	Deney Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan kimaz ile kültüre edilmiştir. Kimaz 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml dozlarında verilmiştir.
3. Grup	Pozitif Kontrol Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan ve 100 µM yoğunlukta olacak şekilde hazırlanan PAR-2 agonisti SLIGRL-NH ₂ ile inkübe edilmiştir.	Pozitif Kontrol Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan ve 100 µM yoğunlukta olacak şekilde hazırlanan PAR-2 agonisti SLIGRL-NH ₂ ile inkübe edilmiştir.
4. Grup	Negatif Kontrol Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan ve 100 µM yoğunlukta olacak şekilde hazırlanan FSLRY NH ₂ ile 1 saat boyunca inkübe edilmiş, takiben ortama 100 mU/ml, 75 mU/ml ve 50 mU/ml dozlarında triptaz verilmiştir.	Negatif Kontrol Grubu: Bu gruptaki hücreler %2 FBS içeren DMEM içerisinde çözündürülmüş olan ve 100 µM yoğunlukta olacak şekilde hazırlanan FSLRY NH ₂ ile 1 saat boyunca inkübe edilmiş, takiben ortama 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml dozlarında kimaz verilmiştir.

3.2.9.6.2. Proliferasyon Derecesinin Değerlendirilmesi

Kuyucuklardaki hücrelerin proliferasyon derecesinin değerlendirilebilmesi için üretici firmanın önerdiği şekliyle [(Örnek kuyucuklarında okunan absorbans değeri – Blank/boş kuyucukların absorbans değeri) / (Kontrol kuyucuklarının absorbans değeri – Blank/Boş kuyucukların absorbans değeri)] x 100 formülü kullanılmıştır. Böylece proliferasyon miktarı yüzde (%) değer olarak ifade edilmiştir.

3.2.9.7. Hidroksiprolin Ölçüm Testi

Hidroksiprolin (4-hidroksiprolin), prolin aminoasidinin post-translasyonel hidroksilasyonu ile oluşan non-proteojenik bir aminoasittir. Kollajenin ana komponenti olan hidroksiprolin, kollajenin helikal yapısının korumasını sağlar. Hidroksiprolin büyük oranda sadece kollajenin yapısında bulunduğu için hidroksiprolin düzeninin ölçülmesi, üzerinde çalışılan biyolojik örneğin kollajen içeriğinin de belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Bu nedenle triptaz ve kimazın fibroblastların kollajen sentezi üzerindeki olası etkileri, ticari olarak satın alınan ölçüm kiti (MAK008, Sigma Aldrich) kullanılarak ve üretici firmanın talimatları takip edilerek değerlendirilmiştir. Bu testte hidroksiprolin konsantrasyonu, oksitlenmiş hidroksiprolinin 4-(dimetilamino) benzaldehit (DMAB) ile reaksiyonu sonucunda oluşan ve hidroksiprolin miktarı ile eş değer olan renkli ürün oluşumu ile ölçülmektedir.

3.2.9.7.1. Örneklerin Hazırlanması

Doksanaltı kuyucuklu hücre kültür tabağının ilgili kuyucukları etiketlenmiştir, ardından her bir kuyucuğuna %10 FBS ve 2X Penisilin-Streptomisin içeren DMEM solüsyonu ile birlikte 5000 hücre ekilmiştir. Hücreler %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. Bu sürenin sonunda kuyucukların içerisindeki hücre besleme medyumu steril cam pastör pipeti ve vakum pompası kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların içerisine otomatik pipet ve steril pipet uçları ile 5X Penisilin-Streptomisin içeren DPBS solüsyonundan 200 µl ilave edilmiştir ve kuyucuklar 5 dakika boyunca DPBS ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından ilgili kuyucuklara deney solüsyonlarından 100 µl eklenmiştir. Hidroksiprolin ölçüm testinin deney grupları, kimyasalların veriliş şekilleri ve dozları **Tablo 5**'te verilmiştir. 96 kuyucuklu hücre kültür tabağı %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 24

saat boyunca inkübe edilmiştir. Politetrafloroetilen (polytetrafluoroethylene, PTFE) kaplı kapağa sahip ve basınca dayanıklı olan polipropilen viallerin içerisine her bir kuyucukta bulunan hücreler ve hücre kültür medyumundan 100 µl koyulmuştur. Viallerin içerisine 100 µl konsantre (%37'lik, 12M) HCl eklenmiştir, kapaklar sıkıca kapatılmıştır ve vialler 120°C'lik etüvde 3 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda vialler 10.000 x g'de 3 dakika santrifüj edilmiştir ve süpernatantların her birinden 40 µl alınarak 96 kuyucuklu hücre kültür tabağına transfer edilmiştir.

3.2.9.7.2. Test Solüsyonlarının Hazırlanması

Kloramin T/oksidasyon solüsyonu karışımı hazırlanırken, her bir kuyucuk için 6 µl konsantre Kloramin T solüsyonu ile 94 µl oksidasyon solüsyonu karıştırılmıştır. Dilüe DMAB solüsyonu hazırlanırken, her bir kuyucuk için 50 µl konsantre DMAB solüsyonuna 50 µl perklorik asit/izopropil alkol solüsyonu eklenmiştir.

3.2.9.7.3. Standart Kuyucuklarının Hazırlanması

Konsantrasyonu 1 mg/ml olan hidroksiprolin standart solüsyonundan 10 µl alınmıştır ve üzerine 90 µl distile su ilave edilerek 0,1 mg/ml'lik bir standart solüsyonu hazırlanmıştır. Standart kuyucuklarına 0,1 mg/ml'lik standart solüsyonundan 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 µl eklenerek içerisinde sırası ile 0 (boş, blank), 0,2 0,4 0,6 0,8 ve 1 µg standart bulunan standart kuyucukları elde edilmiştir.

3.2.9.7.4. Test Protokolü

- Örneklerin HCl ile hidrolizasyonunu takiben santrifüj işlemi ile elde edilen süpernatantlardan 50 µl alınarak örnek kuyucuklarının içerisine transfer edilmiştir.
- Örnek kuyucuklarını evapore etmek için, 96 kuyucuklu plaka 60°C'de tutulmuştur.
- Standart ve örnek kuyucuklarının içerisine 100 µl kloramin T/oksidasyon solüsyonu karışımı eklenmiştir ve 96 kuyucuklu plaka oda ısısında 5 dakika inkübe edilmiştir.
- Standart ve örnek kuyucuklarının içerisine 100 µl dilüe DMAB solüsyonu eklenmiştir ve 96 kuyucuklu plaka 60°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuğun sahip olduğu absorbans değeri ELISA mikropilaka okuyucu (51119000, Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific) kullanılarak 560 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.2.9.7.5. Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması

Örnek ve standart kuyucuklarında okunan absorbands değerlerinden boş (blank) kuyucuklarında ölçülen absorbands değerlerinin ortalaması çıkarılmıştır. Takiben, standart kuyucuklarında okunan absorbands değerleri kullanılarak bir çizgisel grafik oluşturulmuştur ve grafiğe ilişkin eğilim çizgisi denklemi ile R^2 değeri hesaplanmıştır. Elde edilen eğilim çizgisi denklemi kullanılarak tüm kuyucuklarda ölçülen absorbands değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Standart kuyucuklarında okunan absorbands değerlerine karşılık gelen hidroksiprolin değerleri baz alınarak her bir kuyucukta bulunan hidroksiprolin miktarı hesaplanmıştır. Son olarak, eğilim çizgisi denklemi kullanılarak her bir örnek kuyucuğu için hesaplanan hidroksiprolin değeri ile kuyucuklara eklenen örneğin hacmi oranlanarak (40 µl) her bir örnekte bulunan hidroksiprolin miktarı µg/ml cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.10. Mikrobiyolojik Analizler

İnek meme dokusu ve süt örnekleri bakteriyolojik inceleme için Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teslim edilmiştir ve etken izolasyon ve identifikasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerden bir öze dolusu alınarak kanlı agara ekimleri yapılmıştır ve petriler 37°C'de 24-72 saat boyunca koloniler görülene kadar inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda eğer petrilerde çok karışık üremeler varsa, saf koloni elde edebilmek ve koloni çeşitlerini daha rahat değerlendirmek adına koloniler bireysel olarak alınarak yeni birer kanlı agara pasajlanmıştır. Oluşan koloniler makroskobik olarak değerlendirildikten sonra görülebilen koloni çeşidi kadar gram boyama yapılmıştır ve etkenler mikroskobik olarak incelenmiştir. Her koloni saf bir şekilde elde edildikten sonra Phoenix cihazının kullanım kılavuzunda anlatıldığı şekilde, etkenlerin gram boyanma özelliklerine göre farklı Phoenix panelleri ile değerlendirmeler yapılmıştır (BD Phoenix™ Automated Microbiology System, BD Diagnostics, Becton, Dickinson and Company). Kısaca özetlenecek olursa, gram (+) koloniler için PMIC/ID, gram (-) koloniler için ise NMIC/ID panelleri kullanılmıştır. Paneller, inokülasyon portları üstte ve ped altta olacak şekilde inokülasyon istasyonuna yerleştirilmiştir. Aseptik koşullarda steril öze yardımı ile alınan koloniler tüplere aktarılmıştır, 4,5 ml Phoenix ID besiyeri içinde süspanse edilmiştir ve takiben BD PhoenixSpec nefelometrede McFarland değeri

ölçülmüştür. Test için istenilen inokulum yoğunluğu 0,5 McFarland değeri olduğu için süspansiyon bu yoğunluğa göre ayarlanmıştır. Daha sonra, Phoenix AST besiyeri tüpüne (8,0 ml) bir damla AST gösterge solüsyonu eklenmiştir, yavaşça alt üst edilerek karıştırılmıştır. ID tüpünden 25 µL bakteri süspansiyonu alınarak AST besiyeri tüpüne aktarılmıştır ve tekrar yavaşça alt üst edilmiştir. ID tüp inokulumu, panelin ID tarafındaki (51 kuyucuklu taraf) dolum portuna, AST besiyeri inokulumu ise panelin AST tarafındaki (85 kuyucuklu taraf) dolum portuna dökülmüştür. Panel hareket ettirilmeden sıvının aşağı doğru akması beklenmiştir. Dolum portları kontrol edilerek panel kapakları kapatılmıştır. Ertesi gün cihazdan paneller çıkarılıp sonuçlar cihaz ekranından okunmuştur.

3.2.11. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics 20 programı ile gerçekleştirilmiştir. Kısaca, verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile ortaya konmuştur. Shapiro-Wilk testi ile elde edilen değerin (p değeri) 0,05 anlamlılık düzeyinden büyük olması, verilerin normal dağılıma sahip olması şeklinde yorumlanmıştır. Normal dağılım gösteren bağımsız 2 grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olup olmadığının araştırılması için t-testi uygulanmıştır. Normal dağılım gösteren 2’den fazla bağımsız grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunup bulunmadığının test edilmesi için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılmıştır. Tek yönlü varyans analizinin uygulandığı gruplarda varyanslar homojen dağılım göstermiyorsa aynı grupları test etmek için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olup olmadığını tespit etmek için de Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Bu testlerin sonucunda gruplar arasında anlamlı bir farklılığın tespit edildiği durumlarda ($p < 0,05$) farklılığın hangi gruplardan ileri geldiğini bulabilmek için Post-Hoc Bonferroni One-way ANOVA testi ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. Ayrıca değişkenler arasında bir ilişki olup olmadığını, var ise bu ilişkinin pozitif mi yoksa negatif yönde mi olduğunu ortaya koymak için normal dağılım gösteren gruplarda Pearson korelasyon analizi, normal dağılıma sahip olmayan gruplarda ise Spearman korelasyon analizi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik İnceleme

4.1.1. İnek Meme Dokularında ve Süt Numunelerinde Gözlenen Makroskopik Değişiklikler

İnek meme bezlerinin makroskopik görünümü, hayvanların laktasyon durumu, yangının dağılımı ve yangının şiddetine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, sadece sınırlı sayıda lobüler tutulumun şekillendiği fokal veya multifokal lezyonlar ile birlikte hafif şiddetli mastitis olgularının makroskopik görünümü, sağlıklı meme bezleri ile son derece benzerlik göstermektedir. Bazı kronik mastitis olgularının makroskopik bulguları, involüsyon dönemi içerisinde bulunan inaktif meme bezleri ile son derece örtüşmektedir. Bu nedenle, sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme bezlerine ait olan makroskopik bulgular, ilgili meme dokularına ait olan mikrobiyolojik analiz ve mikroskopik değerlendirme sonuçları da göz önünde bulundurularak ifade edilmiştir.

Sağlıklı ve fonksiyonel olarak aktif olan meme bezlerinin yumuşak bir kıvama sahip olduğu; kesit yüzlerinin ise pembe-krem renge ve gelişmiş bir lobüler yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bezlerin kesit yüzlerinden boz-beyazdan açık kreme kadar değişen bir renge ve homojen bir yapıya sahip olan süt salgısının geldiği görülmüştür.

Laktasyon dönemi içerisinde olan ve akut mastitise sahip olan meme bezlerinin kesit yüzlerinin yer yer hiperemik bir görünüme sahip olduğu dikkati çekmiştir. Şiddetli olgularda, özellikle kanal sistemi içerisinde nekrotik değişikliklerin şekillendiği tespit edilmiştir. Meme bezlerinden elde edilen süt örneklerinin yer yer pıhtılar içerdiği, normalden daha sulu bir kıvama veya daha farklı bir renge sahip olduğu saptanmıştır.

Kronik mastitise sahip olan meme bezlerinin ise normalden daha sert bir kıvama sahip olduğu, interlobüler septal dokunun değişen derecede kalınlaştığı, bazı olgularda ise parenşim içerisinde değişen şiddette fibrotik alanların bulunduğu gözlenmiştir. Şiddetli olgularda meme bezi boyutlarında da azalmanın şekillendiği görülmüştür. İlgili meme dokularından elde edilen süt numunelerinin karakteristik özelliklerini kaybettiği, bazı olgularda ise süt üretiminin tamamen durduğu saptanmıştır.

4.1.2. Fare Meme Dokularında Gözlenen Makroskopik Değişiklikler

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme bezlerinin yumuşak bir kıvama, açık pembe-krem renge sahip olduğu, kesit yüzünden boz-beyaz renkteki süt salgısının geldiği ve meme bezi parenşimi içerisinde meme lenf yumrusunun bulunduğu gözlenmiştir.

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme bezlerinin, akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme bezlerine oranla daha elastik bir kıvama ve daha küçük boyutlara sahip olduğu dikkati çekmiştir. Bu meme bezlerinin açık pembe-krem renge sahip olduğu, kesit yüzlerinde süt salgısının bulunmadığı ve meme bezi parenşimi içerisinde meme lenf yumrusunun bulunduğu görülmüştür.

4.2. Histopatolojik İnceleme

4.2.1. İnek Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler

Örneklenen inek meme dokularından 119 tanesinin (119/264, %45,7) sağlıklı olduğu tespit edilmiştir (**Resim 1** ve **2**). İneklere ait sağlıklı meme dokularının mikroskopik incelemesinde bu örneklerin laktasyondaki veya involüsyona uğramış bir meme bezinin histolojik özelliklerini taşıdığı gözlenmiştir. Sonuçların standardize edilebilmesi açısından çalışma kapsamına fonksiyonel olarak aktif olan meme bezleri dahil edilmiştir.

Laktasyon dönemindeki sağlıklı meme dokularının çok sayıda alveolden, akıtıcı kanallardan ve az miktarda interstisyel bağ dokudan oluştuğu görülmüştür (**Resim 7**). Alveol epitel hücrelerinin sitoplazmaları içerisinde laktasyon ile ilişkili salgı ürünlerinin ve lipid damlacıkları bulunduğu; bu hücrelerin genişleyen sitoplazmaları nedeni ile alveol lümenine doğru çıkıntı yaptıkları gözlenmiştir. Sitoplazmik salgı ürünü ve lipid damlacıkları içermeyen hücrelerin daha kübik bir morfolojiye sahip olduğu görülmüştür. Alveol ve kanal lümenlerinin son derece genişlediği ve içerisinde homojen ve yer yer granüler bir yapıya sahip olan, parlak eozinofilik-bazofilik renkte boyanma özelliği gösteren ve lipid damlacıkları içeren salgı materyallerinin bulunduğu gözlenmiştir.

Örneklenen meme dokularının 101 tanesinde (101/264, %38) akut mastitis teşhis edilmiştir (**Resim 3** ve **4**). Akut mastitisli inek meme dokularının mikroskopik

incelemesinde (**Resim 8**) kan damarlarının hiperemik olduğu, interstisyel bağ doku bileşenlerinin ödem nedeniyle birbirlerinden uzaklaştığı ve yer yer fibrin çıkışlarının şekillendiğı gözlenmiştir. Alveol ve kanal lümenlerinde ve interstisyel alanda değışen şiddette nötrofil lökosit infiltrasyonlarının bulunduğı saptanmıştır. Alveol ve kanalları oluşturan epitel hücrelerinde yer yer vakuoler dejenerasyonun şekillendiğı; bazı sahalarda ise nekrotik epitel hücrelerinin lümene döküldüğü görülmüştür. Bazı vakalarda interstisyel alanda ve lümenlerin içerisinde basiller veya kokoid tarzdaki serbest veya fagosit edilmiş bakterilere ya da bunların oluşturduğu kolonilere rastlanmıştır. Bazı olgularda değışen büyüklükteki nekrotik ve hemorajik sahaların bulunduğı görülmüştür. Ek olarak, bazı alveol ve kanalların lümeninde bazofilik boyanma özelliğı gösteren, konsantre veya lamellar yapıdaki korpora amilasea birikimlerinin bulunduğı gözlenmiştir.

Meme dokularının 44 tanesinde (44/264, %16,6) kronik mastitisin bulunduğı tespit edilmiştir (**Resim 5** ve **6**). Kronik mastitisli meme dokularının mikroskopik incelemesinde (**Resim 9**) interalveoler ve interlobüler septal dokunun fibrosis nedeni ile değışen şiddette kalınlaştığı görülmüştür. Bazı sahalarda fibröz bağ dokunun alveollerin ve kanalların yerini aldığı gözlenmiştir. İnterstisyel alanda çoğunluğunu lenfosit, plazma hücresi ve makrofajların oluşturduğu şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları ile birlikte daha az sayıda nötrofil lökosit çıkışlarının olduğı görülmüştür. Bazı vakalarda interstisyel alanda plazma hücrelerinin ve lenfositlerin oluşturduğu lenfoid foliküllerin bulunduğı saptanmıştır. Alveol ve kanal epitel hücrelerinin yer yer lümene döküldüğü ve bazı sahalarda ise epitel hücrelerinin hiperplastik bir hal aldığı gözlenmiştir. Alveol ve kanal lümenleri içerisinde dökülmüş epitel hücrelerinin, yangı hücrelerinin, bakteri kümelerinin, korpora amilasea birikimlerinin ve yoğun eozinofilik boyanma özelliğı gösteren kalıntı salgı materyallerinin bulunduğı görülmüştür.

Belirtilen özelliklere ek olarak, involüsyona uğramış olan meme bezlerinde lobüler ve asiner yapıların korunduğı ancak asiner yapıların ve lümen çaplarının son derece daraldığı, az sayıda lümende kalıntı salgı materyallerinin bulunduğı ve en önemlisi de kronik yangısal reaksiyondan bağımsız bir şekilde interalveoler ve interlobüler septal dokunun belirgin derecede kalınlaştığı görülmüştür.

4.2.2. Fare Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler

4.2.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarından Elde Edilen Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler

Akut mastitis grubundan elde edilen meme dokularının mikroskopik incelemesinde bu örneklerin laktasyondaki bir meme bezinin histolojik özelliklerine sahip olduğu görülmüştür. İnek meme dokuları ile benzer şekilde, meme dokusunun son derece gelişmiş çok sayıdaki alveolden, akıtıcı kanaldan ve az miktarda interstisyel alandan oluştuğu gözlenmiştir (**Resim 12**). Alveol epitel hücrelerinin sitoplazmalarının içerisinde salgı materyalleri ve lipid damlacıkları dikkati çekmiştir. Salgı materyalleri ve lipid damlacıkları nedeni ile genişleyen epitel hücre sitoplazmalarının alveol lümenlerine doğru çıkıntı yaptığı gözlenmiştir. Salgı ürünü içermeyen epitel hücrelerinin daha kübik bir morfolojiye sahip olduğu görülmüştür. Alveol ve akıtıcı kanal lümenlerinin eozinofilik boyanma özelliği gösteren ve lipid damlacıkları içeren salgı materyalleri nedeni ile genişlediği dikkati çekmiştir (**Resim 13 ve 14**).

Kontrol ve PBS grubunu oluşturan hayvanlardan alınan meme dokuları yukarıda bahsedilen histolojik özellikleri taşıdığı tespit edilmiş ve PBS' in ve enjeksiyon işleminin meme dokusunda akut yangısal bir reaksiyona yol açmadığı saptanmıştır (**Resim 15-18**). LPS grubundaki tüm hayvanlara ait meme dokularının mikroskopik incelemesinde alveollerin ve kanalların salgı materyalleri ile dolu olduğu dikkati çekmiştir (**Resim 19**). İnterstisyel alanda, alveol ve akıtıcı kanal lümenleri içerisinde çok sayıda nötrofil lökosit varlığı gözlenmiştir (**Resim 20-24**). Kan damarlarının hiperemik ve dokunun değişen derecede ödemli olduğu görülmüştür (**Resim 19 ve 20**). Bu bulguların ışığında, LPS grubundaki hayvanlarda akut mastitisin başarılı bir şekilde indüklendiği tespit edilmiştir. IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarına ait dokuların mikroskopik incelemesinde, akut yangı ile ilişkili herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (**Resim 25-29**). Böylece IP ve IM yollarla kromolin sodyum uygulamasının meme dokusunda bir tahribat meydana getirmediği, akut yangıyı indüklediği ve kullanımının güvenli olduğu ortaya konulmuştur. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında da kan damarlarının hiperemik olduğu, bağ dokuya ait bileşenlerin değişen derecede birbirlerinden uzaklaştığı

(ödem); interstisyel dokuda, alveol ve kanal lümenleri içerisinde nötrofil lökositlerin varlığı gözlenmiştir (**Resim 30-32**). IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarından elde edilen meme dokularında bazı sahalarda yangının derecesinin, yangının dağılımının, interstisyel dokuya infiltre olan veya lümenlerde bulunan yangı hücrelerinin sayısının azaldığı dikkati çekmiştir. DEX + LPS grubundaki farelerin meme dokularının mikroskopik incelemesinde akut yangısal değişikliklerin belirgin derecede azaldığı gözlenmiştir (**Resim 33 ve 34**). LPS grubunda yangı neredeyse tüm alveol ve kanallar boyunca son derece yaygın bir dağılım gösterse de DEX+LPS grubunda daha sınırlı alanlarda tutulumun gerçekleştiği dikkati çekmiştir.

4.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarından Elde Edilen Meme Dokularında Gözlenen Histopatolojik Değişiklikler

Meme dokusunun yoğun adipoz doku içerisine gömülmüş olan birkaç alveol ve kanal topluluklarından meydana geldiği gözlenmiştir (**Resim 36**). Kronik ve akut yangısal değişikliklerden bağımsız bir şekilde, alveol ve kanalların çevresini saran bağ doku ipliklerinin miktarının arttığı ve bunların çevresinde yer yer hafif şiddetli nötrofil lökosit, makrofaj ve plazma hücresi infiltrasyonlarının bulunduğu dikkati çekmiştir (**Resim 37**). Alveol sayısında belirgin bir azalmanın şekillendiği, lümenal alanın önemli ölçüde daraldığı, yer yer lümenlerin içerisinde yoğun bazofilik renkte boyanan ve homojen bir yapıya sahip olan kalıntı salgı materyallerinin bulunduğu görülmüştür (**Resim 35-37**).

Kontrol ve PBS gruplardan (**Resim 38-40**) elde edilen meme dokularının yukarıda bahsedilen histolojik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. LPS grubunda alveol ve kanalların çevresinde bulunan bağ doku miktarının şiddetle arttığı, bazı sahalarda meme dokusunun yerini tamamen fibröz bağ dokunun aldığı, interstisyel alanda ve yer yer lümenlerde çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu hafif şiddetli-şiddetli hücre infiltrasyonlarının bulunduğu dikkati çekmiştir (**Resim 41-43**). Bu bulguların ışığında, LPS grubundaki tüm hayvanlarda kronik mastitisin başarılı bir şekilde indüklendiği tespit edilmiştir. IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarından elde edilen meme dokularının mikroskopik incelemesinde kromolin sodyum enjeksiyonunun meme dokularında yangısal değişiklikleri indüklediği tespit edilmiştir (**Resim 44-46**). Kromolin sodyum uygulamasının kronik mastitisin

indüklendiği meme dokularında yangının ve fibrozisin şiddetini azalttığı gözlenmiştir. LPS grubu ile kıyaslandığında, IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarından elde edilen meme dokularında hücre infiltrasyonlarının şiddetinin hafiflediği, alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresindeki bağ doku miktarının belirgin ölçüde azaldığı dikkati çekmiştir (**Resim 47-52**).

4.3. Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

4.3.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

Mast hücrelerinin sağlıklı ve yangılı meme dokularında kan ve lenf damarlarının çevresinde, interstisyel alanda, alveollerin ve kanalların çevresinde yerleşim gösterdikleri görülmüştür (**Resim 53-55**). Sağlıklı meme dokularında yerleşim gösteren ortalama mast hücre sayısı 4,14 olarak bulunmuştur. Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, mast hücre sayısının yangılı meme dokularında artış gösterdiği dikkati çekmiştir. Akut mastitisli meme dokularında ortalama mast hücre sayısının 10,05 olduğu ve sağlıklı olanlar ile kıyaslandığında mast hücre sayısında 2,42 katlık bir artışın şekillendiği görülmüştür ($p<0,001$). Kronik mastitis grubunun ortalama mast hücre sayısının 32,7 olduğu ve sağlıklı meme dokularına kıyasla mast hücre sayısının 7,9 kat arttığı tespit edilmiştir ($p<0,001$). Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme dokularında yerleşim gösteren mast hücrelerinin sayısı ve kat artışları **Tablo 6**'da, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 7**'de gösterilmiştir.

Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, granüle ve degranüle mast hücre sayılarının yangılı meme dokularında artış gösterdiği dikkati çekmiştir. Sağlıklı meme dokularında ortalama granüle mast hücre sayısı 3,18 iken bu rakamın akut ve kronik mastitisli meme dokularında sırası ile 7,61 ve 25,87 olduğu bulunmuştur. Yangılı meme dokularında şekillenen bu artış, istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur (**Tablo 7**). Degranüle mast hücrelerinin sayısının yangılı meme dokularında arttığı gözlenmiştir. Sağlıklı ve akut mastitisli meme dokularında yerleşim gösteren ortalama degranüle mast hücre sayısının sırası ile 0,96 ve 2,44 olduğu tespit edilmiştir ($p: 0,001$). Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, kronik mastitisli meme dokularında (6,87) yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayısının 7,15 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Tablo 6. İnek meme dokularında yerleşim gösteren ortalama granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).

Gruplar	Granüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Degranüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Toplam Mast Hücre Sayısı (ka)
Sağlıklı	3,18 (1)	0,96 (1)	4,14 (1)
Akut Mastitis	7,61 (2,39)	2,44 (5,54)	10,05 (2,42)
Kronik Mastitis	25,87 (8,13)	6,87 (7,15)	32,7 (7,9)

Tablo 7. Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme dokularından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	<i>p</i> Değerleri		
	Sağlıklı-Akut Mastitisli Meme Dokuları	Akut ve Kronik Mastitisli Meme dokuları	Sağlıklı ve Kronik Mastitisli Meme Dokuları
Granüle Mast Hücre Sayısı	<0,001*	<0,001*	<0,001*
Degranüle Mast Hücre Sayısı	0,001*	<0,001*	<0,001*
Toplam Mast Hücre Sayısı	<0,001*	<0,001*	<0,001*

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.3.2. Fare Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

4.3.2.1. Akut Mastitis Modeli ve Mast Hücreleri

4.3.2.1.1. Akut Mastitis Modeli Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

Mast hücrelerinin dermal ve derialtı bağ doku iplikleri arasında, yağ doku içerisinde, kan ve lenf damarlarının çevresinde, alveollerin ve kanalların arasında ve meme lenf yumrularında yerleşim gösterdikleri görülmüştür (**Resim 56, 57 ve 67**). Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları **Tablo 8**'te, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 9-11**'de gösterilmiştir. Kontrol ve PBS (**Resim 58 ve 59**) grupları arasında granüle (*p*: 0,195), degranüle (*p*: 0,975) ve toplam mast hücre sayıları (*p*: 0,359) bakımından önemli bir farklılık tespit edilememiştir (**Tablo 8**). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları sırası ile 2,5; 1,27 ve 3,77 iken PBS grubunda bu değerler 2,03; 1,37 ve 3,4 olarak bulunmuştur.

Kromolin sodyum uygulamasının meme dokusunda yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayısında önemli azalmaya neden olduğu saptanmıştır (**Resim 60 ve 61**). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayısı 1,27 iken IP Kromolin sodyum grubunda bu sayı 0,63

olarak bulunmuştur. IP Kromolin sodyum grubunda şekillenen bu azalma istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur ($p: 0,008$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, IM kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı meme dokularında degranüle mast hücre sayısında (0,83) bir azalma meydana gelse de bu düşüşün istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,174$). PBS (2,03), IM Kromolin (2,17) ve IP Kromolin (2,67) gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı ortaya konmuştur (PBS-IM Kromolin grupları için $p: 0,872$; PBS-IP Kromolin grupları için $p: 0,308$). Benzer şekilde. PBS (3,4), IM Kromolin (3,00) ve IP Kromolin (3,30) gruplarının toplam mast hücre sayıları arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir (PBS-IM Kromolin grupları için $p: 0,389$; PBS-IP Kromolin grupları için $p: 0,586$). PBS grubu (1,37) ile karşılaştırıldığında, IM Kromolin (0,83) grubunun degranüle mast hücre sayısında bir azalma şekillense de istatistiksel analizler bu düşüşün anlamlı olmadığını ortaya koymuştur ($p: 0,164$). Buna karşılık olarak, IP kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı meme dokularında (0,63) yerleşim gösteren degranüle mast hücrelerinin PBS grubuna (1,37) kıyasla azaldığı ve bu düşüşün anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p: 0,007$).

Tek başına IP ve IM kromolin sodyum verilen gruplar arasında granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları arasında bir farklılığın bulunmadığı ortaya konmuştur. (granüle mast hücre sayısı için $p: 0,282$; degranüle mast hücre sayısı için $p: 0,169$; toplam mast hücre sayısı için $p: 0,855$).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında mast hücre sayısının önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir (**Resim 62** ve **63**). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayısı 3,24 iken LPS grubunda bu sayının 9,74'e yükseldiği tespit edilmiştir ve mast hücre sayısında gözlenen 2,58 katlık artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$). Benzer şekilde, kontrol grubuna kıyasla LPS grubunun granüle ve degranüle mast hücre sayısında da anlamlı bir artışın şekillendiği gözlenmiştir (granüle ve degranüle mast hücre sayısı için $p < 0,001$). LPS grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle ve degranüle mast hücre sayıları sırası ile 5,02 ve 4,72 iken kontrol grubunda bu sayılar 2,5 ve 1,27 sırası ile olarak bulunmuştur. Ek olarak, LPS grubunun granüle, degranüle ve toplam mast

hücre sayısında PBS, IP Kromolin ve IM Kromolin gruplarına oranla önemli bir artış şekillenmiştir (**Tablo 8-11**).

Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısında belirgin bir azalmanın şekillendiği görülmüştür (**Resim 64** ve **65**). LPS grubunda ortalama degranüle mast hücre sayısı 4,72 iken bu sayının IM Kromolin + LPS grubunda 0,91 ve IP Kromolin + LPS grubunda 0,98 olduğu görülmüştür. Kromolin sodyum uygulamasını takiben LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bu gruplarda degranüle mast hücre sayısında şekillenen azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu bulunmuştur (IM Kromolin + LPS grubu ve IP Kromolin + LPS grubu için $p < 0,001$). Benzer şekilde, IM Kromolin + LPS (4,80) ve IP Kromolin + LPS (4,68) gruplarında granüle mast hücre sayısının LPS (5,02) grubuna kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,001$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,002$). Ek olarak, IP Kromolin + LPS ve IM Kromolin + LPS grupları arasında granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (granüle mast hücre sayısı için $p: 0,335$; degranüle mast hücre sayısı için $p: 0,354$; toplam mast hücre sayısı için $p: 0,335$).

DEX+LPS grubu ile LPS grubu karşılaştırıldığında, deksametazon uygulamasının granüle ve degranüle mast hücre sayısında önemli bir azalmaya yol açtığı görülmüştür (**Resim 66**). Granüle ve degranüle mast hücre sayıları DEX+LPS grubunda sırası ile 3,17 ve 1,73 iken LPS grubunda 5,02 ve 4,72 olarak bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda DEX + LPS grubunda şekillenen bu azalmanın anlamlı olduğu tespit edilmiştir (granüle ve degranüle mast hücre sayıları için $p < 0,001$).

IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS grupları, DEX + LPS grubu ile karşılaştırıldığında, degranüle mast hücre sayılarının kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı gruplarda belirgin derecede azaldığı görülmüştür. DEX + LPS grubunda sayılan ortalama degranüle mast hücre sayısı 1,73 iken bu sayının IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında sırası ile 0,91 ve 0,98 olduğu tespit edilmiştir. Kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bu gruplarda meydana gelen azalma, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. (IM Kromolin + LPS grubu için $p < 0,001$;

IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,003$). Bu üç grup arasında granüle ve toplam mast hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (**Tablo 9** ve **11**).

Tablo 8. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		Granüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Degranüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Toplam Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	2,5 (1)	1,27 (1)	3,77 (1)
2. Grup	PBS Grubu	2,03 (0,81)	1,37 (1,08)	3,4 (0,90)
3. Grup	LPS Grubu	5,02 (2)	4,72 (3,72)	9,74 (2,58)
4.1. Grup	IP Kromolin	2,67 (1,07)	0,63 (0,5)	3,30 (0,86)
4.2. Grup	IM Kromolin	2,17 (0,87)	0,83 (0,65)	3,00 (0,80)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	3,82 (1,53)	0,91 (0,72)	4,80 (1,27)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	3,65 (1,46)	0,98 (0,77)	4,68 (1,24)
7. Grup	DEX + LPS grubu	3,17 (1,27)	1,73 (1,36)	4,90 (1,30)

Tablo 9. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,915	<0,001*	0,964	0,137	0,284	0,137	0,915
2. Grup	0,195	-	<0,001*	0,308	0,872	0,021*	0,006*	0,266
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	0,001*	0,002*	<0,001*
4.1. Grup	0,964	0,308	<0,001*	-	0,282	0,277	0,128	0,879
4.2. Grup	0,137	0,872	<0,001	0,282	-	0,016*	0,004*	0,177
5. Grup	0,284	0,021*	0,001*	0,277	0,016*	-	0,335	0,329
6. Grup	0,137	0,006*	0,002*	0,128	0,004*	0,335	-	0,148
7. Grup	0,915	0,266	<0,001*	0,879	0,177	0,329	0,148	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

Tablo 10. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,975	<0,001*	0,008*	0,174	0,027*	0,137	0,233
2. Grup	0,975	-	<0,001*	0,007*	0,164	0,022*	0,129	0,262
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,008*	0,007*	<0,001*	-	0,169	0,550	0,141	<0,001*
4.2. Grup	0,174	0,164	<0,001*	0,169	-	0,384	0,975	0,012*
5. Grup	0,027*	0,022*	<0,001*	0,550	0,384	-	0,354	<0,001*
6. Grup	0,137	0,129	<0,001*	0,141	0,975	0,354	-	0,003*
7. Grup	0,233	0,262	<0,001*	<0,001*	0,012*	<0,001*	0,003*	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

Tablo 11. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,359	<0,001*	0,215	0,070	0,824	0,423	0,634
2. Grup	0,359	-	<0,001*	0,586	0,389	0,60	0,104	0,266
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001	<0,001*
4.1. Grup	0,215	0,586	<0,001*	-	0,855	0,284	0,052	0,142
4.2. Grup	0,07	0,389	<0,001*	0,855	-	0,184	0,012*	0,066
5. Grup	0,824	0,60	<0,001*	0,284	0,184	-	0,335	0,630
6. Grup	0,423	0,104	<0,001*	0,052	0,012*	0,335	-	0,769
7. Grup	0,634	0,266	<0,001*	0,142	0,066	0,630	0,769	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğu ifade etmektedir.

4.3.2.1.2. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Lenf Yumrularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

Akut mastitis modeli gruplarında meme lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayıları **Tablo 12**'de, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 13**'te gösterilmiştir. Kontrol ve PBS gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayılarının sırası ile 3,4 ve 3,2 olduğu tespit edilmiştir ve bu iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (*p*: 0,796) (**Resim 67-70**). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, LPS grubundaki meme dokularına ait olan lenf yumrusu kesitlerinde, medullar sinuslara infiltre olan mast hücre sayısında ciddi bir artışın şekillendiği gözlenmiştir (**Resim 71-73**). LPS grubunda medullar sinuslara infiltre olan mast hücre sayısının kontrol grubuna kıyasla 6,88 kat artış göstererek 23,4'e ulaştığı tespit edilmiştir. LPS grubunda gözlenen bu artışın istatistiksel açıdan da önemli olduğu ortaya konmuştur (*p*<0,001). Kontrol grubundaki mast hücre sayısı ile (3,4) ile IP Kromolin (4,46) ve IM Kromolin (7,5) grupları arasında medullar sinuslara infiltre olan mast hücre sayısı bakımından anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (IP Kromolin grubu için *p*: 0,693; IM Kromolin grubu için *p*: 0,055) (**Resim 74 ve 75**). Benzer şekilde, IM Kromolin (7,5) ve IP Kromolin (4,46) grupları arasında da istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın bulunmadığı görülmüştür (*p*: 0,147).

LPS grubundaki ortalama mast hücre sayısı (23,4) ile kıyaslandığında, IM Kromolin + LPS grubundan (18,10) elde edilen meme dokularında medullar sinuslara infiltre olan mast hücrelerinin sayısında bir azalma şekillense de istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (*p*: 0,087) (**Resim 76**). IP Kromolin + LPS grubunda (12,02) ise infiltre olan mast hücre sayısının LPS grubuna (18,10) kıyasla önemli

ölçüde azaldığı gözlenmiştir ($p: 0,001$) (**Resim 77**). Ek olarak, DEX + LPS grubunda medullar sinüsler infiltrat olan mast hücrelerinin sayısı (7,75), LPS ile akut mastitisin indüklendiği gruba kıyasla (23,4) önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,001$) (**Resim 78**).

Tablo 12. Akut mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinüslerine infiltrat olan mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		Medullar Sinüsler İnfiltre Olan Mast Hücreleri (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	3,4 (1)
2. Grup	PBS Grubu	3,2 (0,94)
3. Grup	LPS Grubu	23,4 (6,88)
4.1. Grup	IP Kromolin Grubu	4,46 (1,31)
4.2. Grup	IM Kromolin Grubu	7,5 (2,20)
5. Grup	IM Kromolin + LPS Grubu	18,10 (5,32)
6. Grup	IP Kromolin + LPS Grubu	12,02 (3,54)
7. Grup	DEX + LPS Grubu	7,75 (2,28)

Tablo 13. Akut mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinüslerine infiltrat olan mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,796	<0,001*	0,693	0,055	0,002*	0,002*	0,230
2. Grup	0,796	-	<0,001*	0,563	0,028*	0,001*	0,001*	0,194
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	0,087	0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,693	0,563	<0,001*	-	0,147	0,003*	0,004*	0,338
4.2. Grup	0,055	0,028*	<0,001*	0,147	-	0,019*	0,108	0,527
5. Grup	0,002*	0,001*	0,087	0,003*	0,019*	-	0,234	0,005*
6. Grup	0,002*	0,001*	0,001*	0,004*	0,108	0,234	-	0,006*
7. Grup	0,230	0,194	<0,001*	0,338	0,527	0,005*	0,006*	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.3.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

4.3.2.2.1. Kronik Mastitis Modeli Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

Mast hücrelerinin dermal ve derialtı bağ doku iplikleri arasında, yağ doku içerisinde, kan ve lenf damarlarının çevresinde, alveollerin ve kanalların arasında ve meme lenf yumrularında yerleşim gösterdikleri gözlenmiştir (**Resim 79-81**). Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları **Tablo 14**'te, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 15-17**'de gösterilmiştir. Kontrol ve PBS grupları (**Resim 82 ve 83**) arasında meme dokusunda yerleşim gösteren granüle ($p: 0,294$), degranüle

($p: 0,108$) ve toplam mast hücre sayıları ($p: 0,094$) açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir. Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları sırası ile 5,83; 2,3 ve 8,20 olarak bulunmuştur. PBS grubunda meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayılarının ise 5,27; 2,03 ve 7,30 olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile enjeksiyon işleminin meme dokularında yerleşim gösteren mast hücre sayısında bir farklılık meydana getirmediği gözlenmiştir. Kontrol grubu (2,37) ile kıyaslandığında, IM kromolin sodyum (1,6) uygulamasının degranüle mast hücre sayısında bir azalma meydana getirdiği ancak bu düşüşün istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,198$). Benzer şekilde, kontrol ve IM kromolin gruplarının granüle ve toplam mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı gözlenmiştir (**Resim 84**) (granüle mast hücre sayıları için $p: 0,209$; toplam mast hücre sayıları için $p: 0,116$). Kontrol grubu meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayısı 5,83 ve toplam mast hücre sayısı 8,20 iken IM Kromolin grubunda bu sayıların sırası ile 3,6 ve 5,2 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve IP Kromolin grubu karşılaştırıldığında, IP yolla kromolin sodyum uygulamasının degranüle mast hücre sayısında bir azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki degranüle mast hücre sayısı 2,37 iken bu sayı IP Kromolin grubunda 1,13 olarak bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda IP Kromolin grubunda şekillenen bu azalmanın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p: 0,001$) (**Resim 85**). Kontrol grubu (5,83) ve IP Kromolin (5,50) gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p: 0,970$). Benzer şekilde, kontrol ve IP kromolin grubu meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayıları sırası ile 8,20 ve 6,63 olarak bulunmuştur ve bu iki grubun toplam mast hücre sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunmadığı ortaya konmuştur ($p: 0,193$).

LPS grubundaki mast hücrelerine bakıldığında, granüle (10,93), degranüle (4,80) ve toplam (15,73) mast hücre sayılarının, diğer tüm gruplar ile kıyaslandığında belirgin bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (**Tablo 14**) (**Resim 86** ve **87**). LPS grubunda meydana gelen bu artışın anlamlı olduğu istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (**Tablo 15-17**).

Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısında belirgin bir azalmanın şekillendiği tespit edilmiştir. LPS grubunda ortalama degranüle mast hücre sayısı 4,80 iken bu sayının IM Kromolin + LPS grubunda 2,51 ve IP Kromolin + LPS grubunda 2,80 olduğu görülmüştür. Kromolin sodyum uygulamasını takiben LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bu gruplarda degranüle mast hücre sayısında şekillenen azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu gözlenmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,004$; ve IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,009$). LPS grubu ile kıyaslandığında, kromolin sodyum ve LPS uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda granüle ve toplam mast hücre sayısının da azalmış olduğu tespit edilmiştir (IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,009$; IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,004$). LPS grubunun degranüle mast hücre sayısı 10,93 iken IP Kromolin + LPS ve IM Kromolin + LPS gruplarına ait olan meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayıları sırası ile 4,63 ve 4,30 olarak bulunmuştur. Ek olarak, IP Kromolin + LPS ve IM Kromolin + LPS grupları arasında granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (granüle mast hücre sayısı için $p: 0,847$; degranüle mast hücre sayısı için $p: 0,823$; toplam mast hücre sayısı için $p: 0,915$) (**Resim 88-93**). IP Kromolin + LPS grubundaki meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları sırası ile 4,63; 2,80 ve 7,43 iken bu sayılar IM Kromolin + LPS grubunda sırası ile 4,30; 2,51 ve 6,81 olarak bulunmuştur.

Tablo 14. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).

	Kronik Mastitis Modeli Grupları	Granüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Degranüle Mast Hücre Sayısı (ka)	Toplam Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	5,83 (1)	2,37 (1)	8,20 (1)
2. Grup	PBS Grubu	5,27 (0,90)	2,03 (0,86)	7,30 (0,90)
3. Grup	LPS Grubu	10,93 (1,87)	4,80 (2,03)	15,73 (1,92)
4.1. Grup	IP Kromolin	5,50 (0,94)	1,13 (0,48)	6,63 (1,24)
4.2. Grup	IM Kromolin	3,6 (0,62)	1,6 (0,68)	5,2 (0,63)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	4,30 (0,74)	2,51 (1,06)	6,81 (0,83)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	4,63 (0,70)	2,80 (1,18)	7,43 (0,91)

Tablo 15. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren **granüle** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,294	0,002*	0,970	0,209	0,221	0,195
2. Grup	0,294	-	0,001*	0,290	0,656	0,969	0,822
3. Grup	0,002*	0,001*	-	0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,970	0,290	0,001*	-	0,167	0,148	0,143
4.2. Grup	0,209	0,656	<0,001*	0,167	-	0,646	0,701
5. Grup	0,221	0,969	<0,001*	0,148	0,646	-	0,847
6. Grup	0,195	0,822	<0,001*	0,143	0,701	0,847	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

Tablo 16. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren **degranüle** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,108	0,004*	0,001*	0,198	0,648	0,821
2. Grup	0,108	-	<0,001*	0,091	0,988	0,346	0,247
3. Grup	0,004*	<0,001*	-	<0,001*	0,003*	0,004*	0,009*
4.1. Grup	0,001*	0,091	<0,001*	-	0,246	0,012*	0,007*
4.2. Grup	0,198	0,988	0,003*	0,246	-	0,456	0,396
5. Grup	0,648	0,346	0,004*	0,012*	0,456	-	0,823
6. Grup	0,821	0,247	0,009*	0,007*	0,396	0,823	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

Tablo 17. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren **toplam** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,094	0,001*	0,193	0,116	0,152	0,158
2. Grup	0,094	-	<0,001*	0,576	0,988	0,673	0,60
3. Grup	0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,193	0,576	<0,001*	-	0,590	0,878	0,893
4.2. Grup	0,116	0,988	<0,001*	0,590	-	0,740	0,818
5. Grup	0,152	0,673	<0,001*	0,878	0,740	-	0,915
6. Grup	0,158	0,60	<0,001*	0,893	0,818	0,915	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.3.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Lenf Yumrularında Yerleşim Gösteren Mast Hücreleri

Kronik mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan ortalama mast hücre sayıları **Tablo 18**'de sunulmuştur (**Resim 94-98**). İstatistiksel analizler, kronik mastitis modeli grupları arasında medullar sinuslara infiltre olan ortalama mast hücre sayısı bakımından anlamlı bir farklılık bulunmadığını ortaya koymuştur (*p*: 0,960). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında lenf

yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan ortalama mast hücre sayısı 7,96 iken PBS grubunda bu sayı 7,58 olarak bulunmuştur. IP Kromolin ve IM kromolin gruplarında medullar sinuslara infiltre olan ortalama mast hücre sayılarının sırası ile 9,7 ve 5,29 olduğu tespit edilmiştir. LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularının lenf yumrularında ortalama mast hücre sayısı 7,83 olarak bulunmuştur. Ek olarak, IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında meme lenf yumrularında yerleşim gösteren ortalama mast hücre sayılarının sırası ile 8,51 ve 5,65 olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 18. Kronik mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).

Kronik Mastitis Modeli Grupları		Medullar Sinuslara İnfiltre Olan Mast Hücreleri (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	7,96 (1)
2. Grup	PBS Grubu	7,58 (0,95)
3. Grup	LPS Grubu	7,83 (0,99)
4.1. Grup	IP Kromolin Grubu	9,7 (1,22)
4.2. Grup	IM Kromolin Grubu	5,29 (0,66)
5. Grup	IM Kromolin + LPS Grubu	8,51 (1,07)
6. Grup	IP Kromolin + LPS Grubu	5,65 (0,71)

4.4. İmmunohistokimyasal İncelemeler

4.4.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin

İmmunofenotipleri

Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip olan meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+), kimaz (+) ve triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı ve kat artışları **Tablo 19**'da, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 20**'de gösterilmiştir.

Tablo 19. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında bulunan mast hücre immunofenotiplerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

	Triptaz (+) Mast Hücreleri (ka)	Kimaz (+) Mast Hücreleri (ka)	Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri (ka)
Sağlıklı	1,8 (1)	1,0 (1)	1,4 (1)
Akut Mastitis	4,4 (2,4)	2,6 (2,6)	2 (1,4)
Kronik Mastitis	19 (10,5)	7,8 (7,8)	5,8 (4,1)

Tablo 20. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	<i>p</i> Değerleri		
	Sağlıklı-Akut Mastitisli Meme Dokuları	Akut ve Kronik Mastitisli Meme dokuları	Sağlıklı ve Kronik Mastitisli Meme Dokuları
Triptaz (+) Mast Hücreleri	0,123	<0,001*	<0,001*
Kimaz (+) Mast Hücreleri	0,015*	0,001*	<0,001*
Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri	0,548	0,008*	0,008*

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.4.1.1. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri

Sağlıklı meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayısı 1,8 olarak bulunmuştur (**Resim 99**). Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, yangılı meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sağlıklı meme dokuları (1,8) ile kıyaslandığında, akut mastitisli meme dokularında triptaz (+) mast hücrelerinin sayısında (4,4) bir artış şekillense de istatistiksel olarak bir anlam bulunmamıştır (*p*: 0,123) (**Resim 100**). Sağlıklı (1,8) ve akut mastitisli (4,4) meme dokularına kıyasla kronik mastitisli meme dokularında triptaz (+) mast hücre sayısında (19) belirgin bir artışın şekillendiği ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konmuştur (sağlıklı ve akut mastitisli meme dokuları için *p*<0,001) (**Resim 101**).

4.3.1.2 İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri

Sağlıklı meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayısı 1,0 olarak bulunmuştur (**Resim 102**). Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, yangılı meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin sayısında bir artışın şekillendiği dikkati çekmiştir. Sağlıklı meme dokuları (1,0) ile kıyaslandığında, akut mastitisli meme dokularında kimaz (+) mast hücrelerinin sayısının artış gösterdiği (2,6) ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (*p*: 0,015) (**Resim 103**). Sağlıklı (1,0) ve akut mastitisli (2,6) meme dokularına kıyasla kronik mastitisli meme dokularında kimaz (+) mast hücre sayısında (7,8) belirgin bir artışın şekillendiği ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konmuştur (sağlıklı meme dokuları için *p*<0,001; akut mastitisli meme dokuları için *p*: 0,001) (**Resim 104**).

4.4.1.3. İnek Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri

Sağlıklı meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı 1,4 olarak bulunmuştur. Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, yangılı meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sağlıklı meme dokuları (1,4) ile kıyaslandığında, akut mastitisli (2,0) meme dokularında triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısında bir artış şekillense de istatistiksel olarak bir anlam bulunmamıştır ($p: 0,548$). Diğer gruplara kıyasla kronik mastitisli meme dokularında triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısında belirgin bir artışın şekillendiği tespit edilmiştir. Sağlıklı meme dokularında yerleşim gösteren ortalama triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı 1,4 iken kronik mastitisli meme dokularında bu sayının 4,14 katlık bir artış ile 5,8'e yükseldiği tespit edilmiştir. İstatistiksel analizler, kronik mastitisli meme dokularında gözlenen bu artışın anlamlı olduğunu ortaya koymuştur ($p: 0,008$). Benzer şekilde, kronik mastitisli meme dokularında (5,8) yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısının akut mastitisli (2) olanlara kıyasla artış gösterdiği ve bunun istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p: 0,008$) (Resim 105).

4.4.2. Fare Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri

4.4.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri

4.4.2.1.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 21**'de, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 22**'de sunulmuştur. Kontrol (2,87), PBS (2,57), IM Kromolin (2,75), IP Kromolin (2,85), IM Kromolin + LPS (2,96), IP Kromolin + LPS (3,40) ve DEX + LPS (3,04) grupları arasında triptaz (+) mast hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (**Tablo 22; Resim 106-109**). LPS grubundaki triptaz (+) mast hücre sayısı (4,27) (**Resim 110**)

kontrol grubundaki triptaz (+) mast hücre sayısı (2,87) ile kıyaslandığında önemli bir artışın şekillendiği görülmüştür. Ortaya çıkan bu farklılığın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu tespit edilmiştir. ($p: 0,010$). Benzer şekilde, LPS grubunun triptaz (+) mast hücre sayısında (4,87) PBS grubuna (2,57) kıyasla anlamlı bir artışın şekillendiği görülmüştür ($p: 0,002$). IM Kromolin (2,75) ve IP Kromolin grupları (2,85) ile karşılaştırıldığında, LPS grubunun triptaz (+) mast hücre sayısında belirgin bir artışın şekillendiği ve meydana gelen bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir (IM Kromolin grubu için $p: 0,019$; IP Kromolin grubu için $p: 0,015$). Kromolin sodyum ve LPS'in birlikte uygulandığı gruplarda triptaz (+) mast hücre sayısının LPS grubuna kıyasla azaldığı gözlenmiştir (**Resim 111** ve **112**). LPS grubunda tespit edilen triptaz (+) mast hücre sayısı 4,27 iken bu sayı IM Kromolin + LPS grubunda 2,96 ve IP Kromolin + LPS grubunda 3,40 olarak bulunmuştur. İstatistiksel analizler sonucunda, bu grupların mast hücre sayısında meydana gelen azalmanın anlamlı olduğu tespit edilmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,011$ ve IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,048$). Ek olarak, deksametazon uygulamasının akut yangının indüklendiği meme dokularında triptaz (+) mast hücre sayısında önemli bir azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (**Resim 113**). DEX + LPS grubundaki meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayısı 3,04 ve LPS grubundaki ise 4,27 olarak bulunmuştur ($p: 0,003$).

Tablo 21. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **triptaz (+)** mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		Triptaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	2,87 (1)
2. Grup	PBS Grubu	2,57 (0,9)
3. Grup	LPS Grubu	4,27 (1,49)
4.1. Grup	IP Kromolin	2,85 (0,99)
4.2. Grup	IM Kromolin	2,75 (1,04)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	2,96 (1,03)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	3,40 (1,18)
7. Grup	DEX + LPS grubu	3,04 (1,06)

Tablo 22. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,626	0,010*	0,863	0,919	0,604	0,394	0,742
2. Grup	0,626	-	0,002*	0,814	0,568	0,254	0,155	0,898
3. Grup	0,010*	0,002*	-	0,015*	0,019*	0,011*	0,048*	0,003*
4.1. Grup	0,863	0,814	0,015*	-	0,820	0,720	0,503	0,717
4.2. Grup	0,919	0,568	0,019*	0,820	-	0,498	0,346	0,824
5. Grup	0,604	0,254	0,011*	0,498	0,720	-	0,671	0,362
6. Grup	0,394	0,155	0,048*	0,346	0,503	0,671	-	0,151
7. Grup	0,742	0,898	0,003*	0,824	0,717	0,362	0,151	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.4.2.1.2 Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 23**'te, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 24**'te sunulmuştur. Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayısı 2,43 olarak bulunmuştur. Kontrol (2,43) ve PBS (2,27) grupları arasında kimaz (+) mast hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (*p*: 0,466). Benzer şekilde, kontrol (2,43) grubu ile, IM Kromolin (2,37) ve IP Kromolin (2,57) gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayıları arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (IM Kromolin grubu için *p*: 0,740; IP Kromolin grubu için *p*: 0,813) (**Resim 114-117**). LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında kimaz (+) mast hücre sayısının artış gösterdiği gözlenmiştir (**Resim 118-120**). LPS grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı 5,50 iken bu sayı kontrol grubunda 2,43 olarak bulunmuştur (*p*<0,001). Benzer şekilde, LPS grubunun kimaz (+) hücre sayısı, PBS grubu (2,27), IP Kromolin grubu (2,57), IM Kromolin grubu (2,37), IM Kromolin + LPS grubu (2,56), IP Kromolin + LPS grubu (3,40) ve DEX + LPS grubundaki (2,90) kimaz (+) mast hücre sayısı ile karşılaştırıldığında önemli bir artışın şekillendiği görülmüştür (PBS, IP Kromolin, IM Kromolin, IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS grupları için *p*<0,001) (**Resim 121-124**).

Tablo 23. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **kimaz (+)** mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		Kimaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	2,43 (1)
2. Grup	PBS Grubu	2,27 (0,94)
3. Grup	LPS Grubu	5,50 (2,26)
4.1. Grup	IP Kromolin	2,57 (1,06)
4.2. Grup	IM Kromolin	2,37 (0,98)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	2,56 (1,05)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	3,40 (1,4)
7. Grup	DEX + LPS grubu	2,90 (1,19)

Tablo 24. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **kimaz (+)** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,466	<0,001*	0,813	0,740	0,635	0,025*	0,109
2. Grup	0,466	-	<0,001*	0,757	0,733	0,852	0,004*	0,020*
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,813	0,757	<0,001*	-	0,939	0,873	0,032*	0,138
4.2. Grup	0,740	0,733	<0,001*	0,939	-	0,910	0,013*	0,059
5. Grup	0,635	0,852	<0,001*	0,873	0,910	-	0,006*	0,033*
6. Grup	0,025*	0,004*	<0,001*	0,032*	0,013*	0,006*	-	0,265
7. Grup	0,109	0,020*	<0,001*	0,138	0,059	0,033*	0,265	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.4.2.1.3. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 25'**te gösterilmiştir. Akut mastitis modeli gruplarının ortalama triptaz-kimaz (+) mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (*p*: 0,317) (**Resim 125-132**). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısının sırası ile 3,6 ve 4,0 olduğu tespit edilmiştir. IP Kromolin grubunun ortalama triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısı 3,2 iken IM Kromolin grubu meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısının 3,6 olduğu tespit edilmiştir. LPS (5,0) grubunun triptaz-kimaz(+) mast hücre sayısında diğer gruplara kıyasla hafif bir artış şekillense de istatistiksel analizler bu artışın anlamlı olmadığını ortaya koymuştur. IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücre sayıları sırası ile 4,6; 3,2 ve 2,7 olarak bulunmuştur.

Tablo 25. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	3,6 (1)
2. Grup	PBS Grubu	4,0 (1,1)
3. Grup	LPS Grubu	5,0 (1,39)
4.1. Grup	IP Kromolin	3,2 (0,89)
4.2. Grup	IM Kromolin	3,6 (1)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	4,6 (1,28)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	3,2 (0,89)
7. Grup	DEX + LPS grubu	2,7 (0,75)

4.4.2.2 Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Mast Hücrelerinin İmmunofenotipleri

4.4.2.2.1 Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz (+) Mast Hücreleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 26**'da, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 27**'de sunulmuştur (**Resim 133-139**). Kontrol (7,13), PBS (6,80), IM Kromolin (7,10), IP Kromolin (5,97), IM Kromolin + LPS (8,60), IP Kromolin + LPS (8,10) grupları arasında triptaz (+) mast hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (**Tablo 36**). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, LPS grubundaki meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayısının önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubunda tespit edilen triptaz (+) mast hücre sayısı 7,13 iken bu değer LPS grubunda 12,20 olarak bulunmuştur. İstatistiksel analizler, LPS grubunda şekillenen bu artışın anlamlı olduğunu tespit etmiştir (*p*: 0,002). Benzer şekilde, LPS grubundan (12,20) elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayısının PBS grubuna (6,80) kıyasla artış gösterdiği tespit edilmiştir (*p*: 0,002). IM Kromolin (7,10) ve IP Kromolin (5,97) grupları ile kıyaslandığında da triptaz (+) mast hücre sayısının LPS grubunda belirgin bir artış gösterdiği görülmüştür (IM Kromolin grubu için *p*: 0,005; IP Kromolin grubu için *p*<0,001). IM Kromolin + LPS grubunun triptaz (+) mast hücre sayısı (8,60), LPS grubuna (12,20) kıyasla azalmış olsa da istatistiksel analizler bu iki grup arasında

anlamli bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,073$). Buna karşılık olarak, IP Kromolin + LPS grubunun (8,10) triptaz (+) mast hücre sayısının LPS (12,20) grubuna kıyasla önemli derecede azaldığı gözlenmiştir ($p: 0,012$).

Tablo 26. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **triptaz (+)** mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

Kronik Mastitis Modeli Grupları		Triptaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	7,13 (1)
2. Grup	PBS Grubu	6,80 (0,95)
3. Grup	LPS Grubu	12,20 (1,71)
4.1. Grup	IP Kromolin	5,97 (0,84)
4.2. Grup	IM Kromolin	7,10 (0,995)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	8,60 (1,2)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	8,10 (1,17)

Tablo 27. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **triptaz (+)** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,694	0,002*	0,270	0,988	0,401	0,876
2. Grup	0,694	-	0,002*	0,572	0,694	0,256	0,760
3. Grup	0,002*	0,002*	-	<0,001*	0,005*	0,073	0,012*
4.1. Grup	0,270	0,572	<0,001*	-	0,253	0,084	0,480
4.2. Grup	0,988	0,694	0,005*	0,253	-	0,369	0,953
5. Grup	0,401	0,256	0,073	0,084	0,369	-	0,471
6. Grup	0,876	0,760	0,012*	0,480	0,953	0,471	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.4.2.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Kimaz (+) Mast Hücreleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 28'**de, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 29'**da sunulmuştur (**Resim 140-146**). Kontrol (3,33), PBS (3,60), IM Kromolin (2,50), IP Kromolin (4,20), IM Kromolin + LPS (4,17), IP Kromolin + LPS (3,90) grupları arasında kimaz (+) mast hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (**Tablo 29**). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, LPS grubundaki meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayısının önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir (**Resim 140 ve 142**). Kontrol grubunda tespit edilen kimaz (+) mast hücre sayısı 3,33 iken bu sayı LPS grubunda 8,20 olarak bulunmuştur.

İstatistiksel analizler, LPS grubunda şekillenen bu artışın anlamlı olduğunu tespit etmiştir ($p<0,001$). Benzer şekilde, LPS grubunda (8,20) yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayısının PBS grubuna (3,60) kıyasla artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,001$). IM Kromolin (2,5) ve IP Kromolin (4,20) grupları ile kıyaslandığında da kimaz (+) mast hücre sayısının LPS grubunda (8,20) belirgin bir artış gösterdiği dikkati çekmiştir (IM Kromolin grubu için $p<0,001$; IP Kromolin grubu için $p: 0,001$). Benzer şekilde, IM Kromolin + LPS (4,17) ve IP Kromolin + LPS gruplarının (3,90) kimaz (+) mast hücre sayısının LPS grubuna (8,20) kıyasla önemli derecede azaldığı gözlenmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,002$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,001$).

Tablo 28. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **kimaz (+)** mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

	Kronik Mastitis Modeli Grupları	Kimaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	3,33 (1)
2. Grup	PBS Grubu	3,60 (1,08)
3. Grup	LPS Grubu	8,20 (2,46)
4.1. Grup	IP Kromolin	4,20 (1,26)
4.2. Grup	IM Kromolin	2,50 (0,75)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	4,17 (1,25)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	3,90 (1,17)

Tablo 29. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **kimaz (+)** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,958	<0,001*	0,547	0,187	0,393	0,403
2. Grup	0,958	-	<0,001*	0,569	0,233	0,511	0,445
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	0,001*	<0,001*	0,002*	0,001*
4.1. Grup	0,547	0,569	0,001*	-	0,058	0,863	0,734
4.2. Grup	0,187	0,233	<0,001*	0,058	-	0,863	0,734
5. Grup	0,393	0,511	0,002*	0,863	0,067	-	0,970
6. Grup	0,403	0,445	0,001*	0,734	0,050*	0,970	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.4.2.2.3. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokularında Yerleşim Gösteren Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı **Tablo 30**'da, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 31**'de sunulmuştur (**Resim 147-153**). Kontrol

(3,17), PBS (3,50), IM Kromolin (3,43)ve IP Kromolin (4,17) gruplarından elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (**Tablo 31**). LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısında belirgin bir artışın şekillendiği gözlenmiştir. Kontrol grubunun triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısı 3,17 iken LPS grubunda hesaplanan değer 7,67 olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu artış, istatistiksel açıdan da önem arz etmiştir ($p: 0,038$). Benzer şekilde, PBS grubundan elde edilen meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısının 3,50 olduğu ve LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında PBS grubuna kıyasla önemli bir artışın şekillendiği görülmüştür ($p: 0,045$). IM Kromolin grubu (4,17) ile kıyaslandığında, LPS grubunda meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin sayısı artış gösterse de istatistiksel analizler bu artışın anlamlı olmadığını ortaya koymuştur ($p: 0,111$). Buna karşılık olarak, IP kromolin (3,43) grubuna kıyasla LPS grubunda (7,67) şekillenen artışın da anlamlı olduğu ortaya konmuştur ($p: 0,036$). LPS grubu ile kıyaslandığında, IM Kromolin + LPS (4,50) ve IP Kromolin + LPS (4,33) gruplarının triptaz-kimaz (+) mast hücre sayısında bir azalma şekillense de istatistiksel analizler bu gruplar arasında bir farklılığın bulunmadığını ortaya koymuştur (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,115$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,065$). Ek olarak, IM Kromolin + LPS grubunun ve IP Kromolin + LPS gruplarının ortalama triptaz-kimaz (+) mast hücre sayıları sırası ile 4,50 ve 4,33 olduğu ve bu grupların triptaz-kimaz (+) mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,699$).

Tablo 30. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **triptaz-kimaz (+)** mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).

Kronik Mastitis Modeli Grupları		Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücre Sayısı (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	3,17 (1)
2. Grup	PBS Grubu	3,50 (0,94)
3. Grup	LPS Grubu	7,67 (2,42)
4.1. Grup	IP Kromolin	3,43 (1,08)
4.2. Grup	IM Kromolin	4,17 (1,32)
5. Grup	IM Kromolin + LPS grubu	4,50 (1,42)
6. Grup	IP Kromolin + LPS grubu	4,33 (1,37)

Tablo 31. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren **triptaz-kimaz (+)** mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,802	0,038*	0,780	0,532	0,337	0,310
2. Grup	0,802	-	0,045*	0,883	0,659	0,433	0,485
3. Grup	0,038*	0,045*	-	0,036*	0,111	0,115	0,065
4.1. Grup	0,780	0,883	0,036*	-	0,631	0,827	0,888
4.2. Grup	0,532	0,659	0,111	0,631	-	0,376	0,485
5. Grup	0,337	0,433	0,115	0,376	0,827	-	0,699
6. Grup	0,310	0,485	0,065	0,485	0,888	0,699	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.5. İnek ve Fare Meme Dokularında Bağ Doku Miktarının İncelenmesi

4.5.1. İnek Meme Dokularında Bağ Doku Miktarının İncelenmesi

Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme dokusu örneklerinde ölçülen bağ doku miktarları ve kat artışları **Tablo 32**'de, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 33**'te gösterilmiştir. Sağlıklı ve akut mastitisli meme dokularında ölçülen bağ doku miktarları sırası ile %9,9 ve %12,35 olarak bulunmuş ve istatistiksel öneme rastlanmamıştır (*p*: 1,000) (**Resim 154-162**). Kronik mastitisli meme dokularında ortalama bağ doku miktarının %29,83'e ulaştığı gözlenmiştir (**Resim 160-162**). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, kronik mastitisli meme dokularında bağ doku miktarının 3,01 kat arttığı tespit edilmiştir. Kronik mastitisli meme dokularında gözlenen fibrozis ve mast hücreleri arasındaki ilişki korelasyon analizleri ile araştırılmış ve artan mast hücre sayısı ile dokudaki fibrozisin şiddeti arasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu tespit edilmiştir. (Pierson korelasyon katsayısı: 0.760; *p*: 0.047). Mast hücre fenotipleri ile fibrozis arasındaki ilişki incelendiğinde ise mast hücre fenotipleri ile fibrozisin şiddeti arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (MC_T için *p*: 0,254 ve Pierson korelasyon katsayısı: 0,499; MC_C için *p*: 0,589 ve Spearman korelasyon katsayısı: -0,250; MC_{TC} için *p*: 0,089 ve Spearman korelasyon katsayısı: -0,821).

Tablo 32. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında ölçülen bağ doku yüzdeleri ve kat artışları (ka).

	Bağ Doku Miktarı (%) (ka)
Sağlıklı	9,9 (1)
Akut Mastitis	12,35 (1,2)
Kronik Mastitis	29,83 (3,01)

Tablo 33. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında ölçülen bağ doku yüzdelerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	p Değerleri		
	Sağlıklı-Akut Mastitisli Meme Dokuları	Akut ve Kronik Mastitisli Meme dokuları	Sağlıklı ve Kronik Mastitisli Meme Dokuları
Bağ Doku Miktarları	1,000	<0,001*	<0,001*

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.5.2. Fare Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi

4.5.2.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama bağ doku miktarları **Tablo 34**'te verilmiştir (**Resim 163-189**). Akut mastitis modeli gruplarının bağ doku miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p: 0,071$). Kontrol grubunu oluşturan meme dokularının ortalama bağ doku miktarının %2,45 olduğu tespit edilmiştir. PBS, IP Kromolin ve IM Kromolin gruplarından elde edilen meme dokularında hesaplanan ortalama bağ doku yüzdesi sırası ile %2,39; %2,77 ve %2,83 olarak bulunmuştur. LPS grubunu oluşturan meme dokularının ortalama bağ doku miktarının %2,65 olduğu tespit edilmiştir. IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS gruplarının ortalama bağ doku değerlerinin sırası ile %2,94; %2,70 ve 3,01 olduğu saptanmıştır.

Tablo 34. Akut mastitis modeli meme dokularının ortalama bağ doku miktarları ve kat artışları (ka).

Akut Mastitis Modeli Grupları		% Bağ Doku Miktarları (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	2,45 (1)
2. Grup	PBS Grubu	2,39 (0,98)
3. Grup	LPS Grubu	2,65 (1,08)
4.1. Grup	IP Kromolin	2,77 (1,13)
4.2. Grup	IM Kromolin	2,83 (1,16)
5. Grup	IM Kromolin + LPS Grubu	2,94 (1,2)
6. Grup	IP Kromolin + LPS Grubu	2,70 (1,10)
7. Grup	DEX + LPS Grubu	3,01 (1,23)

4.5.2.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Meme Dokusu Örneklerinde Bağ Doku Miktarının İncelenmesi

Kronik mastitis modeli gruplarının ortalama bağ doku yüzdeleri ve kat artışları **Tablo 35**'de, istatistiksel analizler sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 36**'da

verilmiştir. Kontrol (%5,24), PBS (%5,52), IM Kromolin (%6,30) ve IP Kromolin (%5,98) gruplarının bağ doku miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (**Tablo 36**) (**Resim 190-201**). LPS grubundaki meme dokularında bağ doku miktarında (%17,37) belirgin bir artışın şekillendiği gözlenmiştir (**Resim 202-206**). Kontrol grubundaki fibrozis yüzdesi (%5,54) ile LPS grubundaki meme dokularının bağ doku yüzdeleri kıyaslandığında, LPS grubundaki meme dokularında bağ doku miktarının 3,31 kat arttığı görülmüştür. Kromolin sodyum ve LPS'in birlikte uygulandığı gruplarda bağ doku miktarının belirgin derecede azaldığı dikkati çekmiştir (**Resim 207-213**). IM Kromolin + LPS grubunda ortalama bağ doku miktarı %11,61 iken bu sayı IP Kromolin + LPS grubunda %7,12 olarak bulunmuştur. LPS grubuna kıyasla IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında şekillenen bu azalmanın anlamlı olduğu ortaya konmuştur (IM Kromolin + LPS için $p: 0,002$ ve IP Kromolin + LPS grubu için $p < 0,001$). Ek olarak, IM Kromolin + LPS (11,6) ve IP Kromolin + LPS (7,12) gruplarının bağ doku miktarları arasında anlamlı bir farklılığın bulunduğu tespit edilmiştir ($p: 0,002$).

Tablo 35. Kronik mastitis modeli meme dokularının ortalama bağ doku yüzdeleri ve kat artışları (ka).

Kronik Mastitis Modeli Grupları		Bağ Doku Miktarları (%) (ka)
1. Grup	Kontrol Grubu	5,24 (1)
2. Grup	PBS Grubu	5,52 (1,05)
3. Grup	LPS Grubu	17,37 (3,31)
4.1. Grup	IP Kromolin	5,98 (1,14)
4.2. Grup	IM Kromolin	6,30 (1,20)
5. Grup	IM Kromolin + LPS Grubu	11,6 (2,21)
6. Grup	IP Kromolin + LPS Grubu	7,12 (1,36)

Tablo 36. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama bağ doku yüzdelерinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,723	<0,001*	0,274	0,092	<0,001*	0,014*
2. Grup	0,723	-	<0,001	0,359	0,322	<0,001*	0,030*
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	0,002*	<0,001*
4.1. Grup	0,274	0,359	<0,001*	-	0,566	<0,001*	0,169
4.2. Grup	0,092	0,322	<0,001*	0,566	-	<0,001*	0,417
5. Grup	<0,001*	<0,001*	0,002*	<0,001*	<0,001*	-	0,002*
6. Grup	0,014*	0,030*	<0,001*	0,169	0,417	0,002*	-

(*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.6. Yangısal Sitokin ve Proteaz Değerleri

4.6.1. Akut Mastitis Modelinde Ölçülen Değerler

4.6.1.1. IL-1 β Değerleri

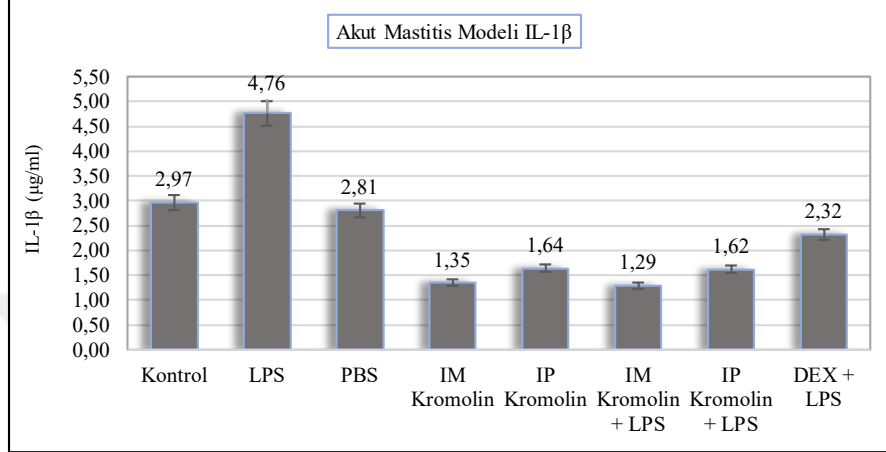
Akut mastitis modelinden elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama IL-1 β düzeyleri **Tablo 37**'de, istatistiksel analizler sonucunda elde edilen *p* değerleri ise **Tablo 38**'de sunulmuştur (**Resim 214**). Kontrol ve PBS gruplarının IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (*p*: 0,864). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularının ortalama IL-1 β seviyesi sırası ile 2,97 μ g/ml ve 2,81 μ g/ml olarak bulunmuştur. IM ve IP yolla kromolin sodyum uygulaması, IL-1 β düzeyinde bir azalma meydana getirmiştir. IM Kromolin grubunda ölçülen ortalama IL-1 β düzeyi 1,35 μ g/ml iken bu değer IP Kromolin grubunda 1,64 μ g/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın anlamlı olduğu istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (IM Kromolin ve IP Kromolin grupları için *p*: 0,001).

LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-1 β düzeyinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen IL-1 β değeri 2,97 μ g/ml iken LPS grubunun değeri 4,76 μ g/ml olarak bulunmuştur (*p*<0,001). Benzer şekilde, PBS uygulamasının yapıldığı meme dokuları ile kıyaslandığında (2,81 μ g/ml), LPS enjeksiyonlarının yapıldığı meme dokularında IL-1 β düzeylerinin (4,76 μ g/ml) artış gösterdiği tespit edilmiştir (*p*<0,001). Ek olarak, LPS grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen IL-1 β değerinin IP Kromolin (1,64 μ g/ml) ve IM Kromolin (1,35 μ g/ml) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği gözlenmiştir (IP Kromolin ve IM Kromolin grupları için *p*<0,001).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-1 β düzeyinde önemli bir düşüş meydana getirdiği dikkati çekmiştir. IM Kromolin + LPS grubunun IL-1 β seviyesi 1,29 μ g/ml ve IP Kromolin + LPS grubunun IL-1 β seviyesi 1,62 μ g/ml olarak bulunmuştur. İstatistiksel analizler, kromolin sodyum uygulaması ile meydana gelen bu azalmaların anlamlı olduğunu ortaya koymuştur (IM Kromolin + LPS grubu için *p*<0,001; IP Kromolin + LPS grubu için *p*<0,001). Dekametazon ve LPS'in birlikte uygulandığı grup ile karşılaştırıldığında (2,32 μ g/ml), Kromolin + LPS uygulamasının IL-1 β düzeyinde

belirgin bir azalma ile sonuçlandığı gözlenmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,003$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,003$). IM Kromolin + LPS ($1,29 \mu\text{g/ml}$) ile IP Kromolin + LPS ($1,62 \mu\text{g/ml}$) gruplarının IL-1 β seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p: 0,616$).

Tablo 37. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-1 β değerleri.



Tablo 38. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-1 β değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,864	<0,001*	0,001*	0,001*	0,001*	0,001*	0,180
2. Grup	0,864	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,001*	0,118
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4.1. Grup	0,001*	<0,001*	<0,001*	-	0,170	0,616	0,309	0,002*
4.2. Grup	0,001*	<0,001*	<0,001*	0,170	-	0,413	0,758	0,002*
5. Grup	0,001*	<0,001*	<0,001*	0,616	0,413	-	0,616	0,003*
6. Grup	0,001*	<0,001*	<0,001*	0,309	0,758	0,616	-	0,003*
7. Grup	0,180	0,118	<0,001*	0,002*	0,002*	0,003*	0,003*	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu; 7. Grup: DEX + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.6.1.2. IL-13 Değerleri

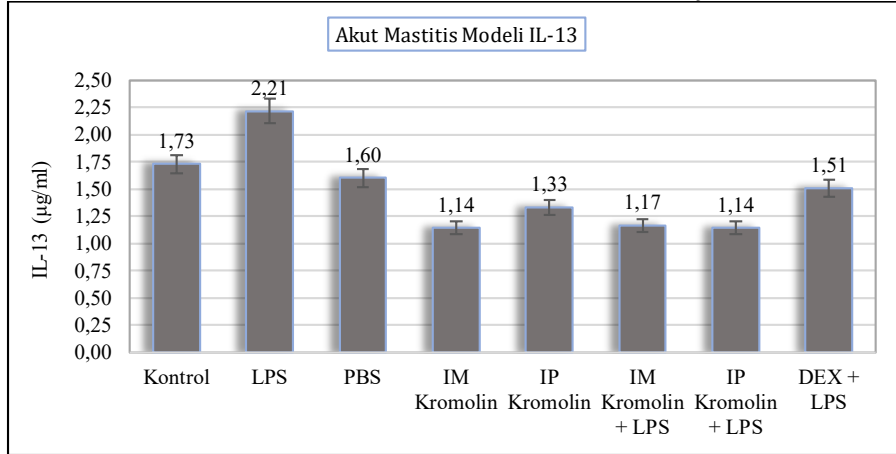
Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama IL-13 değerleri **Tablo 39**'da, akut mastitis modeli gruplarından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri ise **Tablo 40**'ta verilmiştir. Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen IL-13 değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p: 0,332$). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularının ortalama IL-1 β seviyesi sırası ile $1,73 \mu\text{g/ml}$ ve $1,60 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Tek başına kromolin sodyum uygulamasının

yapıldığı gruplarda IL-13 düzeyinde bir azalmanın meydana geldiği dikkati çekmiştir. IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarında ölçülen IL-13 seviyeleri sırası ile 1,14 µg/ml ve 1,33 µg/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu tespit edilmiştir (IM Kromolin grubu için $p: 0,036$; IP Kromolin grubu için $p: 0,034$).

LPS ile akut mastitisin oluşturulduğu meme dokularında IL-13 düzeyinin artmış olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuna dahil olan meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 düzeyi 1,73 µg/ml iken bu değer LPS grubunda 2,21 µg/ml olarak bulunmuştur ($p: 0,021$). Benzer şekilde, PBS uygulamasının yapıldığı meme dokuları ile kıyaslandığında (1,60 µg/ml), LPS enjeksiyonlarının yapıldığı meme dokularında IL-13 düzeylerinin (2,21 µg/ml) artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,034$). Ek olarak, LPS grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen IL-13 değerinin IP Kromolin (1,33 µg/ml) ve IM Kromolin (1,14 µg/ml) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği gözlenmiştir (IP Kromolin ve IM Kromolin grupları için $p: 0,002$).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-13 seviyesinde bir azalmaya neden olduğu dikkati çekmiştir. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında ölçülen IL-13 miktarı sırası ile 1,17 µg/ml ve 1,14 µg/ml olarak bulunmuştur. İstatistiksel analizler, LPS grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın önemli olduğunu ortaya koymuştur (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,004$ ve IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,002$). IM Kromolin + LPS (1,17 µg/ml) ve IP Kromolin + LPS (1,14 µg/ml) gruplarının IL-13 seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p: 0,657$). Ek olarak, DEX + LPS (1,51 µg/ml) grubu ile IM Kromolin + LPS (1,17 µg/ml) ve IP Kromolin + LPS (1,14) gruplarının sahip olduğu ortalama IL-13 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,115$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,110$).

Tablo 39. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama **IL-13** değerleri.



Tablo 40. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama **IL-13** değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,332	0,021*	0,034*	0,036*	0,060	0,036*	0,964
2. Grup	0,332	-	0,034*	0,004*	0,005*	0,016*	0,004*	0,443
3. Grup	0,021*	0,034*	-	0,002*	0,002*	0,004*	0,002*	0,041*
4.1. Grup	0,034*	0,004*	0,002*	-	0,995	0,750	0,812	0,101
4.2. Grup	0,036*	0,005*	0,002*	0,995	-	0,757	0,820	0,103
5. Grup	0,060	0,016*	0,004*	0,750	0,757	-	0,657	0,115
6. Grup	0,036*	0,004*	0,002*	0,812	0,820	0,657	-	0,110
7. Grup	0,964	0,443	0,041*	0,101	0,103	0,115	0,110	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu; 7. Grup: DEX + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.6.1.3. IL-6 Değerleri

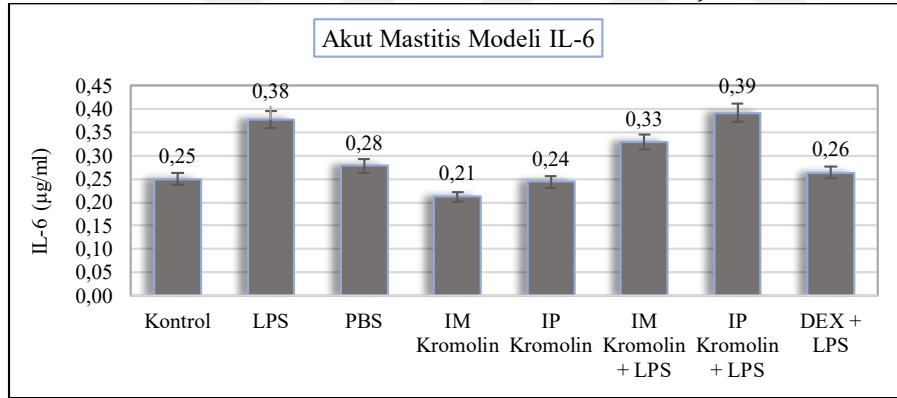
Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama IL-6 değerleri **Tablo 41**'de, akut mastitis modeli gruplarından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 42**'de verilmiştir. Kontrol ve PBS grupları arasında IL-6 düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (*p*: 0,776). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularının ortalama IL-6 seviyesi sırası ile 0,25 µg/ml ve 0,28 µg/ml olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, kontrol grubu ile IM Kromolin (0,21 µg/ml) ve IP Kromolin (0,24 µg/ml) grupları arasında da anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (IM Kromolin grubu için *p*: 0,068; IP Kromolin grubu için *p*: 0,502).

LPS ile akut mastitisin oluşturulduğu meme dokularında IL-6 düzeyinin artmış olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuna dahil olan meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 düzeyi 0,25 µg/ml iken bu değer LPS grubunda 0,38 µg/ml olarak bulunmuştur

($p: 0,002$). Benzer şekilde, PBS uygulamasının yapıldığı meme dokuları ile kıyaslandığında ($0,28 \mu\text{g/ml}$), LPS enjeksiyonlarının yapıldığı meme dokularında IL-6 düzeylerinin ($0,38 \mu\text{g/ml}$) artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p: 0,001$). Ek olarak, LPS grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen IL-6 değerinin IP Kromolin ($0,24 \mu\text{g/ml}$) ve IM Kromolin ($0,21 \mu\text{g/ml}$) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği gözlenmiştir (IP Kromolin grubu için $p: 0,003$; IM Kromolin grubu için $p < 0,001$).

LPS ($0,38 \mu\text{g/ml}$) ve IP Kromolin + LPS gruplarının ($0,39 \mu\text{g/ml}$) IL-6 seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p: 0,098$). Buna karşılık olarak, IM Kromolin + LPS grubunun IL-6 düzeyinde meydana gelen azalmanın önemli olduğu ortaya konmuştur ($p: 0,029$). Ek olarak, DEX + LPS grubu ($0,26 \mu\text{g/ml}$) ile IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının sahip olduğu ortalama IL-6 değeri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (IM Kromolin + LPS grubu için $p: 0,144$; IP Kromolin + LPS grubu için $p: 0,067$).

Tablo 41. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 değerleri.



Tablo 42. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

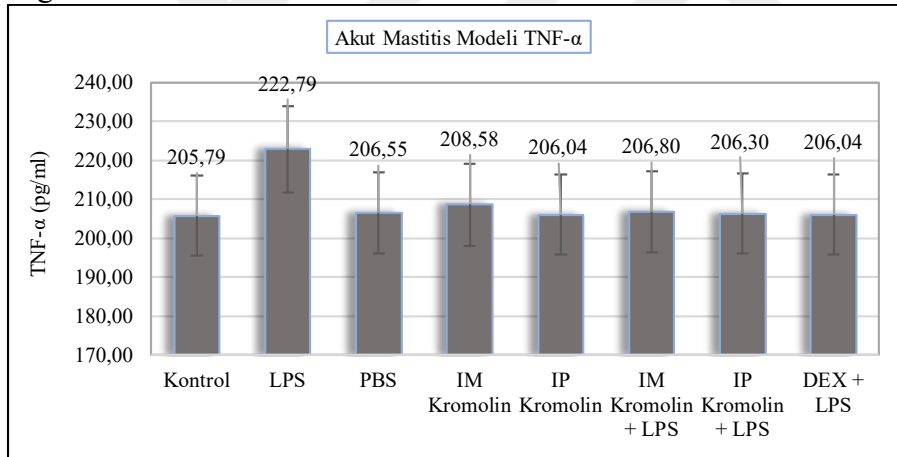
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,776	0,002*	0,502	0,068	0,035*	0,011*	0,937
2. Grup	0,776	-	0,001*	0,602	0,059	0,017*	0,005*	0,809
3. Grup	0,002*	0,001*	-	0,003*	<0,001*	0,029*	0,098	0,023*
4.1. Grup	0,502	0,602	0,003*	-	0,290	0,004*	0,001*	0,208
4.2. Grup	0,068	0,059	<0,001*	0,290	-	0,028*	0,011*	0,595
5. Grup	0,035*	0,017*	0,029*	0,004*	0,028*	-	0,316	0,144
6. Grup	0,011*	0,005*	0,098	0,001*	0,011*	0,316	-	0,067
7. Grup	0,937	0,809	0,023*	0,208	0,595	0,144	0,067	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu; 7. Grup: DEX + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.6.1.4. TNF- α Değerleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama TNF- α değerleri **Tablo 43**'te verilmiştir. LPS grubunun TNF- α düzeyinde diğer gruplara kıyasla bir artış şekillense de akut mastitis modeli gruplarının TNF- α düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görülmüştür ($p: 0,123$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama TNF- α düzeyinin 205,79 pg/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama TNF- α düzeyleri sırası ile 206,55 pg/ml, 208,58 pg/ml ve 206,04 pg/ml olarak bulunmuştur. LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama TNF- α düzeyinin 222,79 pg/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS gruplarının ortalama TNF- α düzeylerinin sırası ile 206,80 pg/ml, 206,30 pg/ml ve 206,04 pg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 43. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama TNF- α değerleri.

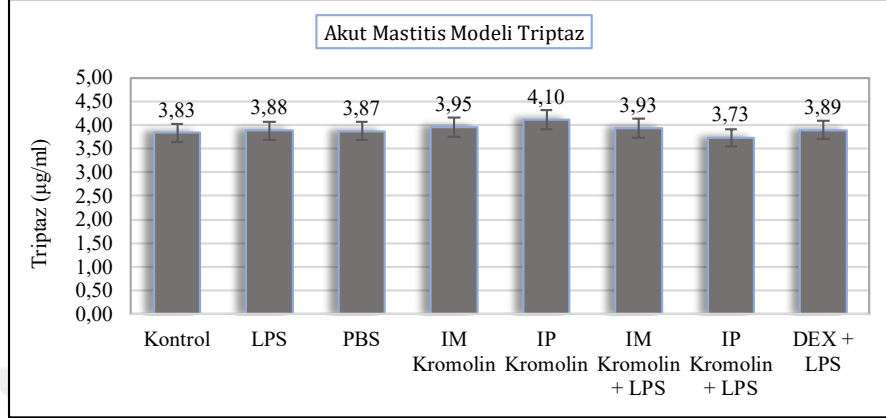


4.6.1.5. Triptaz Değerleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama triptaz değerleri **Tablo 44**'de verilmiştir. Akut mastitis modeli grupları arasında triptaz düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görülmüştür ($p: 0,984$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama triptaz düzeyinin 3,83 μ g/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama triptaz düzeyleri sırası ile 3,87 μ g/ml, 3,95 μ g/ml ve 4,10 μ g/ml olarak bulunmuştur. LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama triptaz düzeyinin 3,88 μ g/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS

gruplarının ortalama triptaz düzeylerinin sırası ile 3,93 µg/ml, 3,73 µg/ml ve 3,89 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

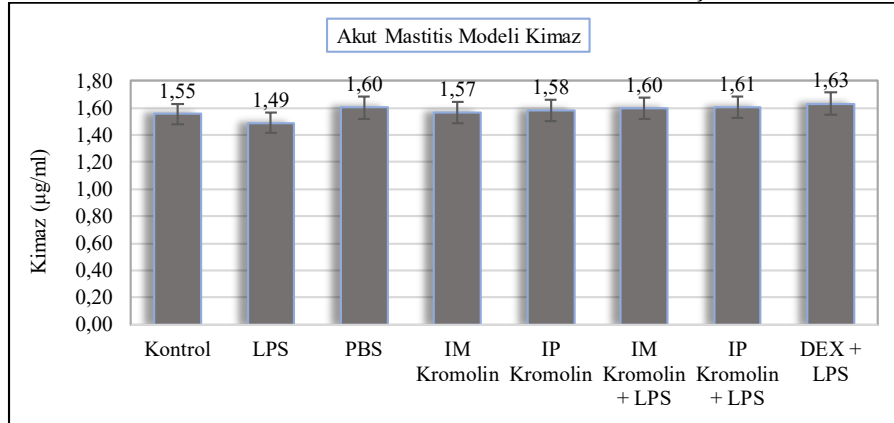
Tablo 44. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama **triptaz** değerleri.



4.6.1.6. Kimaz Değerleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama kimaz değerleri **Tablo 45**'te verilmiştir. Akut mastitis modeli grupları arasında kimaz düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı ortaya konmuştur ($p: 0,674$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama kimaz düzeyinin 1,55 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama kimaz düzeyleri sırası ile 1,60 µg/ml, 1,57 µg/ml ve 1,58 µg/ml olarak bulunmuştur. LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama kimaz düzeyinin 1,49 µg/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS, IP Kromolin + LPS ve DEX + LPS gruplarının ortalama kimaz düzeylerinin sırası ile 1,60 µg/ml, 1,61 µg/ml ve 1,63 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 45. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama **kimaz** değerleri.



4.6.2. Kronik Mastitis Modelinde Ölçülen Değerler

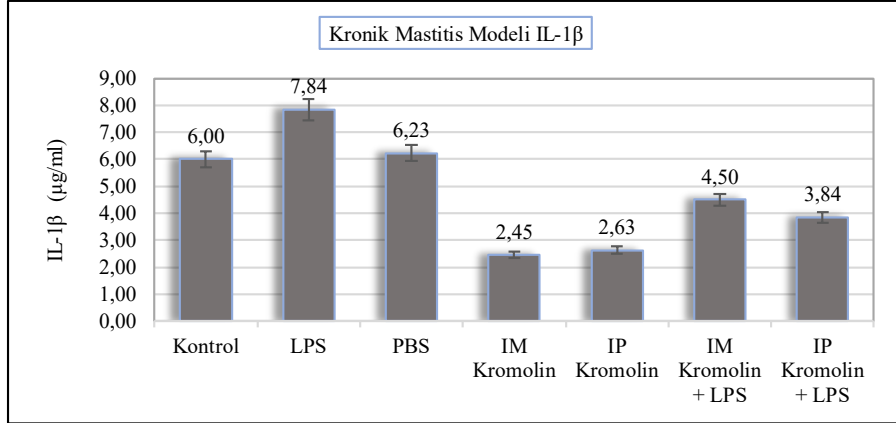
4.6.2.1. IL-1 β Değerleri

Kronik mastitis modelinden elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama IL-1 β düzeyleri **Tablo 46**'da, istatistiksel analizler sonucunda elde edilen *p* değerleri ise **Tablo 47**'de sunulmuştur. Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen IL-1 β değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık tespit edilememiştir (*p*: 0,738). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularının ortalama IL-1 β seviyesi sırası ile 6,00 μ g/ml ve 6,23 μ g/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, tek başına kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı gruplarda IL-1 β düzeyinde bir azalmanın meydana geldiği gözlenmiştir. IM Kromolin grubunda ölçülen ortalama IL-1 β düzeyi 2,45 μ g/ml iken bu değer IP Kromolin grubunda 2,63 μ g/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ortaya konmuştur (IM Kromolin ve IP Kromolin grupları için *p*<0,001). Ek olarak IM Kromolin (2,45 μ g/ml) ve IP Kromolin (2,63 μ g/ml) gruplarının IL-1 β düzeyleri arasında bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (*p*: 0,681).

LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-1 β düzeyinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen IL-1 β değeri 6,00 μ g/ml iken LPS grubunun değeri 7,84 μ g/ml olarak bulunmuştur (*p*<0,001). Benzer şekilde, PBS uygulamasının yapıldığı meme dokuları ile kıyaslandığında (6,23 μ g/ml), LPS enjeksiyonlarının yapıldığı meme dokularında IL-1 β düzeyinin (7,84 μ g/ml) artış gösterdiği tespit edilmiştir (*p*<0,001). Ek olarak, LPS ile kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularında ölçülen IL-1 β değerinin IP Kromolin (2,63 μ g/ml) ve IM Kromolin (2,45 μ g/ml) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir (IP Kromolin ve IM Kromolin grupları için *p*<0,001).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-1 β düzeyinde önemli bir düşüş meydana getirdiği gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS grubunun IL-1 β seviyesi 4,50 μ g/ml ve IP Kromolin + LPS grubunun IL-1 β seviyesi 3,84 μ g/ml olarak bulunmuştur. İstatistiksel analizler, kromolin sodyum uygulaması ile meydana gelen bu azalmanın anlamlı olduğunu ortaya koymuştur (IM Kromolin + LPS grubu için *p*<0,001; IP Kromolin + LPS grubu için *p*<0,001).

Tablo 46. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama IL-1 β değerleri.



Tablo 47. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen ortalama IL-1 β değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,738	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,002*	0,007*
2. Grup	0,738	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,006*	0,007*
3. Grup	<0,001*	<0,001*	-	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,001*
4.1. Grup	<0,001*	<0,001*	<0,001*	-	0,681	0,003*	0,025*
4.2. Grup	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,681	-	0,003*	0,029*
5. Grup	0,001*	0,006*	<0,001*	0,003*	0,003*	-	0,516
6. Grup	0,007*	0,007*	0,001*	0,025*	0,029*	0,516	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

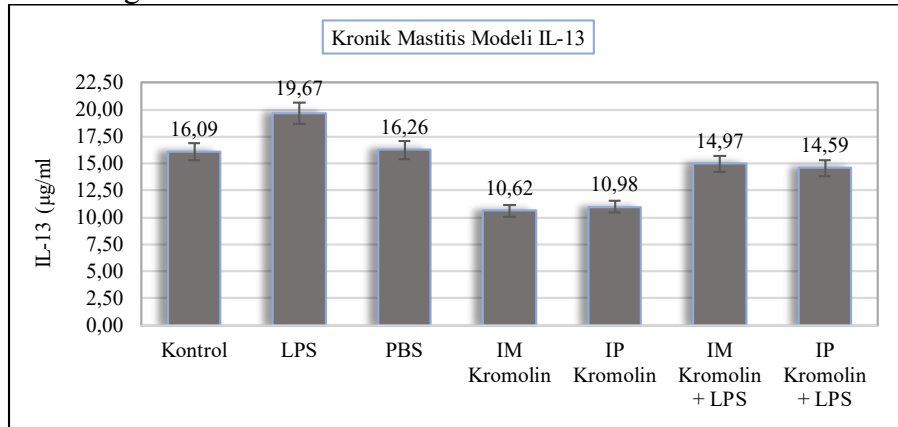
4.6.2.2. IL-13 Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama IL-13 değerleri **Tablo 48**'de, kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri ise **Tablo 49**'da verilmiştir. Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen IL-13 değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık tespit edilememiştir (*p*: 0,681). Kontrol ve PBS gruplarından elde edilen meme dokularının ortalama IL-1 β seviyesi sırası ile 16,03 μ g/ml ve 16,26 μ g/ml olarak bulunmuştur. Tek başına kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı gruplarda IL-13 düzeyinde bir azalma olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin ve IP kromolin gruplarında ölçülen IL-13 seviyeleri sırası ile 10,62 μ g/ml ve 10,98 μ g/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ortaya konmuştur (IM Kromolin grubu için *p*: 0,011; IP Kromolin grubu için *p*: 0,004).

LPS ile kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularında IL-13 düzeyinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubuna dahil olan meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 düzeyi 16,09 µg/ml iken bu değer LPS grubunda 19,67 µg/ml olarak bulunmuştur ($p: 0,015$). Benzer şekilde, PBS uygulamasının yapıldığı meme dokuları ile kıyaslandığında (16,26 µg/ml), LPS enjeksiyonlarının yapıldığı meme dokularında IL-13 düzeyinin (19,67 µg/ml) artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p: 0,017$). Ek olarak, LPS ile kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularında ölçülen IL-13 değerinin IP Kromolin (10,98 µg/ml) ve IM Kromolin (10,62 µg/ml) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir (IM Kromolin grubu için $p: 0,002$; IP Kromolin grubu için $p: 0,001$).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında IL-13 seviyesinde bir azalmaya neden olduğu dikkati çekmiştir. LPS grubu ile kıyaslandığında, IM Kromolin + LPS grubunun IL-13 düzeyinde (14,97 µg/ml) bir azalma şekillense de bu düşüş istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p: 0,071$). Buna karşılık olarak, IP Kromolin + LPS grubunun IL-13 düzeyinde meydana gelen azalmanın (14,59 µg/ml) istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p: 0,034$).

Tablo 48. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 değerleri.



Tablo 49. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen ortalama **IL-13** değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

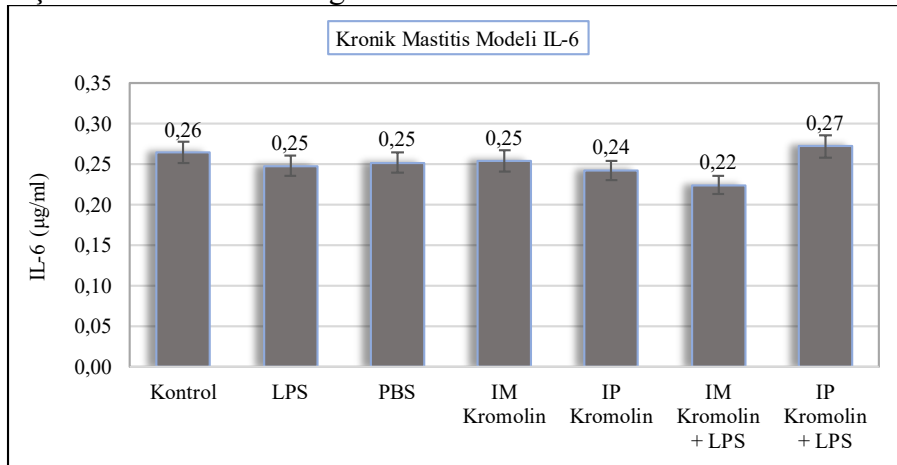
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,681	0,015*	0,004	0,011	0,889	0,706
2. Grup	0,681	-	0,017*	0,013	0,026	0,924	0,942
3. Grup	0,015*	0,017*	-	0,001	0,002	0,071	0,034*
4.1. Grup	0,004	0,013	0,001	-	0,996	0,070	0,044
4.2. Grup	0,011	0,026	0,002	0,996	-	0,085	0,061
5. Grup	0,889	0,924	0,071	0,070	0,085	-	0,891
6. Grup	0,706	0,942	0,034*	0,044	0,061	0,891	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.6.2.3. IL-6 Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama IL-6 değerleri **Tablo 50**'de verilmiştir. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen IL-6 değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir (*p*: 0,945). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama IL-6 düzeyinin 0,26 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama IL-6 düzeyleri sırası ile 0,25 µg/ml, 0,25 µg/ml ve 0,24 µg/ml olarak bulunmuştur. LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama IL-6 düzeyinin 0,25 µg/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının ortalama IL-6 düzeylerinin sırası ile 0,22 µg/ml ve 0,27 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

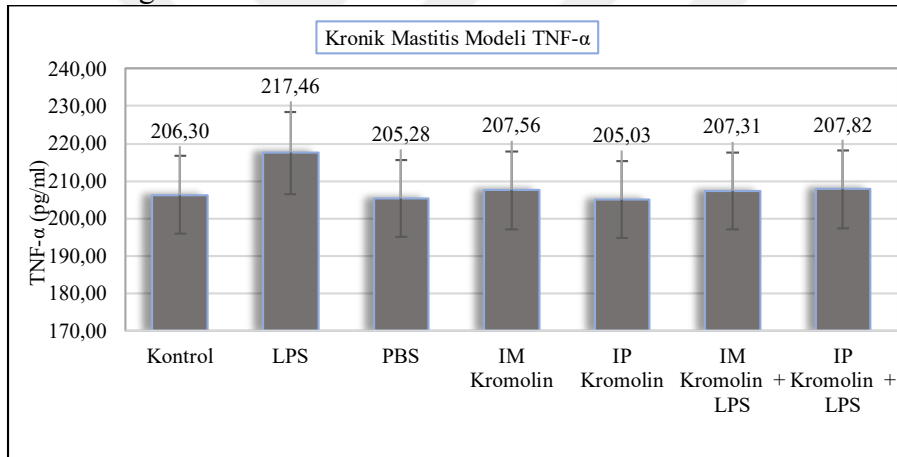
Tablo 50. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama **IL-6** değerleri.



4.6.2.4. TNF- α Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama TNF- α değerleri **Tablo 51**'de verilmiştir. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen TNF- α değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,103$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama TNF- α düzeyinin 206,30 pg/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama TNF- α düzeyleri sırası ile 205,28 pg/ml, 207,56 pg/ml ve 205,03 pg/ml olarak bulunmuştur. LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama TNF- α düzeyinin 217,46 pg/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının ortalama TNF- α düzeylerinin sırası ile 207,31 pg/ml ve 207,82 pg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 51. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama TNF- α değerleri.

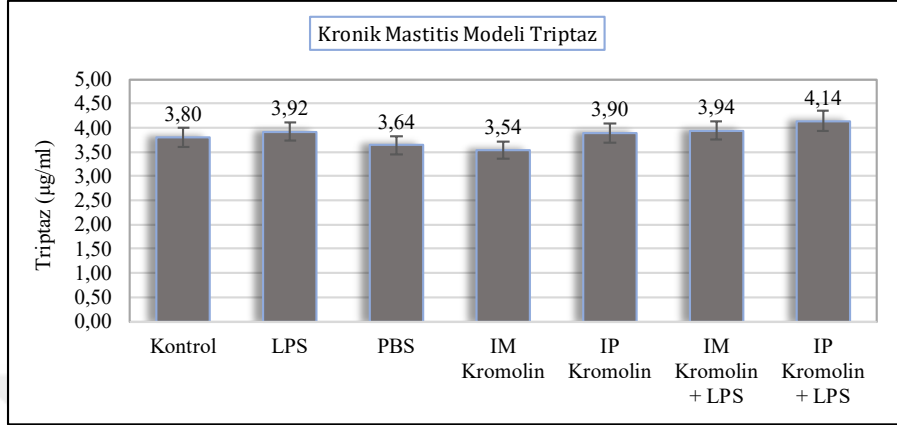


4.6.2.5. Triptaz Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama triptaz değerleri **Tablo 52**'de verilmiştir. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen triptaz değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,981$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama triptaz düzeyinin 3,80 μ g/ml olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama triptaz düzeyleri sırası ile 3,64 μ g/ml, 3,54 μ g/ml ve 3,90 μ g/ml olarak bulunmuştur. LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama triptaz düzeyinin 3,92 μ g/ml olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin

+ LPS gruplarının ortalama triptaz düzeylerinin sırası ile 3,94 $\mu\text{g/ml}$ ve 4,14 $\mu\text{g/ml}$ olduğu tespit edilmiştir.

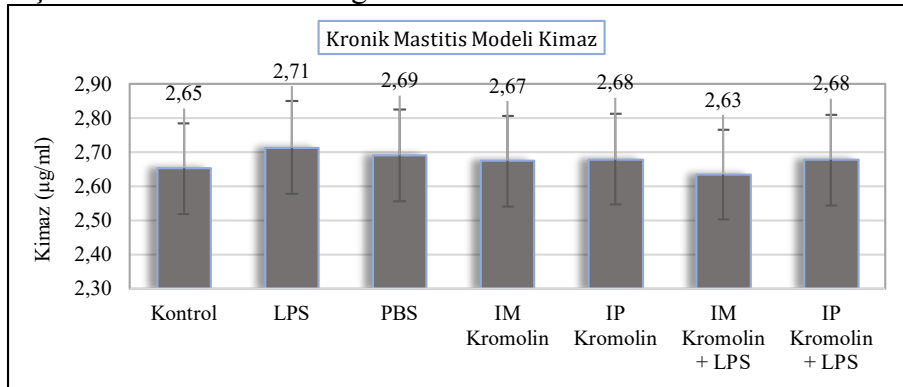
Tablo 52. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama **triptaz** değerleri.



4.6.2.6. Kimaz Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen ortalama kimaz değerleri **Tablo 53**'te verilmiştir. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen kimaz değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p: 0,849$). Kontrol grubundan elde edilen meme dokularının ortalama kimaz düzeyinin 2,65 $\mu\text{g/ml}$ olduğu tespit edilmiştir. PBS, IM Kromolin ve IP Kromolin gruplarının ortalama kimaz düzeyleri sırası ile 2,69 $\mu\text{g/ml}$, 2,67 $\mu\text{g/ml}$ ve 2,68 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının ortalama kimaz düzeyinin 2,71 $\mu\text{g/ml}$ olduğu gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının ortalama kimaz düzeylerinin sırası ile 2,63 $\mu\text{g/ml}$ ve 2,68 $\mu\text{g/ml}$ olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 53. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama **kimaz** değerleri.



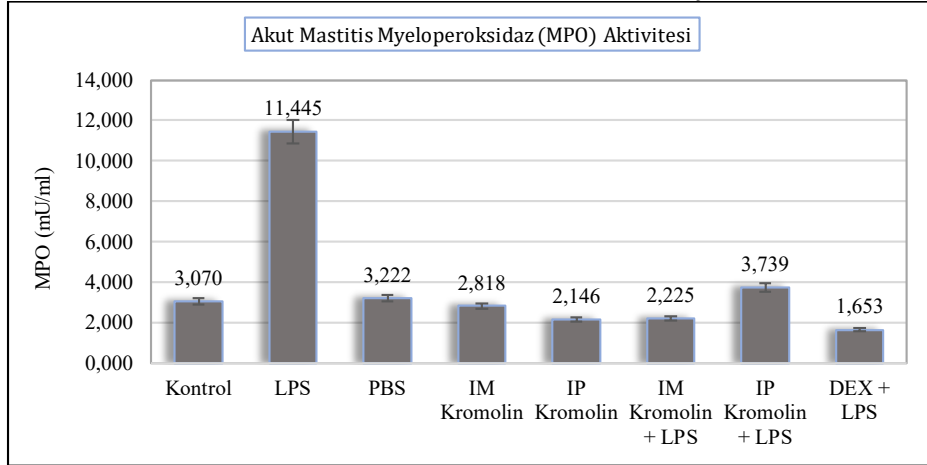
4.7. Dokularda Yangının Şiddetinin MPO Aktivitesinin Değerlendirilmesi

4.7.1. Akut Mastitis Modeli Gruplarında Ölçülen MPO Değerleri

Akut mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri **Tablo 54**'te, istatistiksel analizler sonucunda elde edilen *p* değerleri ise **Tablo 55**'te gösterilmiştir (**Resim 215**). Kontrol (3,070 mU/ml), PBS (3,222 mU/ml), IM Kromolin (2,818 mU/ml) ve IP Kromolin (2,146 mU/ml) gruplarından elde edilen meme dokularının MPO düzeyleri arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (*p*: 0,760). LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında MPO düzeyinin son derece yükseldiği gözlenmiştir. Kontrol grubunun ortalama MPO düzeyi 3,070 mU/ml iken bu değer LPS grubunda 11,445 mU/ml olarak bulunmuştur (*p*<0,001). LPS grubunun MPO düzeyinin kontrol grubuna kıyasla 3,72 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir. LPS (11,445 mU/ml) ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında ölçülen MPO düzeyinin PBS (3,222 mU/ml), IM Kromolin (2,818 mU/ml) ve IP Kromolin (2,146 mU/ml) gruplarına kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği ortaya konmuştur (*PBS grubu için p*: 0,001; *IM Kromolin ve IP Kromolin grupları için p*<0,001).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile indüklenen akut mastitis modelinde MPO seviyesini önemli derecede düşürdüğü dikkati çekmiştir. MPO düzeyleri IM Kromolin + LPS grubunda 2,225 mU/ml ve IP Kromolin + LPS grubunda 3,739 mU/ml olarak bulunmuştur. LPS grubuna kıyasla şekillenen bu azalmanın istatistiksel açıdan da anlamlı olduğu tespit edilmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için *p*<0,001 ve IP Kromolin + LPS grubu için *p*: 0,001). LPS grubu ile kıyaslandığında, deksametazon uygulamasının MPO düzeyinde önemli bir düşüşe neden olduğu ve DEX + LPS grubundan elde edilen meme dokularında MPO düzeyinin 1,653 mU/ml olduğu gözlenmiştir (*p*: 0,001). DEX + LPS grubu, IM Kromolin + LPS grubu ve IP Kromolin + LPS grubunun MPO düzeyleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı ortaya konmuştur (**Tablo 55**). DEX + LPS grubunun ortalama MPO değeri 1,653 mU/ml iken bu değer IM Kromolin + LPS grubunda 2,225 mU/ml ve IP Kromolin + LPS grubunda 3,739 mU/ml olarak bulunmuştur.

Tablo 54. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri.



Tablo 55. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan *p* değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1. Grup	-	0,760	0,001*	0,520	0,196	0,016*	0,698	0,083
2. Grup	0,760	-	0,001*	0,085	0,315	0,025*	0,999	0,123
3. Grup	0,001*	0,001*	-	<0,001*	0,001*	<0,001*	0,001*	0,001*
4.1. Grup	0,520	0,085	<0,001*	-	0,249	0,312	0,024*	0,838
4.2. Grup	0,196	0,315	0,001*	0,249	-	0,040*	0,180	0,322
5. Grup	0,016*	0,025*	<0,001*	0,312	0,040*	-	0,003*	0,496
6. Grup	0,698	0,999	0,001*	0,024*	0,180	0,003*	-	0,072
7. Grup	0,083	0,123	0,001*	0,838	0,322	0,496	0,072	-

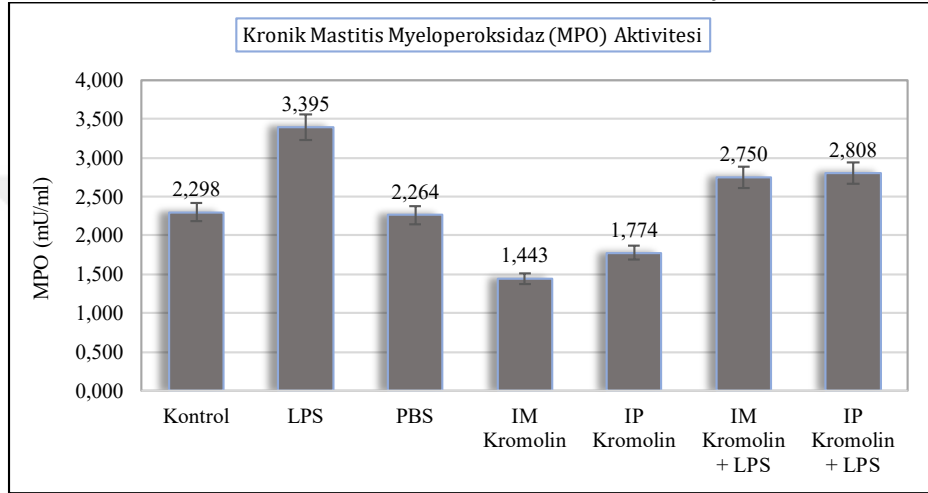
1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu; 7. Grup: DEX + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.7.2. Kronik Mastitis Modeli Gruplarında Ölçülen MPO Değerleri

Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri **Tablo 56**'da, istatistiksel analizler sonucunda elde edilen *p* değerleri ise **Tablo 57**'de gösterilmiştir. LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında MPO seviyesinin önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubunun MPO düzeyi 2,298 mU/ml iken bu sayı LPS grubunda 3,395 mU/ml olarak bulunmuştur (*p*: 0,031). LPS ile indüklenen kronik mastitis modelinde kromolin sodyum uygulamasının MPO düzeyinde bir azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. IM Kromolin + LPS grubunun MPO düzeyi 2,750 mU/ml ve IP Kromolin + LPS grubunun değeri ise 2,808 mU/ml olarak bulunmuştur. LPS grubuna kıyasla meydana gelen bu düşüşün istatistiksel olarak da anlamlı olduğu dikkati çekmiştir (IM Kromolin + LPS grubu için *p*: 0,037 ve IP Kromolin + LPS grubu için *p*: 0,021). IM Kromolin + LPS

ve IP Kromolin + LPS gruplarının MPO değerleri birbirleriyle kıyaslandığında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p: 0,511$). Ek olarak, tek başına IM ve IP yolla kromolin sodyum uygulamasının MPO düzeyinde anlamlı bir azalma meydana getirdiği görülmüştür. Kontrol grubunda ölçülen MPO değeri 2,298 mU/ml iken bu değer IM Kromolin grubunda 1,443 mU/ml ve IP Kromolin grubunda 1,774 mU/ml olarak bulunmuştur (IM Kromolin grubu: $0,004$; IP Kromolin grubu için $p: 0,010$).

Tablo 56. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri.



Tablo 57. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan p değerleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4.1. Grup	4.2. Grup	5. Grup	6. Grup
1. Grup	-	0,282	0,031*	0,010*	0,004*	0,024*	0,015*
2. Grup	0,282	-	0,005*	0,021*	0,009*	0,015*	0,009*
3. Grup	0,031*	0,005*	-	0,003*	0,002*	0,037*	0,021*
4.1. Grup	0,010*	0,021*	0,003*	-	0,581	0,004*	0,002*
4.2. Grup	0,004*	0,009*	0,002*	0,581	-	0,003*	0,001*
5. Grup	0,024*	0,015*	0,037*	0,004*	0,003*	-	0,511
6. Grup	0,015*	0,009*	0,021*	0,002*	0,001*	0,511	-

1. Grup: Kontrol Grubu; 2. Grup: LPS Grubu; 3. Grup: PBS Grubu; 4.1. Grup: IP Kromolin Grubu; 4.2. Grup: IM Kromolin Grubu; 5. Grup: IM Kromolin + LPS Grubu; 6. Grup: IP Kromolin + LPS Grubu. (*) istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın bulunduğunu ifade etmektedir.

4.8. Hücre Kültürü

İlk hücre çıkışlarının fare meme dokusu eksplantından 24. saatin sonunda, inek meme dokusu eksplantından ise 96. saatin sonunda başladığı tespit edilmiştir (**Resim 216-218**). Elde edilen hücreler, 1. pasajları sırasında morfolojik değerlendirme için Diff Quik boyama prosedürü ile boyanmışlardır. Boyamanın ardından hücrelerin oval-yuvarlak şekilli bazofilik bir çekirdeğe ve mekik şeklinde bir sitoplazmaya sahip

oldukları tespit edilmiştir (**Resim 219-220**). Ek olarak, hücrelerin mezenkimal orijinlerinin doğrulanması için anti-sitokeratin ve anti-vimentin antikoru kullanılarak immunositokimyasal boyamalar yapılmıştır. İmmunositokimyasal boyamaların sonucunda hücreler anti-vimentin antikoru ile pozitif reaksiyon verirken anti-sitokeratin antikoru ile boyanma şekillenmemiştir (**Resim 221-224**).

4.8.1. Hücre Proliferasyon Testi

4.8.1.1. İnek Meme Fibroblastlarında Hücre Proliferasyon Testi

Triptaz ve kimaz enzimlerinin fibrozise yönelik bağ doku hücrelerindeki olası proliferatif etkileri meme dokusundan izole edilen fibroblastlar üzerinde incelenmiştir. İnek meme dokusu fibroblastlarının proliferasyon analiz sonuçları **Tablo 58**'de özetlenmiştir (**Resim 225**). PAR-2 agonisti SLIGRL-NH₂ ile inkübe edilen inek meme fibroblastlarında proliferatif kapasitenin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubunu oluşturan hücrelerin proliferatif kapasitesi %100 olarak kabul edildiğinde PAR-2 agonisti ile inkübe edilen hücrelerin proliferasyon derecesinin %193,43'e yükseldiği görülmüş ve 1,93 katlık bir proliferasyon artışı bulunmuştur (*p*: 0,011).

Proliferasyon deneyleri kapsamında, inek meme fibroblastları 60 ng/ml (K₁), 40 ng/ml (K₂) ve 20 ng/ml (K₃) kimaz ile inkübe edilmiştir ve bu üç dozun da inek meme fibroblastlarında mitotik aktiviteyi artırdığı gözlenmiştir. 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile muamele edilen hücrelerde proliferatif kapasite sırası ile %163,81; %170,71 ve %173,17 olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla kimaz ile inkübe edilen fibroblastlarda gerçekleşen bu artışın anlamlı olduğu istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur (K₁ için *p*: 0,001; K₂ için *p*: 0,025; K₃ için *p*: 0,021). Bu üç dozun inek meme fibroblastları üzerindeki proliferatif etkileri kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (K₁-K₂ için *p*: 0,630; K₁-K₃ için *p*: 0,500; K₂-K₃ için *p*: 0,884).

Triptaz ve kimaz proteinleri, PAR-2 reseptörleri aracılığı ile etkilerini gösterdikleri için, deney grupları arasında PAR-2 antagonistlerine de yer verilerek bu iki proteinin etkilerinin doğrulanması amaçlanmıştır. Negatif kontrol grubu kapsamında, inek meme fibroblastları PAR-2 antagonisti FSLLRY-NH₂ ile bir saat inkübe edilmiş, takiben ortama 60 ng/ml (KA₁), 40 ng/ml (KA₂) ve 20 ng/ml (KA₃) kimaz eklenmiştir. Sadece kimaz ile inkübe edilen hücreler (K₁, K₂ ve K₃) ile

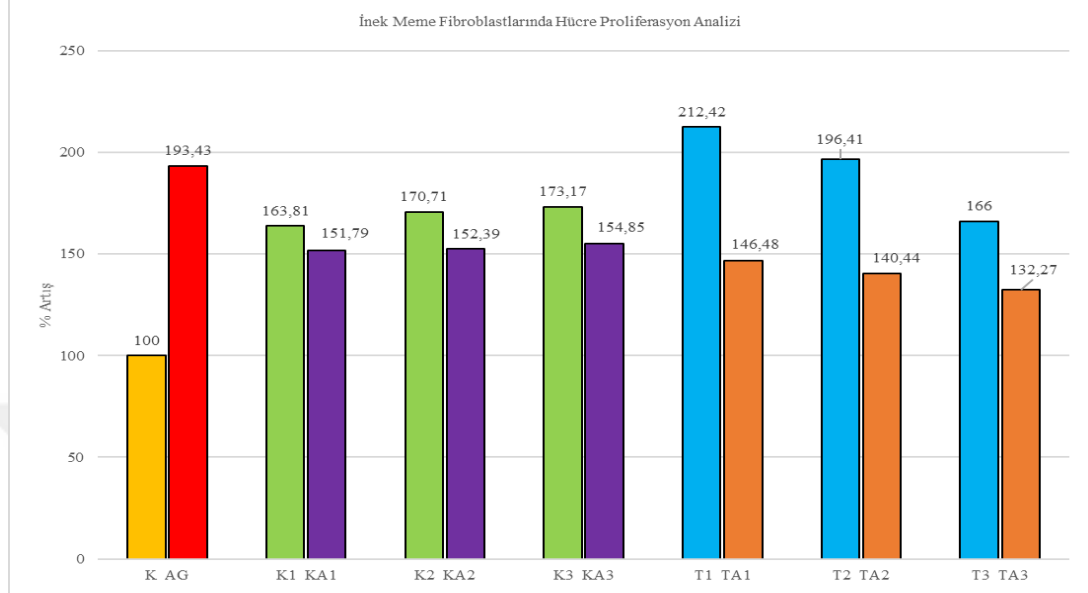
kıyaslandığında, PAR-2 antagonisti ve kimaz ile birlikte inkübe edilen fibroblastların (KA₁, KA₂ ve KA₃) proliferatif kapasitesinde hafif bir azalma meydana gelse de istatistiksel analizler bu farklılığın anlamlı olmadığını ortaya koymuştur (K₁-KA₁ için p : 0,384; K₂-KA₂ için p : 0,352; K₃-KA₃ için p : 0,318). FSLLRY-NH₂ ve takiben 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile inkübe edilen fibroblastların proliferasyon derecesi sırası ile %151,79 %152,39 ve %154,85 olarak bulunmuştur.

Triptaz proteininin fibroblastlar üzerindeki olası proliferatif etkilerinin değerlendirilebilmesi için, inek meme fibroblastları 100 mU/ml (T₁), 75 mU/ml (T₂) ve 50 mU/ml (T₃) triptaz ile inkübe edilmiştir. Hücrelerin proliferatif kapasitesinin bu üç doza yanıt olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. 100 mU/ml triptaz ile muamele edilen hücrelerde proliferatif kapasitenin %212,42'ye ulaştığı gözlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, 100 mU/ml triptaz ile muamele edilen hücrelerin proliferasyon derecesinin 2,12 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir (p : 0,005). 75 mU/ml ve 50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen fibroblastların sayısı sırası ile %196,41 (1,96 kat) ve %166 (1,66 kat) artış göstermiştir. Kontrol grubuna kıyasla şekillenen bu artış, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (T₂ için p <0,001; T₃ için p : 0,002). 100 mU/ml (%212,42) ve 75 mU/ml (%196,41) dozlarda verilen triptazın fibroblastlar üzerinde oluşturduğu proliferatif etkiler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır (p : 0,161). 50 mU/ml triptazın oluşturduğu proliferatif etkinin (%166) ise diğer dozlara kıyasla azaldığı gözlenmiştir (T₁-T₃ için p : 0,007; T₂-T₃ için p : 0,005).

Negatif kontrol grubu kapsamında, inek meme fibroblastları PAR-2 antagonisti FSLLRY-NH₂ ile bir saat inkübe edilmiş, sonrasında kuyucuklara 100 mU/ml (TA₁), 75 mU/ml (TA₂) ve 50 mU/ml (TA₃) triptaz eklenmiştir. PAR-2 antagonisti ve triptaz ile inkübe edilen fibroblastlarda proliferatif kapasitenin azaldığı gözlenmiştir. 100 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerde proliferatif kapasitenin %212,42 olduğu, PAR-2 antagonisti ve 100 mU/ml triptazın birlikte uygulandığı hücrelerde bu değer azalarak %146,48 seviyesine indiği gözlenmiştir (p : 0,002). Tek başına 75 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücreler ile (%196,41), PAR-2 antagonisti ve 75 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerin proliferasyon derecesi kıyaslandığında yine belirgin bir azalma (%140,44) tespit edilmiştir (p : 0,002). Benzer şekilde, PAR-2 antagonisti ve

50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerin (%166) çoğalma derecesinin, triptaz eşleniğine (%132,27) kıyasla azaldığı gözlenmiştir ($p: 0,003$).

Tablo 58. İnek meme fibroblastlarında hücre proliferasyon analizi.



K: Kontrol Grubu **AG:** Pozitif Kontrol Grubu **K1:** 60 ng/ml kimaz **KA1:** 100 μ M FSLLRY + 60 ng/ml kimaz **K2:** 40 ng/ml kimaz **KA2:** 100 μ M FSLLRY + 40 ng/ml kimaz **K3:** 20 ng/ml kimaz **KA3:** 100 μ M FSLLRY + 20 ng/ml kimaz **T1:** 100 mU/ml triptaz **TA1:** 100 μ M FSLLRY + 100 mU/ml triptaz **T2:** 75 mU/ml triptaz **TA2:** 100 μ M FSLLRY + 75 mU/ml triptaz **T3:** 50 mU/ml triptaz **TA3:** 100 μ M FSLLRY + 50 mU/ml triptaz

4.8.1.2. Fare Meme Fibroblastlarında Hücre Proliferasyon Testi

Fare meme dokusu fibroblastlarının proliferasyon analizi sonuçları **Tablo 59'**da özetlenmiştir. Tek başına PAR-2 agonisti SLIGRL-NH₂ ile inkübe edilen fare meme fibroblastlarında proliferatif kapasitenin arttığı dikkati çekmiştir ($p: 0,039$). Kontrol grubunu oluşturan hücrelerin proliferasyon düzeyi %100 olarak kabul edildiğinde bu grubu oluşturan hücrelerin proliferatif aktivitesinin %200,64 seviyesine ulaştığı görülmüş ve 2 katlık artış tespit edilmiştir.

Deneyler kapsamında, fare meme fibroblastları 60 ng/ml (K₁), 40 ng/ml (K₂) ve 20 ng/ml (K₃) dozlarında kimaz ile muamele edilmiştir. Bu 3 dozun da kültüre edilen hücreler üzerinde proliferatif etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%100), 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile kültüre edilen hücrelerin proliferasyon düzeyinin sırası ile %122,43 (1,2 kat) %130,56 (1,3 kat) ve 129,47 (1,2 kat) olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel analizler, kimaz proteininin oluşturduğu proliferatif etkinin önemli olduğunu göstermiştir (K₁ için $p: 0,005$; K₂ için $p: 0,002$; K₃ için $p: 0,008$). Verilen 3 farklı doz kimazın fare meme fibroblastlarında

oluşturdukları proliferatif etkilerin benzerlik gösterdiği ve istatistiksel olarak önem arz etmediği tespit edilmiştir (K_1 - K_2 için p : 0,130; K_1 - K_3 için p : 0,315; K_2 - K_3 için p : 0,869).

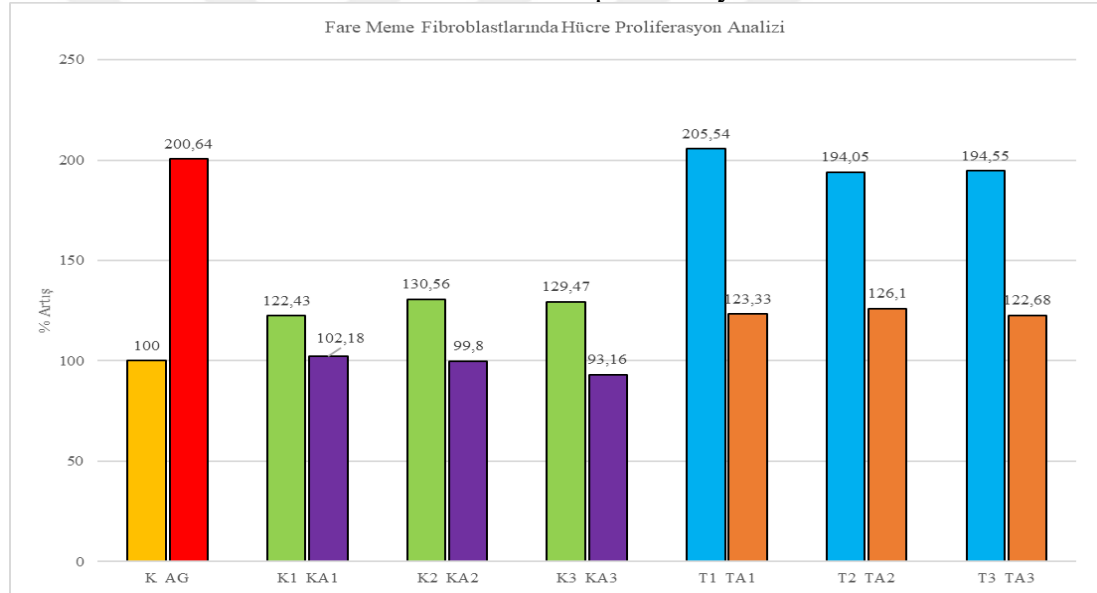
Negatif kontrol grubu kapsamında, fare meme fibroblastları PAR-2 antagonisti olan FSLLRY-NH₂ ile 1 saat boyunca inkübe edilmiş, takiben ortama 60 ng/ml (KA_1), 40 ng/ml (KA_2) ve 20 ng/ml (KA_3) kimaz eklenmiştir. PAR-2 antagonisti ile önceden muamele edilen hücrelerde kimaz proteini ile oluşturulan proliferatif etkinin baskılandığı ve hücrelerde mitotik aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir. Bu kapsamda, tek başına 60 ng/ml kimaz ile kültüre edilen hücrelerin proliferatif kapasitesi ile kıyaslandığında (%122,43), 100 μ M FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml kimaz ile muamele edilen hücrelerin proliferatif kapasitesinde bir azalma şekillense de (%102,18) istatistiksel analizler bu farklılığın anlamlı olmadığını ortaya koymuştur (p : 0,097). Benzer şekilde, 100 μ M FSLLRY NH₂ ve 40 ng/ml kimaz ile kültüre edilen hücrelerin proliferatif kapasitesinde meydana gelen azalma da (%99,8) istatistiksel olarak bir anlam bulunamamıştır (p : 0,082). Sadece 20 ng/ml kimaz ile inkübe edilen hücrelerin proliferatif kapasiteleri ile (%129,47), 100 μ M FSLLRY NH₂ ve 20 ng/ml kimaz ile inkübe edilen fibroblastların proliferatif kapasiteleri (%93,16) kıyaslandığında önemli bir istatistiksel azalma tespit edilmiştir (p : 0,034).

Triptaz proteininin fare meme fibroblastları üzerindeki olası proliferatif etkilerinin araştırılması için hücreler 100 mU/ml (T_1), 75 mU/ml (T_2) ve 50 mU/ml (T_3) triptaz ile muamele edilmiştir. Hücrelerin proliferatif kapasitelerinin her üç doza yanıt olarak belirgin derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında (%100), 100 mU/ml, 75 mU/ml ve 50 mU/ml triptaz ile kültüre edilen hücrelerin proliferasyon seviyeleri sırası ile %205,54 (2,05 kat) %194,05 (1,94 kat) ve %194,55 (1,94 kat) olarak bulunmuştur. Triptaz proteini tarafından oluşturulan proliferatif etkinin istatistiksel analizler ile de önemli olduğu ortaya konmuştur (T_1 için $p<0,001$; T_2 için $p<0,001$; T_3 için $p<0,001$).

Triptaz ve kimaz proteinleri, PAR-2 reseptörleri aracılığı ile etkilerini gösterdikleri için, deney grupları arasında PAR-2 antagonistlerine de yer verilerek bu iki proteinin etkilerinin doğrulanması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, fare meme fibroblastları PAR-2 antagonisti FSLLRY-NH₂ ile bir saat boyunca inkübe edildikten

sonra ortama 100 mU/ml (TA₁), 75 mU/ml (TA₂) ve 50 mU/ml (TA₃) triptaz eklenmiştir. PAR-2 antagonisti ile önceden muamele edilen hücrelerde proliferasyonun belirgin derecede azaldığı tespit edilmiştir. Sadece 100 mU/ml triptaz ile muamele edilen hücrelerde proliferasyon düzeyi %205,54 iken 100 µM FSLLRY-NH₂ ve 100 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerde bu oran %123,33 düzeyine düşmüştür ($p<0,001$). Hücrelerin 75 mU/ml triptaz varlığında sergiledikleri proliferatif kapasite (%194,05), 100 µM FSLLRY-NH₂ varlığında (%126,1) belirgin derecede azalmıştır ($p: 0,004$). Benzer şekilde, yalnızca 50 mU/ml triptaz ile kültüre edilen hücrelerin bölünme oranı ile kıyaslandığında (%194,55), 100 µM FSLLRY-NH₂ ve 50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen fibroblastlarda proliferatif kapasitenin önemli ölçüde azaldığı (%122,68) tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Tablo 59. Fare meme fibroblastlarında hücre proliferasyon analizi.



K: Kontrol Grubu **AG:** Pozitif Kontrol Grubu **K1:** 60 ng/ml kimaz **KA1:** 100 µM FSLLRY + 60 ng/ml kimaz **K2:** 40 ng/ml kimaz **KA2:** 100 µM FSLLRY + 40 ng/ml kimaz **K3:** 20 ng/ml kimaz **KA3:** 100 µM FSLLRY + 20 ng/ml kimaz **T1:** 100 mU/ml triptaz **TA1:** 100 µM FSLLRY + 100 mU/ml triptaz **T2:** 75 mU/ml triptaz **TA2:** 100 µM FSLLRY + 75 mU/ml triptaz **T3:** 50 mU/ml triptaz **TA3:** 100 µM FSLLRY + 50 mU/ml triptaz

4.8.2. Hidroksiprolin Ölçüm Testi

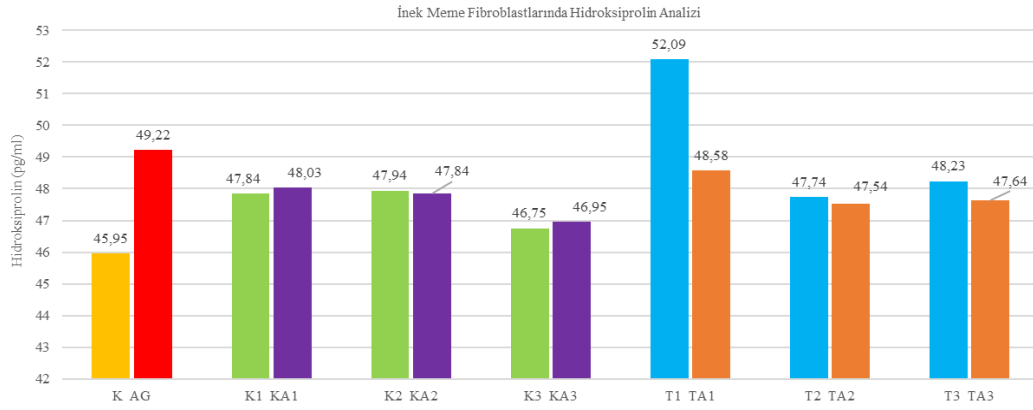
4.8.2.1. İnek Meme Fibroblastlarında Hidroksiprolin Ölçüm Testi

Hidroksiprolin ölçüm testi sonuçları **Tablo 60'**da özetlenmiştir (**Resim 226**). Kontrol grubu (45,95 pg/ml) ile karşılaştırıldığında, 100 mU/ml triptaz ile inkübe edilen fibroblastlarda kollajen üretiminin artış gösterdiği (52,09 pg/ml) tespit edilmiştir ($p: 0,013$). 75 mU/ml (47,74 pg/ml) ve 50 mU/ml (48,23 pg/ml) triptaz ile

inkübe edilen hücrelerde hidroksiprolin üretiminde anlamlı bir artışın şekillenmediği ortaya konmuştur (K-T₂ için p : 0,055; K-T₃ için p : 0,085). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PAR-2 agonisti SLIGRL-NH₂ ile inkübe edilen inek meme fibroblastlarında kollajen üretimi artış gösterse de istatistiksel analizler bu artışın anlamlı olmadığını ortaya koymuştur (p : 0,072). Kontrol grubunda ölçülen hidroksiprolin miktarı 45,95 pg/ml iken agonist grubunda bu değer 49,22 pg/ml olarak bulunmuştur. 100 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelere kıyaslandığında, PAR-2 antagonisti + 100 mU/ml triptazla muamele edilen hücrelerin ürettiği kollajen miktarının önemli ölçüde azaldığı ortaya konmuştur. 100 mU/ml triptaz ile muamele edilen hücrelerin ürettiği kollajen miktarı 52,09 pg/ml iken bu değer PAR-2 antagonisti ve 100 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerde 48,58 olarak bulunmuştur (p : 0,050). PAR-2 antagonisti ile birlikte 75 mU/ml (47,74 pg/ml) ve 50 mU/ml (47,64 pg/ml) triptaz ile inkübe edilen hücrelerde ölçülen kollajen düzeyleri arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (T₂-TA₂ için p : 0,692; T₃-TA₃ için p : 0,571).

Kontrol grubu ile 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile muamele edilen inek meme fibroblastları arasında hidroksiprolin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık meydana gelmemiştir (K₁ için p : 0,078; K₂ için p : 0,264; K₃ için p : 0,560). Kontrol grubunu oluşturan kuyucuklarda ölçülen ortalama hidroksiprolin düzeyi 45,95 pg/ml iken 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile muamele edilen fare meme fibroblastlarında ölçülen ortalama hidroksiprolin değerleri sırası ile 47,84 pg/ml, 47,94 pg/ml ve 46,75 pg/ml olarak bulunmuştur. Negatif kontrol grupları kapsamında, PAR-2 antagonisti olan FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile inkübe edilen hücrelerde kollajen sentezinde bir azalmanın meydana gelmediği ortaya konmuştur. FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml kimazın eklendiği kuyucukların ortalama hidroksiprolin düzeyi 48,03 pg/ml olarak bulunmuştur. Sadece 60 ng/ml kimaz ile muamele edilen hücrelerin sentezledikleri kollajen ile kıyaslandığında, FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml kimaz ile inkübe edilenlerin hidroksiprolin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır (p : 0,905). PAR-2 antagonisti ile birlikte 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimazın verildiği gruplarda da kollajen sentezinde bir azalma şekillenmemiştir (K₂-KA₂ için p : 0,958 ve K₃-KA₃ için p : 0,926).

Tablo 60. İnek meme fibroblastlarında hidroksiprolin analizi.



K: Kontrol Grubu **AG:** Pozitif Kontrol Grubu **K1:** 60 ng/ml kimaz **KA1:** 100 µM FSLLRY + 60 ng/ml kimaz **K2:** 40 ng/ml kimaz **KA2:** 100 µM FSLLRY + 40 ng/ml kimaz **K3:** 20 ng/ml kimaz **KA3:** 100 µM FSLLRY + 20 ng/ml kimaz **T1:** 100 mU/ml triptaz **TA1:** 100 µM FSLLRY + 100 mU/ml triptaz **T2:** 75 mU/ml triptaz **TA2:** 100 µM FSLLRY + 75 mU/ml triptaz **T3:** 50 mU/ml triptaz **TA3:** 100 µM FSLLRY + 50 mU/ml triptaz

4.8.2.2. Fare Meme Fibroblastlarında Hidroksiprolin Ölçüm Testi

Hidroksiprolin ölçüm testi sonuçları **Tablo 61**'de özetlenmiştir. 100 mU/ml, 75 mU/ml ve 50 mU/ml triptaz ile kültüre edilen fibroblastlarda hidroksiprolin düzeyinin önemli ölçüde artmış olduğu tespit edilmiştir (T_1 , T_2 ve T_3 için $p < 0,001$). 100 mU/ml triptaz eklenen grupta ölçülen hidroksiprolin miktarı 68,97 pg/ml, 75 mU/ml verilen grubun değeri 59,91 pg/ml ve 50 mU/ml triptaz ile kültüre edilen hücrelerde ölçülen değer ise 65,86 pg/ml olarak bulunmuştur.

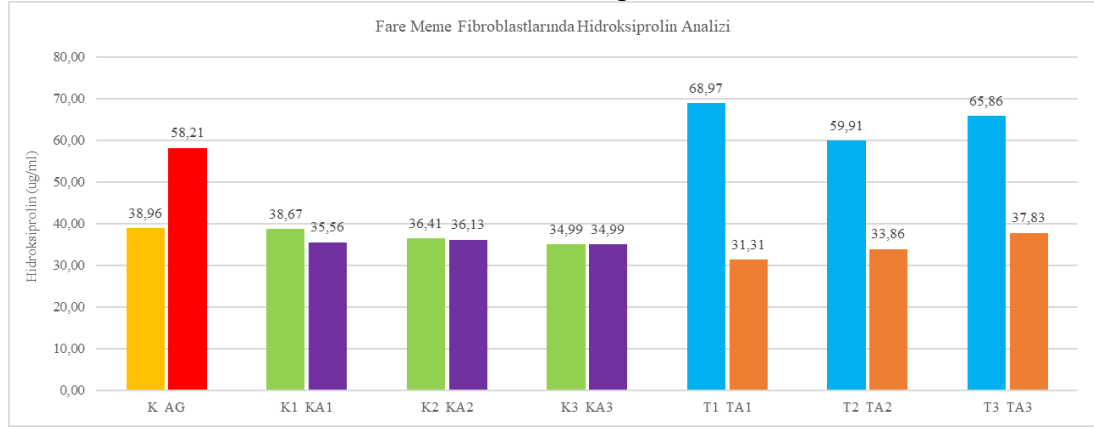
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 100 µM PAR-2 agonisti SLIGRL-NH₂ ile inkübe edilen fare meme fibroblastlarında kollajen üretiminin artmış olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ölçülen hidroksiprolin miktarı 36,96 pg/ml iken agonist grubunda 58,21 pg/ml olarak bulunmuştur ($p < 0,001$).

Negatif kontrol grubu kapsamında, fare meme fibroblastları PAR-2 antagonisti FSLLRY-NH₂ ile 1 saat boyunca inkübe edilmiş, takiben ortama 100 mU/ml, 75 mU/ml ve 50 mU/ml triptaz proteini eklenerek hücreler inkübasyona bırakılmıştır. PAR-2 antagonisti ile inkübe olan hücrelerde hidroksiprolin sentezinin önemli ölçüde azaldığı dikkati çekmiştir. Tek başına 100 mU/ml triptaz verilen gruba ait hidroksiprolin düzeyi (68,97 pg/ml) ile kıyaslandığında 100 µM FSLLRY-NH₂ ve 100 mU/ml triptaz verilen grupta hidroksiprolin düzeyinin azalarak 31,31 pg/ml seviyesine gerilediği gözlenmiştir ($p < 0,001$). Benzer şekilde, 75 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerdeki ortalama hidroksiprolin miktarı 59,91 pg/ml iken, PAR-2 antagonisti+75

mU/ml triptaz ile muamele edilen hücrelerde bu değer 33,86 pg/ml olarak bulunmuştur ($p<0,001$). PAR-2 antagonisti + 50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerde hidroksiprolin sentezinin 50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelere göre azaldığı gözlenmiştir. Elli mU/ml triptaz eklenen kuyucuklarda ölçülen hidroksiprolin değeri 65,86 pg/ml iken PAR-2 antagonisti+50 mU/ml triptaz ile inkübe edilen hücrelerde hidroksiprolin değeri 37,83 pg/ml olarak bulunmuştur ve gözlenen bu azalmanın istatistiksel olarak da önem arz ettiği bulunmuştur ($p<0,001$).

Kontrol grubunu oluşturan kuyucuklarda ölçülen ortalama hidroksiprolin düzeyi 38,96 pg/ml iken 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile muamele edilen fare meme fibroblastlarında ölçülen ortalama hidroksiprolin değerlerinin sırası ile 38,67 pg/ml, 36,41 pg/ml ve 34,99 pg/ml olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile 60 ng/ml, 40 ng/ml ve 20 ng/ml kimaz ile muamele edilen fare meme fibroblastlarına ait hidroksiprolin düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık meydana gelmemiştir (K_1 için $p: 0,708$; K_2 için $p: 0,103$; K_3 için $p: 0,099$). Negatif kontrol grubu kapsamında, PAR-2 antagonisti FSLLRY-NH₂ ile birlikte 60 ng/ml (KA_1), 40 ng/ml (KA_2) ve 20 ng/ml (KA_3) kimaz ile inkübe edilen hücrelerde kollajen sentezinde bir azalmanın meydana gelmediği ortaya konmuştur. FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml kimazın (KA_1) eklendiği kuyucukların ortalama hidroksiprolin düzeyi 35,56 pg/ml olarak bulunmuştur. Sadece 60 ng/ml kimaz (K_1) ile muamele edilen hücrelerin sentezledikleri kollajen miktarı ile kıyaslandığında, FSLLRY-NH₂ ve 60 ng/ml kimaz ile inkübe edilen hücrelerin hidroksiprolin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p: 0,079$). Benzer şekilde, PAR-2 antagonisti ile birlikte 40 ng/ml (KA_2) (36,13 pg/ml) ve 20 ng/ml (KA_3) (34,99 pg/ml) kimazın verildiği gruplarda da sadece kimaz proteini ile inkübe edilen hücrelere kıyasla (K_2 ve K_3) kollajen sentezinde bir azalma şekillenmemiştir (K_2 - KA_2 için $p: 0,787$ ve K_3 - KA_3 için $p: 0,398$).

Tablo 61. Fare meme fibroblastlarında hidroksiprolin analizi.



K: Kontrol Grubu **AG:** Pozitif Kontrol Grubu **K1:** 60 ng/ml kimaz **KA1:** 100 µM FSLLRY + 60 ng/ml kimaz **K2:** 40 ng/ml kimaz **KA2:** 100 µM FSLLRY + 40 ng/ml kimaz **K3:** 20 ng/ml kimaz **KA3:** 100 µM FSLLRY + 20 ng/ml kimaz **T1:** 100 mU/ml triptaz **TA1:** 100 µM FSLLRY + 100 mU/ml triptaz **T2:** 75 mU/ml triptaz **TA2:** 100 µM FSLLRY + 75 mU/ml triptaz **T3:** 50 mU/ml triptaz **TA3:** 100 µM FSLLRY + 50 mU/ml triptaz

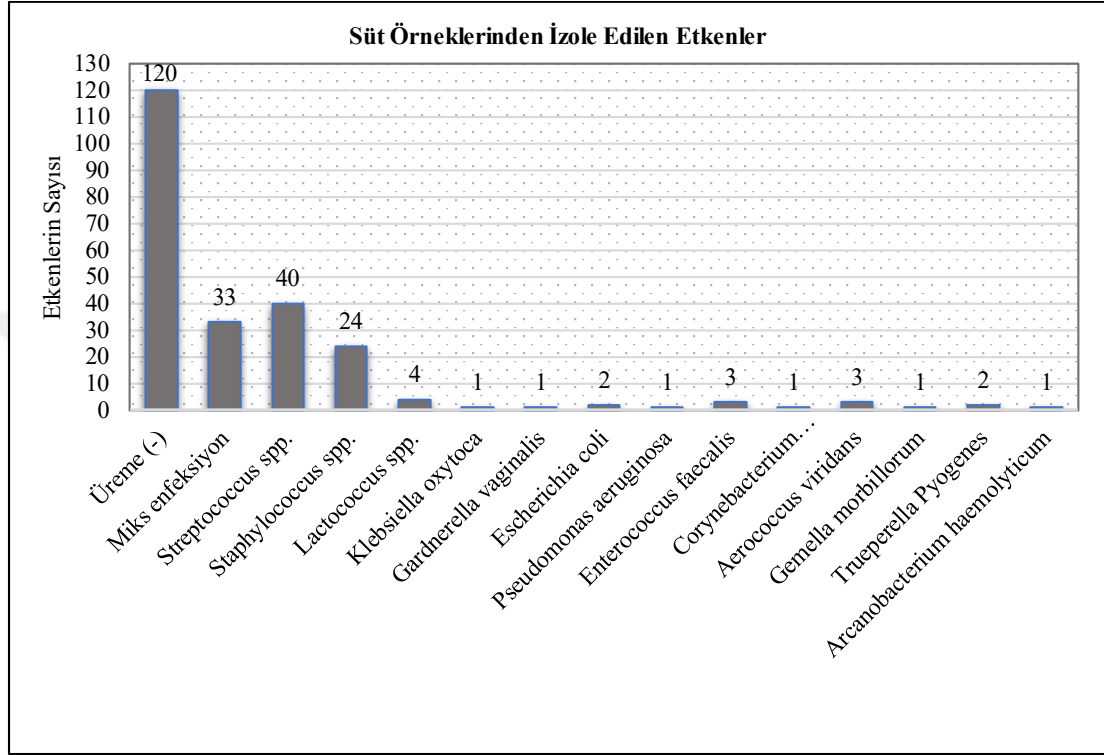
4.9. Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizler sonucunda izole edilen etkenler **Tablo 62'**de sunulmuştur. Meme dokularından elde edilen 237 adet süt örneğinin %49,36'sında (117/237) etken izole edilmiş ancak %50,63'ünde (120/237) herhangi bir etken izole edilememiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda süt örneklerinden ağırlıklı olarak *Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Örneklerin %16,9'unda *Streptococcus* spp. (40/237) ve %10,13'ünde *Staphylococcus* spp. (24/237) üremiştir.

Mikroskobik incelemede sağlıklı olarak klasifiye edilen 119 olgunun 77 tanesinde üreme şekillenmemiştir ve kuru dönemde olmaları sebebi ile 7 tanesinden süt numunesi alınamamıştır. Sağlıklı meme dokularının 9 tanesinde *Staphylococcus* spp. ve 5 tanesinde *Streptococcus* spp. izole edilirken 14 tanesinde miks enfeksiyonun şekillendiği tespit edilmiştir. Akut mastitisli olarak klasifiye edilen 44 olgunun 9 tanesinde üreme şekillenmemiştir ve 1 tanesinden süt numunesi alınamamıştır. Akut mastitisli meme dokularının 19 tanesinin *Streptococcus* spp. ve 7 tanesinin *Staphylococcus* spp. ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, bu meme dokularının 4 tanesinde miks enfeksiyonun bulunduğu saptanmıştır. Mikroskobik tanısı kronik mastitis olan 101 olgunun 19 tanesinden numune alınamamıştır ve 34 tanesinde üreme gerçekleşmemiştir. Bu olguların 15 tanesinde miks enfeksiyon tespit edilirken 16 olguda *Streptococcus* spp. ve 8 olguda *Staphylococcus* spp. üremiştir.

Mikrobiyolojik analizler sonucunda süt örneklerinden izole edilen bakteri türü ile meme dokusuna infiltre olan mast hücre immunofenotipi arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

Tablo 62. Süt örneklerinden izole edilen etkenler.





Resim 1. Sağlıklı bir meme bezinin makroskopik görünümü.



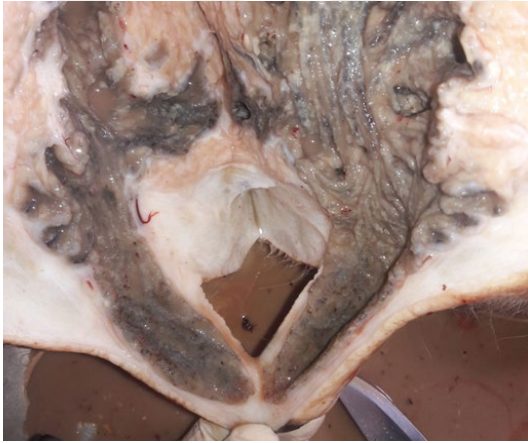
Resim 2. Resim 1’de gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.



Resim 3. Akut yaygın purulent mastitise sahip olan bir meme bezinin makroskopik görünümü.



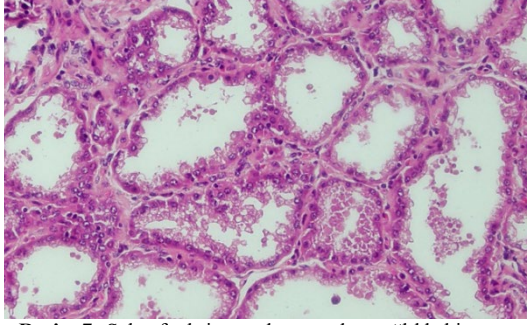
Resim 4. Resim 3’te gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.



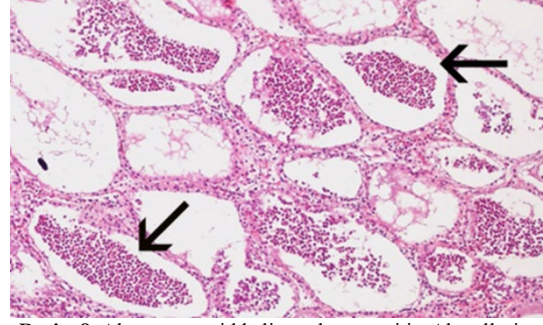
Resim 5. Yaygın şiddetli kronik mastitise sahip olan bir meme bezinin makroskopik görünümü.



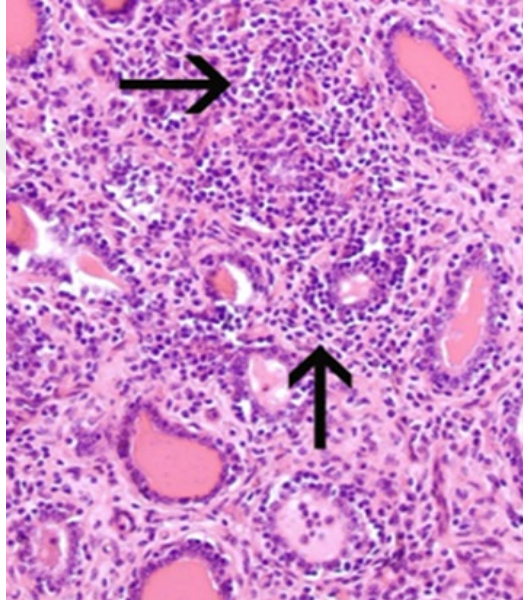
Resim 6. Resim 5’te gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.



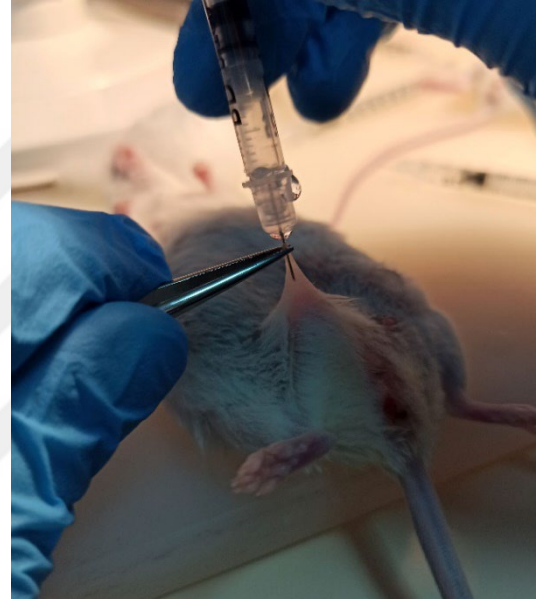
Resim 7. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı bir meme bezinin mikroskopik görünümü. Hematoksilen&Eozin boyama, x200 büyütme.



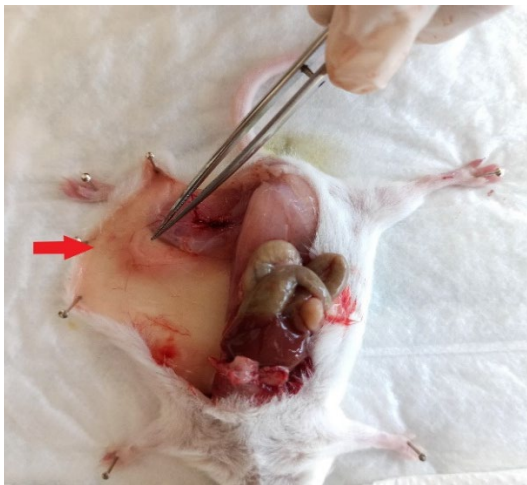
Resim 8. Akut yaygın şiddetli purulent mastitis. Alveollerin içerisinde (oklar) ve interalveoler dokuda nötrofil lökosit infiltrasyonları. Hematoksilen&Eozin boyama, x100 büyütme.



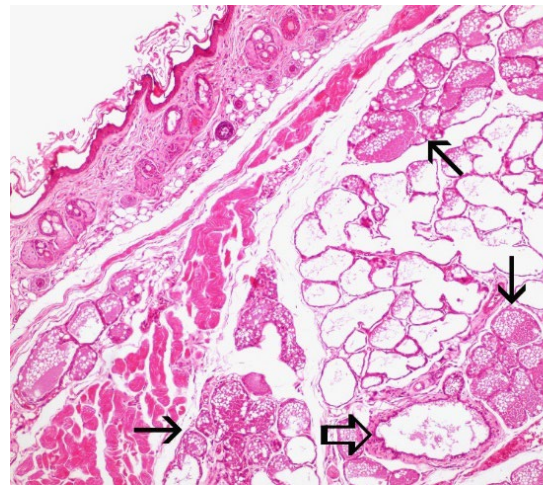
Resim 9. Yaygın şiddetli kronik mastitis. İnteralveoler septal dokuda yoğun bağ doku artışı ve şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları (oklar). Hematoksilen&Eozin boyama, x200 büyütme.



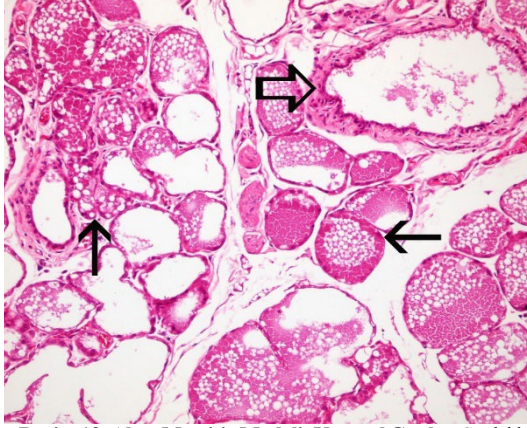
Resim 10. Meme içi enjeksiyon. Meme başı kanalının daha iyi gösterilebilmesi için ötenazisi yapılmış bir hayvanda meme başı pens yardımı ile çekilerek fotoğraflama işlemi gerçekleştirilmiştir.



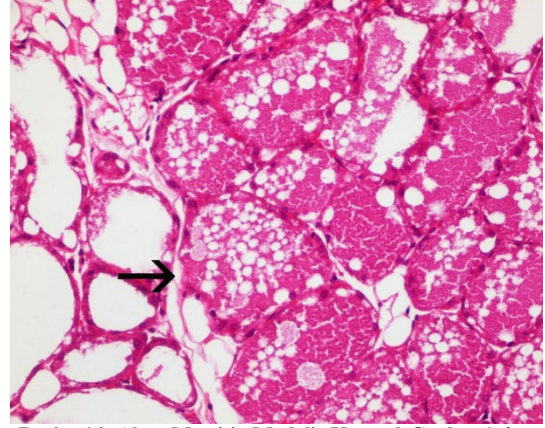
Resim 11. Sol 4. meme bezinin makroskopik görünümü.



Resim 12. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıttıcı kanallar (açık ok). H&E boyama, x100 büyütme.



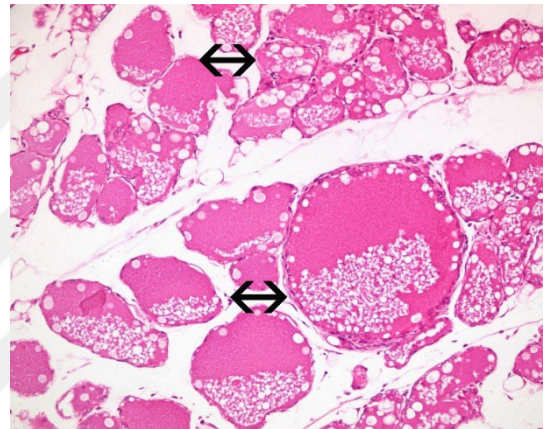
Resim 13. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme dokusunda salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıtcı kanal (açık ok). H&E boyama, x200 büyütme.



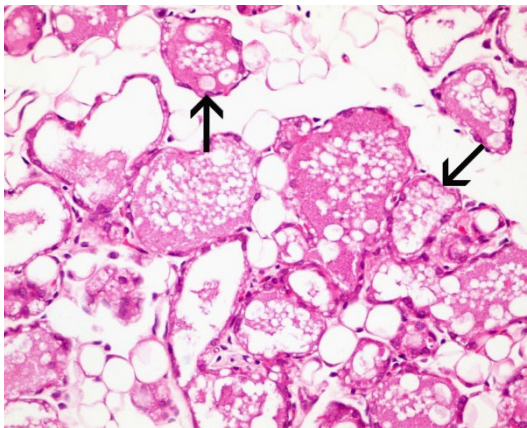
Resim 14. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (ok). H&E boyama, x400 büyütme.



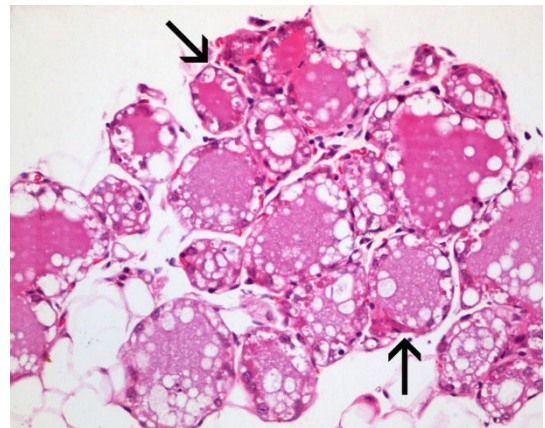
Resim 15. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Meme dokusunda salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıtcı kanallar (açık oklar). H&E boyama, x100 büyütme.



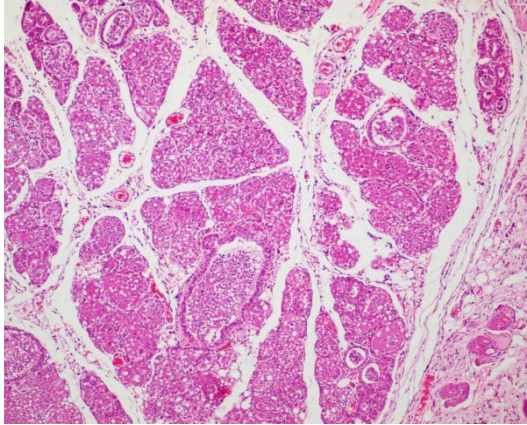
Resim 16. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). H&E boyama, x200 büyütme.



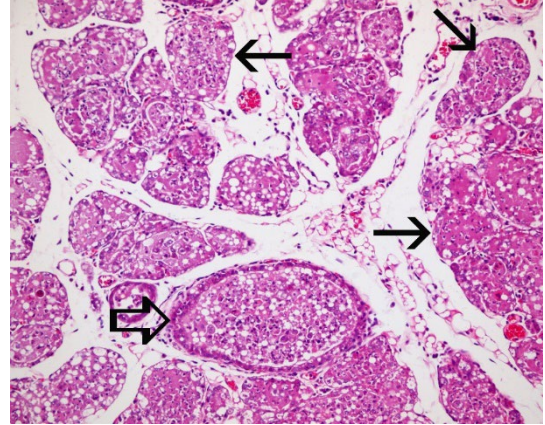
Resim 17. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). H&E boyama, x400 büyütme.



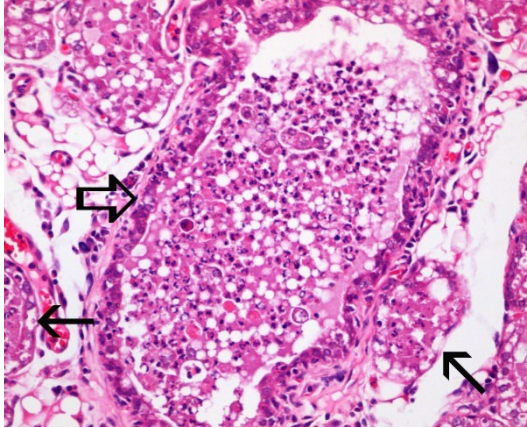
Resim 18. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). H&E boyama, x400 büyütme.



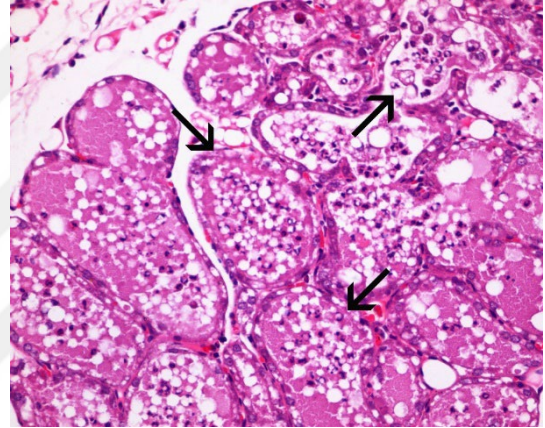
Resim 19. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusu. *H&E boyama, x100 büyütme.*



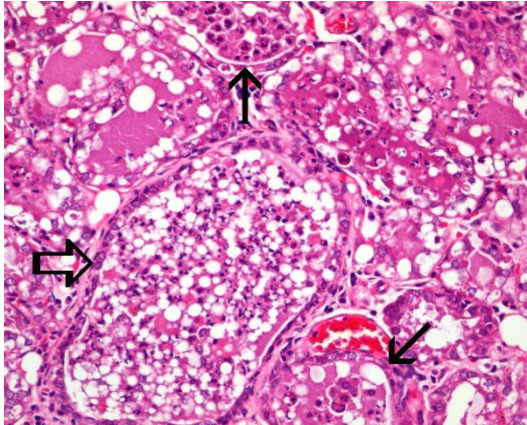
Resim 20. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtcı kanal lümenlerindeki (açık ok) nötrofil lökosit çıkışları, damarlarda belirgin hiperemi. *H&E boyama, x200 büyütme.*



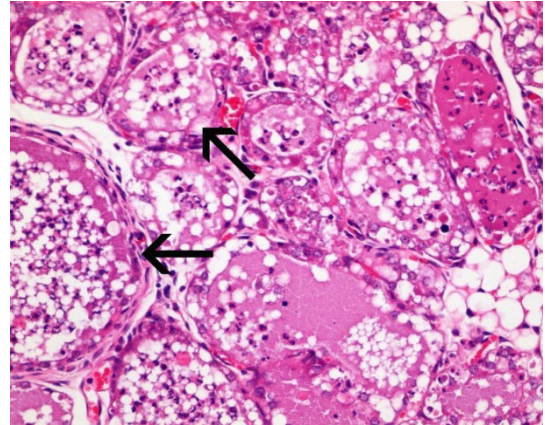
Resim 21. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtcı kanal lümenlerindeki (açık ok) nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



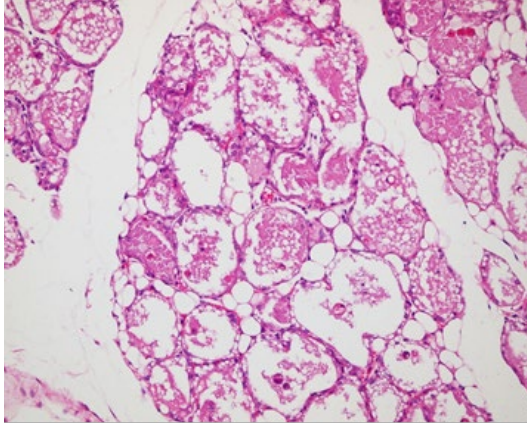
Resim 22. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol lümenlerindeki (oklar) nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



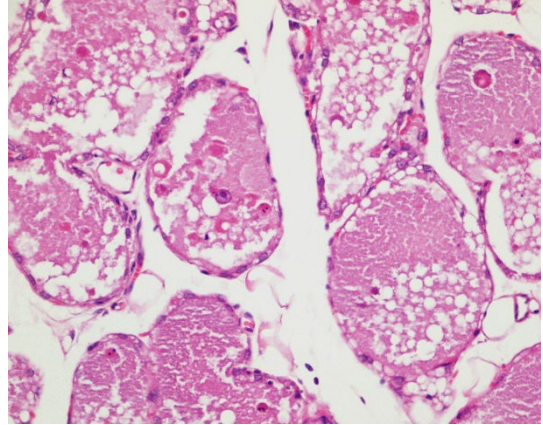
Resim 23. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtcı kanal lümenlerindeki (açık ok) ve interstisyel alandaki nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



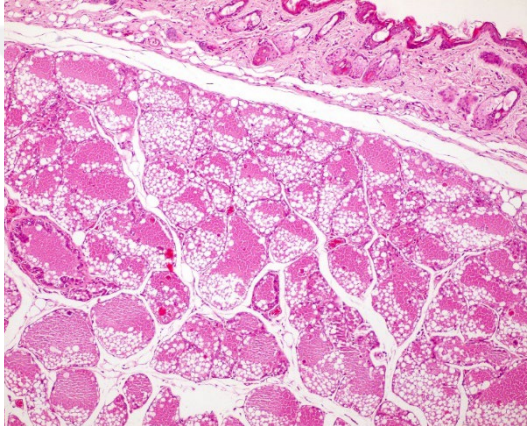
Resim 24. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol lümenlerindeki (oklar) nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



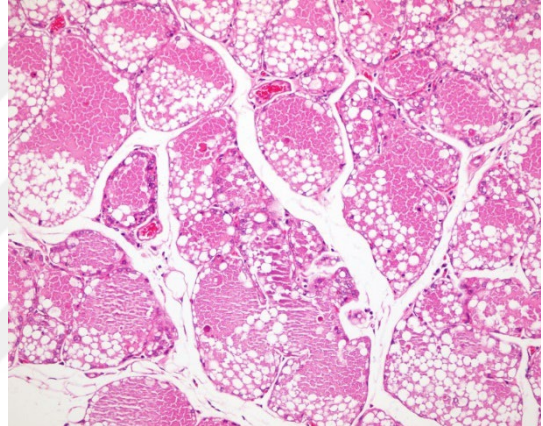
Resim 25. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. *H&E boyama, x200 büyüme.*



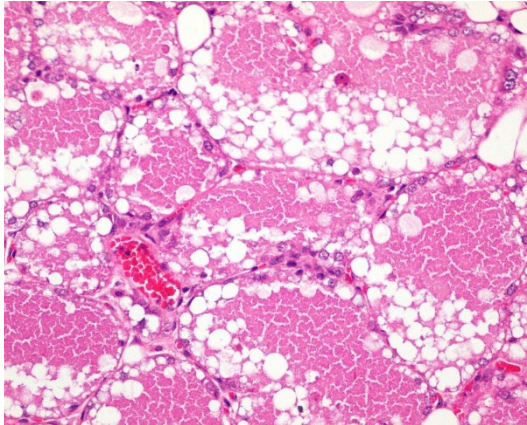
Resim 26. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. *H&E boyama, x400 büyüme.*



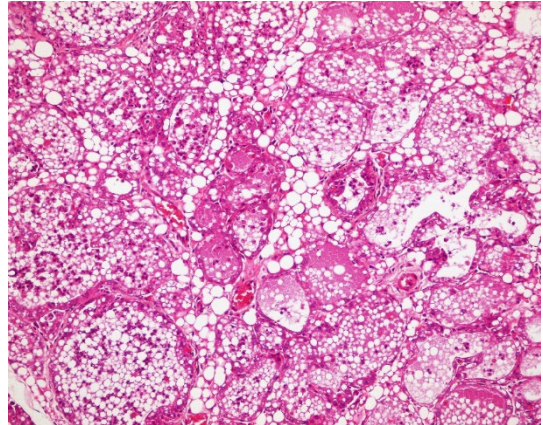
Resim 27. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. *H&E boyama, x100 büyüme.*



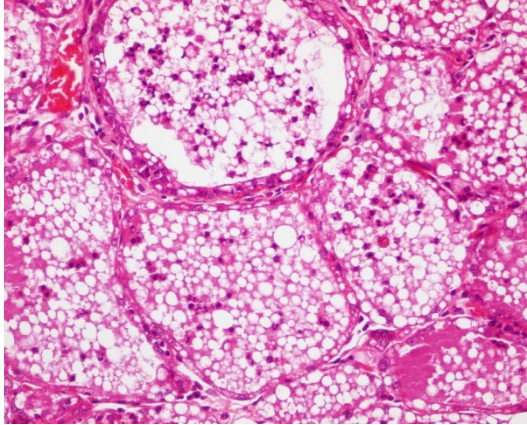
Resim 28. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. *H&E boyama, x200 büyüme.*



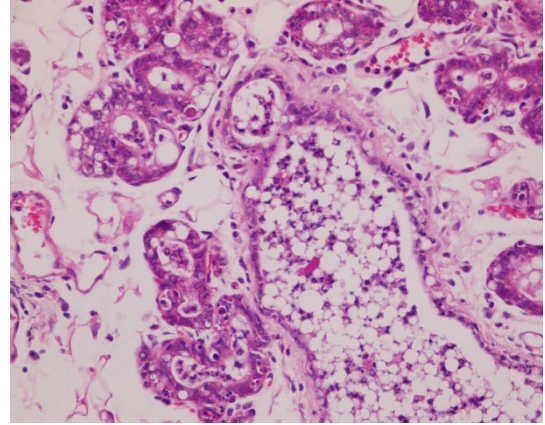
Resim 29. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. *H&E boyama, x400 büyüme.*



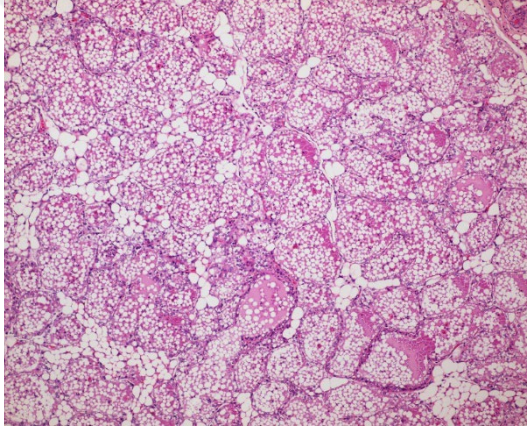
Resim 30. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda belirgin hiperemi; alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisinde çok sayıda nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x200 büyüme.*



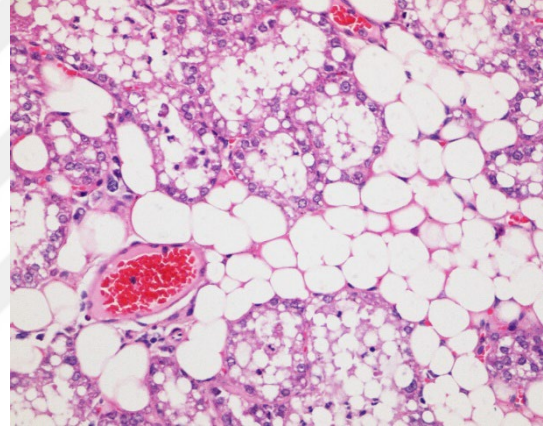
Resim 31. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda belirgin hiperemi; alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisinde çok sayıda nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



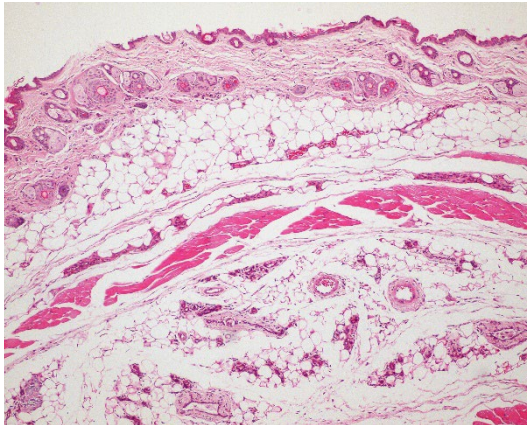
Resim 32. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları, interstisyel dokuda belirgin ödem. *H&E boyama, x400 büyütme.*



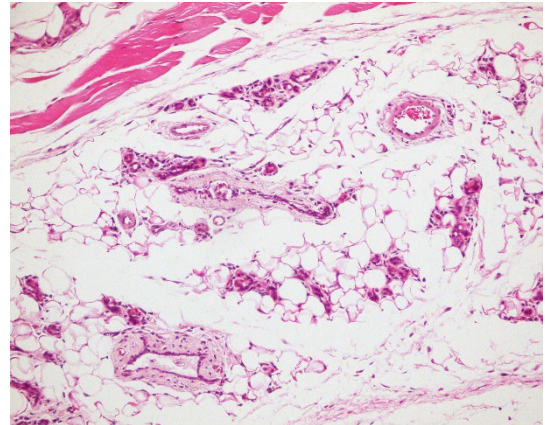
Resim 33. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. Dekametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda alveollerin ve kanalların içerisinde salgı materyalleri ve az sayıda nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x100 büyütme.*



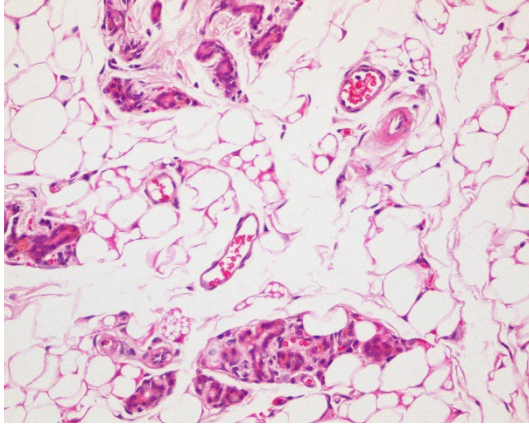
Resim 34. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. Dekametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda hiperemi; alveollerin içerisinde salgı materyalleri ve az sayıda nötrofil lökosit çıkışları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



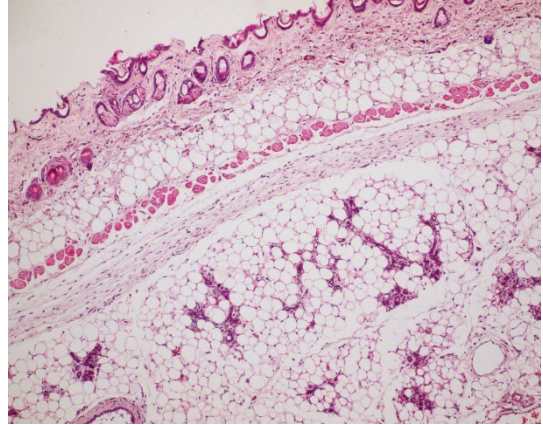
Resim 35. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvölüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. *H&E boyama, x100 büyütme.*



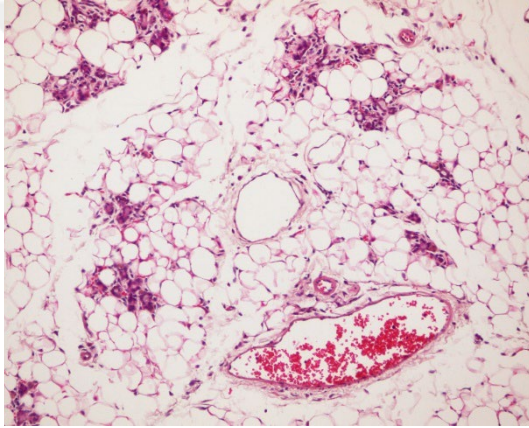
Resim 36. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvölüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. *H&E boyama, x200 büyütme.*



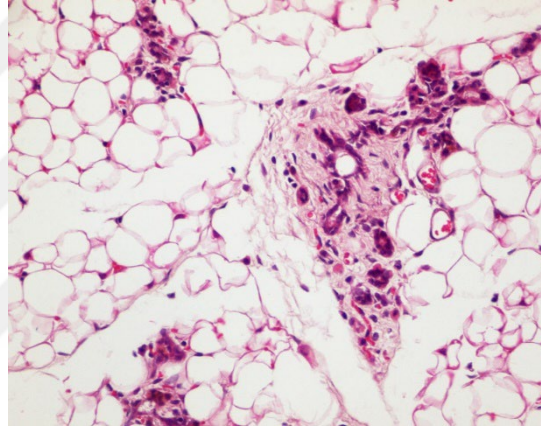
Resim 37. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvolüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. Alveollerin çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli hücre infiltrasyonları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



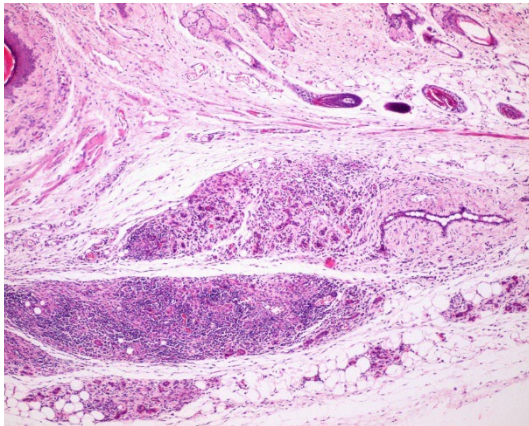
Resim 38. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. *H&E boyama, x100 büyütme.*



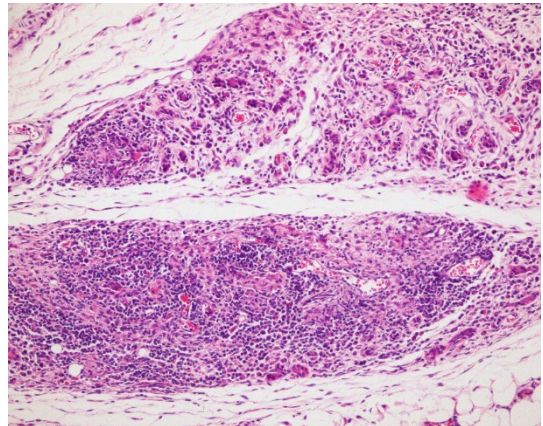
Resim 39. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. *H&E boyama, x200 büyütme.*



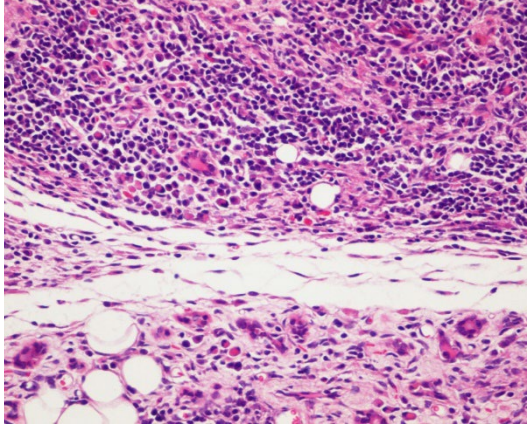
Resim 40. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezler ve yağ dokusu. İnterstisyel dokuda ve bezlerin çevresinde involüsyon ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



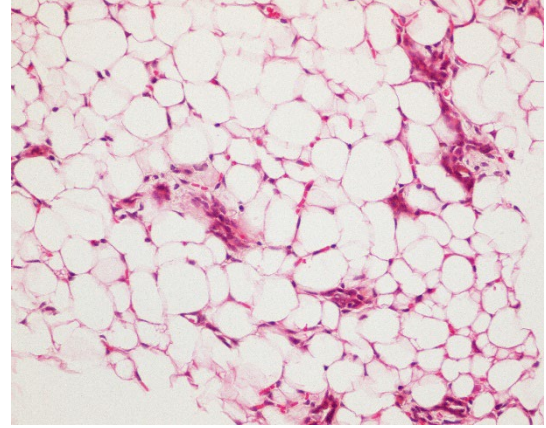
Resim 41. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. *H&E boyama, x100 büyütme.*



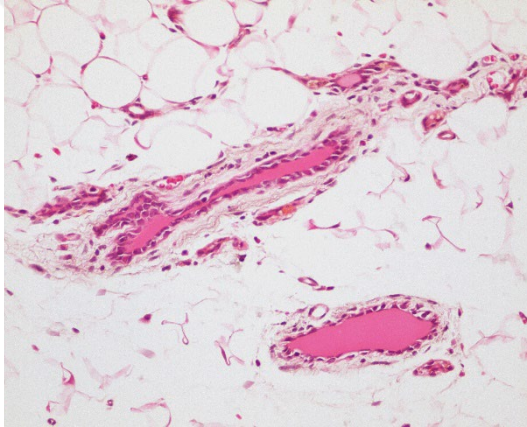
Resim 42. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. *H&E boyama, x200 büyütme.*



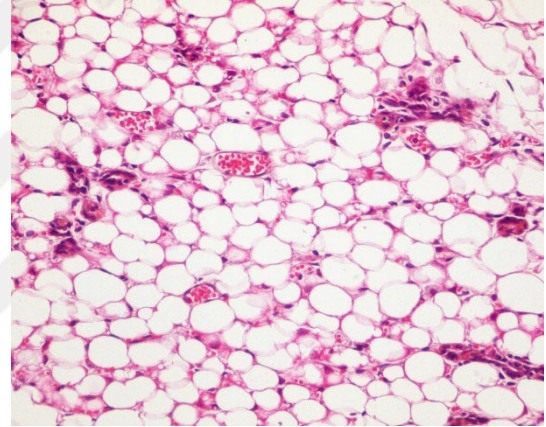
Resim 43. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. *H&E boyama, x400 büyütme.*



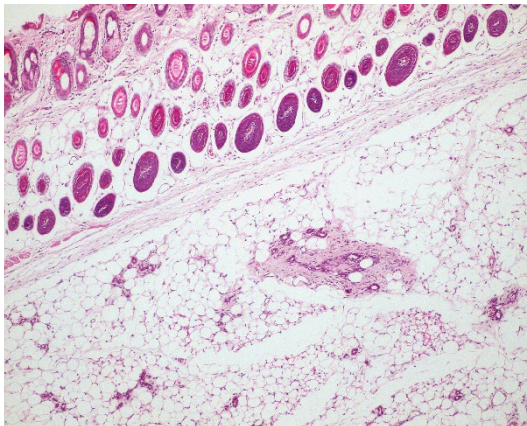
Resim 44. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



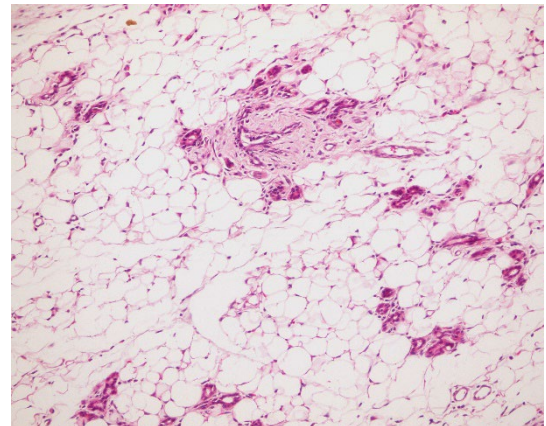
Resim 45. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



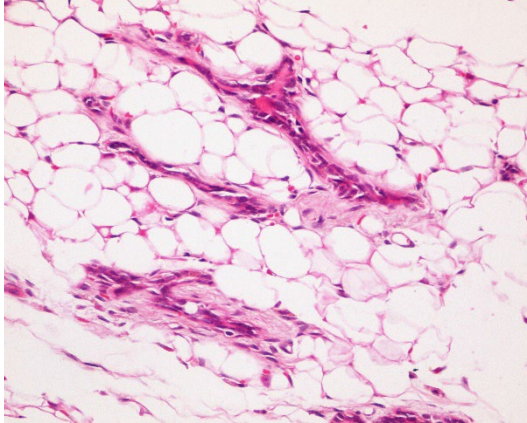
Resim 46. Kronik Mastitis Modeli, IM kromolin grubu. IM yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. *H&E boyama, x400 büyütme.*



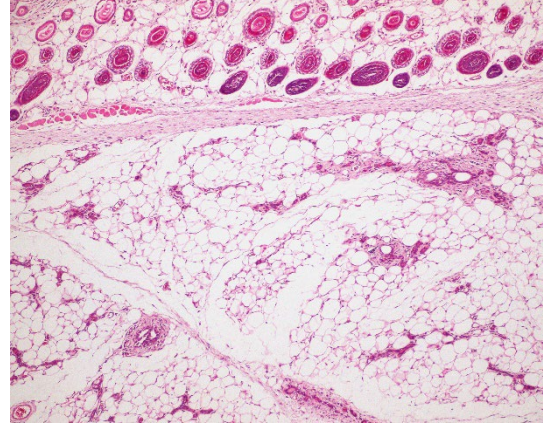
Resim 47. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. *H&E boyama, x100 büyütme.*



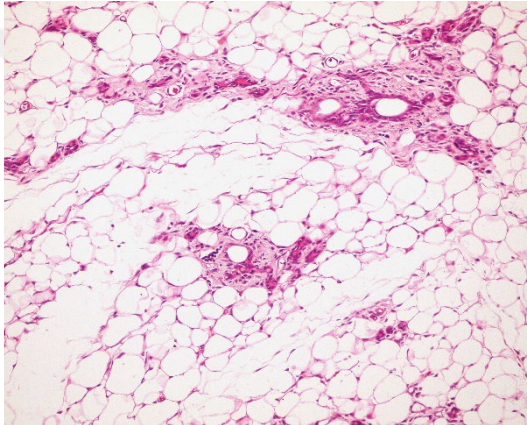
Resim 48. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. *H&E boyama, x200 büyütme.*



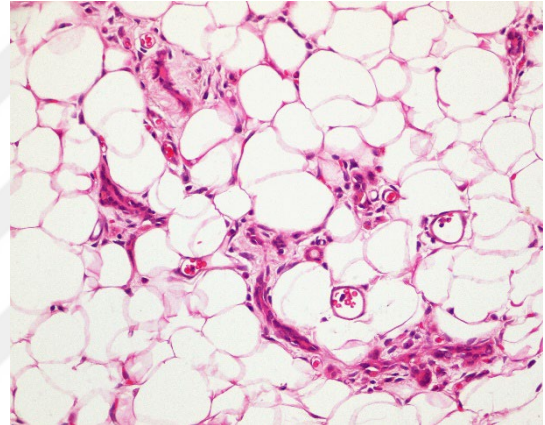
Resim 49. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. H&E boyama, x400 büyütme.



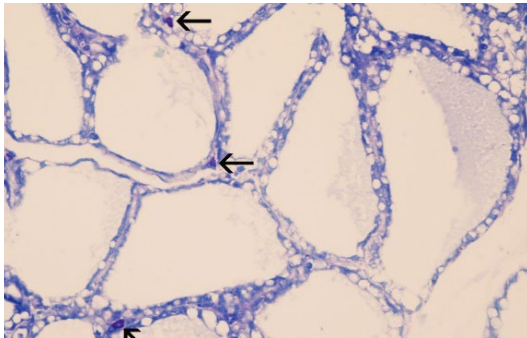
Resim 50. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. H&E boyama, x100 büyütme.



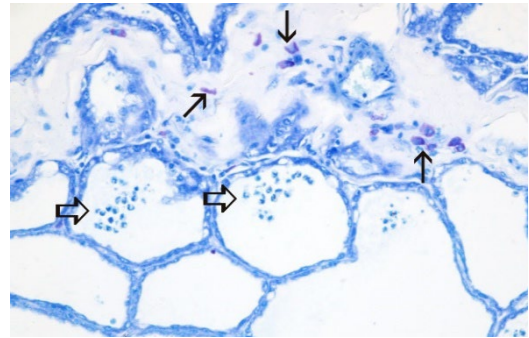
Resim 51. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. H&E boyama, x200 büyütme.



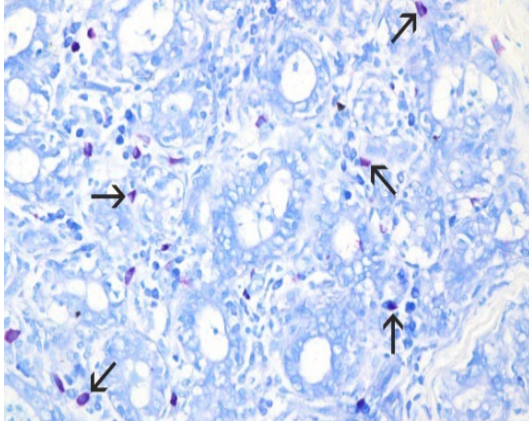
Resim 52. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. H&E boyama, x400 büyütme.



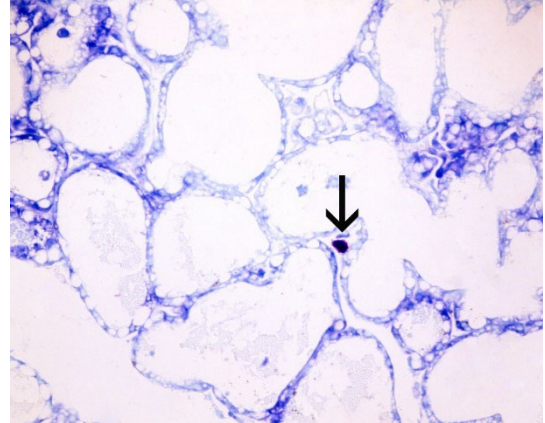
Resim 53. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yeleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine Blue boyama, x200 büyütme.



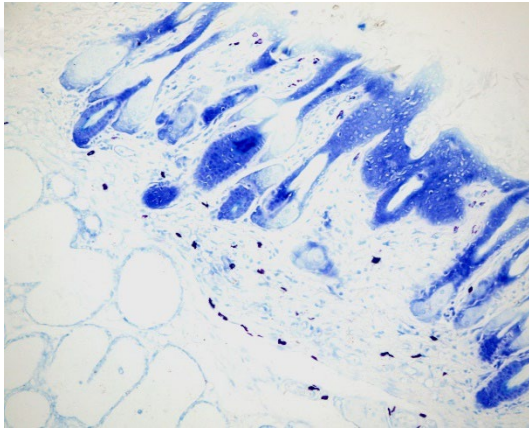
Resim 54. Akut mastitisli bir meme bezinde alveol lümenlerinin içerisindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları (açık oklar), interalveoler ve interlobüler septal dokuda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine Blue boyama, x200 büyütme.



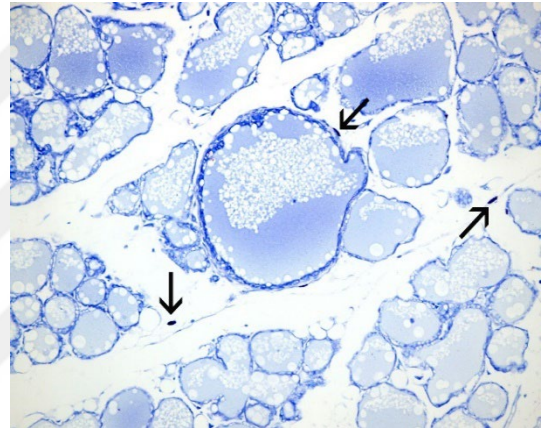
Resim 55. Kronik mastitisli bir meme dokusunda fibrotik kısımlarda yerleşim gösteren çok sayıda metakromazik mast hücresi. *Toluidine Blue boyama, x200 büyütme.*



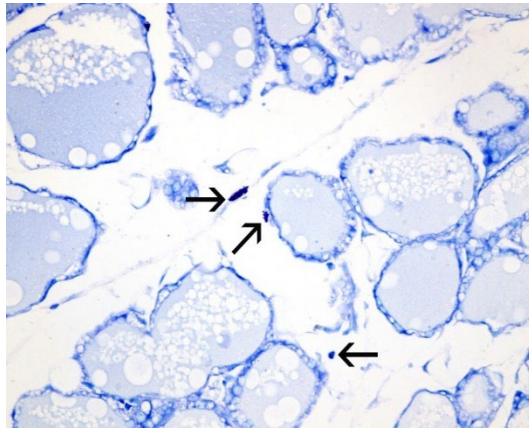
Resim 56. Akut Mastitis Modeli, Kontrol grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveoller arasında yerleşim gösteren metakromazik bir mast hücresi (ok). *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



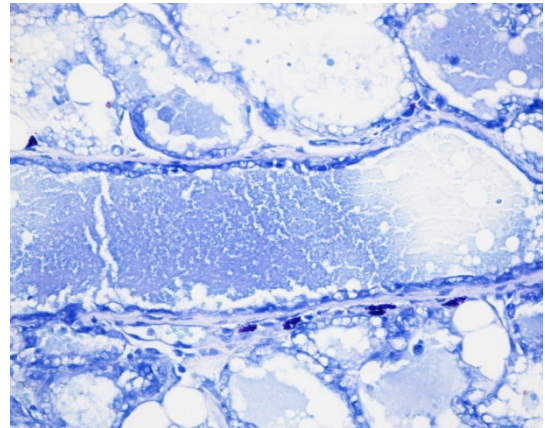
Resim 57. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Dermal bağ doku iplikleri arasında yerleşim gösteren mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x200 büyütme.*



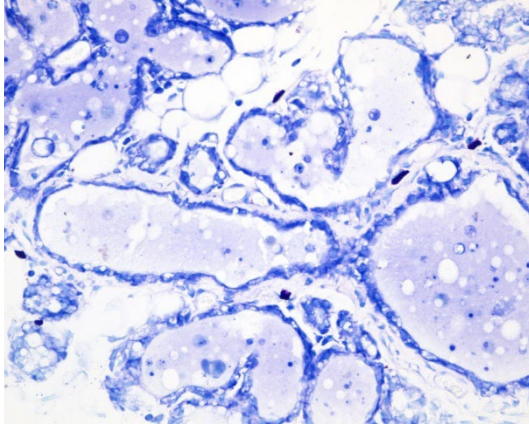
Resim 58. Akut Mastitis Modeli PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren mast hücreleri (oklar). *Toluidine blue boyama, x200 büyütme.*



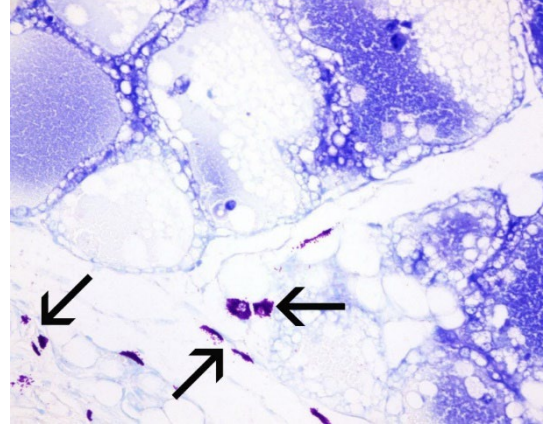
Resim 59. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



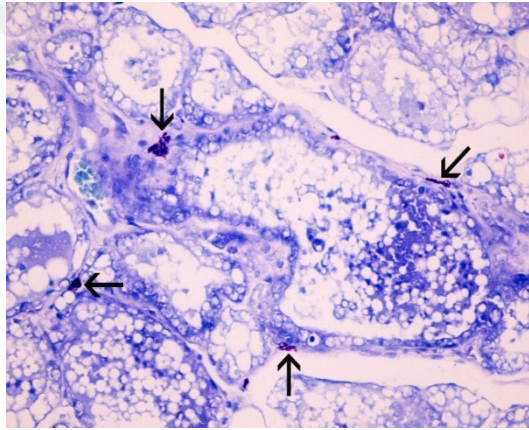
Resim 60. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde bir akıtcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



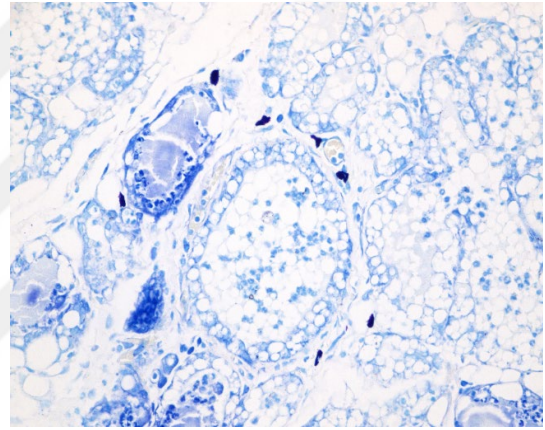
Resim 61. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



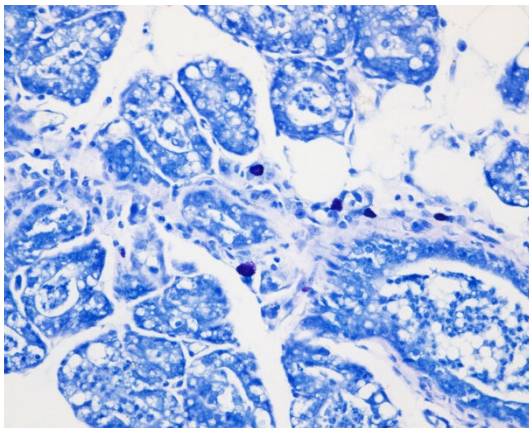
Resim 62. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



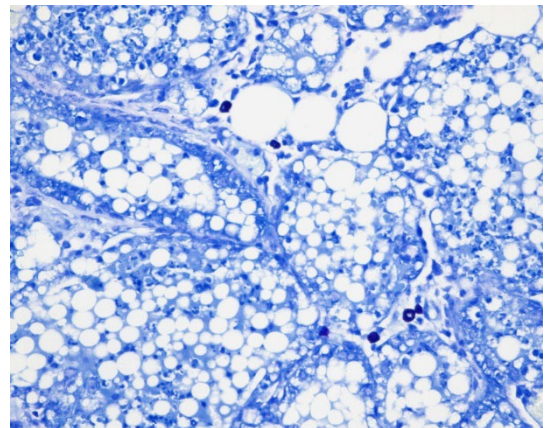
Resim 63. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



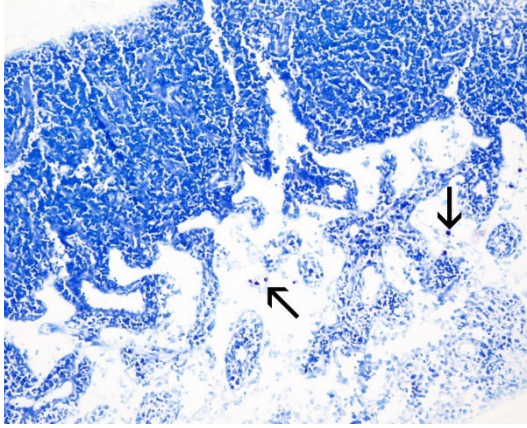
Resim 64. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



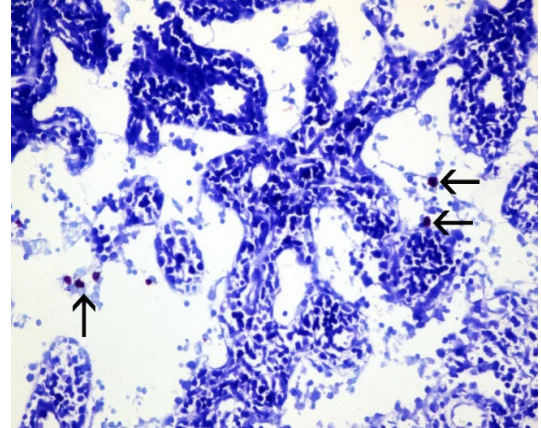
Resim 65. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP yolla kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve bir akıtcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



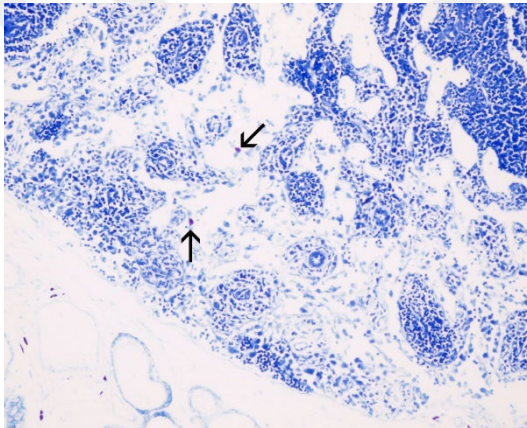
Resim 66. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



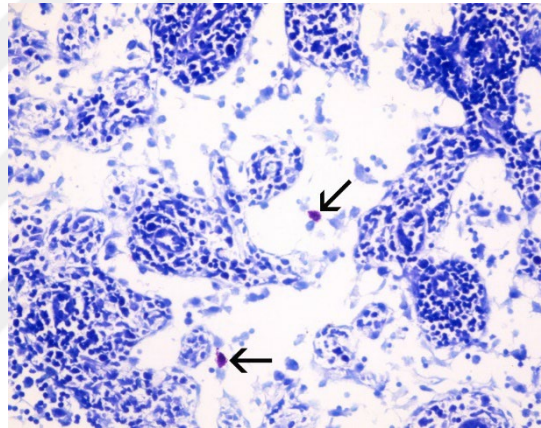
Resim 67. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x100 büyütme.



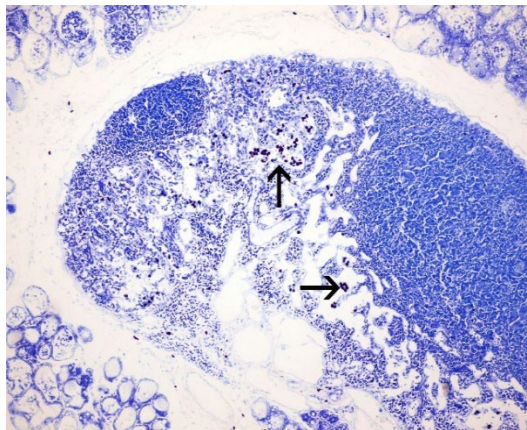
Resim 68. Akut Mastitis Modeli, Kontrol grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x400 büyütme.



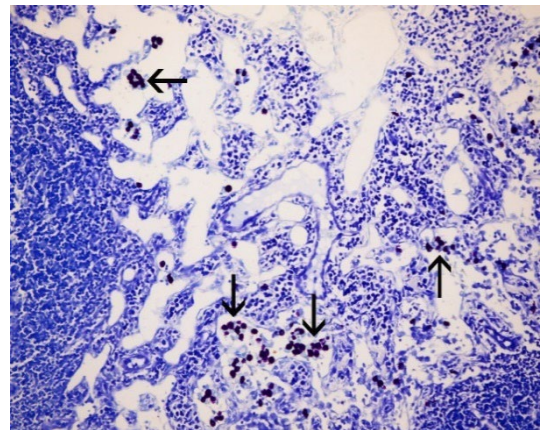
Resim 69. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x200 büyütme.



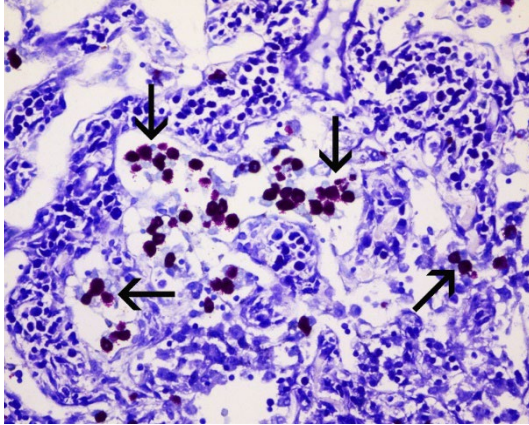
Resim 70. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x400 büyütme.



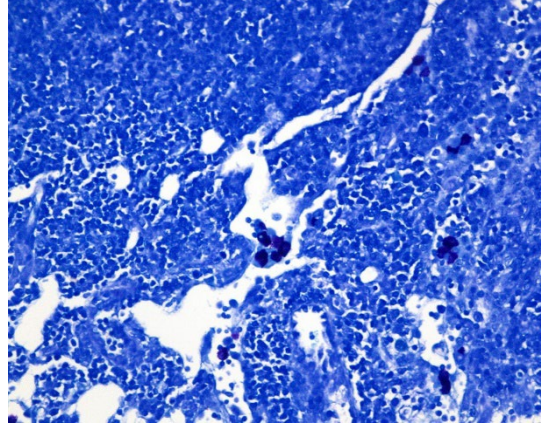
Resim 71. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x100 büyütme.



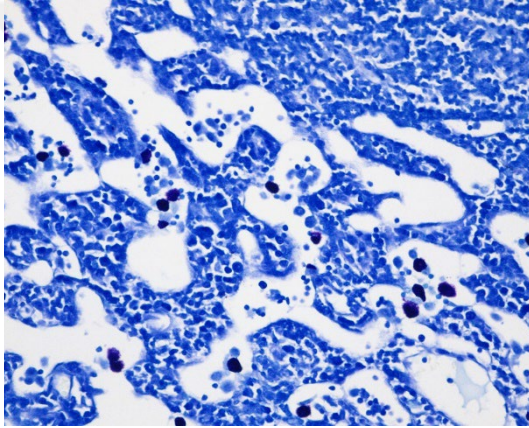
Resim 72. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). Toluidine blue boyama, x200 büyütme.



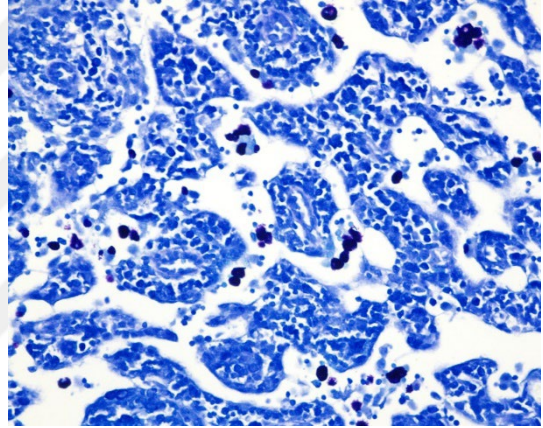
Resim 73. Akut mastitis modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



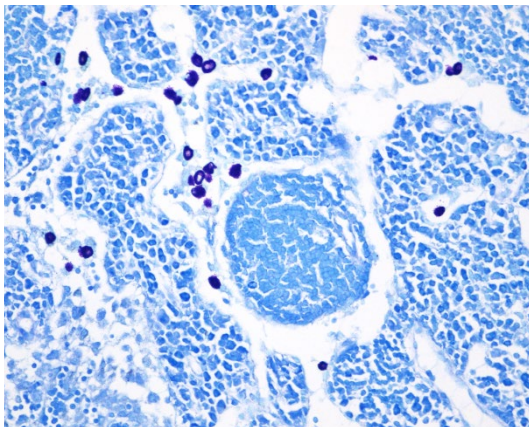
Resim 74. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



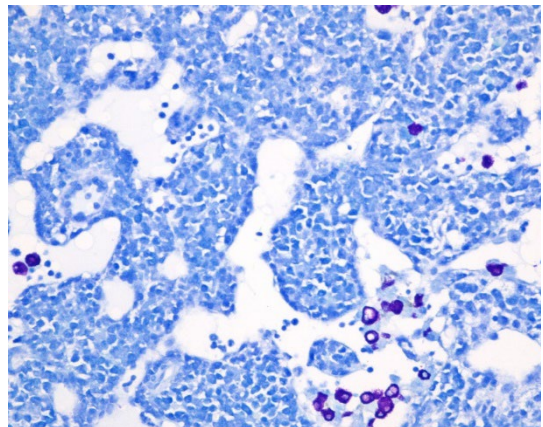
Resim 75. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



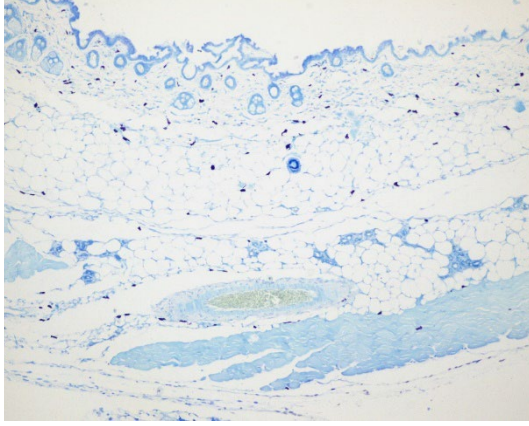
Resim 76. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



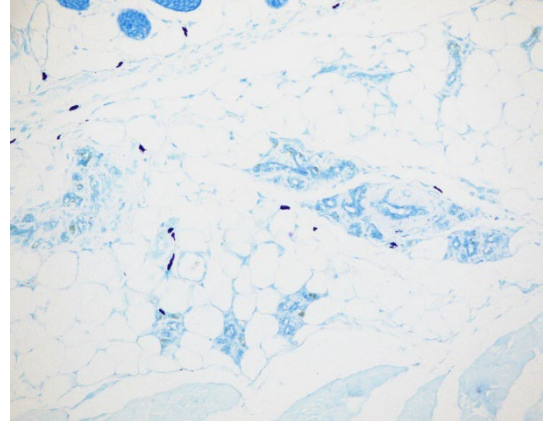
Resim 77. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



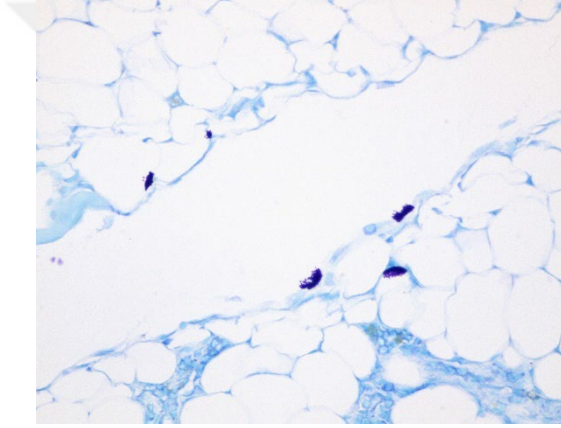
Resim 78. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



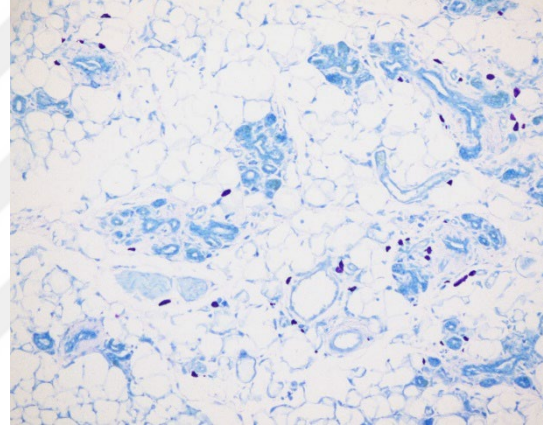
Resim 79. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x100 büyütme.*



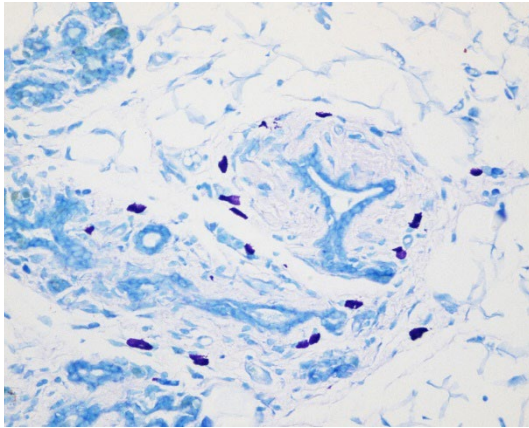
Resim 80. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x200 büyütme.*



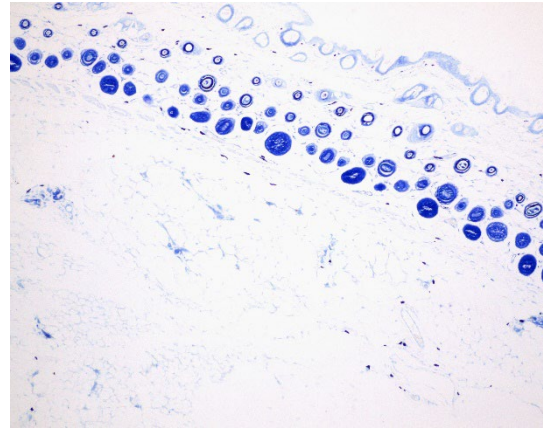
Resim 81. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



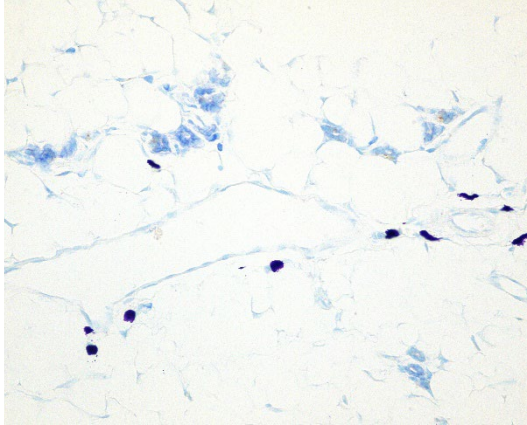
Resim 82. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin, kanalların arasında ve damarların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x200 büyütme.*



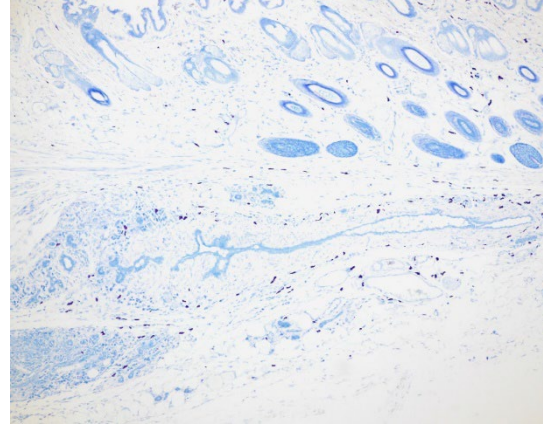
Resim 83. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



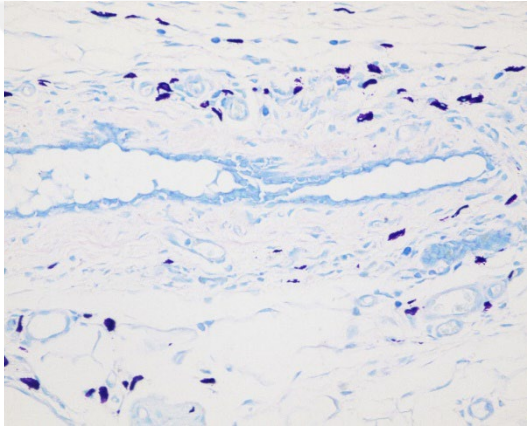
Resim 84. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x100 büyütme.*



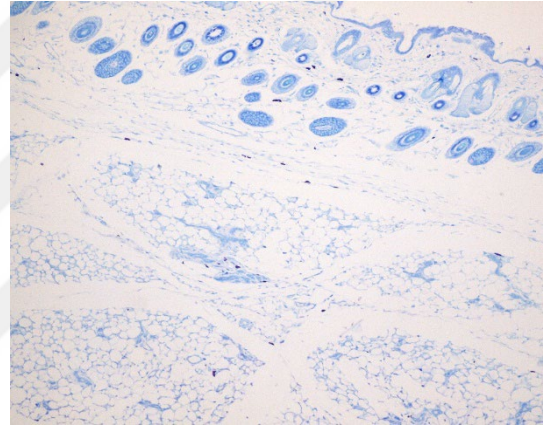
Resim 85. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde ve interstisyel alanda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x400 büyütme.



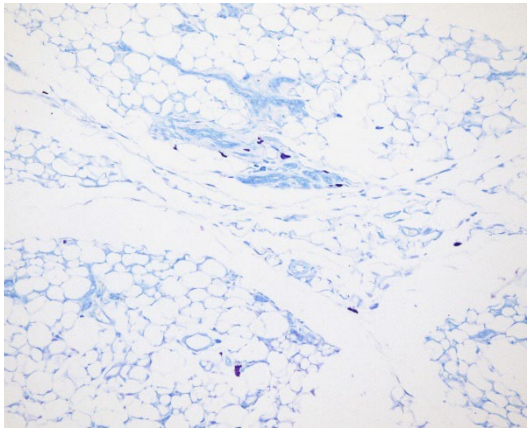
Resim 86. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin induklendiği bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında ve fibrotik alanlarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x100 büyütme.



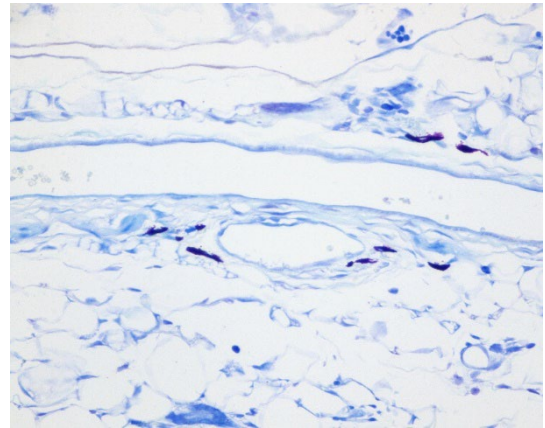
Resim 87. Kronik mastitis modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin induklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde ve fibrotik alanlarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x400 büyütme.



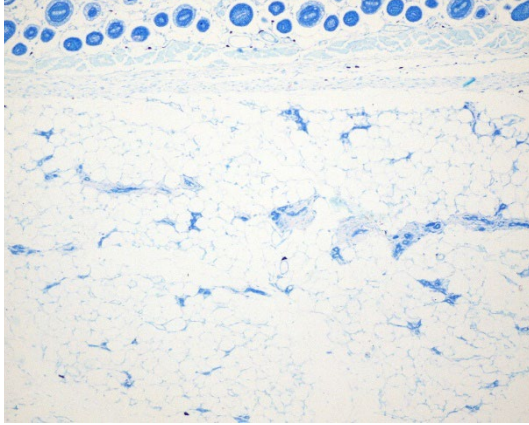
Resim 88. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x100 büyütme.



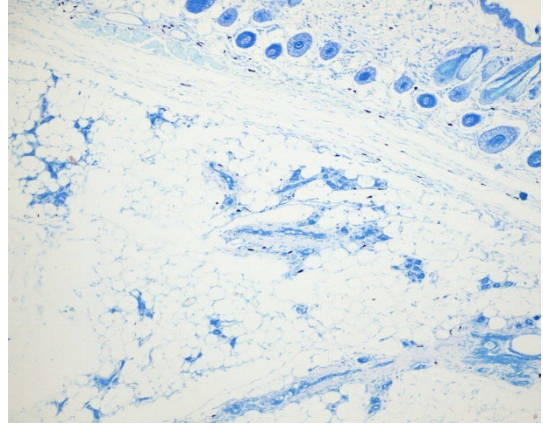
Resim 89. Kronik mastitis modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x200 büyütme.



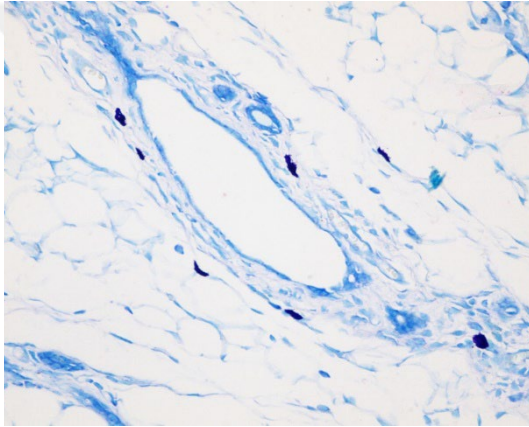
Resim 90. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında ve damarların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. Toluidine blue boyama, x400 büyütme.



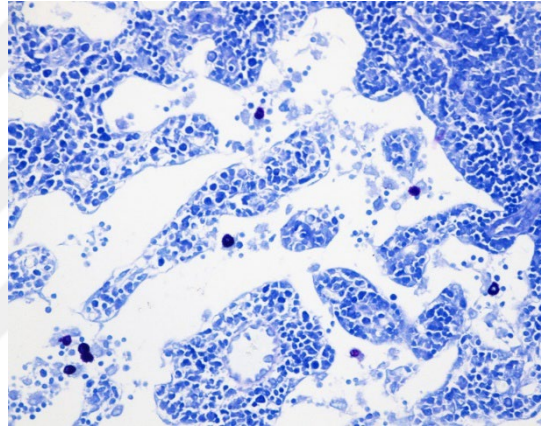
Resim 91. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve akıttıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x100 büyütme.*



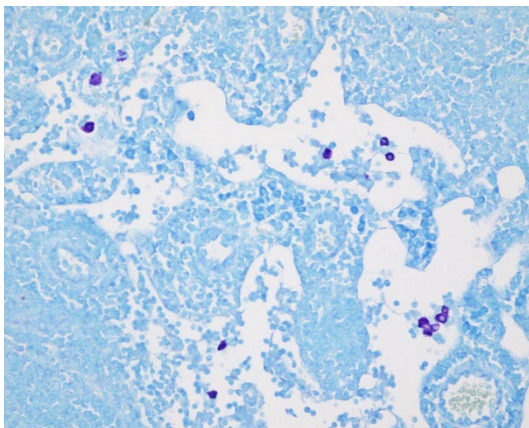
Resim 92. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve akıttıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x100 büyütme.*



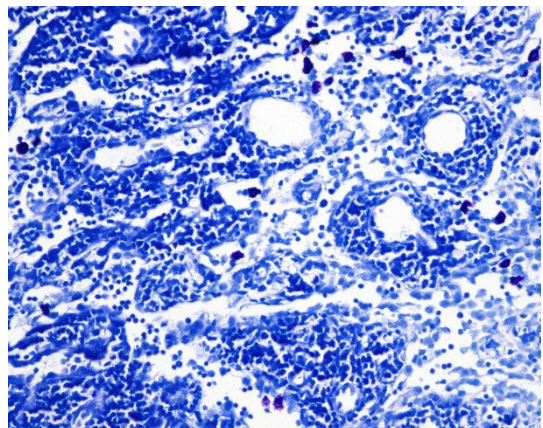
Resim 93. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıttıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



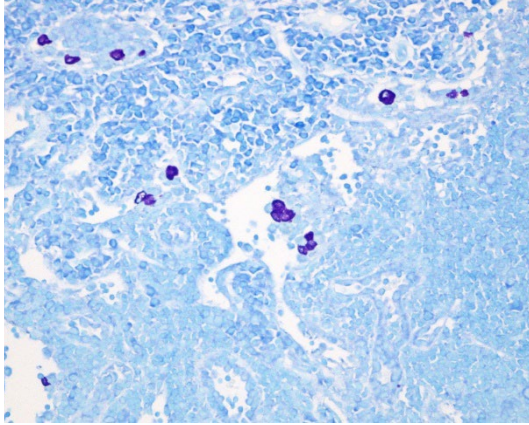
Resim 94. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



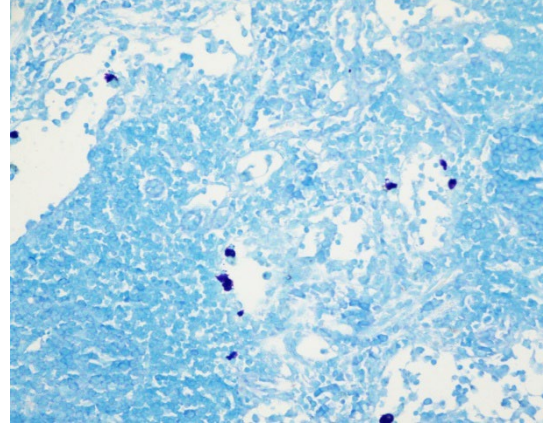
Resim 95. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



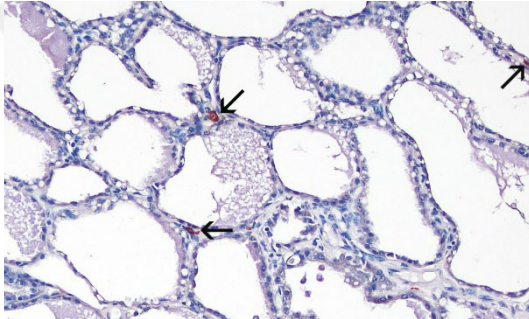
Resim 96. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



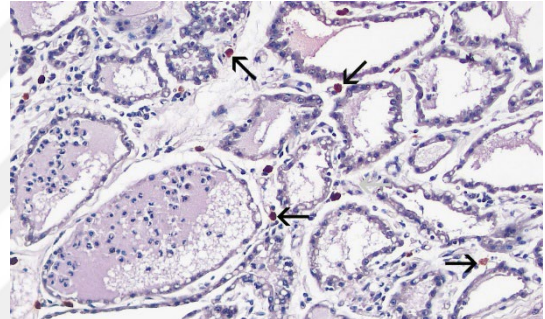
Resim 97. Kronik mastitis modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM yolla kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



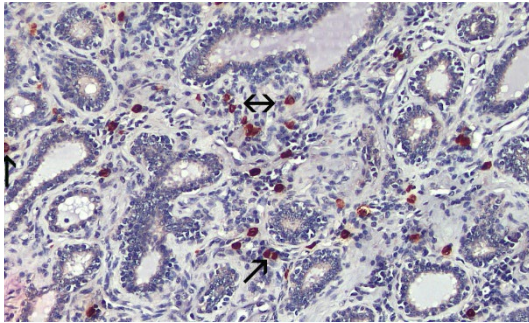
Resim 98. Kronik mastitis modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP yolla kromolin sodyum ve meme başı kanalı yolu ile LPS'in verildiği bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. *Toluidine blue boyama, x400 büyütme.*



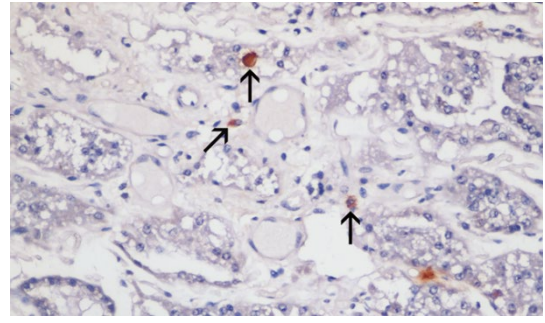
Resim 99: Sağlıklı bir meme bezinde alveoller arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar). *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.*



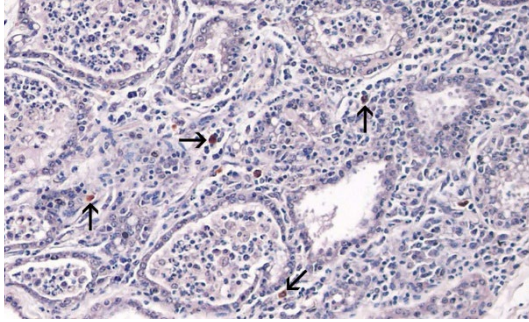
Resim 100: Akut mastitisli meme dokusunda alveoller arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar). *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.*



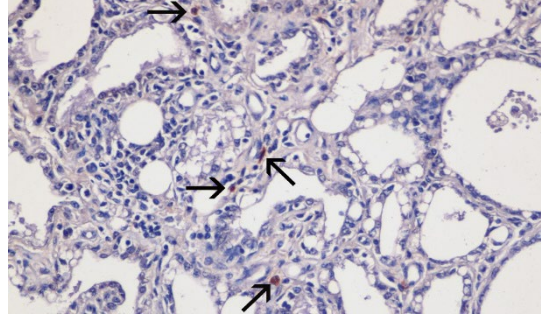
Resim 101: Kronik mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar). *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.*



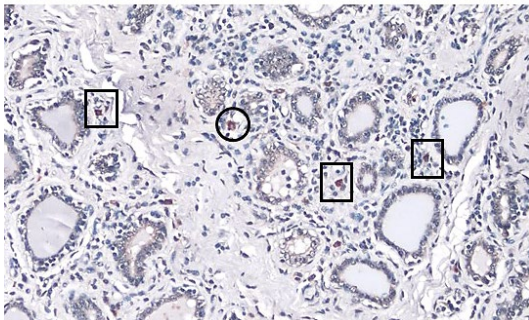
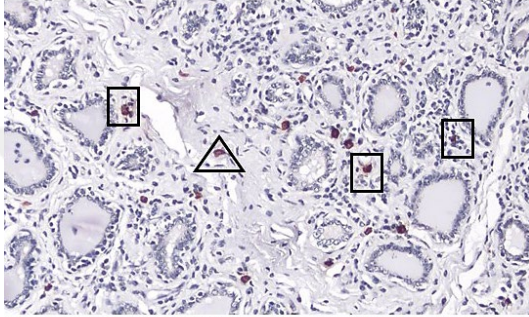
Resim 102: Sağlıklı meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.*



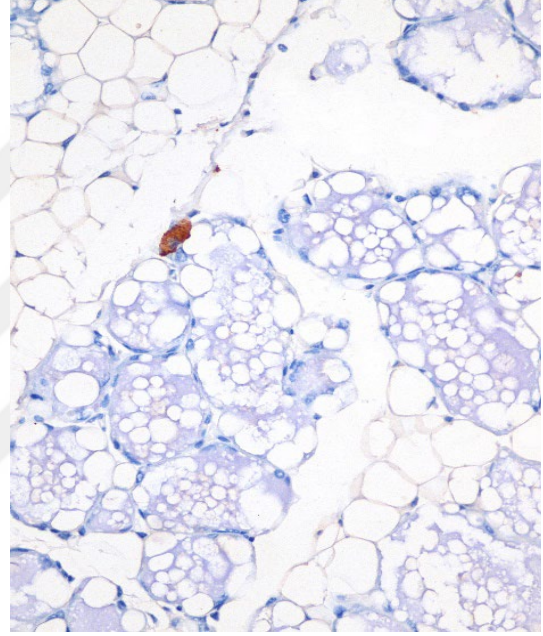
Resim 103: Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.



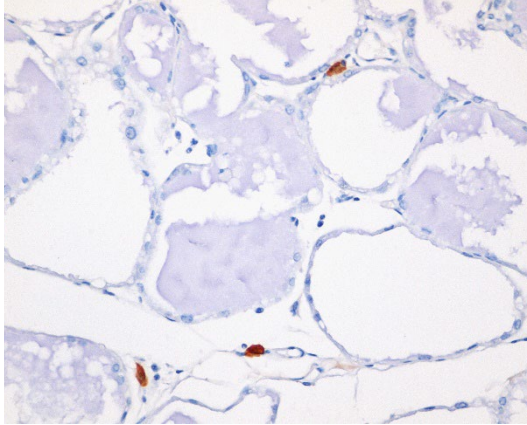
Resim 104: Kronik mastitisli bir meme dokusunda alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.



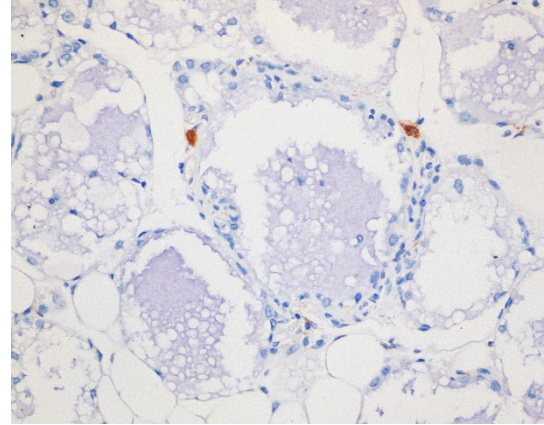
Resim 105: Triptaz (üst resim) ve kimaz (alt resim) boyama sonuçlarına göre triptaz-kimaz (+) mast hücresi fenotipinin belirlenmesi. Dikdörtgenler içerisine alınan mast hücreleri hem triptaz hem de kimaz antikoruna pozitif boyanmışlardır ve triptaz-kimaz (+) mast hücre fenotipine sahiptirler. Üçgen ve daire ile işaretlenmiş hücreler sırasıyla triptaz (+) ve kimaz (+) fenotipindeki mast hücreleridir. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.



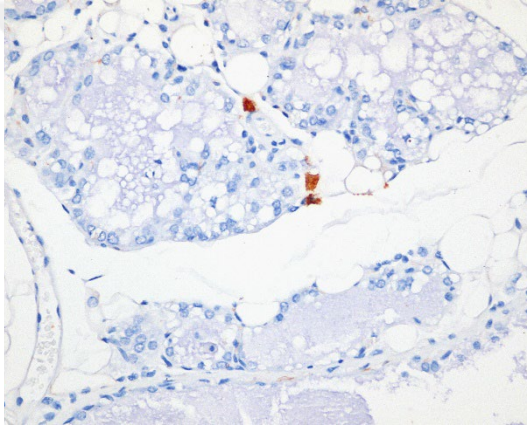
Resim 106. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz (+) bir mast hücresi. Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.



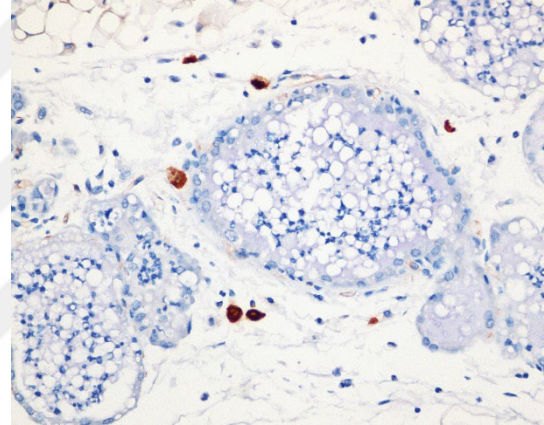
Resim 107. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



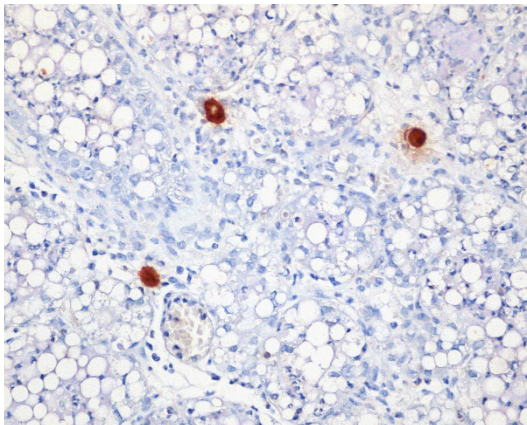
Resim 108. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



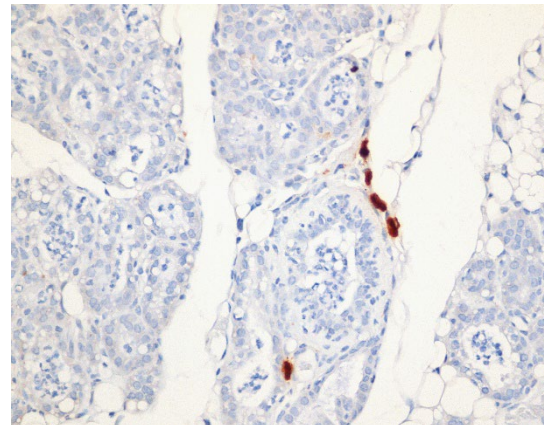
Resim 109. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



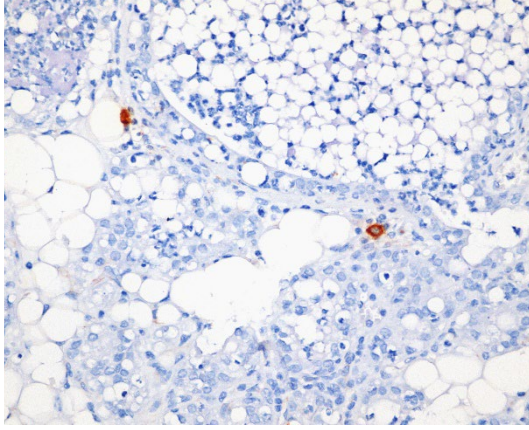
Resim 110. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonu ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



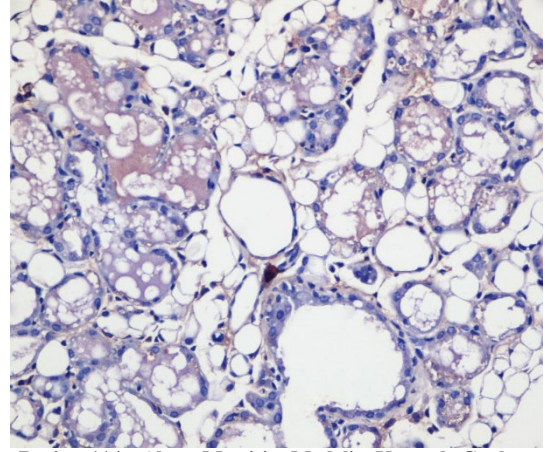
Resim 111. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



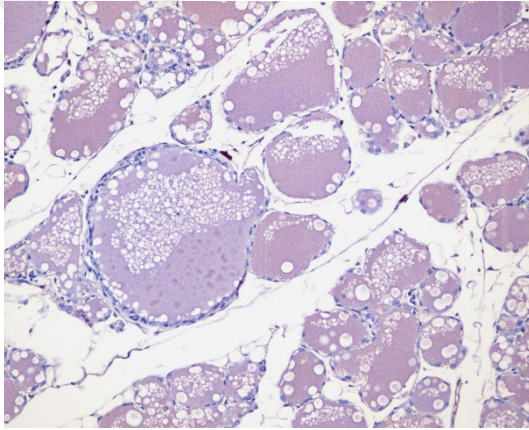
Resim 112. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



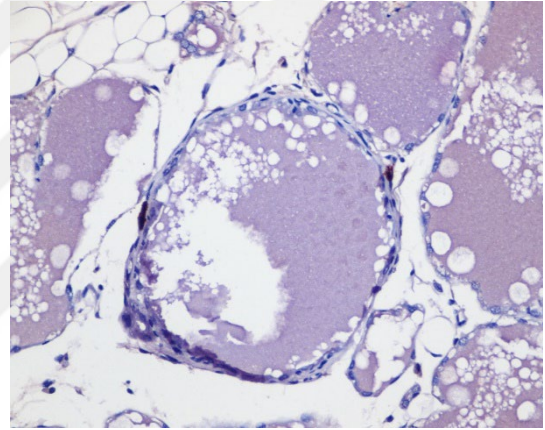
Resim 113. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP Deksametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



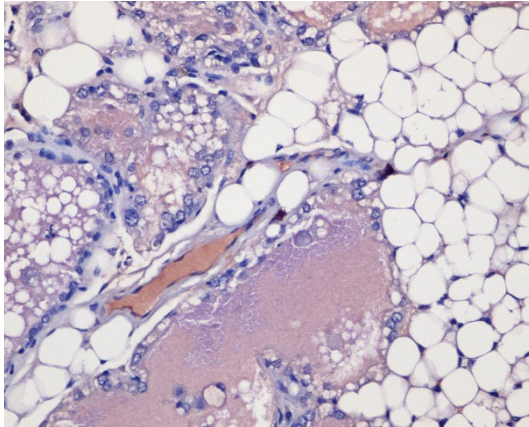
Resim 114. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel alanda yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidad, DAB, x400 büyütme.*



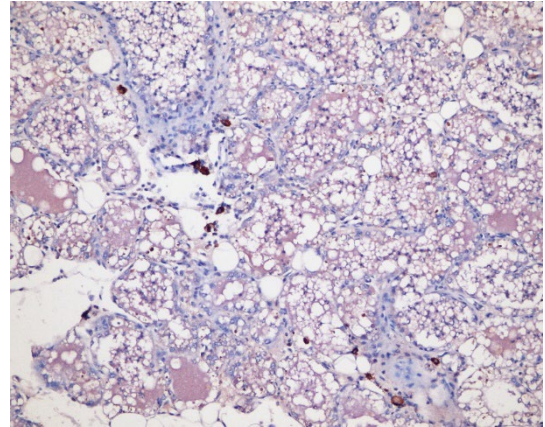
Resim 115. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyumda ve bir akıtcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidad, DAB, x200 büyütme.*



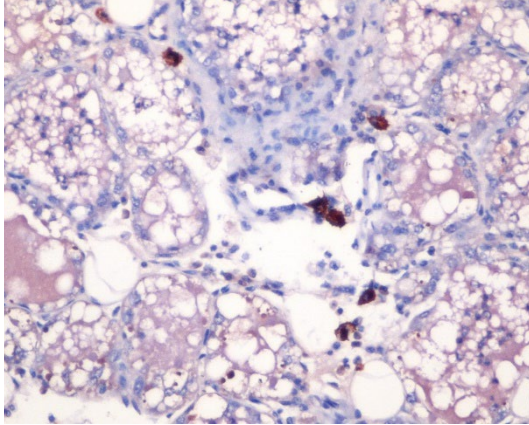
Resim 116. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde akıtcı kanal çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) bir mast hücresi. *Streptavidin-Biotin peroksidad, DAB, x400 büyütme.*



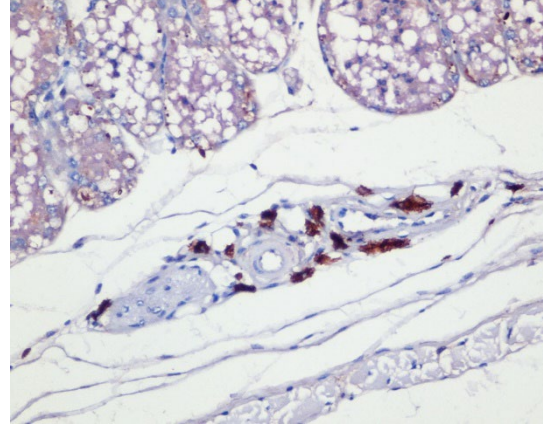
Resim 117. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidad, DAB, x400 büyütme.*



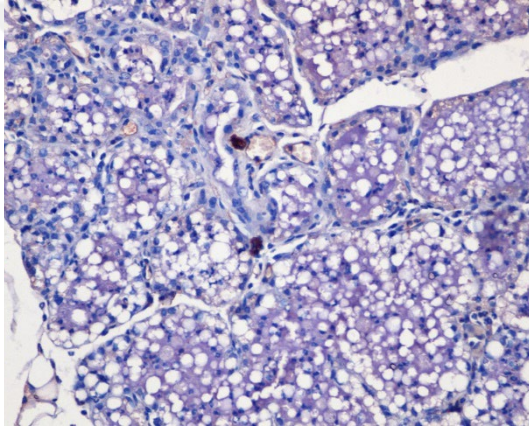
Resim 118. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile akut mastitisin induklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidad, DAB, x200 büyütme.*



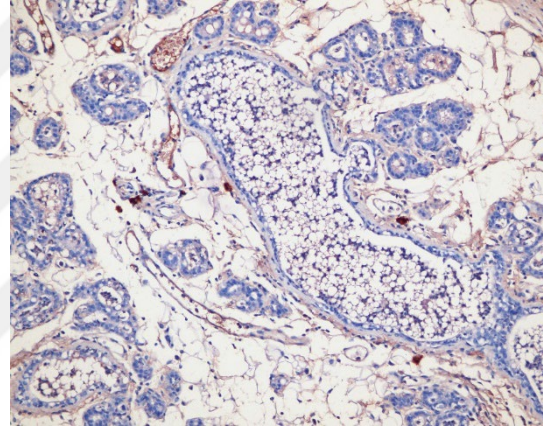
Resim 119. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.



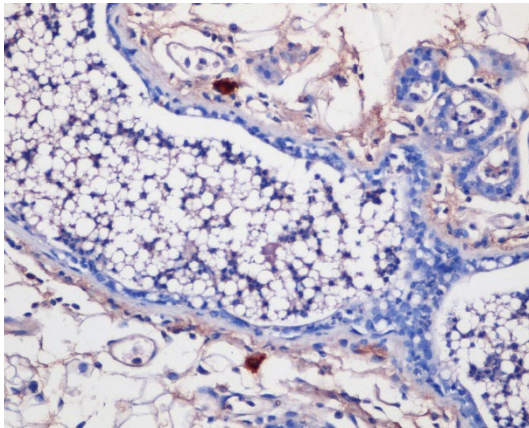
Resim 120. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile akut masititisin indüklendiği bir meme bezinde damarların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.



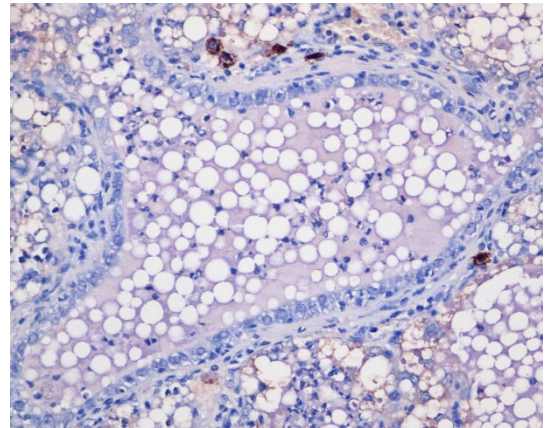
Resim 121. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.



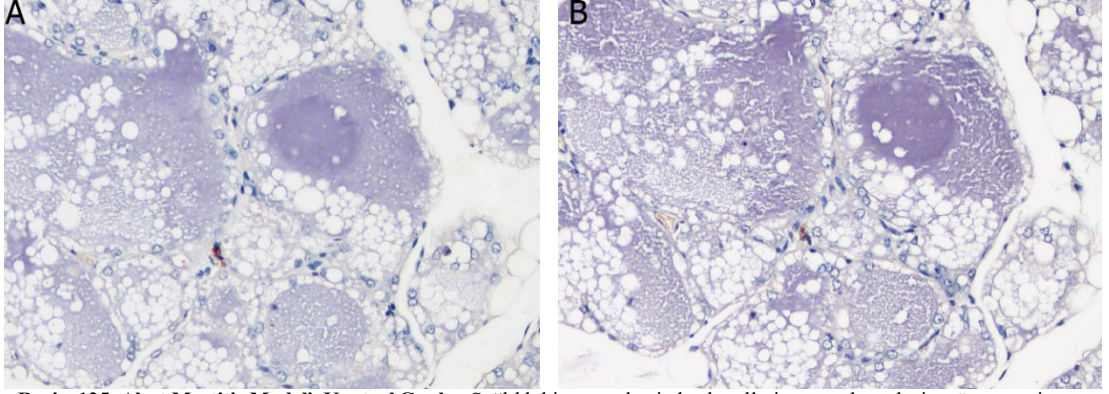
Resim 122. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.



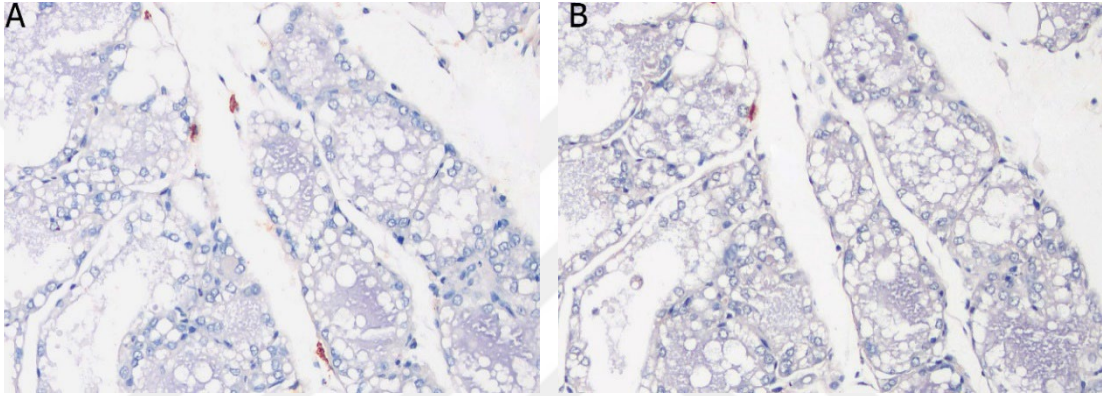
Resim 123. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.



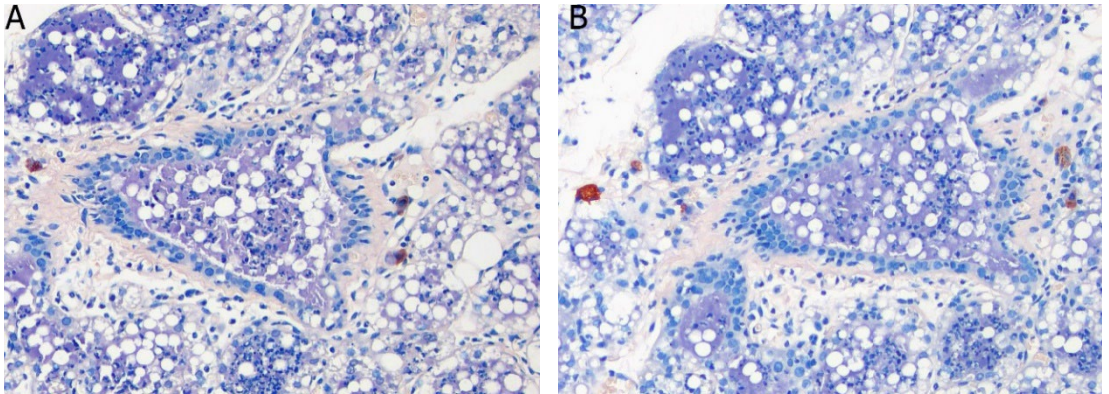
Resim 124. Akut mastitis modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.



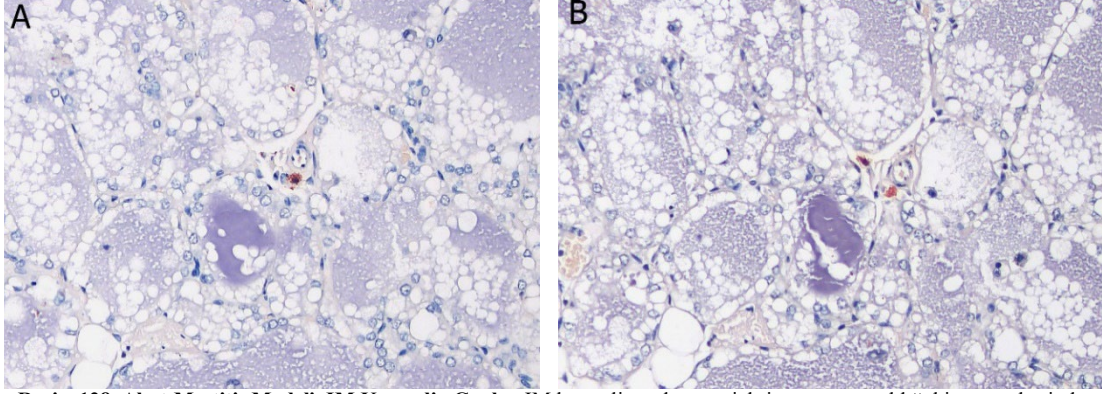
Resim 125. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) bir mast hücresi. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyüme.*



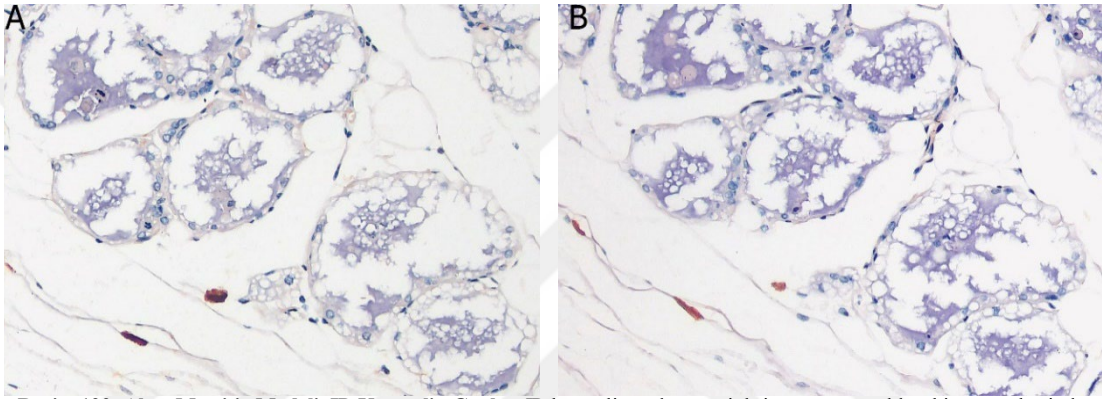
Resim 126. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyüme.*



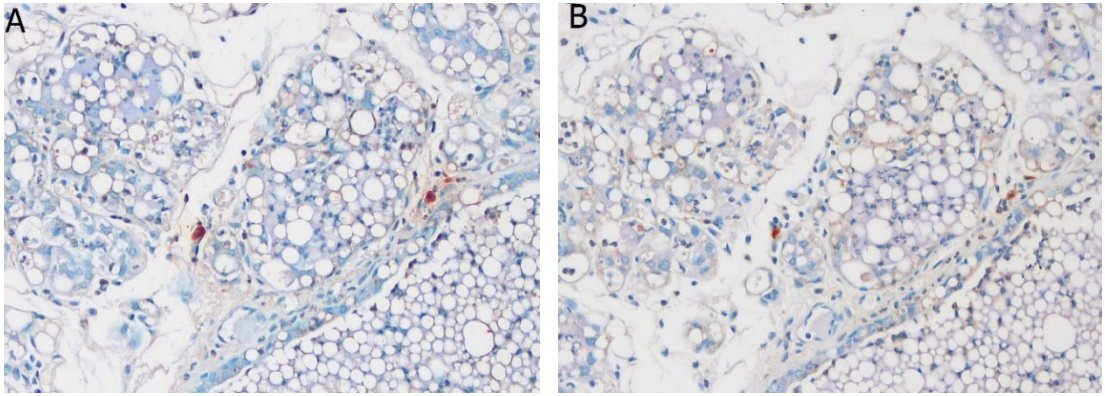
Resim 127. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonu ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyüme.*



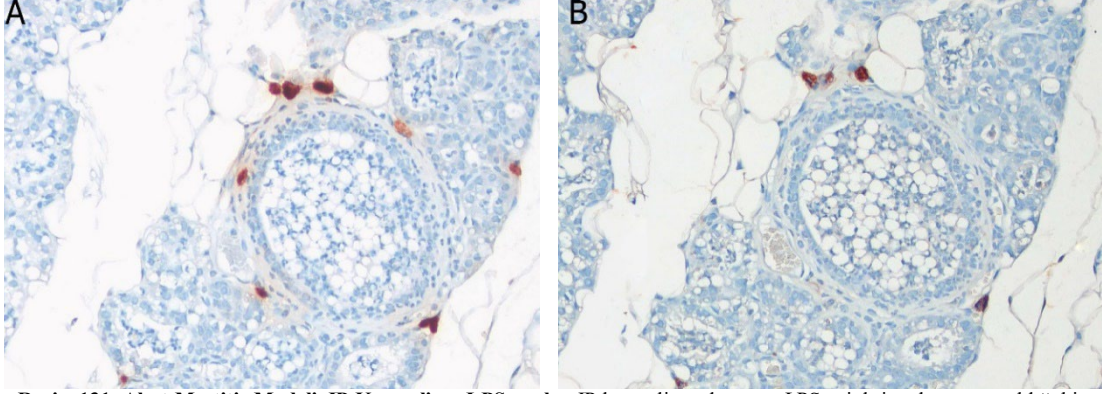
Resim 128. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



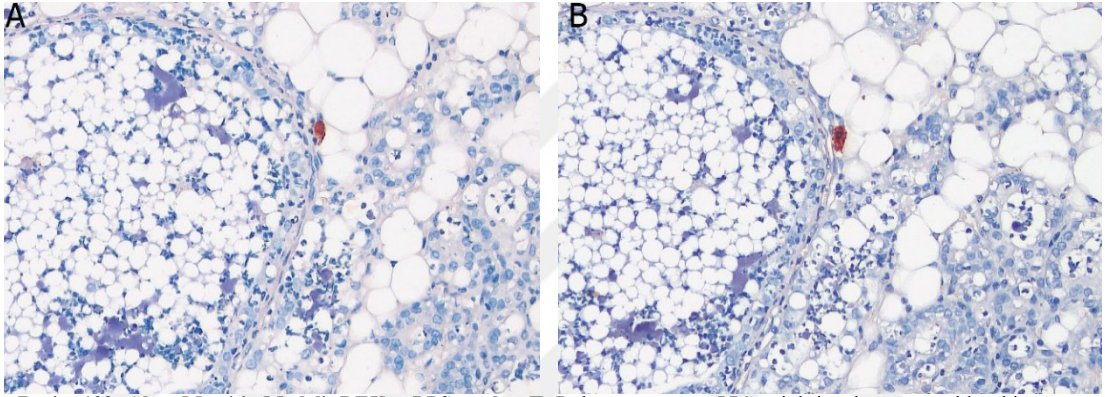
Resim 129. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



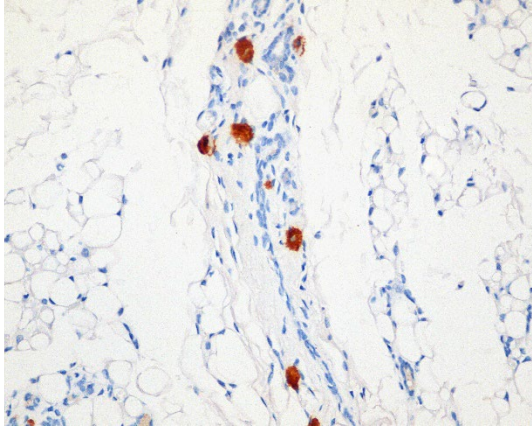
Resim 130. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



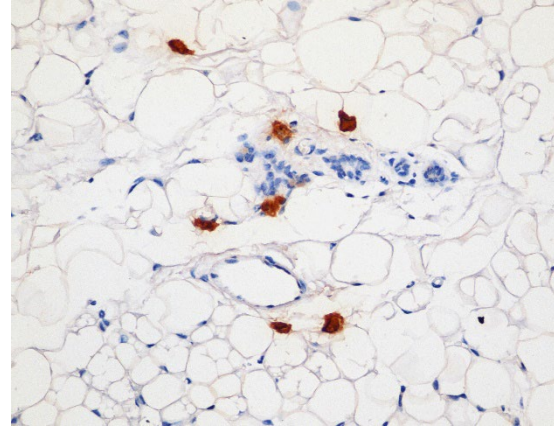
Resim 131. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



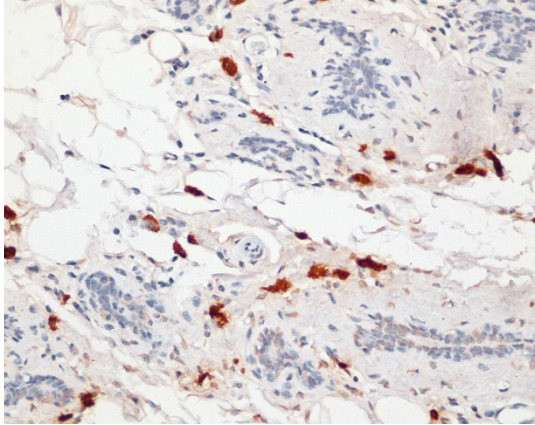
Resim 132. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP Dekstametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



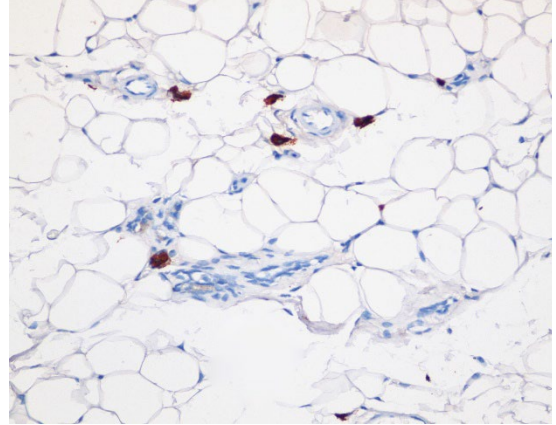
Resim 133. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvölüsyona uğramış sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



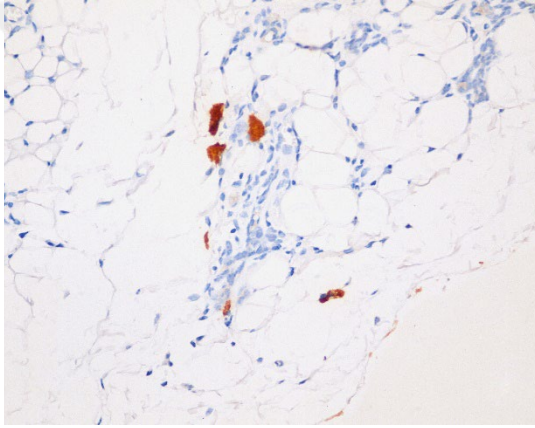
Resim 134. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



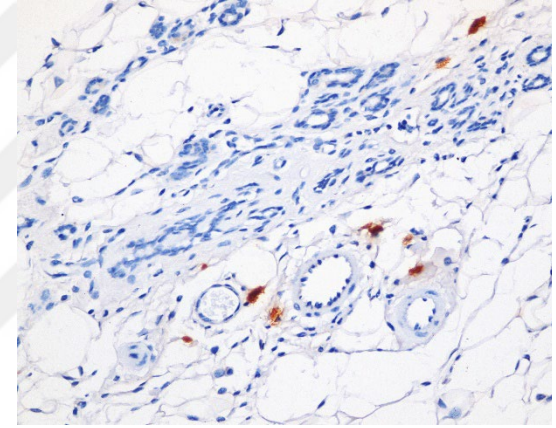
Resim 135. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



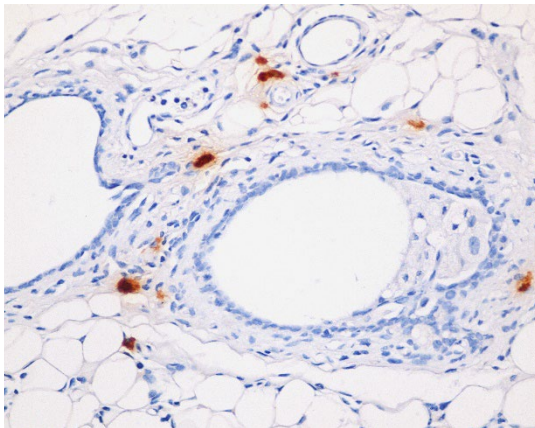
Resim 136. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



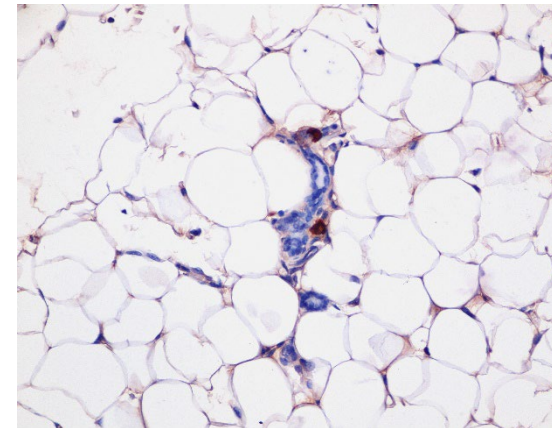
Resim 137. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



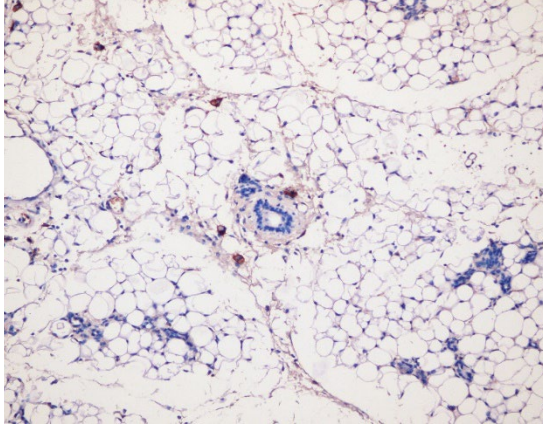
Resim 138. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



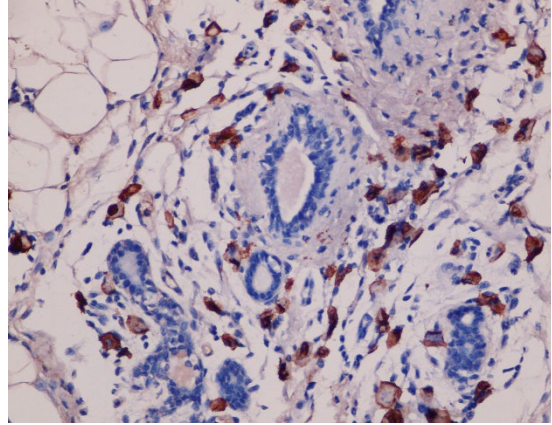
Resim 139. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



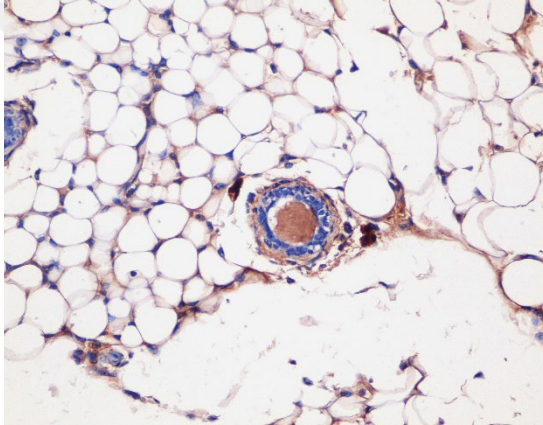
Resim 140. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde yağ hücrelerinin arasında ve alveollerin çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



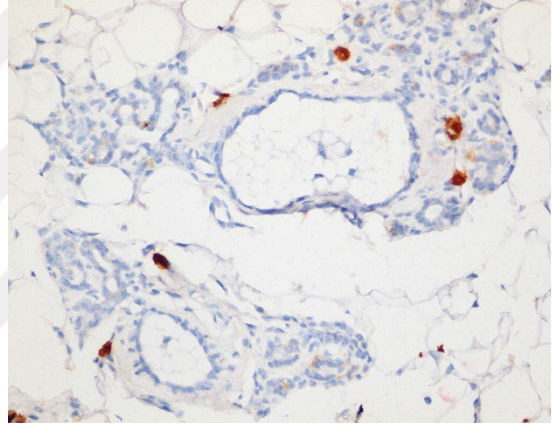
Resim 141. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. Meme başı kanalı yolu ile PBS enjeksiyonlarının yapıldığı meme bezinde yağ hücrelerinin arasında ve bir akıtcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme.*



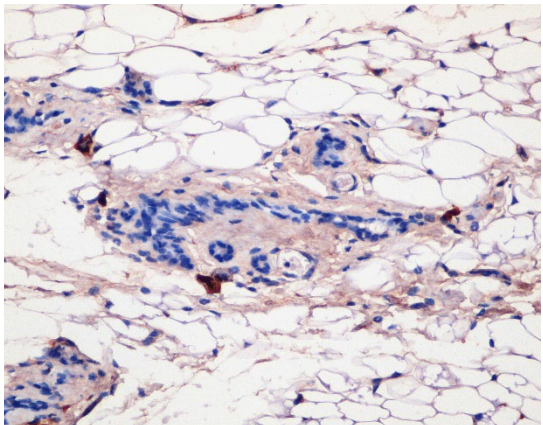
Resim 142. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin induklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde yerleşim gösteren çok sayıda kimaz (+) mast hücresi. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



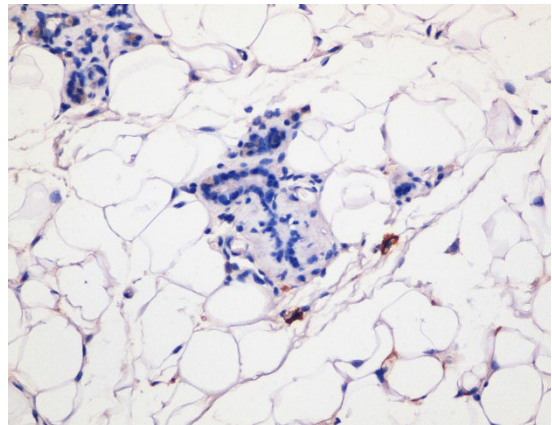
Resim 143. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde bir akıtcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



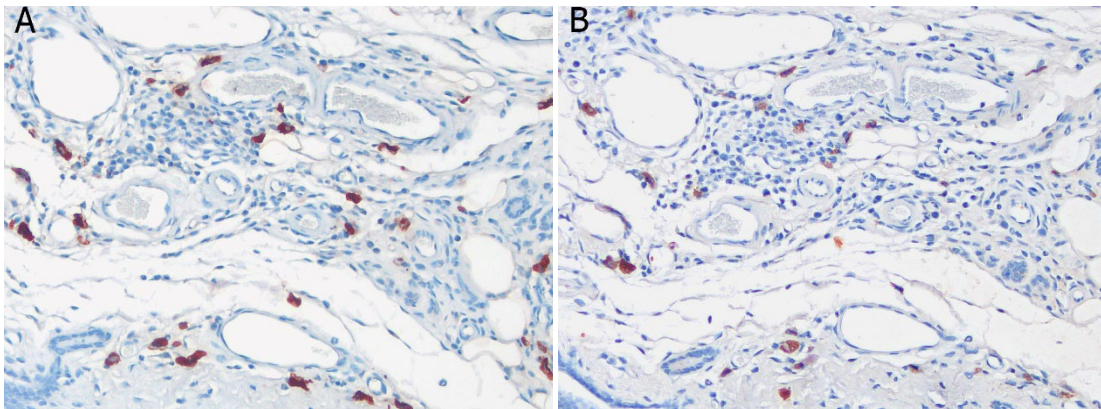
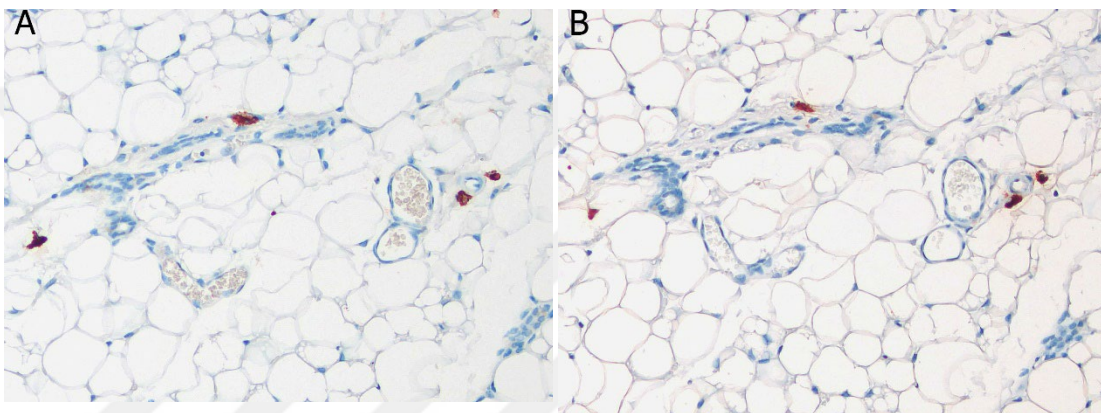
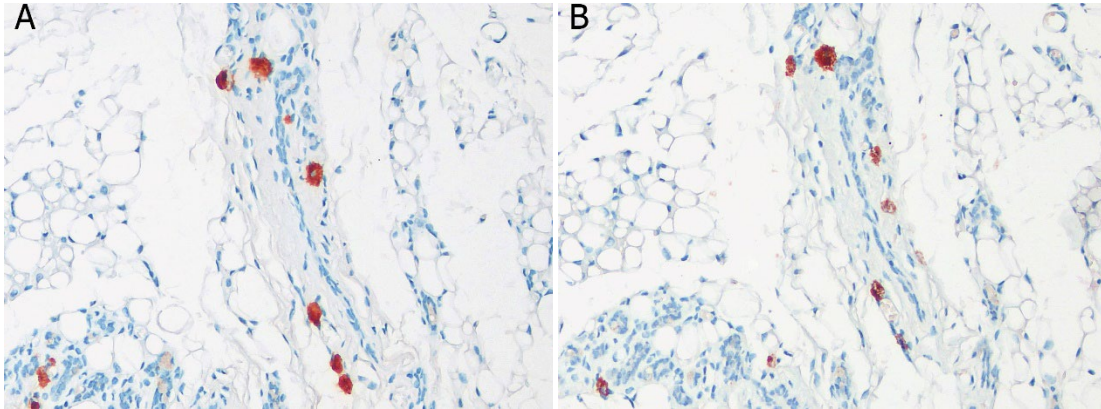
Resim 144. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*

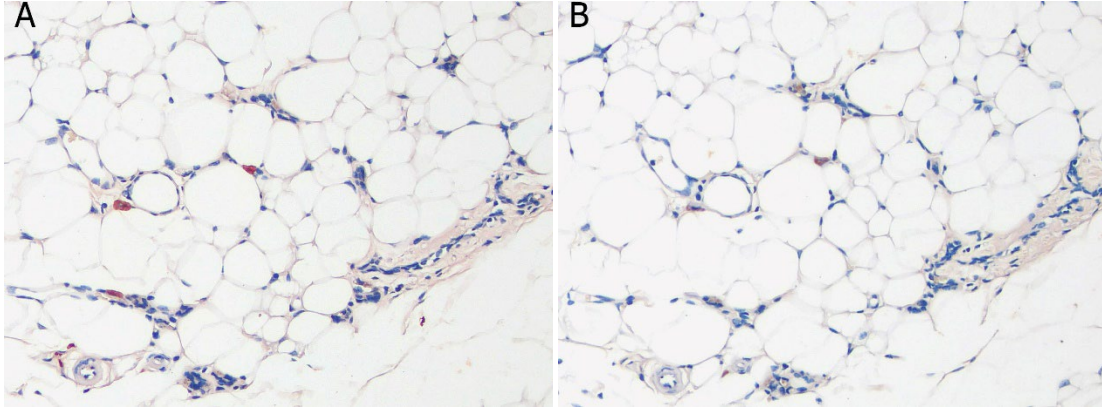


Resim 145. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*

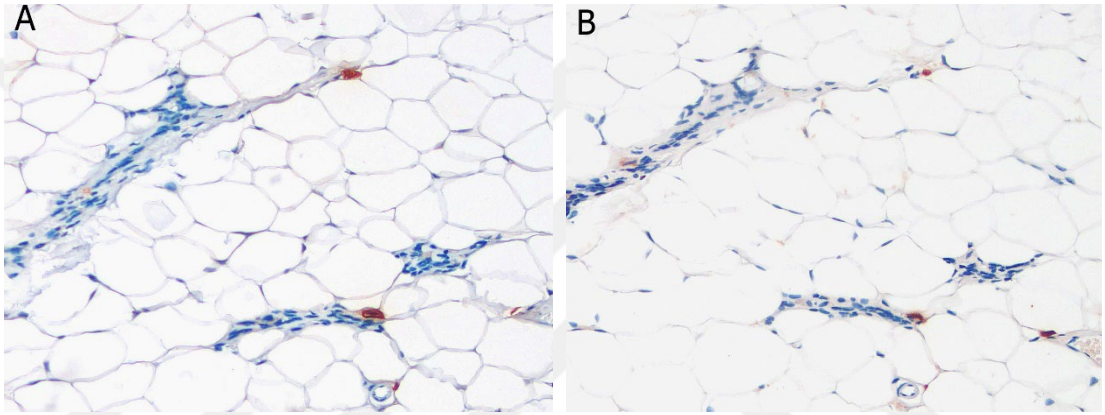


Resim 146. Kronik mastitis modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*

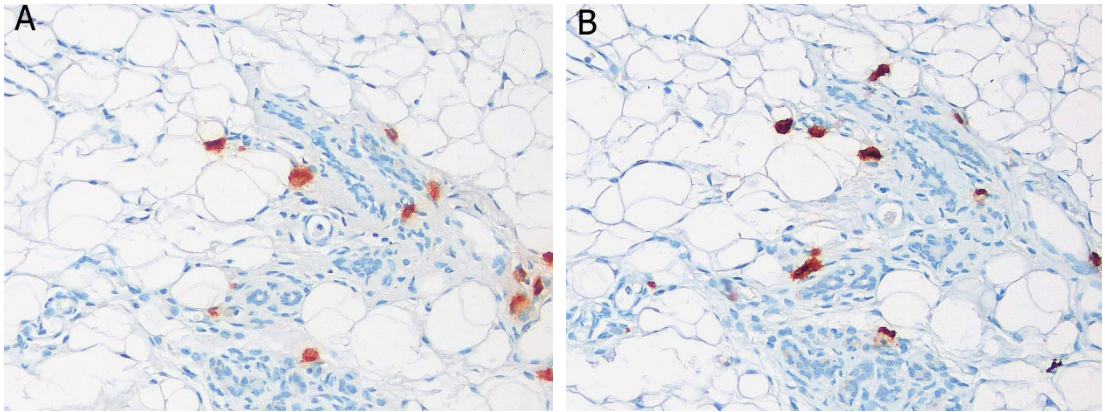




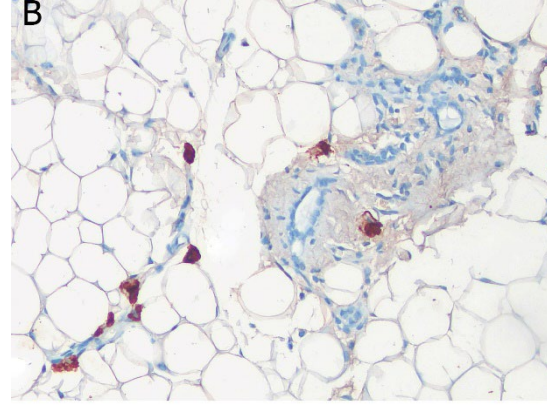
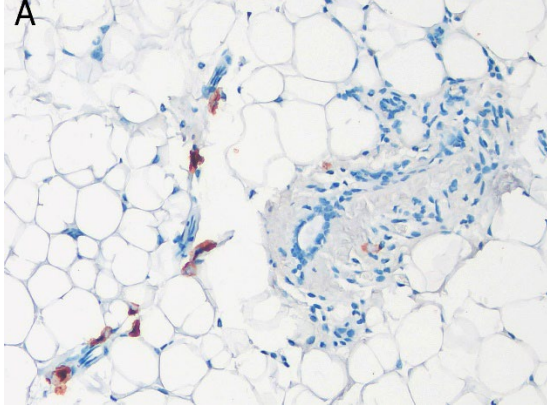
Resim 150. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



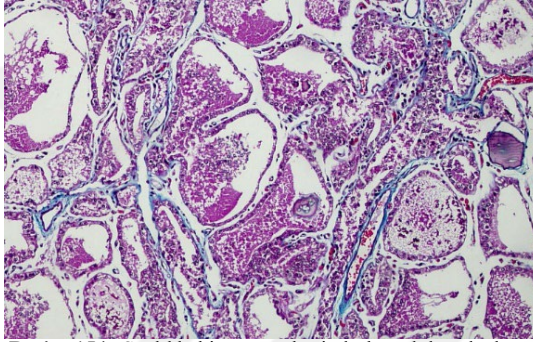
Resim 151. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



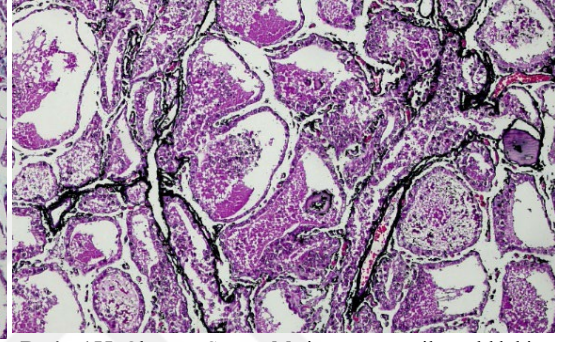
Resim 152. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



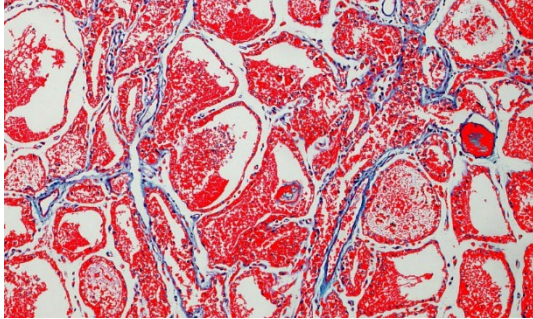
Resim 153. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



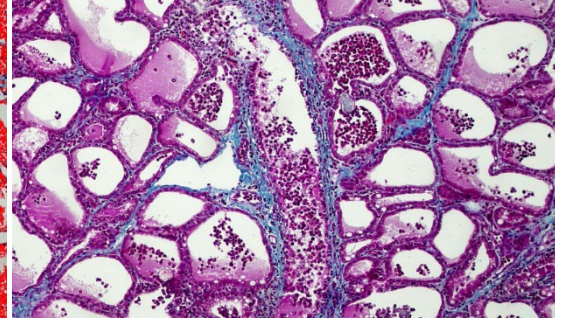
Resim 154: Sağlıklı bir meme bezinde bağ doku alanları (mavi) ve alveoller (pembe), Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme..



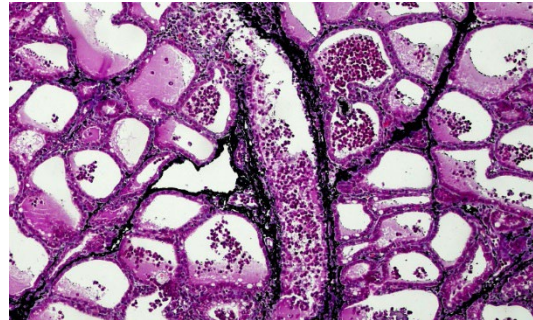
Resim 155: Olympus Stream Motion programı ile sağlıklı bir meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



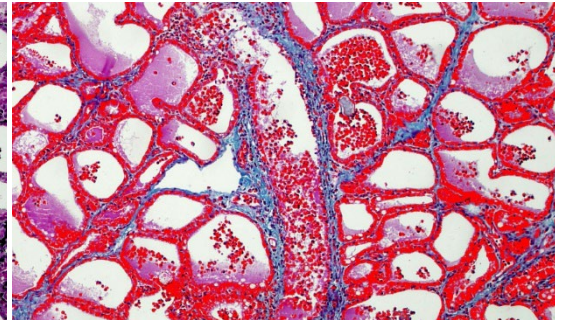
Resim 156: Olympus Stream Motion programı kullanılarak sağlıklı bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



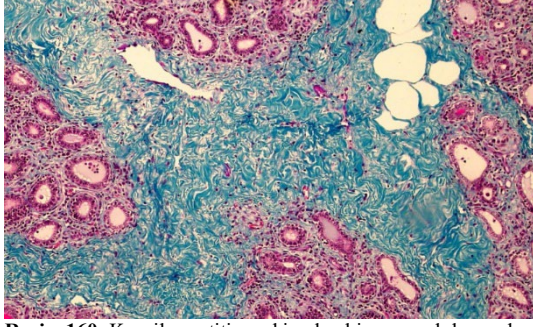
Resim 157: Akut mastitise sahip olan bir meme bezinde bağ doku alanları (mavi) ve alveoller (pembe). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



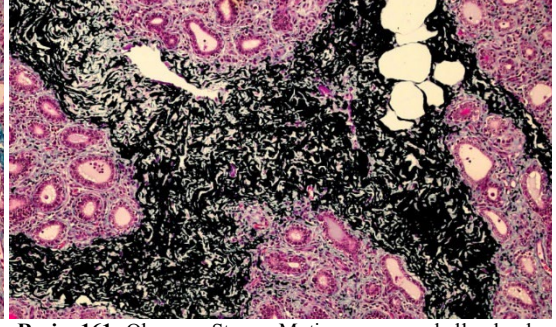
Resim 158: Olympus Stream Motion programı kullanılarak akut mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



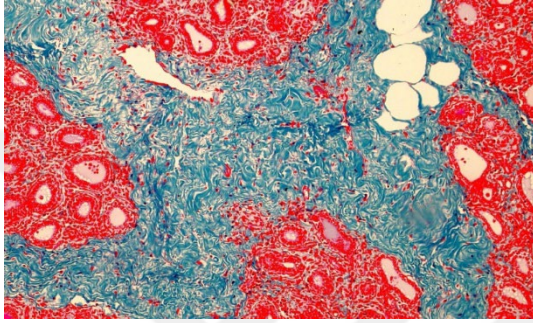
Resim 159: Olympus Stream Motion programı kullanılarak akut mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



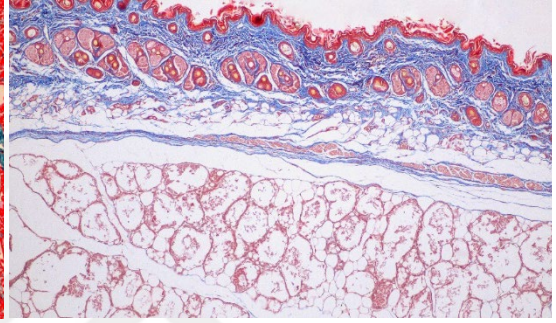
Resim 160: Kronik mastitise sahip olan bir meme dokusunda bağ doku alanları (mavi), ve alveoller (pembe renk). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



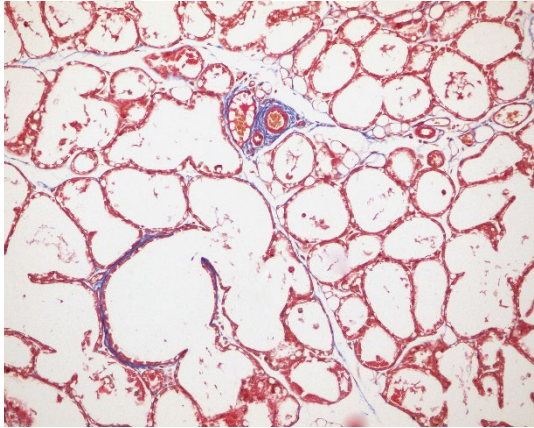
Resim 161: Olympus Stream Motion programı kullanılarak kronik mastitise sahip meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



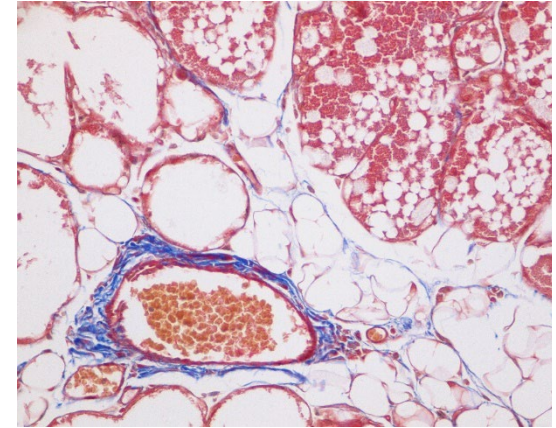
Resim 162: Olympus Stream Motion programı kullanılarak kronik mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



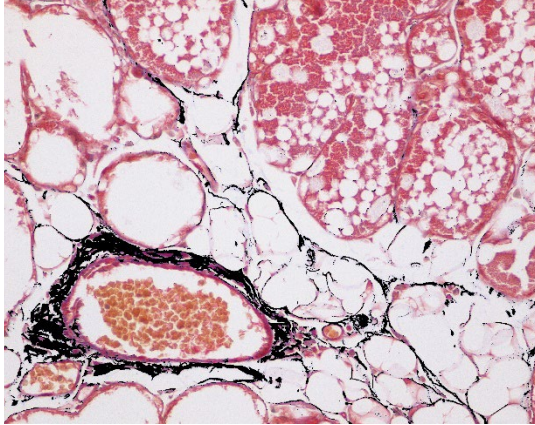
Resim 163. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



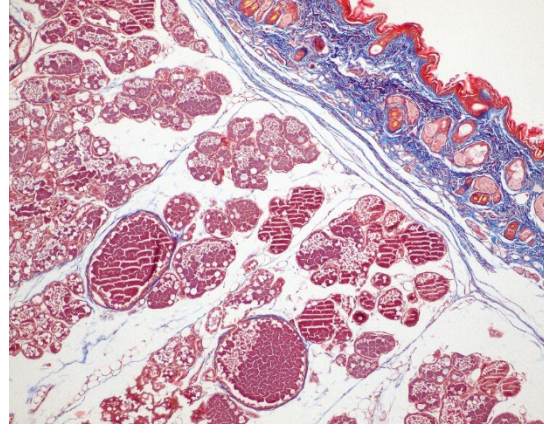
Resim 164. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x200 büyütme.



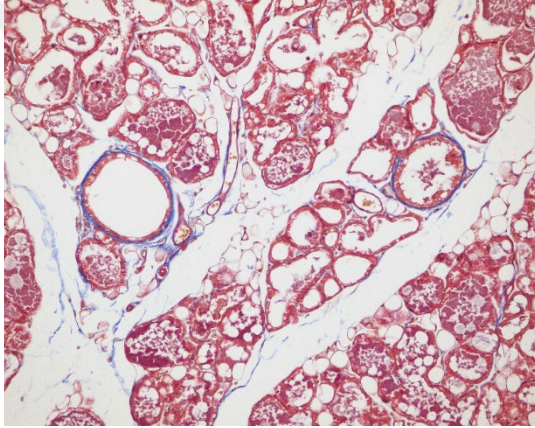
Resim 165. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



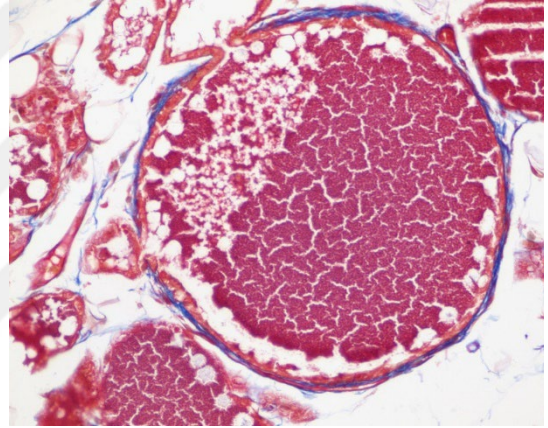
Resim 166. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (**siyah**). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



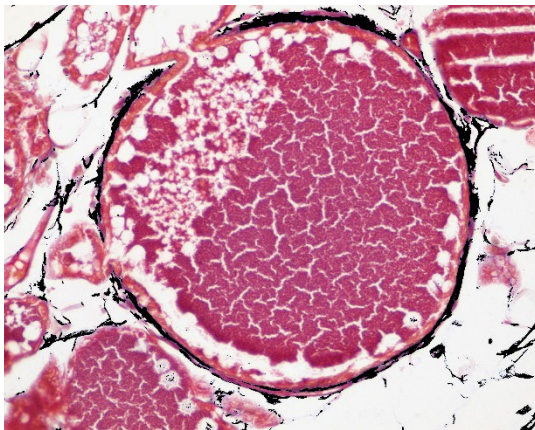
Resim 167. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (**mavi**); meme alveolleri ve salgı materyalleri (**pembe**). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



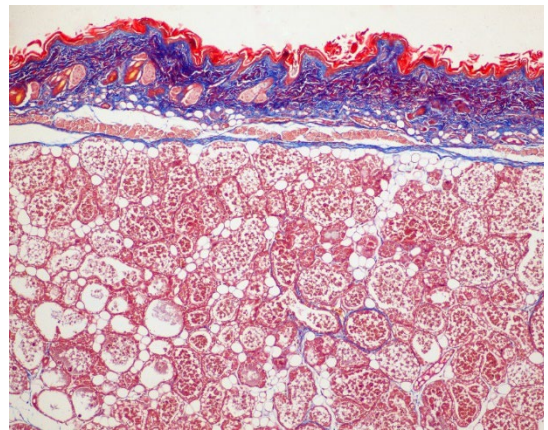
Resim 168. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (**mavi**); meme alveolleri ve salgı materyalleri (**pembe**). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



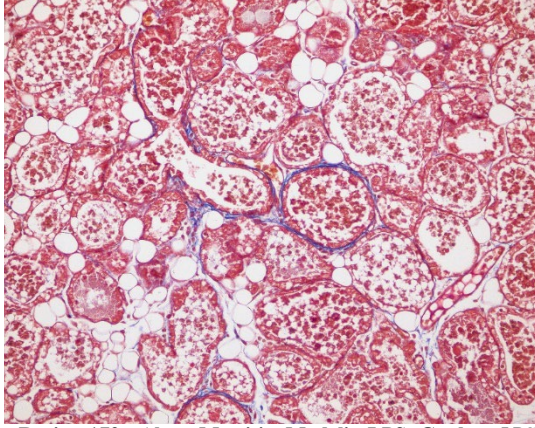
Resim 169. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (**mavi**); meme alveolleri ve salgı materyalleri (**pembe**). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



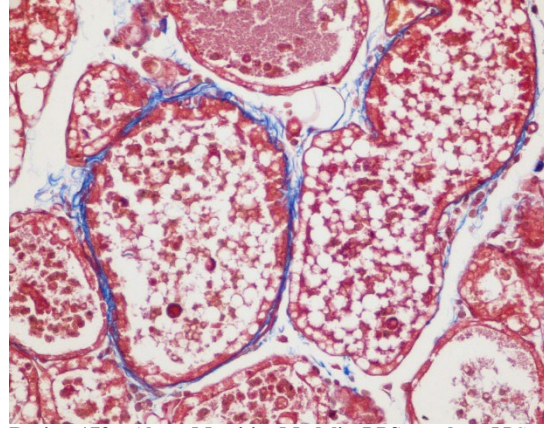
Resim 170. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (**siyah**). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



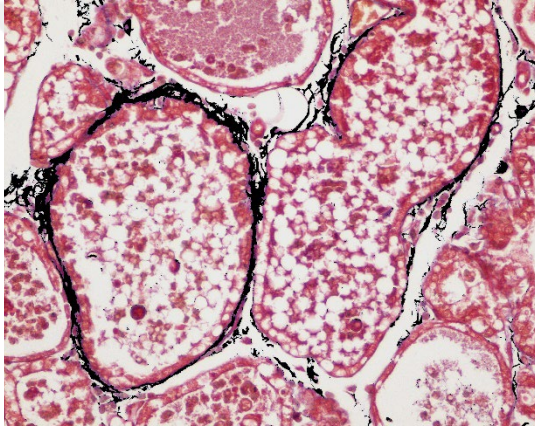
Resim 171. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonlarının yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (**mavi**); meme alveolleri ve salgı materyalleri (**pembe**). Massons's Trichrome boyama, x40 büyütme.



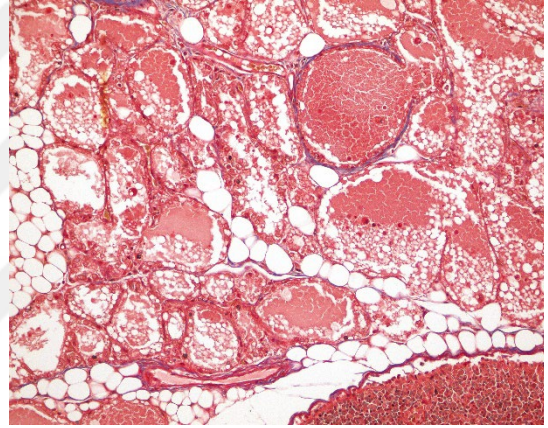
Resim 172. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



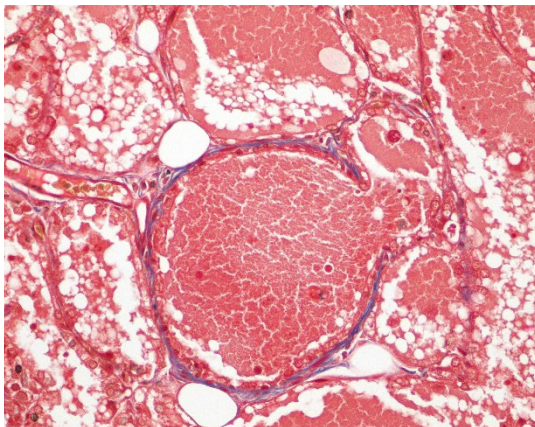
Resim 173. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



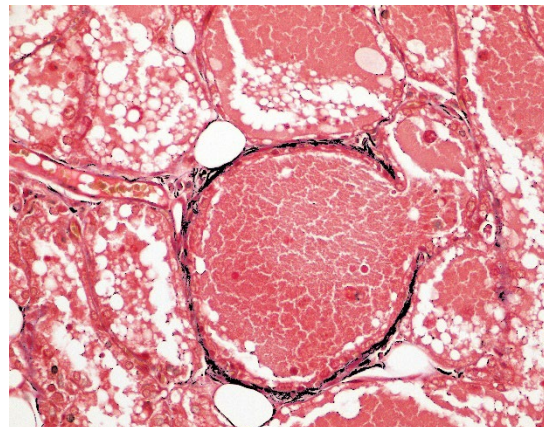
Resim 174. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



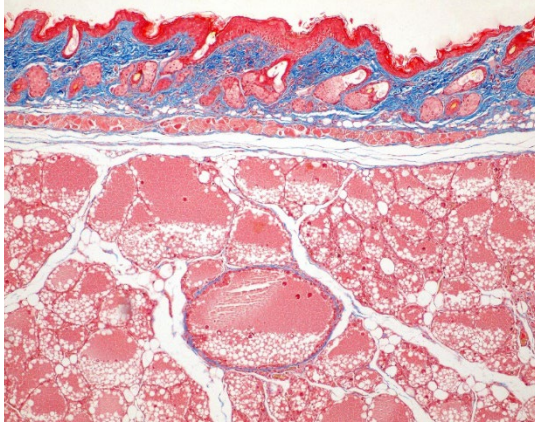
Resim 175. Akut Mastitis modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



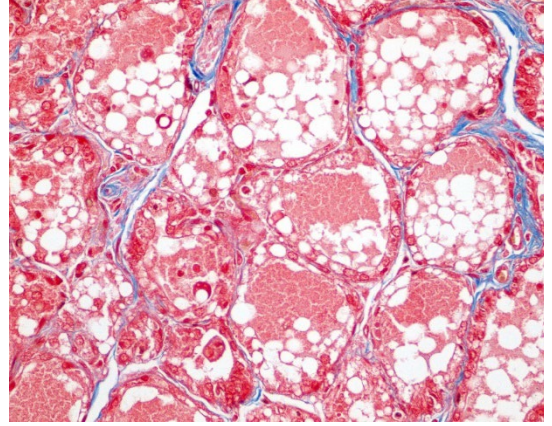
Resim 176. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



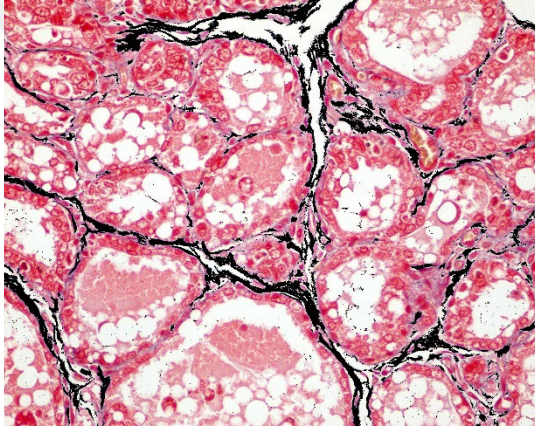
Resim 177. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



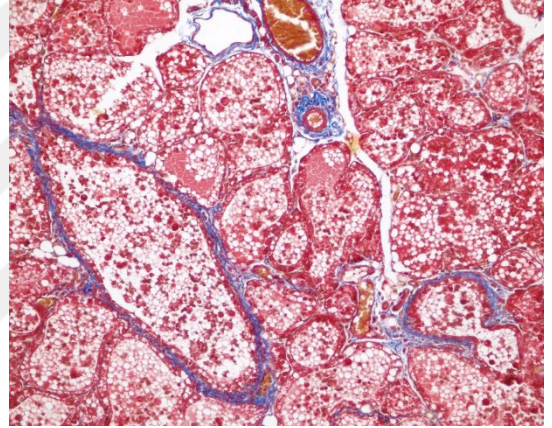
Resim 178. Akut Mastitis modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



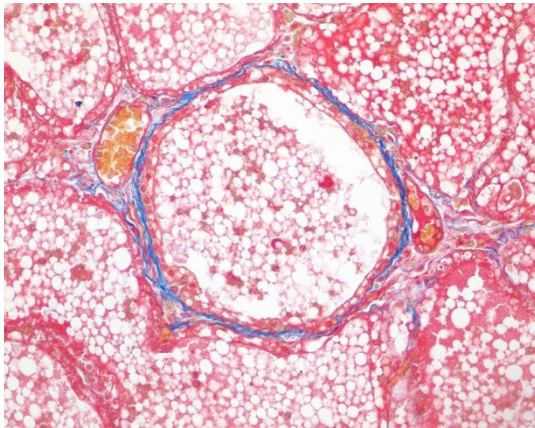
Resim 179. Akut Mastitis modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



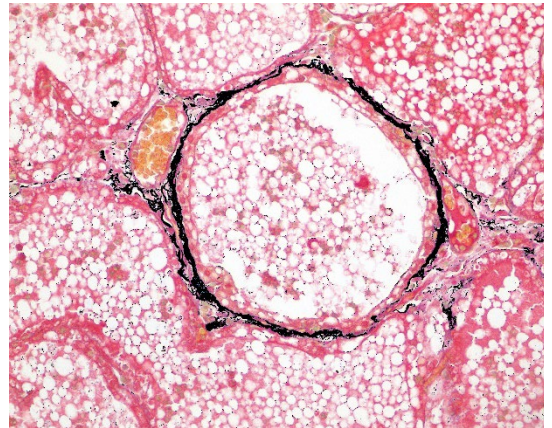
Resim 180. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



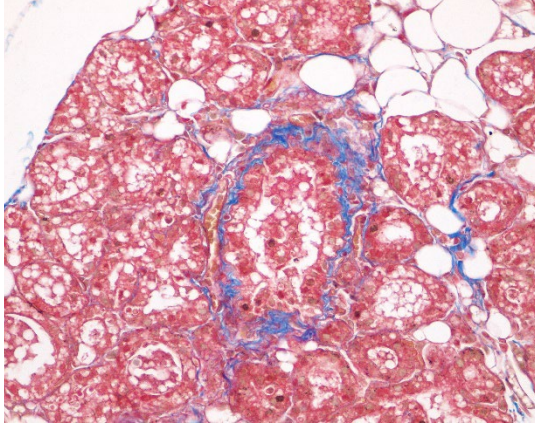
Resim 181. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



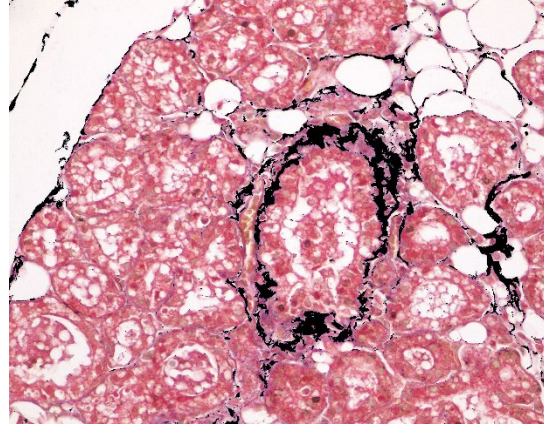
Resim 182. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



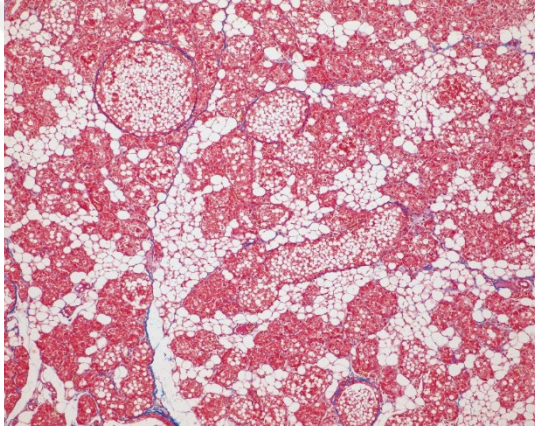
Resim 183. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



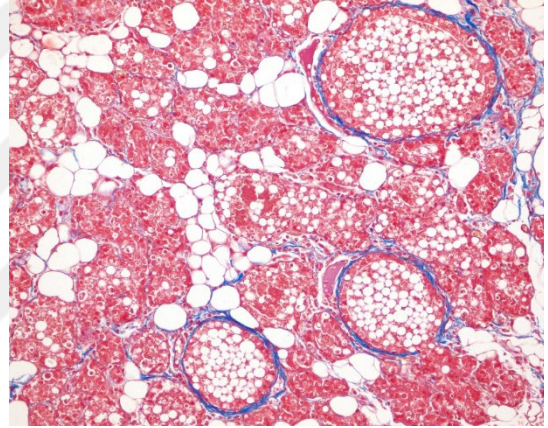
Resim 184. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



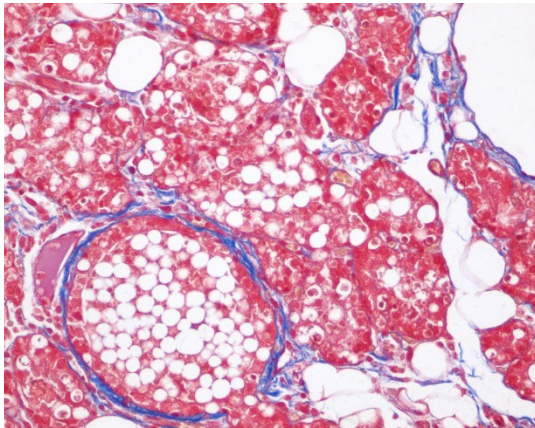
Resim 185. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



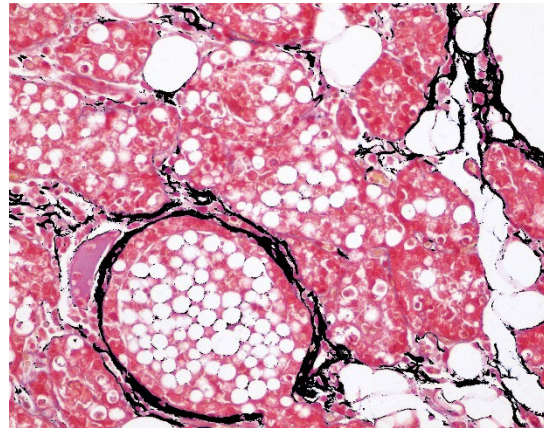
Resim 186. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve meme başı kanalı yoluyla LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



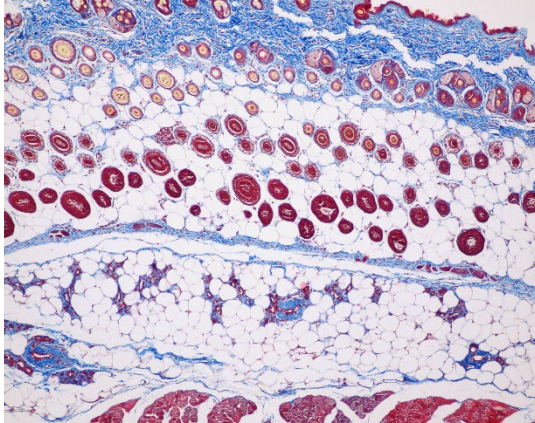
Resim 187. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi renk); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



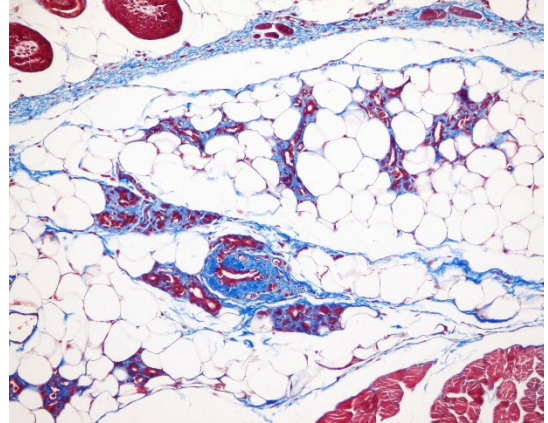
Resim 188. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve meme başı kanalı yoluyla LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



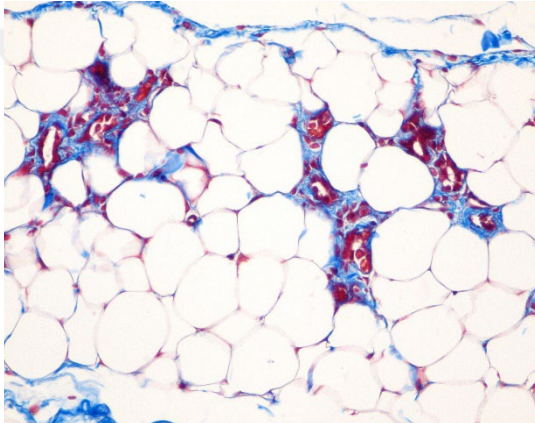
Resim 189. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



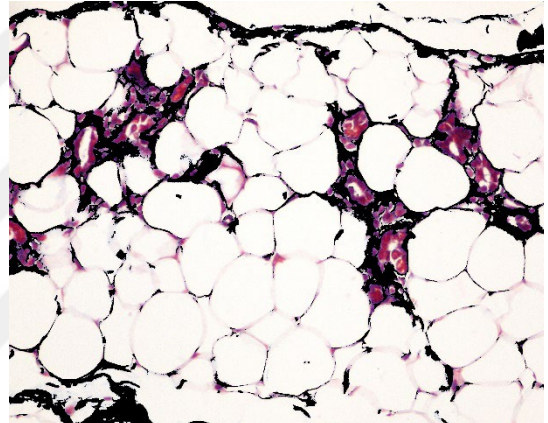
Resim 190. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x40 büyütme.



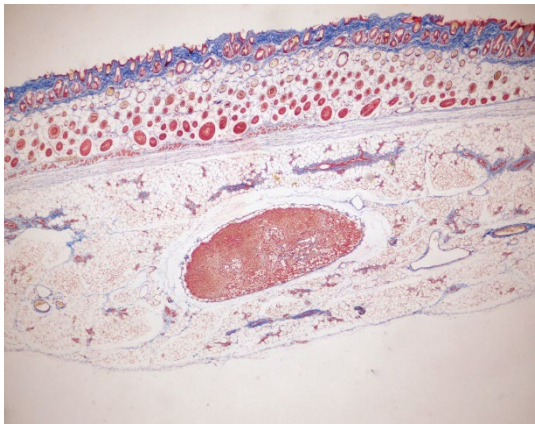
Resim 191. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



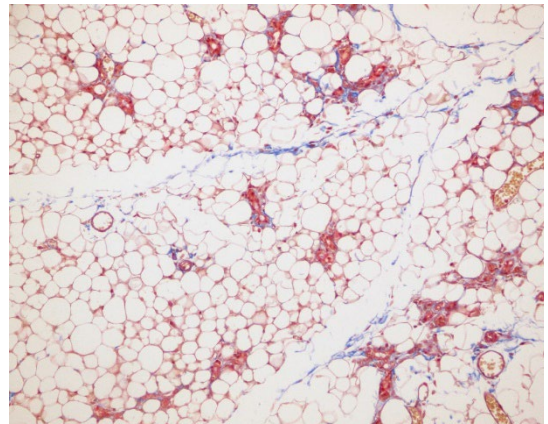
Resim 192. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



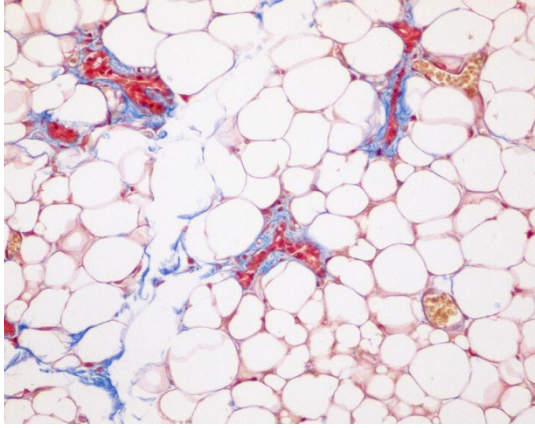
Resim 193. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



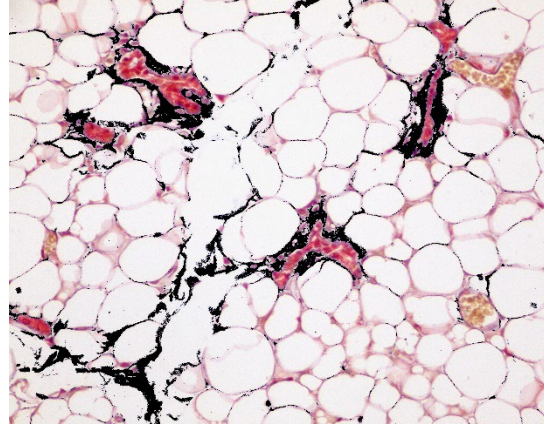
Resim 194. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



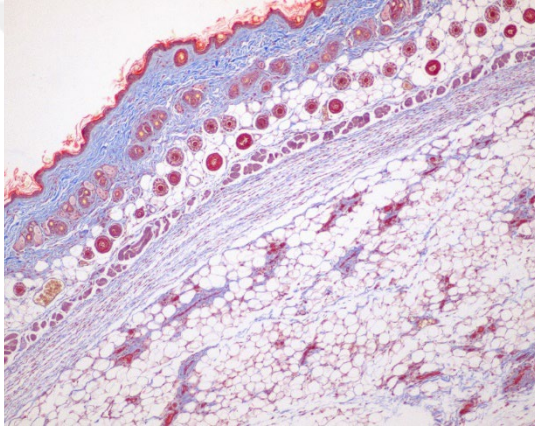
Resim 195. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



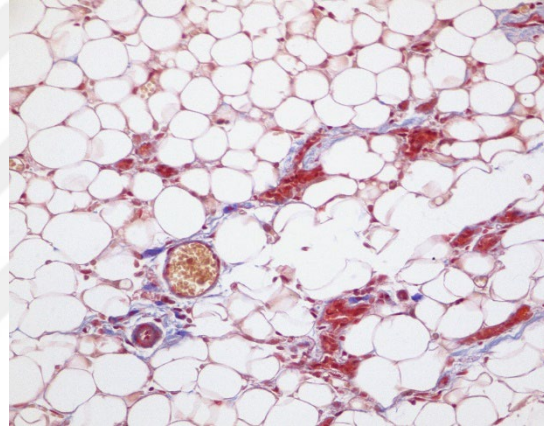
Resim 196. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



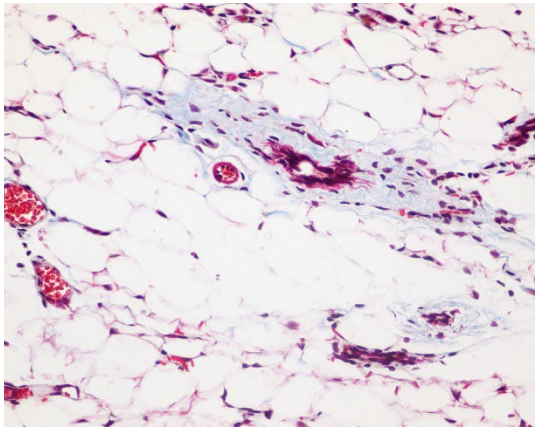
Resim 197. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



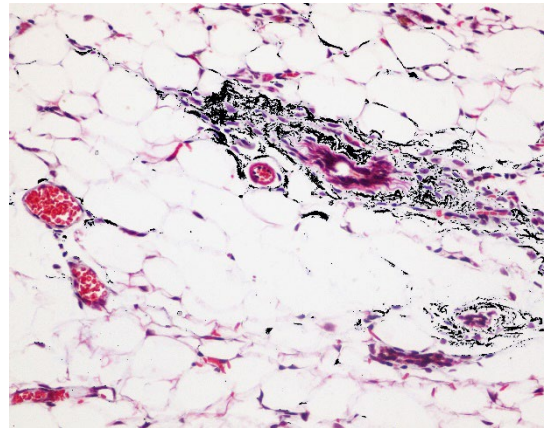
Resim 198. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme.



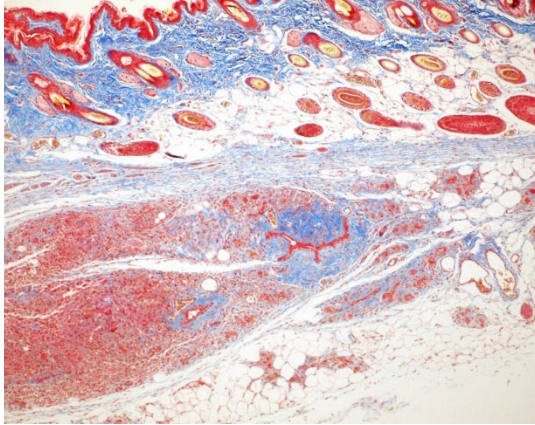
Resim 199. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



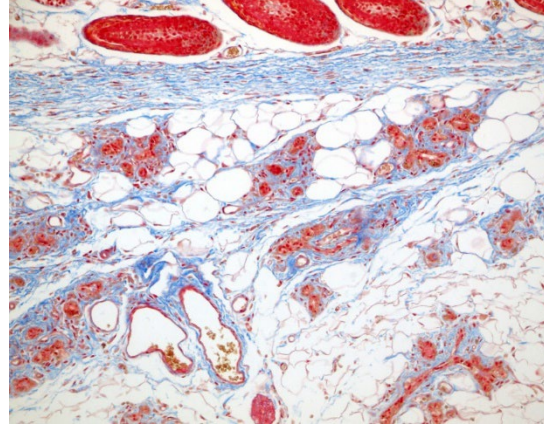
Resim 200. Kronik Mastitis modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



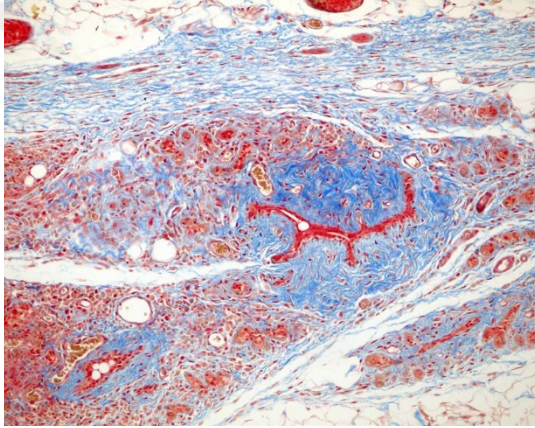
Resim 201. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Masson's Trichrome boyama, x400 büyütme.



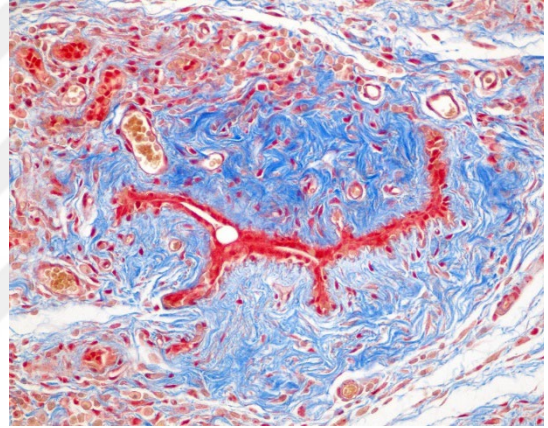
Resim 202. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



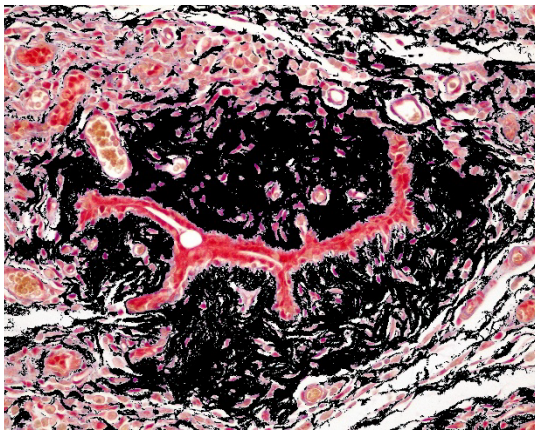
Resim 203. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



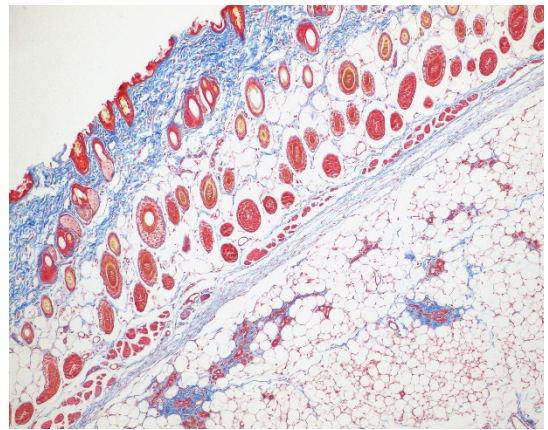
Resim 204. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



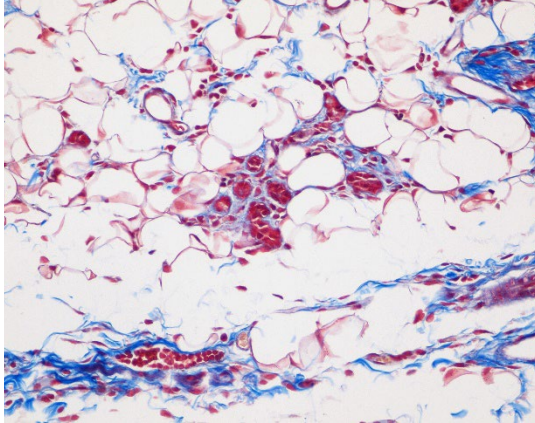
Resim 205. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



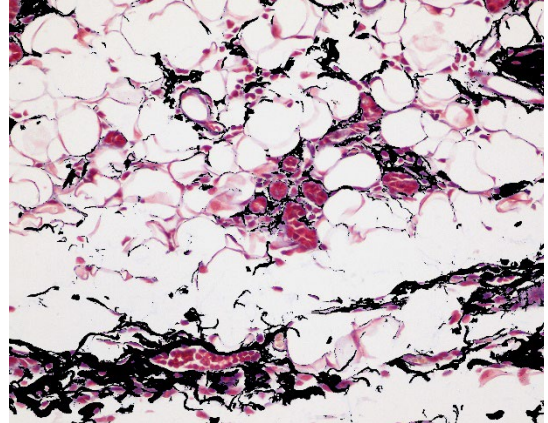
Resim 206. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



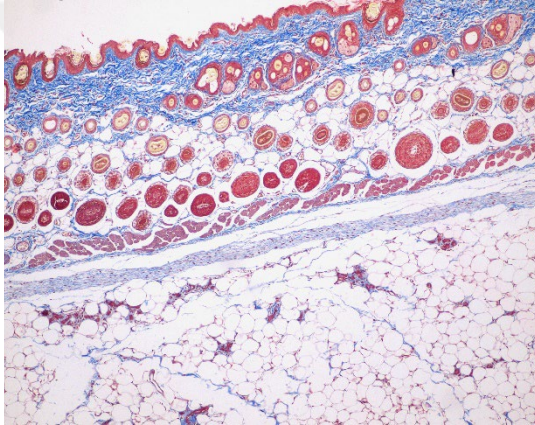
Resim 207. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



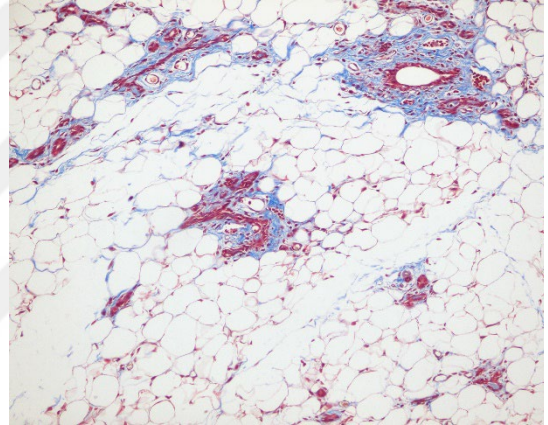
Resim 208. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



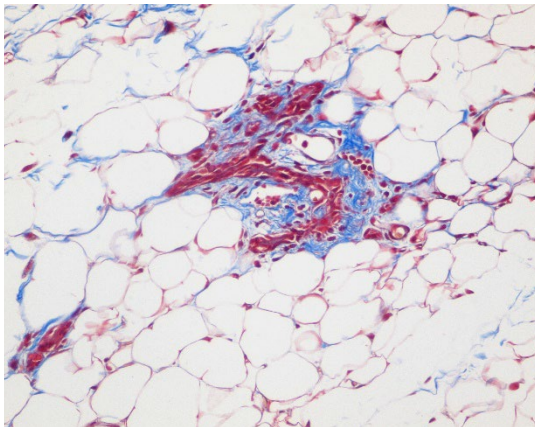
Resim 209. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



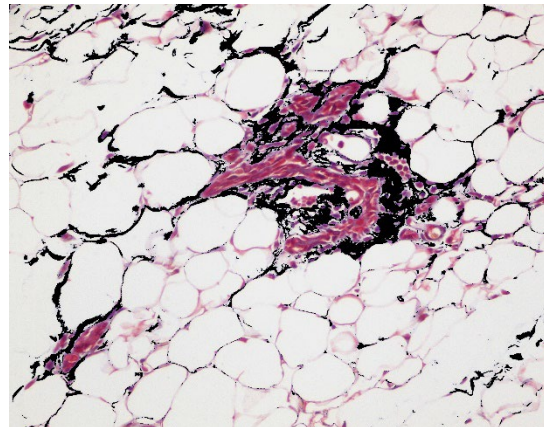
Resim 210. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme.



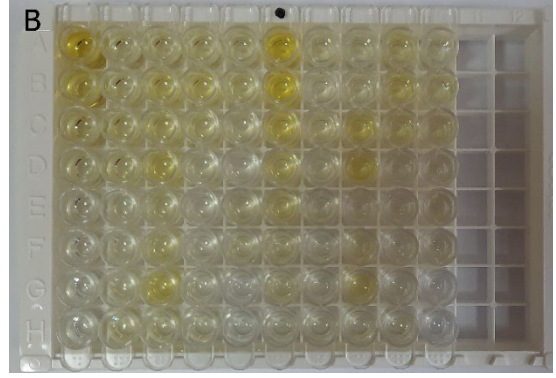
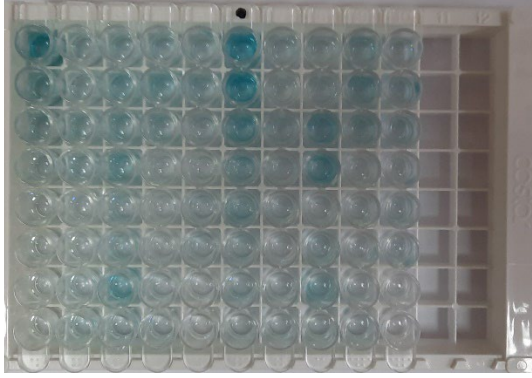
Resim 211. Kronik Mastitis modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme.



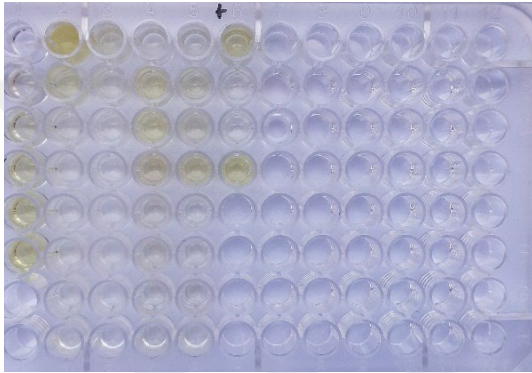
Resim 212. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



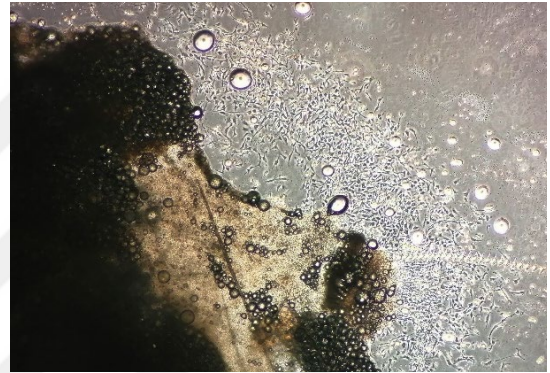
Resim 213. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programında tespit edilen bağ doku alanları (siyah). Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme.



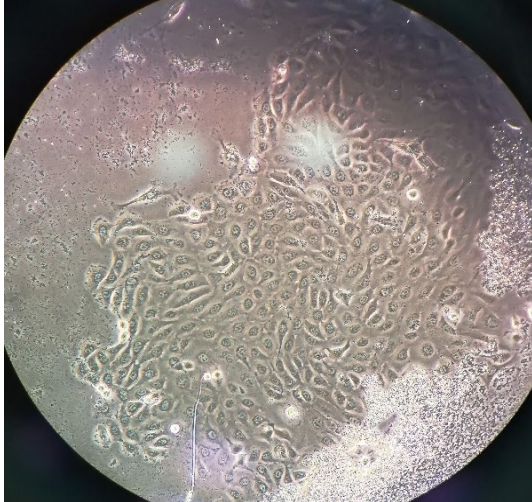
Resim 214. IL-1 β ölçümü sırasında kullanılan plaka. (A) TMB substrat solüsyonu ile inkübasyonu takiben kuyucuklarda oluşan mavi renk. (B) Reaksiyon durdurucu solüsyon ilavesini takiben kuyucuklarda oluşan sarı renk.



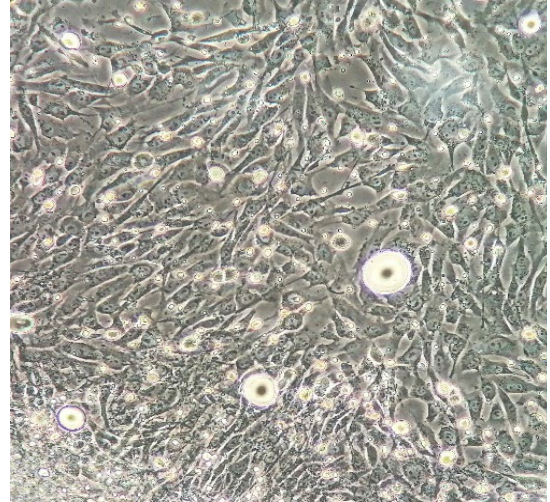
Resim 215. MPO testinin gerçekleştirildiği 96 kuyucuklu hücre kültür tabağı.



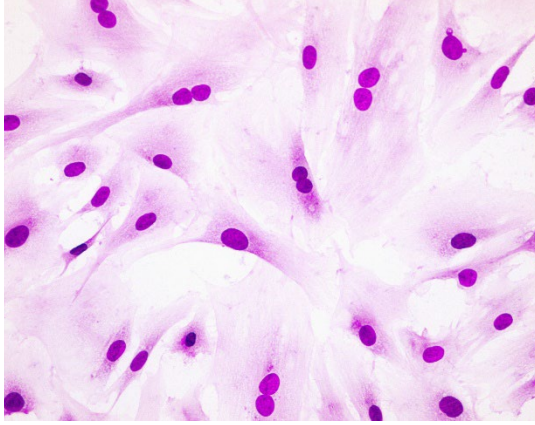
Resim 216. Fare meme dokusu eksplantından ilk hücre çıkışları.



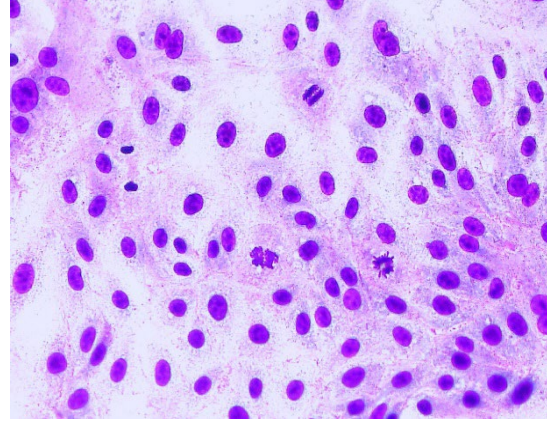
Resim 217. İnek meme dokusu eksplantından ilk hücre çıkışları.



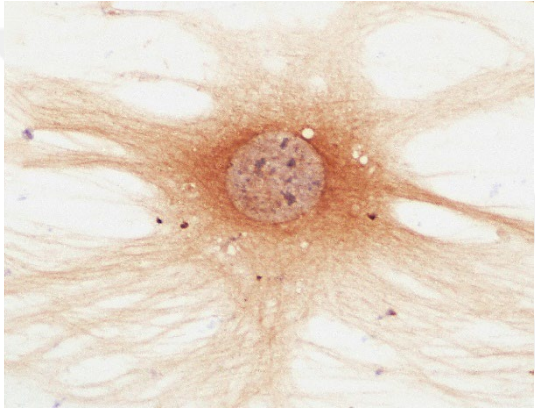
Resim 218. Fare meme fibroblastları.



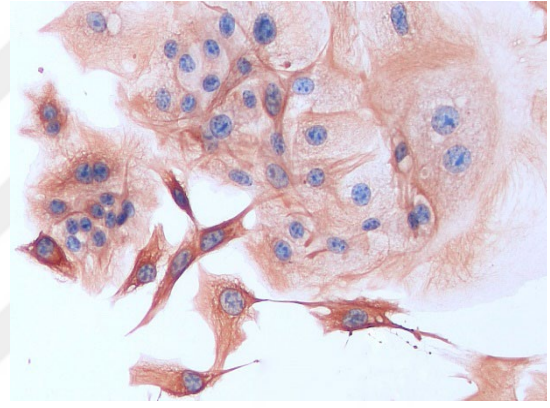
Resim 219. Morfolojik değerlendirme için 1. pasajları sırasında Diff Quik boyama prosedürü ile demonstre edilen hücreler. Fare meme fibroblastları. *Diff Quik boyama, x400 büyütme.*



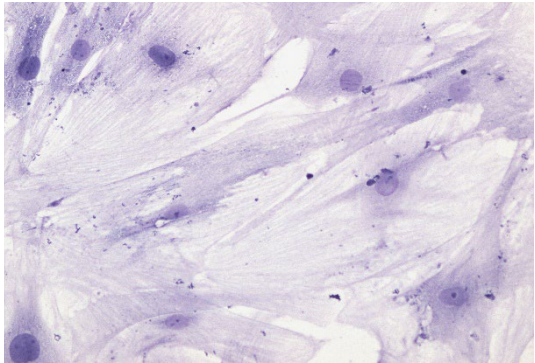
Resim 220. Morfolojik değerlendirme için 1. pasajları sırasında Diff Quik boyama prosedürü ile demonstre edilen hücreler. İnek meme fibroblastları. *Diff Quik boyama, x400 büyütme.*



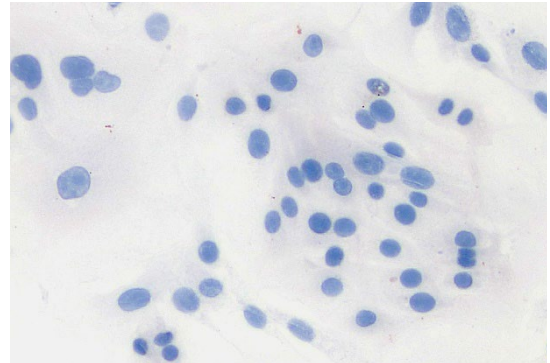
Resim 221. Vimentin (+) bir fare meme fibroblastı. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



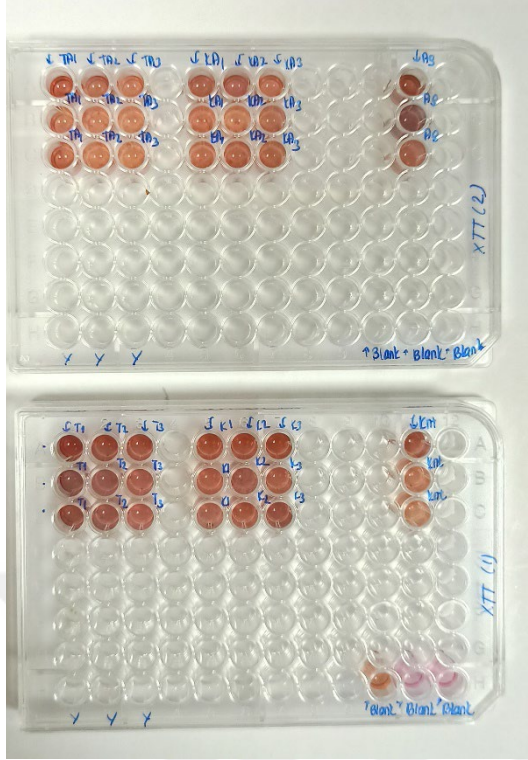
Resim 222. Vimentin (+) inek meme fibroblastları. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



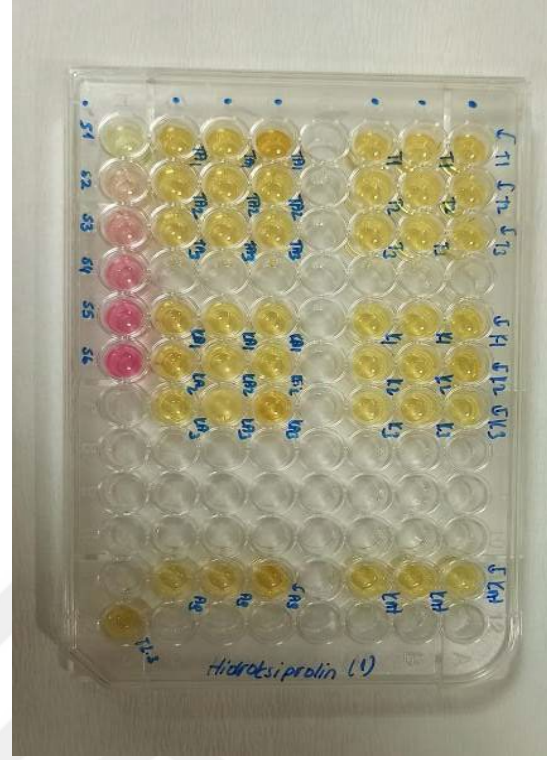
Resim 223. İzole edilen hücreler anti-sitokeratin antikoruna negatif reaksiyon vermiştir. Fare meme fibroblastları. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



Resim 224. İzole edilen hücreler anti-sitokeratin antikoruna negatif reaksiyon vermiştir. İnek meme fibroblastları. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme.*



Resim 225. Hücre proliferasyon testinin gerçekleştirildiği 96 kuyucuklu hücre kültür tabakları.



Resim 226. Hidroksiprolin ölçüm testinde kullanılan 96 kuyucuklu hücre kültür tabağı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, mast hücrelerinin akut ve kronik mastitisler sırasında üstlenebilecekleri rollerin *in vivo* ve *in vitro* koşullarda incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, temelde 3 fazdan oluşan bir çalışma modeli benimsenmiştir. Çalışmanın birinci fazında mastitisin son derece önem arzettiği tür olan inekler çalışmaya konu edilmiş ve lokal mezbahalardan 264 adet meme dokusu örneği ve 237 adet süt numunesi temin edilmiştir. Bazı meme dokuları kronik yangısal değişikliklerden dolayı köreldiği veya kuru dönemde oldukları için süt örnekleri alınamamıştır. Elde edilen meme dokusu örnekleri makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonrasında sağlıklı (119/264, %45,07), akut (101/264, %38,25) ve kronik mastitisli (44/264, %16,66) olarak klasifiye edilmiştir. Toplamda 145 adet meme dokusunda (145/264, %54,92) mastitise rastlanmıştır. Makroskobik lezyonların gözlenmediği, süt numunesinin fiziksel özellikleri normal olan, bakteriyolojik analiz sonucunda herhangi bir etken üremesinin şekillenmediği, histopatolojik olarak sağlıklı ve fonksiyonel olarak aktif olan meme dokusu örnekleri sağlıklı meme dokularını oluşturmuştur. Bakteriyolojik inceleme sonuçları pozitif olan, histopatolojik olarak akut yangısal değişikliklerin gözlemlendiği ve laktasyon döneminde olan meme dokuları akut mastitis grubu için seçilmişlerdir. Kronik mastitis grubunu ise diğer yangısal bulguların yanında şiddetli fibrotik değişikliklerin ön planda olduğu meme dokuları oluşturmuştur.

Mastitislerin histopatolojik özellikleri hayvanın yaşı, laktasyon durumu, yangının süresi ve etiyolojik ajana göre değişkenlik göstermektedir. Çalışma kapsamında, meme dokusu örnekleme yapılan hayvanlara ilişkin yeterli bilgi bulunmadığından sınıflandırma yapılırken başlıca yangının vasküler ve hücresel cevabı ile birlikte dokuda var olan dejeneratif ve nekrotik değişiklikler dikkate alınmıştır. Akut ve kronik mastitisli inek meme dokularında gözlenen mikroskobik bulgular, tıpkı bu çalışmada olduğu gibi yangının süreye göre sınıflandırıldığı çalışmaların sonuçları ile ve etken spesifik hastalık tablolarında meydana gelen değişiklikleri irdeleyen çalışmaların elde ettiği bulgular ile benzerlik göstermektedir (Benites, Guerra Melville, & Da Costa, 2002; Gogoi-Tiwari ve ark., 2017; Hussain, Javed, Khan, Mahmood, & Kausar, 2012). Bianchi ve arkadaşları (2019), mastitisli meme dokularının klasifikasyonunu etiyolojik ajan ve histopatolojik bulgulara göre

gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada sınıflandırma kriteri (lenfoplazmasitik, supuratif, granülomatöz, pyogranülomatöz gibi) farklılık gösterse de elde ettiğimiz mikroskopik veriler bahsi geçen çalışma ile son derece uyum içinde bulunmuştur.

Mastitise yol açan bakteriyel ajanların izolasyonu ve identifikasyonu, hastalığın teşhisinde en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Mastitis patojenlerinin, özellikle kesime sevk edilen hayvanlarda, teşhis edilmesinde ve yaygınlığının belirlenmesinde meme dokusu veya süt örneklerinden bakteriyolojik incelemeler yapılmaktadır. Bazı araştırmacılar hafif şiddetli olgularda ve enfeksiyonun başlangıç aşamasında süt örneklerinde yeterli miktarda etkenin bulunmaması nedeni ile meme dokusu örnekleri kullanılarak bakteriyolojik araştırmaların yapılmasının daha efektif olduğunu düşünmektedir (Gülcü, & Ertaş, 2004). Ancak yangı tüm meme lobunu etkilemiyorsa, meme dokusunu oluşturan bazı lobüllerde tutulum gerçekleşmişse ve örnekleme bu bölgeden yapılmadıysa bakteriyolojik incelemeler sonucunda yanlış negatif sonuçların alınması olasıdır. Nitekim tez çalışmasında da makroskopik ve mikroskopik incelemede sağlıklı olarak nitelendirilen 10 adet meme dokusundan alınan süt örneklerinden etken izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, meme dokularının farklı bölgelerinden alınan örneklerden hazırlanan histolojik kesitlerin bazılarında yangı ile ilişkili bulgular gözlenmezken bazılarında akut veya kronik yangısal değişiklikler tespit edilmiştir. Bu nedenle tez çalışmasında meme loblarından elde edilen süt örneklerinden bakteri izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında temin edilen 237 süt örneğinin 120 tanesinde (%50,63) herhangi bir etken izole edilememiştir. Süt örneklerinden ağırlıklı olarak *Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. izolasyonu gerçekleştirilmiş ve örneklerin %16,9'unun *Streptococcus* spp. (40/237) ve %10,13'ünün *Staphylococcus* spp. (24/237) ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler, mastitisli ineklere ait süt örneklerinden bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyonun yapıldığı diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Benites ve arkadaşları (2002), 184 adet meme dokusu örneğinin %61,4'ünde *Staphylococcus* spp. (113/184) ve %2,2'sinden *Streptococcus* spp. (4/184) izolasyonunu gerçekleştirmiştir. Benzer şekilde, Elazığ'da lokal bir mezbahadan örneklenen 1950 adet meme dokusunun *Staphylococcus* spp. (%56,85), *Actinomyces pyogenes* (%14,38) ve *Streptococcus* spp. (%13,69) ile enfekte olduğu

gösterilmiştir (Gülcü, & Ertaş, 2002). İnek mastitis vakalarında *Streptococcus spp.* ve *Staphylococcus spp.* etkenlerinin sıklıkla izole edilmesi, bu bakterilerin meme başı derisinde ve meme dokusunda uzun süre canlılığını sürdürmesi ve sağım işlemi esnasında diğer hayvanları kolaylıkla enfekte edebilmesi ile açıklanabilmektedir (Hussain ve ark., 2012; Kabelitz ve ark., 2021). Bununla birlikte, mastitise yol açan etkenlerin prevalansı sürü yönetimi, coğrafi konum ve çevresel koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterdiği için farklı bölgelerden, çiftliklerden ve mezhabalardan elde edilen örneklerden izole edilen baskın bakteri türü de değişkenlik göstermektedir (Dego, 2020). Bu nedenle farklı bakteri türlerinin daha yaygın olarak tespit edildiğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur (Dufour ve ark., 2019).

Mikroskopik inceleme sonuçları dahilinde akut ve kronik mastitisli olarak klasifiye edilen olguların bazılarında bakteri izolasyonu yapılamamıştır. Akut mastitis tanısı konulan 101 olgunun 34'ünde ve kronik mastitis tanısı konulan 44 olgunun 9 tanesinde üreme gerçekleşmemesi, hayvanların kesim öncesinde antibiyoterapi almış olması veya bakteriler dışındaki ajanlardan kaynaklanabilen bir enfeksiyonun mevcut olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmanın birinci basamağında sağlıklı ve mastitisli meme dokularında bulunan mast hücrelerinin yerleşim yerleri, sayıları, aktiviteleri ve immunofenotipleri incelenmiştir. Mast hücrelerinin kan ve lenf damarlarının çevresinde, interalveoler ve interlobüler septal dokuda, alveollerin ve kanalların hemen çevresinde yerleşim gösterdikleri tespit edilmiştir. Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında, akut ve kronik mastitise sahip olan meme dokularında mast hücre sayısının belirgin bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sağlıklı meme dokularında ortalama mast hücre sayısı 4,14 iken bu sayının akut ve kronik mastitislerde sırası ile 2,42 ve 7,9 katlık artışlar göstererek 10,05 ve 32,7'ye yükseldiği gözlenmiştir. Dolayısıyla mast hücrelerinin mastitis patojenezinde önemli roller alabilecekleri ortaya konmuştur. Mast hücre aktivasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilebilen degranülasyon süreci değerlendirildiğinde ise degranüle mast hücre sayısının yangılı meme dokularında arttığı görülmüştür. Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme dokularında yerleşim gösteren ortalama degranüle mast hücre sayılarının sırası ile 0,96, 2,44 ve 6,87 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol meme dokularına göre akut ve kronik mastitisli dokularda mast hücre sayısında sırasıyla 2,54 kat'lık ve 7,15 kat'lık artışın şekillendiği görülmüş,

degranüle mast hücrelerinin aktif olarak yangısal sürece katıldıkları sonucuna varılmıştır. Sağlıklı meme dokularına kıyasla kronik mastitise sahip olan meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayısında 7,15 katlık bir artışın meydana gelmesi, bu hücrelerin fibrozis yönünden de önemli olabileceklerini ortaya koymuştur. Nitekim, tez çalışmasında artan mast hücre sayısı ile dokulardaki fibrozisin şiddeti arasında pozitif yönde bir ilişkinin bulunması, bu hücrelerin mutlak suretle kronik yangısal süreçte ve fibrozis oluşumunda rol oynamaları yönünde yorumlanmıştır.

Takip eden analizlerde inek meme dokularında yerleşim gösteren mast hücre immunofenotipleri incelenmiş ve meme dokusunda MC_T, MC_C, MC_{TC} hücrelerinin bulunduğu ilk defa ortaya konmuştur. Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında akut ve kronik mastitise sahip olan meme dokularında MC_C fenotipinde önemli bir artışın şekillenmesi, bu hücrelerin yangının hem akut hem de kronik safhasında da önemli görevler üstlendiğini göstermiştir. Buna karşılık, kronik mastitisli meme dokularında MC_T ve MC_{TC} alt tiplerinde belirgin bir artışın şekillenmesi, kronik yangısal süreçte daha aktif roller oynayabilecekleri şeklinde yorumlanmıştır.

Mezbahadan elde edilen meme dokularında hastalığın süresinin ve klinik seyrinin bilinmemesi; yaş, laktasyon durumu, laktasyon günü, daha önceden geçirilmiş olan enfeksiyonlar ve olası tedavi girişimleri gibi bireysel faktörlerin ve çevresel faktörlerin elimine edilememesi elde edilecek olan sonuçların standardizasyonunu büyük ölçüde etkilemektedir. Ayrıca hastalıkların patofizyolojisinin ve patogenezinin anlaşılabilmesi için konakçı ve etken etkileşimleri bir bütün olarak değerlendirilmelidir. Bu nedenle, çalışmanın ikinci basamağında ineklerdeki mastitise model teşkil edecek şekilde farelerde LPS ile indüklenen akut ve kronik mastitis modelinde mast hücrelerinin rolleri irdelenmiştir.

Fare mastitis modelleri, inek meme dokusunun fizyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi, mastitislerin patojenezinin anlaşılması, mastitisler sırasında oluşan etken-konakçı etkileşimlerinin ve bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesi, hastalığın progresyonunun ve rezolüsyonunun anlaşılması gibi konularda sıklıkla kullanılmaktadır. Fare ve inek meme dokusunun sahip olduğu anatomik, fizyolojik ve fonksiyonel benzerlikler, farelerde oluşturulan *in vivo* mastitis modellerini son derece

önemli bir alternatif haline getirmiştir (Notebaert, & Meyer, 2006). Sığırlar ile benzer şekilde, fareler fonksiyonel ve anatomik olarak birbirinden bağımsız olan ve inguinal bölgede yerleşim gösteren iki çift meme bezine ve her bir meme bezi tek bir meme başı deliğine sahiptir. Mastitisler sırasında şekillenen histolojik değişiklikler her iki hayvan türünde de benzerlik göstermektedir (Notebaert, & Meyer, 2006). Buna karşılık olarak, inek meme dokusunda yerleşik olan fagositik hücrelerin sayısı, farelere kıyasla daha fazladır. Süt kompozisyonundaki farklılıkların yanı sıra farelerden süt numunesi elde etmek son derece zordur (Notebaert, & Meyer, 2006). Farelerin idaresi ve manipülasyonları ineklere kıyasla çok daha kolaydır. Kısa bir üreme siklusuna sahip olmaları nedeni ile doğum yapmaları ve laktasyona başlamaları ineklere kıyasla çok daha kısa zaman almaktadır. Çoğu mastitis deneyi ve meme tümörlerinin indüksiyonu laktasyon döneminde gerçekleştirildiği için farelerin üreme siklusunun kısa olması son derece önemlidir. Genetik açıdan modifiye edilmiş farelerin kullanımı, mastitisin tedavisine ve önlenmesine katkı sağlayacak yeni hücresel ve moleküler mekanizmaların açığa çıkarılmasına yardımcı olmaktadır (Ingman, Glynn, & Hutchinson, 2015). İneklerin sevk ve idaresinin güç olması, üreme sikluslarının uzun olması ve ineklerde oluşturulan *in vivo* mastitis deneylerinin maliyetinin yüksek olması, pek çok araştırmacının fare mastitis deneylerini tercih etmesine neden olmaktadır (Demon ve ark., 2013). Bu amaçla farklı bakteri suşlarının (örneğin *E.coli* ve *S. aureus*), çeşitli bakteriyel ürünlerin (örneğin stafilokokal enterotoksin C, LPS ve LTA) kullanıldığı ve çeşitli inokülasyon tekniklerinin uygulandığı fare mastitis modelleri geliştirilmiştir (Arbab ve ark., 2021; Chinchali, & Kaliwal 2014; Fang ve ark., 2019; Ingman ve ark., 2015; Jensen ve ark., 2013; Lai ve ark., 2017; Notebaert, & Meyer, 2006). Meme içi yolla canlı bakteri uygulaması, spesifik bakteriyel patojenlere karşı oluşan bağışıklık yanıtlarını araştırmak ve deneysel aşı çalışmalarının etkinliğini incelemek için kullanılmaktadır (Gong ve ark. 2010; Guo ve ark., 2017). Ancak canlı bakterinin kullanıldığı çalışmalarda sepsis oluşum riski nedeniyle hayvanların sağlık durumu dikkatlice monitörize edilmelidir. Ek olarak, canlı bakteri kullanımı hem laboratuvar çalışanları hem de deney hayvanları için bir sağlık riski oluşturduğundan ileri biyogüvenlik tedbirleri alınmalıdır (Ingman ve ark., 2015). Bahsi geçen risklerin oluşum sıklığı bakteri ürünlerinin kullanıldığı çalışmalarda çok daha düşüktür. Ancak bu çalışmalar spesifik bir etkenin oluşturduğu enfeksiyondan ziyade bağışıklık

yanıtlarını incelemek amacı ile kullanılmaktadır. Bu nedenle farelerde mastitisi indüklemek için meme içi yolla LPS uygulanmıştır. Tez çalışmasında da akut mastitisin indüksiyonu için sıklıkla tercih edilen Balb-c ırkı dişi fareler tercih edilmiş ve önceki çalışmalarda kullanılan doz aralıklarında LPS uygulaması yapılmıştır (Barham ve ark., 2012; Lai ve ark., 2017).

LPS gram negatif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan ana patojenik komponenttir. Hücrelerin yüzeylerinde bulunan reseptörlerine bağlanarak çeşitli fonksiyonları yerine getiren yangısal mediyatörlerin salınımını uyarır (Kan ve ark., 2021). Yangının akut ve kronik safhasında görev alan IL-1 β , IL-6, IL-13 ve TNF- α , proinflamatuvar ve profibrotik etkilere sahip olan ve mast hücreleri tarafından da üretilen önemli mediyatörlerdir (Lai ve ark., 2017). Myeloperoksidaz (myeloperoxidase, MPO), nötrofil lökositler ve makrofajlar tarafından üretilen ve bakterisidal savunmada son derece önemli olan bir lizozomal enzimidir. Dokularda akut ve kronik yangının bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (Hanifeh ve ark., 2018; Liu ve ark., 2019; Queiroz-Junior ve ark., 2009). Tez çalışması kapsamında, yangının önemli bileşenlerinden olan IL-1 β , IL-6, IL-13 ve TNF- α düzeyleri ELISA ile incelenmiş ve histopatolojik lezyonlar ile eşleştirilmiştir. Yangının önemli belirteçlerinden olan MPO aktivitesi de deney modelinde sorgulanmıştır.

LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında akut yangısal süreç ile ilişkili mikroskobik değişikliklerin olduğu gözlenmiştir. Bu meme dokularında kan damarlarının hiperemik ve dokunun değişen derecede ödemli olduğu; interstisyumda, alveol ve kanal lümenleri içerisinde çok sayıda nötrofil lökositin bulunduğu gözlenmiştir. LPS grubundan elde edilen meme dokularında gözlenen mikroskobik lezyonlar, farelerde LPS ile akut mastitisin indüklendiği çalışmaların bulguları ile benzerlik göstermiştir.(Jiang ve ark. 2018). Histopatolojik bulgulara ek olarak, LPS grubundan elde edilen meme dokularında kontrol grubu ile kıyaslandığında MPO, IL-1 β , IL-6 ve IL-13 seviyelerinde de önemli bir artışın şekillendiği tespit edilmiş ve akut yangısal reaksiyonun varlığı doğrulanmıştır. LPS ile akut mastitisin indüklendiği benzer çalışmalarda meme dokularında MPO, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinde bir artışın meydana geldiği bildirilmiştir (Jiang ve ark., 2018; Lai ve ark., 2017; Wang ve ark., 2018). Takashima ve arkadaşları (2021), LPS uygulamasının yapıldığı fare meme dokularında IL-6 ve TNF- α düzeylerinin artış gösterdiğini, IL-1 β ve IL-13 düzeyinde

bir farklılığın şekillenmediğini ancak plazma seviyesinde bir artışın meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Akut mastitis modelinde, LPS grubunun TNF- α düzeyinde diğer gruplara kıyasla bir artış şekillense de istatistiksel analizler bu farklılığın anlamlı olmadığını tespit etmiştir. Çalışma kapsamında beklentileri yansıtmayan ve önceki literatür verileri ile uyum içerisinde olmayan bu tablonun ELISA kiti veya uygulama yöntemi ile ilişkili aksaklıklardan veya örneklerin işlenmesi sırasında doku TNF düzeyini etkileyen olası proteaz aktivitelerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Akut mastitis oluşturulan farelerin meme dokularındaki mast hücreleri incelendiğinde, akut mastitisli inek meme dokularına benzer şekilde, granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısının belirgin derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir. Akut mastitisli inek meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları sırası ile 7,61; 2,44 ve 10,05 iken LPS ile akut mastitisin oluşturulduğu fare meme dokularında bu değerler sırası ile 5,02; 4,72 ve 9,74 olarak bulunmuştur. Yapılan literatür taramalarında inek ve fare meme dokularında yerleşim gösteren mast hücrelerinin sayısı ve faaliyetleri ile ilişkili bir veri mevcut olmadığı için, bu hücrelerin farklı doku ve organlarda akut yangısal yanıt esnasında aldıkları rolleri inceleyen çalışmalar üzerinden örnekler verilecektir. İnek ve fare meme dokularından elde edilen veriler ile paralellik gösterecek şekilde, akut yangısal yanıt esnasında mast hücre sayısında bir artışın şekillendiği çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Dong ve arkadaşları (2019), IP yolla tek doz LPS (1mg/kg) uygulayarak indüklediği nöroinflamasyon modelinde ratların beyin dokusunda yerleşim gösteren mast hücrelerinin sayısının kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde, IP yolla tek doz LPS (ratlarda 2 mg/kg ve farelerde 4 mg/kg) uygulamasının rat ve fare beyin dokusunda yerleşim gösteren mast hücre sayısında önemli bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2020). Küt travma ile akut akciğer hasarının oluşturulduğu ratların akciğer dokularında toplam ve degranüle mast hücre sayısında önemli bir artışın şekillendiği rapor edilmiştir (Tütüncü, Torun, & Ertuğrul, 2020). Sekal ligasyon ve punksiyon ile sepsis oluşturulan ratlarda deri, trakea ve peritonda degranüle mast hücre sayısında önemli bir artışın şekillendiği gösterilmiştir (Seeley ve ark., 2011). LPS grubundan elde edilen meme dokularının mast hücre sayısında meydana gelen belirgin artış, mast hücrelerinin akut yangısal cevap sırasında aktif olarak rol oynadıklarına işaret

etmektedir. Meme dokusunda yerleşim gösterenlere ek olarak, tez çalışmasında meme lenf yumrularında yerleşim gösteren mast hücreleri de incelenmiştir. Meme dokusunda ki tabloya benzer şekilde, lenf yumrusu medullar sinuslarında bulunan mast hücre sayısında (23,4) da kontrol grubuna (3,4) göre belirgin bir artış tespit edilmiştir. Dokularda yerleşik halde bulundukları bilinen mast hücrelerinin LPS enjeksiyonu sonrasında yangının indüksiyonu ile hızlı bir şekilde lokal lenf yumrularında sayıca artmış olması bu hücrelerin aktif bir şekilde mobilize olarak yangı bölgesine ulaşabildiklerinin ve yangısal cevaba katıldıklarının göstergesi olarak yorumlanmıştır.

Tez çalışmasında mast hücrelerinin yangının varlığı ve şiddeti üzerindeki olası etkilerinin araştırılması için bir mast hücre stabilizatörü olan kromolin sodyum, IP ve IM yolla *in vivo* fare deneylerinde kullanılmıştır. IP veya IM yolla uygulanan kromolin sodyumun ve dolayısı ile mast hücre stabilizasyonunun mastitisler üzerindeki olası etkilerinin irdelendiği literatür bilgisine rastlanmamıştır. Dolayısıyla, mast hücrelerinin degranüle olmasını engelleyen kromolin sodyumun benzer çalışmalardaki verilmiş yolu ve doz aralığı takip edilmiştir (Guimbal ve ark. 2021; Jiang ve ark., 2018; Liao ve ark., 2010). Kromolin sodyumun lokal etkilerinin değerlendirilmesine ve bu iki verilmiş yolunun etkinliğinin karşılaştırılmasına olanak verecek şekilde enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Akut mastitis modelinde, tek başına kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı gruplardan elde edilen meme dokularının mikroskopik incelemesinde akut yangısal değişikliklerin şekillenmediği ve IP ve IM yolla uygulanan kromolin sodyumun meme dokusunun MPO düzeyinde bir artışa neden olmadığı tespit edilmiştir. Ek olarak, IP ve IM yolla kromolin sodyum uygulamasının kontrol grubu ile kıyaslandığında IL-1 β ve IL-13 düzeyinde bir azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde, IP ve IM kromolin sodyum uygulamasının kullanımının güvenli olduğu ve meme dokusunda akut yangısal reaksiyona yol açmadığı tespit edilmiştir.

Akut mastitis modelinde, kromolin sodyum ve LPS'in birlikte uygulandığı meme dokularının mikroskopik incelemesinde yangının şiddetinin, yangının dağılımının ve meme dokusuna infiltre olan yangı hücrelerinin sayısının azalığı, kısaca akut yangısal değişikliklerin hafiflediği gözlenmiştir. Mikroskopik bulgular ile paralel olacak şekilde, kromolin sodyum uygulaması dokularda MPO aktivitesinin, IL-1 β ve IL-13 düzeylerinin belirgin ölçüde azalmasına neden olmuştur. Böylece, IP ve IM

yolla kromolin sodyum uygulamasının ve mast hücre inhibisyonunun, farelerin LPS ile indüklenen akut mastitis modelinde koruyucu etkisinin olduğu ve akut yangısal reaksiyonu belirgin ölçüde hafiflettiği gösterilmiştir. Çeşitli hastalık modellerinde ve *in vitro* koşullarda kromolin sodyumun ve mast hücre inhibisyonunun etkileri gösterilmiş olsa da meme dokusu üzerindeki etkileri ilk defa bu çalışma ile ortaya konmuştur. Ratlarda IP yolla LPS verilerek oluşturulan sepsis modelinde 100 mg/kg dozda uygulanan kromolin sodyumun serum IL-6 düzeyinde bir azalma ile sonuçlandığı ve ratların hayatta kalma süresini uzattığı tespit edilmiştir (Seeley ve ark., 2011). Parakuat ile indüklenen akciğer hasarı modelinde nebulizasyon yolu ile uygulanan kromolin sodyumun serum IL-1 β ve TNF- α düzeylerinde bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Harchegani ve ark., 2016). 0.3 μ M dozda uygulanan kromolin sodyumun, TNF- α ile aktive edilen insan mikrogliya hücrelerinden IL-1 β ve IL-6 da dahil olmak üzere pek çok sitokin ve kemokin salınımını engellediği ortaya konmuştur (Wang ve ark., 2021). Farelerde ince bağırsakta oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarını takiben intravenöz yolla verilen ve 25 mg/kg olacak şekilde hazırlanan kromolin sodyumun yangısal sitokin miktarında, MPO aktivitesinde ve mast hücre sayısında bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Gan ve ark., 2013). Zhang ve arkadaşları (2013), intravenöz yolla verilen kromolin sodyumun (25 mg/kg) mast hücre degranülasyonunu engelleyerek akut akciğer hasarını hafiflettiği ve IL-1 β , IL-6 ve TNF- α miktarında belirgin bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. 50 mg/kg dozda intranasal olarak verilen kromolin sodyumun farelerde influenza virüs enfeksiyonu sırasında yangısal reaksiyonu hafiflettiği ve hayatta kalma süresini uzattığı tespit edilmiştir (Han ve ark., 2015). Benzer şekilde, ratların LPS ile indüklenen nöroinflamasyon modelinde 200 μ g/ μ l dozda olacak şekilde hipotalamus içerisine uygulanan kromolin sodyumun doku TNF- α ve IL-6 düzeylerinde bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Dong ve ark., 2019).

Kromolin sodyum uygulamasının LPS ile akut mastitis indüklendiği meme dokularında granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısını azalttığı gözlenmiştir. LPS grubundan elde edilen fare meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayısı 9,74 iken IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının toplam mast hücre sayılarının sırası ile 4,80 ve 4,90 olduğu tespit edilmiştir. LPS, IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarında granüle mast hücre sayısının sırası

ile 5,02; 3,82 ve 3,65 olduğu saptanmıştır. LPS grubunun degranüle mast hücre sayısının 4,72; IM Kromolin + LPS grubundan elde edilen meme dokularında degranüle mast hücre sayısının 0,91 ve IP Kromolin + LPS grubunun degranüle mast hücre sayısının 0,98 olduğu gözlenmiştir. Degranüle mast hücre sayısında meydana gelen azalma, kromolin sodyum uygulamasının mast hücre degranülasyonunu etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermektedir. Mast hücre sayısında ve aktivitesinde meydana gelen azalma MPO aktivitesinde, IL-1 β , IL-6 (IP Kromolin + LPS grubu için) ve IL-13 düzeylerinde meydana gelen düşüş ile paralellik göstermektedir. Bu durum kromolin sodyum uygulamasının mast hücreleri tarafından da üretildiği bilinen proinflamatuvar sitokinlerin salınımını engellemesi ve akut yangısal reaksiyonu hafifletmesi şeklinde yorumlanmıştır.

Deksametazon, antiinflamatuvar ilaçların etkinliğinin araştırıldığı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda pozitif kontrol olarak sıklıkla kullanılan bir ajandır (Lai ve ark., 2017; Yu ve ark., 2020). Bu nedenle kromolin sodyumun ve mast hücre stabilizasyonunun yangısal süreç üzerindeki etkisinin karşılaştırılabilmesi için çalışma gruplarına deksametazon dahil edilmiştir. Mikroskopik incelemede, deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının birlikte yapıldığı meme bezlerinde tek başına LPS uygulanan gruba kıyasla yangının şiddetinin son derece azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak, LPS ile akut mastitisin oluşturulduğu meme dokuları ile karşılaştırıldığında, deksametazon uygulamasının IL-1 β , IL-13, IL-6 ve MPO düzeylerinde belirgin bir düşüşe neden olduğu saptanmıştır. DEX + LPS ile IM Kromolin + LPS ve IP Kromolin + LPS gruplarının IL-13 ve IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu durum deksametazon ve kromolin sodyumun bu iki sitokinin üretimini üzerindeki etkilerinin benzer olması şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmanın bir diğer aşamasında, tedavisi uygun şekilde yapılmayan klinik mastitis vakalarının ve subklinik seyirli enfeksiyonların kronik mastitise ve meme dokusunda fibrozis oluşumuna neden oldukları bilindiği için farelerde kronik mastitis modeli oluşturulmuştur. İnek mastitis vakalarının büyük bir çoğunluğu subklinik - kronik seyirli olduğu için bu forma yönelik deneysel modellerin oluşturulması son derece önemli ve gereklidir. Farelerde kronik mastitisin indüklendiği sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Tuchscher ve arkadaşları (2005), 10^5 - 10^6 CFU kapsül (-) *S. aureus* suşlarını meme başı kanalı yolu ile uyguladıklarında meme dokusunda

mononükler hücre ve nötrofil lökosit infiltrasyonları ile birlikte şiddetli doku hasarının şekillendiğini ve kronik mastitisin indüklendiğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada kronik yangısal sürecin en önemli karakteristiklerinden olan bağ doku artışına ilişkin bir veri paylaşılmamıştır. Bir başka çalışmada, bakteriyel endotoksin uygulamasını takiben yapılan *S.aureus* inokülasyonunun da farelerde kronik mastitisi indüklediği bildirilmiş, fakat epitel hücrelerinde şekillenen hiperplastik değişiklikler haricinde kronik yangısal bulgulardan bahsedilmemiştir (Anderson, 1979). Bir başka çalışmada, farelerde kronik mastitisin indüklenmesi amacı ile 10^6 CFU/ml *S. aureus* süspansiyonu direkt olarak derialtı yolla girilerek meme dokusunun içerisine verilmiştir (Bi ve ark., 2020). Aynı çalışmada meme dokusunda şekillenen dejeneratif ve nekrotik değişikliklerle birlikte fibroblast proliferasyonunun arttığı, fibroblastlarda aktin ve kollajen ekspresyonunun da artış gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan metot son derece pratik ve başarılı olsa da süspansiyonun meme dokusu içerisinde homojen bir şekilde dağılım göstermemesi, bakteri kolonilerinin çevre dokulara yayılması ve meme dokusunda bakteri kolonilerinin istenilen konsantrasyona ulaşamaması gibi istenmeyen etkilere yol açabileceği için tez çalışmasında tercih edilmemiştir. Mastitisi indükleyen ajanların, LPS gibi, meme başı kanalı yolu ile verilmesi solüsyonun kanal sistemi ve alveoller boyunca yayılmasını, böylece yangısal değişikliklerin sadece meme dokusu ile sınırlı kalmasını ve meme dokusundaki tırmanan enfeksiyon modeline yakınlık sağlar. Tez çalışmasında sayılan tüm bu sebeplerden ötürü, kronik mastitisin indüklenmesi için konsantrasyonu 0,2 µg/1 µl olacak şekilde hazırlanan LPS solüsyonundan meme başı kanalı yolu ile 50 µl enjekte edilmiştir. Kronik mastitis modeli için bu enjeksiyonlar toplamda üç kez tekrarlanmış böylece yangısal sürecin uzaması sağlanmış ve kronik mastitis başarılı bir şekilde oluşturulmuştur Bu yöntem dahilinde fibrozis belirgin şekilde indüklendiği bir kronik mastitis modeli ilk defa raporlanmıştır. Kronik mastitis modelinde, kontrol grubunu oluşturan meme dokularının ortalama bağ doku yüzdesi %5,24 iken bu değer LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında %17,37 olarak bulunmuştur. Histopatolojik bulguların yanında, MPO aktivitesi ile birlikte profibrotik IL-1β ve IL-13 düzeylerinde meydana gelen artış da kronik yangısal sürecin varlığını destekler niteliktedir.

IL-1 β 'nın çeşitli organlarda şekillenen fibrozis tablosunda önemli roller oynadığı yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. *In vivo* koşullarda IL-1 β 'nın nötralizasyonunun farelerde pulmoner fibrozisi hafiflettiği ve artan IL-1 β düzeylerinin fibrozisin şiddetini artırdığı rapor edilmiştir (Guo ve ark., 2013). Ek olarak, IL-1 β 'nın gingival fibroblastlarda kollajen üretimini artırdığı (Lu ve ark., 2010) gösterilmiştir. Tez çalışmasında IL-1 β düzeyinde meydana gelen artış, bu sitokinin meme dokusunda kronik yangısal süreçte ve fibrozis oluşumunda rol oynaması şeklinde yorumlanmıştır. Buna karşılık olarak, IL-1 β 'nın tam tersine antifibrotik etkinlik gösterdiğini belirten çalışmalar da mevcuttur. Xiao ve arkadaşları (2008), IL-1 β 'ya maruz kalan kardiyak fibroblastlarda MMP ekspresyonunun arttığını ve böylece dokularda ECM birikiminin azaldığını yani IL-1 β 'nın anti-fibrotik görevler üstlenebileceğini de göstermişlerdir. Ek olarak, IL-1 β 'nın TGF-1 β ile indüklenen myofibroblast oluşumunu inhibe ettiği, α -SMA ekspresyonunu azalttığı, kollajen 1a1 (collagen 1a1, Colla1) üretimini de azalttığı bulunmuştur (Mia, Boersema, & Bank, 2014).

Bir diğer pro-fibrotik sitokin olan IL-13'ün *in vivo* koşullarda TGF-1 β 'yı aktive ederek farelerde pulmoner fibrozis oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2001). Pulmoner idiyopatik fibrozise sahip olan bireylerin bronkoalveoler lavaj sıvılarında IL-13 düzeyinin arttığı rapor edilmiştir (Park ve ark., 2009). Murray ve arkadaşları (2008), IL-13'ün idiyopatik pulmoner fibrozise sahip olan bireylerden izole edilen akciğer fibroblastlarında α -SMA ve kollajen ekspresyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Dahası, IL-13'ün çeşitli sinyalleşme yolları vasıtası ile myofibroblast oluşumunu indüklediği de gösterilmiştir (Guo ve ark., 2015; Saito ve ark., 2003). Bahsi geçen çalışmaların bulguları ile uyumlu olacak şekilde, tez çalışmasında kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının IL-13 düzeyinde bir artışın şekillendiği tespit edilmiştir. Kronik mastitis modelinde, kontrol grubunu oluşturan meme dokularının ortalama IL-13 değeri 16,09 μ g/ml iken LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında bu değer 19,67 μ g/ml olarak bulunmuştur ($p: 0,015$). Kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında şekillenen bu artış, bu profibrotik sitokinin meme dokusunda kronik yangısal süreçte ve fibrozis oluşumunda önemli roller üstlendiğini düşündürmüştür.

Tez çalışması kapsamında, profibrotik sitokin düzeyinde meydana gelen artışın yanı sıra kronik yangının indüklendiği meme dokularında MPO aktivitesinin de artış

görülmüştür. Kronik mastitis modelinde, kontrol grubundan elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama MPO değeri 2,298 mU/ml iken bu değer LPS ile kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında 3,395 mU/ml olarak bulunmuştur ($p: 0,031$). MPO aktivitesinde meydana gelen artış, diğer organlarda şekillenen fibrozisi konu alan araştırmalarda yangının şiddetinin belirlenmesi için kullanılan yöntemlerle ve bulgularla uyum içerisindedir. Örneğin, yangısal bağırsak hastalığına sahip olan bireylerin intestinal mukozasında MPO aktivitesinin artış gösterdiği tespit edilmiştir (Chami, Martin, Dennis, & Witting, 2018). Kistik fibrozise sahip olan bireylerde artan MPO aktivitesi ile bronşiktazi oluşumu arasında pozitif yönde bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (Dickerhof ve ark., 2017).

Tez çalışması kapsamında kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularının IL-6 düzeyinde anlamlı bir artış şekillenmese de farklı doku ve organlarda kronik yangısal süreç esnasında bu profibrotik sitokinin artış gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bleomisin ile akciğer fibrozisinin indüklendiği farelerde serum IL-6 düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Shieh ve ark., 2019). Mast hücreleri tarafından üretilen IL-6'nın aterosklerozis oluşumuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Sun ve ark., 2007). Pulmoner idiyopatik fibrozise sahip olan farelerden elde edilen bronkoalveoler lavaj sıvılarında ve bu hayvanların akciğer dokusundan izole elde edilen pulmoner epitel hücre kültürlerinin süpernatantlarında IL-1 β ve IL-6 miktarında artışın şekillendiği tespit edilmiştir (Aumiller ve ark. 2013). Benzer şekilde, pulmoner idiyopatik fibrozise sahip olan bireylerin bronkoalveoler lavaj sıvılarında ve serumlarında IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin sağlıklı olan bireylere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Weng ve ark., 2019; Wilson ve ark., 2010). Tez çalışmasında kronik mastitisin indüklendiği meme dokularının IL-6 düzeyinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu farklılığın meme dokusuna has bir özellik olduğu ve uygulanan model dahilinde IL-6 düzeylerinde bariz farklılıkların şekillenmediği düşünülmüştür.

LPS ile kronik mastitisin indüklendiği fare meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısının şiddetle artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kronik mastitis modelinde, kontrol grubunu oluşturan meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları sırası ile 5,83; 2,37 ve 8,20 iken LPS ile kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularında

bu değerler sırası ile 10,93; 4,80 ve 15,73 olarak bulunmuştur. Tez çalışmasının verileri ile paralellik gösterecek şekilde, kronik yangısal süreçte dokulardaki mast hücre sayısının artış gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Veerappan ve arkadaşları (2013), idiyopatik pulmoner fibrozisli hastaların, sağlıklı bireylere göre, akciğer dokusunda daha fazla sayıda mast hücresine sahip olduklarını göstermişlerdir. Mast hücrelerine sahip olmayan farelerde fibrozisin oluşturulmasına yönelik yapılan deneylerde, bu hayvanların akciğer fibrozisinden korundukları ancak aynı hayvanlara trakea aracılığı ile mast hücreleri verildiğinde fibrozisin şekillendiği ortaya konmuştur (Veerappan ve ark., 2013). Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığına sahip olan ratlarda karaciğer dokusunda degranüle mast hücre sayısının artış gösterdiği bulunmuştur (Jiang ve ark., 2018). Safra kanalı ligasyonu ile hepatik fibrozisin oluşturulduğu ratlarda mast hücre sayısının artış gösterdiği saptanmıştır (Hargrove ve ark., 2016).

Tez çalışmasında mast hücre stabilizasyonunun kronik yangısal profile ve özellikle fibrozis oluşumu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için IP ve IM yolla kromolin sodyum uygulaması gerçekleştirilmiştir. Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda meme dokusunda yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayısı ile birlikte fibrozisin şiddetinin belirgin derecede azaldığı tespit edilmiştir. LPS grubundan elde edilen meme dokularının ortalama bağ doku yüzdesi %17,37 iken bu değerin IM Kromolin + LPS grubunda %11,60 ve IP Kromolin + LPS grubunda 7,12 olduğu tespit edilmiştir. Böylece, mast hücrelerinin ve mast hücre ürünlerinin meme dokusunda şekillenen fibrozis ile doğrudan ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Profibrotik sitokin (IL-1 β ve IL-13) ve MPO düzeylerinde meydana gelen azalma da bu bulguları destekler nitelik taşımaktadır. Mast hücre stabilizasyonunun meme dokusundaki yangısal süreçte ve fibrozis oluşumunda aldığı rollerin irdelendiği başka bir çalışma mevcut olmadığı için, kronik yangısal değişikliklerin şekillendiği diğer doku ve organlar üzerinde yapılan çalışmaların verilerine bakıldığında; Kennedy ve arkadaşları (2014), safra kanalı ligasyonunun uygulandığı ratlarda kromolin sodyumun hepatik mast hücrelerinin sayısında ve aktivitesinde belirgin bir azalmaya neden olduğunu ve artan mast hücre sayısı ile biliyer hiperplazi arasında pozitif yönde bir ilişki olduğunu tespit etmiştir. Liao ve arkadaşları (2010), transversal aortik konstriksiyon uygulanarak aşırı basınc

yükü ve myokardiyal fibrozis oluşturulan farelerde kardiyak mast hücrelerinin sayısında önemli bir artışın meydana geldiğini, kromolin sodyum uygulamasının mast hücre degranülasyonunu engellediğini ancak mast hücre sayısında bir farklılığın meydana gelmediğini ve myokardiyal fibrozisin şiddetinin azaldığını ortaya koymuştur. Ratlarda unilateral üreteral obstrüksiyon ile oluşturulan renal fibrozis modelinde böbrek dokusunda mast hücre sayısının artış gösterdiği ve kromolin sodyum uygulamasının fibrozis oluşumunu hafiflettiği gösterilmiştir (Veerappan ve ark., 2012). Aynı çalışmada, mast hücrelerinden yoksun olan farelerin renal fibrozisten korunduğu bildirilmiştir.

Tez çalışmasında inek meme dokularında gözlenene benzer şekilde, fare meme dokularında da MC_T, MC_C, MC_{TC} fenotipinde mast hücrelerinin bulunduğu ilk defa ortaya konmuştur. Sağlıklı meme dokuları ile kıyaslandığında akut mastitise sahip olan meme dokularına MC_T, MC_C hücrelerinin sayısında belirgin bir artışın şekillendiği tespit edilmiştir. Akut mastitis modelinde, kontrol grubunu oluşturan meme dokularında sayılan ortalama MC_T ve MC_C hücre sayıları sırası ile 2,87 ve 2,43 iken LPS ile akut mastitisin indüklendiği meme dokularında bu değerlerin sırası ile 4,27 ve 5,50 olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, kronik mastitisin indüklendiği fare meme dokularında MC_T, MC_C, MC_{TC} hücrelerinin sayısının kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği saptanmıştır. Kronik mastitis modelinde, kontrol grubunun MC_T, MC_C ve MC_{TC} hücre sayıları sırası ile 7,13; 3,33 ve 3,17 iken kronik mastitisin oluşturulduğu meme dokularında bu değerlerin sırası ile 12,20; 8,20 ve 7,67 olduğu tespit edilmiştir. Kromolin sodyum uygulamasının akut ve kronik mastitisin indüklendiği meme dokularında MC_T ve MC_C hücrelerinin sayısında anlamlı bir düşüşe neden olduğu görülmüştür. Bu bulgular MC_T ve MC_C hücrelerinin yangının hem akut hem de kronik safhasında önemli roller üstlenebileceğini düşündürmüştür.

Takip eden deneylerde, akut ve kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularının triptaz ve kimaz düzeyleri ölçülerek mast hücresi spesifik bu proteazların gruplar arasındaki olası farklılıkları değerlendirilmiştir. Akut ve kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularının triptaz ve kimaz düzeyleri arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur. Kromolin sodyum uygulamasının mast hücre granüllerinde depolanan triptaz ve kimaz miktarında bir farklılığa sebep olmaması ve granül içeriğinin dış ortama salınmasını

engellemesi, dokuda bulunan triptaz ve kimaz düzeylerini değiştirmemektedir. Akut ve kronik mastitis modeli grupları arasında triptaz ve kimaz düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmaması, doku homojenatlarının hazırlanması aşamasında mekanik parçalanmaya maruz kalan mast hücre granüllerinden triptaz ve kimazın açığa çıkması ve kromolin sodyumun etki mekanizmasının bir sonucu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Ek olarak, dış ortama salınan triptaz enziminin yarılanma ömrünün 1,5-2,5 saat arasında değişkenlik göstermesi, bu çalışmanın bulgularını açıklayabilir niteliktedir (Payne, & Kam, 2004). Buna karşılık olarak, akut ve kronik yangısal değişikliklerin şekillendiği dokularda triptaz ve kimaz düzeylerinin artış gösterdiğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur. Wang ve arkadaşları (2020), LPS ile indüklenen nöroinflamasyon modelinde ratların beyin dokusundaki triptaz protein seviyesinin artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Pulmoner idiyopatik fibrozise sahip olan bireylerin akciğerlerinde triptaz düzeyinin arttığı da tespit edilmiştir (Wygrecka ve ark., 2013).

Çalışmanın üçüncü ve son basamağında, kronik mastitise sahip olan meme dokularında artmış olan mast hücrelerinin fibrozise doğrudan katkı yapıp yapmadıklarını anlamak için inek ve fare meme dokularından izole edilen fibroblastlar salt olarak triptaz ve kimaz enzimleri ile kültüre edilmiş ve deneyler sonrasında bu hücrelerin proliferasyon ve kollajen sentezleme kapasiteleri sorgulanmıştır. Analizler sonucunda üç farklı dozda verilen triptaz ve kimazın fibroblastlarda proliferatif kapasiteyi artırdığı tespit edilmiştir (**Tablo 58** ve **Tablo 59**). Bu etkilerin selektif olarak kimaz ve triptazdan kaynaklanıp kaynaklanmadığının anlaşılması için bu proteazların hücreye bağlanmak için kullandığı PAR-2 reseptörlerinin agonistleri ve antagonistleri ile deneyler tekrarlanmıştır. Antagonist uygulamaları sonrasında proliferatif kapasitenin azalması, agonistin ise tek başına triptaz gibi etki doğurması elde edilen sonuçların bu enzimden kaynaklandığını doğrulamıştır. Triptaz ve kimaz enzimlerinin farklı doku ve organlardan izole edilen fibroblastlar üzerinde proliferatif etkiye sahip olduğu ve bu şekilde fibrozis oluşumuna katkıda bulunduğu çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur. Akers ve arkadaşları (2000), triptaz enziminin PAR-2 reseptörü aracılığı ile insan akciğer fibroblastlarında proliferatif kapasiteyi artırdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, triptaz enziminin insanların konjunktival fibroblastlarında (Asano-Kato ve ark., 2005) da benzer mitojenik etkiye sahip olduğu

ortaya konmuştur. Kimaz enziminin insan deri fibroblastlarında, keloid ve hipertrofik skar dokusundaki fibroblastlarda, bleomisin ile indüklenen akciğer fibrozisi modelinde akciğer fibroblastlarında proliferatif kapasiteyi artırdığı gösterilmiştir (Chen ve ark., 2017; Dong ve ark. 2012; Dong, Zhang, Ma, & Wen, 2014; Tomimori ve ark., 2003).

Hücre kültürü çalışmalarının bir sonraki basamağında, triptaz ve kimaz enzimlerinin ECM sentezi üzerindeki etkilerinin anlaşılması için, kültüre edilen inek ve fare meme fibroblastları bu enzimler ile muameme edildikten sonra sentezledikleri kollajen miktarları ölçülmüştür. Test sonucunda triptaz enziminin inek ve fare meme fibroblastlarında kollajen sentezini artırdığı, kimaz enziminin ise bu yönde bir etkisinin bulunmadığı ortaya konmuştur (**Tablo 60** ve **Tablo 61**). Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olacak şekilde, triptaz enzimi ve PAR-2 reseptör interaksiyonlarının kardiyak ve pulmoner fibroblastlarda kollajen sentezini artırdığı gösterilmiştir (Bagher ve ark., 2018; McLarty, Meléndez, Brower, Janicki, & Levick, 2011). Kimaz enzimi ile ilişkili olarak, Dong ve arkadaşları (2014) kimaz enziminin keloid fibroblastlarının kollajen sentezini artırdığını tespit etmiştir. Benzer şekilde, kimaz enziminin kardiyak fibroblastlar üzerinde de mitojenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2008). Fibroblastlar her bir organda, hatta aynı organın birbirinden ayrı kompartmanlarında bile farklı bir fenotip sergileyebilen son derece heterojen bir hücre grubudur (Zeisberg, & Kalluri, 2012). Son derece özelleşmiş olan bu hücreler morfolojik özellikleri, yüzey antijenleri, proliferatif kapasiteleri ve fonksiyonları bakımından önemli farklılıklar sergilemektedir (Mascharak, desJardins-Park, & Longaker, 2021; Zou ve ark., 2021). Bu nedenle farklı hayvan türlerinden elde edilen fibroblastların kimaz molekülüne vereceği yanıt da farklılık gösterebilir.

Özetlenecek olursa, mast hücrelerinin meme dokusunda şekillenen akut ve kronik yangısal süreçte aktif olarak rol oynadıkları ve fibrozisin şiddeti ile artan mast hücre sayısı arasında doğrudan bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Kromolin sodyum uygulaması ile mast hücre stabilizasyonunun yangıyı hafiflettiği ve fibrozisin şiddetini azalttığı ortaya konmuştur. Triptaz ve kimaz enzimlerinin inek ve fare meme fibroblastlarında proliferatif kapasiteyi artırdığı, triptaz enziminin bu hücrelerde kollajen sentezini indüklediği tespit edilmiştir. Bu sonuçların ışığında, mast hücrelerinin mastitisler sırasında son derece önemli roller üstlenebilecekleri ortaya konmuştur. Hem yangının hem de fibrozisin şiddetinin hafifletilmesi için bu hücrelerin

stabilizasyonunun yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılacak sonraki çalışmalarda mast hücre stabilizatörlerinin mastitislerin tedavisinde etkin bir ajan olarak klinik tedavi protokollerine dahil edilmesinin uygun olacağı kanısına varılmıştır.



6. KAYNAKLAR

- Agier, J., Pastwińska, J., & Brzezińska-Błaszczuk, E. (2018). An overview of mast cell pattern recognition receptors. *Inflammation*, 67(9), 737–746. <https://doi.org/10.1007/s00011-018-1164-5>
- Akers, I. A., Parsons, M., Hill, M. R., Hollenberg, M. D., Sanjar, S., Laurent, G. J., & McAnulty, R. J. (2000). Mast cell tryptase stimulates human lung fibroblast proliferation via protease-activated receptor-2. *American Journal of Physiology, Lung Cellular and Molecular Physiology*, 278(1), L193–L201. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2000.278.1.L193>
- Akers, R. M., & Nickerson, S. C. (2011). Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 275–289. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9231-3>
- Alhussien, M. N., & Dang, A. K. (2018). Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary World*, 11(5), 562–577. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.562-577>
- Anderson J. C. (1979). Experimental staphylococcal mastitis in the mouse: The persistence of chronic infection from one lactation to the next. *Research in Veterinary Science*, 26(2), 213–215.
- Arbab, A., Lu, X., Abdalla, I. M., Idris, A. A., Chen, Z., Li, M., ... Yang, Z. (2021). Metformin inhibits lipoteichoic acid-induced oxidative stress and inflammation through AMPK/NRF2/NF- κ B signaling pathway in bovine mammary epithelial cells. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 661380. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.661380>
- Asano-Kato, N., Fukagawa, K., Okada, N., Dogru, M., Tsubota, K., & Fujishima, H. (2005). Tryptase increases proliferative activity of human conjunctival fibroblasts through protease-activated receptor-2. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46(12), 4622–4626. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-0388>
- Ashraf, A., & Imran, M. (2020). Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews*, 21(1), 36–49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>
- Aumiller, V., Balsara, N., Wilhelm, J., Günther, A., & Königshoff, M. (2013). WNT/ β -catenin signaling induces IL-1 β expression by alveolar epithelial cells in pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 49(1), 96–104. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0524OC>
- Azouz, N. P., Hammel, I., & Sagi-Eisenberg, R. (2014). Characterization of mast cell secretory granules and their cell biology. *DNA and Cell Biology*, 33(10), 647–651. <https://doi.org/10.1089/dna.2014.2543>

- Bagher, M., Larsson-Callerfelt, A. K., Rosmark, O., Hallgren, O., Bjermer, L., & Westergren-Thorsson, G. (2018). Mast cells and mast cell tryptase enhance migration of human lung fibroblasts through protease-activated receptor 2. *Cell Communication and Signaling*, 16(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0269-3>
- Barham, W., Sherrill, T., Connelly, L., Blackwell, T. S., & Yull, F. E. (2012). Intraductal injection of LPS as a mouse model of mastitis: Signaling visualized via an NF- κ B reporter transgenic. *Journal of Visualized Experiments (JoVE)*, (67), e4030. <https://doi.org/10.3791/4030>
- Beaudry, K. L., Parsons, C. L., Ellis, S. E., & Akers, R. M. (2016). Localization and quantitation of macrophages, mast cells, and eosinophils in the developing bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 796–804. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9972>
- Becker-Algeri, T. A., Castagnaro, D., de Bortoli, K., de Souza, C., Drunkler, D. A., & Badiale-Furlong, E. (2016). Mycotoxins in bovine milk and dairy products: A review. *Journal of Food Science*, 81(3), R544–R552. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13204>
- Ben-Eli, H., & Solomon, A. (2018). Topical antihistamines, mast cell stabilizers, and dual-action agents in ocular allergy: Current trends. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 18(5), 411–416. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000473>
- Benić, M., Maćešić, N., Cvetnić, L., Habrun B., Cvetnić, Ž., Turk, R., ... Samardžija, M. (2018). Bovine mastitis: a persistent and evolving problem requiring novel approaches for its control - A review. *Veterinarski Arhiv*, 88(4), 535–557. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0116>
- Benites, N. R., Guerra, J. L., Melville, P. A., & da Costa, E. O. (2002). Aetiology and histopathology of bovine mastitis of spontaneous occurrence. *Journal of Veterinary Medicine Infectious Series B Diseases and Veterinary Public Health*, 49(8), 366–370. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00566.x>
- Bi, Y., Ding, Y., Wu, J., Miao, Z., Wang, J., & Wang, F. (2020). *Staphylococcus aureus* induces mammary gland fibrosis through activating the TLR/NF- κ B and TLR/AP-1 signaling pathways in mice. *Microbial Pathogenesis*, 148, 104427. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104427>
- Bianchi, R. M., Schwartz, C. I., de Cecco, B. S., Panziera, W., De Lorenzo, C., Heck, ... Driemeier, D. (2019). Pathological and microbiological characterization of mastitis in dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 51(7), 2057–2066. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01907-0>
- Black, L. M., Lever, J. M., & Agarwal, A. (2019). Renal inflammation and fibrosis: A double-edged sword. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 67(9), 663–681. <https://doi.org/10.1369/002215541985293>

Blank, U., Falcone, F. H., & Nilsson, G. (2013). The history of mast cell and basophil research - some lessons learnt from the last century. *Allergy*, 68(9), 1093–1101. <https://doi.org/10.1111/all.12197>

Bochaton-Piallat, M. L., Gabbiani, G., & Hinz, B. (2016). The myofibroblast in wound healing and fibrosis: Answered and unanswered questions. *F1000 Research*, 5, F1000. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8190.1>

Boyce, J., Fanning, L. (2019). Mast cells, basophils, and mastocytosis. R. R. Rich, T. A. Fleisher, W. T. Shearer, H. W. Schroeder, A. J. Frew, & C. M. Weyand (Eds.), *Clinical Immunology (Fifth Edition)* (pp. 335-347). Elsevier, US.

Bradding, P., & Pejler, G. (2018). The controversial role of mast cells in fibrosis. *Immunological Reviews*, 282(1), 198–231. <https://doi.org/10.1111/imr.12626>

Burgy, O., & Königshoff, M. (2018). The WNT signaling pathways in wound healing and fibrosis. *Matrix Biology*, 68-69, 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.03.017>

Caslin, H. L., Kiwanuka, K. N., Haque, T. T., Taruselli, M. T., MacKnight, H. P., Paranjape, A., & Ryan, J. J. (2018). Controlling mast cell activation and homeostasis: Work influenced by Bill Paul that continues today. *Frontiers in Immunology*, 9, 868. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00868>

Chami, B., Martin, N., Dennis, J. M., & Witting, P. K. (2018). Myeloperoxidase in the inflamed colon: A novel target for treating inflammatory bowel disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 645, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.03.01>

Chang, M. Y., Chan, C. K., Braun, K. R., Green, P. S., O'Brien, K. D., Chait, A., ... Wight, T. N. (2012). Monocyte-to-macrophage differentiation: Synthesis and secretion of a complex extracellular matrix. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(17), 14122–14135. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.324988>

Chen, H., Xu, Y., Yang, G., Zhang, Q., Huang, X., Yu, L., & Dong, X. (2017). Mast cell chymase promotes hypertrophic scar fibroblast proliferation and collagen synthesis by activating TGF- β 1/Smads signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(5), 4438–4442. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5082>

Cheng, W. N., & Han, S. G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1699–1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>

Chimenti, M. S., Sunzini, F., Fiorucci, L., Botti, E., Fonti, G. L., Conigliaro, ... Perricone, R. (2018). Potential role of cytochrome c and tryptase in psoriasis and psoriatic arthritis pathogenesis: Focus on resistance to apoptosis and oxidative stress. *Frontiers in Immunology*, 9, 2363. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02363>

Chinchali, J. F., Kaliwal, B. B. (2014). Histopathology of mammary gland in *Staphylococcus aureus* induced mastitis in mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(Suppl. 1), S320-S325. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60463-1](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60463-1)

- Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020). Epidemiology and classification of mastitis. *Animals (Basel)*, 10(12), 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
- Collington, S. J., Williams, T. J., & Weller, C. L. (2011). Mechanisms underlying the localisation of mast cells in tissues. *Trends in Immunology*, 32(10), 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.08.002>
- Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A mini-review. *Frontiers in Nutrition*, 5, 87. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>
- Cruz-Topete, D., & Cidlowski, J. A. (2015). One hormone, two actions: Anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22(1-2), 20–32. <https://doi.org/10.1159/00036272>
- da Silva, E. Z., Jamur, M. C., & Oliver, C. (2014). Mast cell function: a new vision of an old cell. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 62(10), 698–738. <https://doi.org/10.1369/0022155414545334>
- Dees, C., Chakraborty, D., Distler, J. (2020). Cellular and molecular mechanisms in fibrosis. *Experimental Dermatology*, 30(1), 121–131. <https://doi.org/10.1111/exd.14193>
- Dego, O. K. (2020). Bovine mastitis: Part I. *IntechOpen*, Erişim Adresi: <https://www.intechopen.com/chapters/73116>
- Demon, D., Breyne, K., Schiffer, G., & Meyer, E. (2013). Short communication: Antimicrobial efficacy of intramammary treatment with a novel biphenomycin compound against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, and *Escherichia coli*-induced mouse mastitis. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7082–7087. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7011>
- Di Gregorio, J., Robuffo, I., Spalletta, S., Giambuzzi, G., De Iuliis, V., Toniato, ... Flati, V. (2020). The epithelial-to-mesenchymal transition as a possible therapeutic target in fibrotic disorders. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 607483. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.607483>
- Dickerhof, N., Pearson, J. F., Hoskin, T. S., Berry, L. J., Turner, R., Sly, P. D., & Kettle, A. J. (2017). Oxidative stress in early cystic fibrosis lung disease is exacerbated by airway glutathione deficiency. *Free Radical Biology & Medicine*, 113, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.09.028>
- Distler, J., Györfi, A. H., Ramanujam, M., Whitfield, M. L., Königshoff, M., & Lafyatis, R. (2019). Shared and distinct mechanisms of fibrosis. *Nature Reviews. Rheumatology*, 15(12), 705–730. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0322-7>
- Domingo, C., Palomares, O., Sandham, D. A., Erpenbeck, V. J., & Altman, P. (2018). The prostaglandin D₂ receptor 2 pathway in asthma: A key player in airway inflammation. *Respiratory Research*, 19(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0893-x>

- Dong, H., Wang, Y., Zhang, X., Zhang, X., Qian, Y., Ding, H., & Zhang, S. (2019). Stabilization of brain mast cells alleviates LPS-induced neuroinflammation by inhibiting microglia activation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 191. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00191>
- Dong, X., Chen, J., Zhang, Y., & Cen, Y. (2012). Mast cell chymase promotes cell proliferation and expression of certain cytokines in a dose-dependent manner. *Molecular Medicine Reports*, 5(6), 1487–1490. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.851>
- Dong, X., Zhang, C., Ma, S., & Wen, H. (2014). Mast cell chymase in keloid induces profibrotic response via transforming growth factor- β 1/smad activation in keloid fibroblasts. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(7), 3596–3607.
- Dufour, S., Labrie, J., & Jacques, M. (2019). The mastitis pathogens culture collection. *Microbiology Resource Announcements*, 8(15), e00133-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00133-19>
- Duval, F., Moreno-Cuevas, J. E., González-Garza, M. T., Maldonado-Bernal, C., & Cruz-Vega, D. E. (2015). Liver fibrosis and mechanisms of the protective action of medicinal plants targeting inflammation and the immune response. *International Journal of Inflammation*, 2015, 943497. <https://doi.org/10.1155/2015/943497>
- Early, R., Tamime, A. Y. (2017). Microbial toxins - An overview. A. Tamime (Ed.), *Microbial Toxins in Dairy Products* (pp. 1-18). <https://doi.org/10.1002/9781118823095.ch1>
- Elieh Ali Komi, D., Wöhr, S., & Bielory, L. (2020). Mast cell biology at molecular level: A comprehensive review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 58(3), 342–365. <https://doi.org/10.1007/s12016-019-08769-2>
- El-Sayed, A., & Kamel, M. (2021). Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production*, 53(2), 236. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02680-9>
- Fang, R., Cui, J., Cui, T., Guo, H., Ono, H. K., Park, C. H., ... Hu, D. L. (2019). Staphylococcal enterotoxin C is an important virulence factor for mastitis. *Toxins*, 11(3), 141. <https://doi.org/10.3390/toxins11030141>
- Finn, D. F., & Walsh, J. J. (2013). Twenty-first century mast cell stabilizers. *British Journal of Pharmacology*, 170(1), 23–37. <https://doi.org/10.1111/bph.12138>
- Frantz, C., Stewart, K. M., & Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *Journal of Cell Science*, 123(24), 4195–4200. <https://doi.org/10.1242/jcs.023820>
- Gan, P. Y., O'Sullivan, K. M., Ooi, J. D., Alikhan, M. A., Odobasic, D., Summers, ... Holdsworth, S. R. (2016). Mast cell stabilization ameliorates autoimmune anti-myeloperoxidase glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology* 27(5), 1321–1333.

- Gan, X., Liu, D., Ge, M., Luo, C., Gao, W., & Hei, Z. (2013). Treatment of mice with cromolyn sodium after reperfusion, but not prior to ischemia, attenuates small intestinal ischemia-reperfusion injury. *Molecular Medicine Reports*, 8(3), 928–934. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1591>
- Garcia, S. N., Osburn B. I., & Cullor, J. S. (2019). A one health perspective on dairy production and dairy food safety. *One Health*, 7, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100086>.
- Gemkow, M. J., Davenport, A. J., Harich, S., Ellenbroek, B. A., Cesura, A., & Hallett, D. (2009). The histamine H3 receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. *Drug Discovery Today*, 14(9-10), 509–515. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.02.01>
- Gieseck, R., Wilson, M. & Wynn, T. (2018) Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. *Nature Reviews Immunology*, 18, 62–76. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.90>
- Gogoi-Tiwari, J., Williams, V., Waryah, C. B., Costantino, P., Al-Salami, H., Mathavan, S., ... Mukkur, T. (2017). Mammary gland pathology subsequent to acute infection with strong versus weak biofilm forming *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates: A pilot study using non-invasive mouse mastitis model. *PLOS One*, 12(1), e0170668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170668>
- Gomes, F., & Henriques, M. (2016). Control of bovine mastitis: Old and recent therapeutic approaches. *Current Microbiology*, 72(4), 377–382. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0958-8>
- Gong, R., Hu, C., Xu, H., Guo, A., Chen, H., Zhang, G., & Shi, L. (2010). Evaluation of clumping factor A binding region A in a subunit vaccine against *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(11), 1746–1752. <https://doi.org/10.1128/CVI.00162-10>
- Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. A., & Medrado, A. R. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614–620. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>
- Guimbal, S., Cornuault, L., Rouault, P., Hollier, P. L., Chapouly, C., Bats, M. L., ... Renault, M. A. (2021). Mast cells are the trigger of small vessel disease and diastolic dysfunction in diabetic obese mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 41(4), e193–e207. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.315900>
- Guo, J., Gu, N., Chen, J., Shi, T., Zhou, Y., Rong, Y., ... Chen, W. (2013). Neutralization of interleukin-1 beta attenuates silica-induced lung inflammation and fibrosis in C57BL/6 mice. *Archives of Toxicology*, 87(11), 1963–1973. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1063-z>
- Guo, J., Yao, H., Lin, X., Xu, H., Dean, D., Zhu, Z., ... Sime, P. (2015). IL-13 induces YY1 through the AKT pathway in lung fibroblasts. *PLOS One*, 10(3), e0119039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119039>

Guo, Y. F., Xu, N. N., Sun, W., Zhao, Y., Li, C. Y., & Guo, M. Y. (2017). Luteolin reduces inflammation in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis by inhibiting NF- κ B activation and MMPs expression. *Oncotarget*, 8(17), 28481–28493. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16092>

Gülcü, H. B., Ertaş, H. B. (2004). Elazığ yöresinde mezhabada kesilen ineklerde mastitisli meme loblarının bakteriyolojik incelemesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(2004), 91-94.

Hamadani, H., Khan, A. A., Banday, M. T., Ashraf, I., Handoo, N., Bashir, A., & Hamadani, A. (2013). Bovine mastitis - A disease of serious concern for dairy farmers. *International Journal of Livestock Research*, 3(1), 42-55. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20130213091143>

Han, D., Wei, T., Zhang, S., Wang, M., Tian, H., Cheng, J., ... Chen, M. (2015). The therapeutic effects of sodium cromoglycate against influenza A virus H5N1 in mice. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 10(1), 57–66. <https://doi.org/10.1111/irv.12334>

Hanifeh, M., Sankari, S., Rajamäki, M. M., Syrjä, P., Kilpinen, S., Suchodolski, J. S., ... Spillmann, T. (2018). S100A12 concentrations and myeloperoxidase activities are increased in the intestinal mucosa of dogs with chronic enteropathies. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1441-0>

Harchegani, A. L., Hemmati, A. A., Nili-Ahmadabadi, A., Darabi, B., & Shabib, S. (2017). Cromolyn sodium attenuates paraquat-induced lung injury by modulation of proinflammatory cytokines. *Drug Research*, 67(5), 283–288. <https://doi.org/10.1055/s-0042-123711>

Hargrove, L., Graf-Eaton, A., Kennedy, L., Demieville, J., Owens, J., Hodges, K., ... Francis, H. (2016). Isolation and characterization of hepatic mast cells from cholestatic rats. *Laboratory Investigation*, 96(11), 1198–1210. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.89>

Henderson, N. C., Rieder, F., & Wynn, T. A. (2020). Fibrosis: From mechanisms to medicines. *Nature*, 587(7835), 555–566. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2938-9>

Higashi, T., L. Friedman S. L., Hoshida Y. (2017). Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 121, 27-42. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.05.007>.

Huang, B., Lei, Z., Zhang, G. M., Li, D., Song, C., Li, B., ... Feng, Z. H. (2008). SCF-mediated mast cell infiltration and activation exacerbate the inflammation and immunosuppression in tumor microenvironment. *Blood*, 112(4), 1269–1279. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-147033>

Hussain, R., Javed, M. T., Khan, A., Mahmood, F., Kausar, R. (2012). Mastitis and associated histo-pathological consequences in the context of udder morphology. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(6), 947-952.

- Ingman, W. V., Glynn, D. J., & Hutchinson, M. R. (2015). Mouse models of mastitis - How physiological are they?. *International Breastfeeding Journal*, 10, 12. <https://doi.org/10.1186/s13006-015-0038-5>
- Jensen, K., Günther, J., Talbot, R., Petzl, W., Zerbe, H., Schuberth, H. J., ... Glass, E. J. (2013). *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics*, 14, 36. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-36>
- Jiang, K., Ma, X., Guo, S., Zhang, T., Zhao, G., Wu, H., ... Deng, G. (2018). Anti-inflammatory effects of rosmarinic acid in lipopolysaccharide-induced mastitis in mice. *Inflammation*, 41(2), 437–448. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0700-8>
- Jiang, L., Fang, P., Septer, S., Apte, U., & Pritchard, M. T. (2018). Inhibition of mast cell degranulation with cromolyn sodium exhibits organ-specific effects in polycystic kidney (PCK) rats. *International Journal of Toxicology*, 37(4), 308–326. <https://doi.org/10.1177/1091581818777754>
- Johnzon, C. F., Rönnberg, E., & Pejler, G. (2016). The role of mast cells in bacterial infection. *The American Journal of Pathology*, 186(1), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.06.024>
- Kabelitz, T., Aubry, E., van Vorst, K., Amon, T., & Fulde, M. (2021). The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis. *Microorganisms*, 9(7), 1497. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071497>
- Kahraman, M. M. (2016). Yara iyileşmesi mikroskop altında. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri – Cerrahi – Özel Konular*, 2(1), 1-6.
- Kan, X., Hu, G., Huang, B., Guo, W., Huang, Y., Chen, Y., ... Liu, J. (2021). Pedunculoside protects against LPS-induced mastitis in mice by inhibiting inflammation and maintaining the integrity of blood-milk barrier. *Aging*, 13(15), 19460–19474. <https://doi.org/10.18632/aging.203357>
- Kanemitsu, H., Takai, S., Tsuneyoshi, H., Yoshikawa, E., Nishina, T., Miyazaki, M., ... Komeda, M. (2008). Chronic chymase inhibition preserves cardiac function after left ventricular repair in rats. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 33(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2007.09.040>
- Kay, L. J., & Peachell, P. T. (2005). Mast cell β 2-adrenoceptors. *Chemical Immunology and Allergy*, 87, 145–153. <https://doi.org/10.1159/000087641>
- Kendall, R. T., & Feghali-Bostwick, C. A. (2014). Fibroblasts in fibrosis: Novel roles and mediators. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 123. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00123>

- Kennedy, L. L., Hargrove, L. A., Graf, A. B., Francis, T. C., Hodges, K. M., Nguyen, Q. P., ... Francis, H. L. (2014). Inhibition of mast cell-derived histamine secretion by cromolyn sodium treatment decreases biliary hyperplasia in cholestatic rodents. *Laboratory Investigation*, 94(12), 1406–1418. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.129>
- Kiernan J. A. (1979). Production and life span of cutaneous mast cells in young rats. *Journal of Anatomy*, 128(Pt. 2), 225–238.
- Kim, H. S., Quon, M. J., & Kim, J. A. (2014). New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox Biology*, 2, 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.022>
- Kis, K., Liu, X., & Hagood, J. S. (2011). Myofibroblast differentiation and survival in fibrotic disease. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13, e27. <https://doi.org/10.1017/S1462399411001967>
- Komeda, K., Jin, D., Takai, S., Hayashi, M., Takeshita, A., Shibayama, Y., ... Miyazaki, M. (2008). Significance of chymase-dependent angiotensin II formation in the progression of human liver fibrosis. *Hepatology Research*, 38(5), 501–510. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2007.00271.x>
- Komeda, K., Takai, S., Jin, D., Tashiro, K., Hayashi, M., Tanigawa, N., & Miyazaki, M. (2010). Chymase inhibition attenuates tetrachloride-induced liver fibrosis in hamsters. *Hepatology Research*, 40(8), 832–840. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2010.00672.x>
- Kondo, S., Kagami, S., Kido, H., Strutz, F., Müller, G. A., & Kuroda, Y. (2001). Role of mast cell tryptase in renal interstitial fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(8), 1668–1676. <https://doi.org/10.1681/ASN.V1281668>
- Kosanovic, D., Luitel, H., Dahal, B. K., Cornitescu, T., Janssen, W., Danser, A. H., ... Schermuly, R. T. (2015). Chymase: A multifunctional player in pulmonary hypertension associated with lung fibrosis. *The European Respiratory Journal*, 46(4), 1084–1094. <https://doi.org/10.1183/09031936.00018215>
- Krystel-Whittemore, M., Dileepan, K. N., & Wood, J. G. (2016). Mast cell: A multi-functional master cell. *Frontiers in Immunology*, 6, 620. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00620>
- Kular, J. K., Basu, S., & Sharma, R. I. (2014). The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*, 5, 2041731414557112. <https://doi.org/10.1177/2041731414557112>
- Kusindarta, D. L., & Wihadmadyatami, H. (2018). The Role of Extracellular Matrix in Tissue Regeneration. H. A. H. E. S. Kaoud (Ed.), *IntechOpen - Tissue Regeneration* (pp. 65-73). <https://doi.org/10.5772/intechopen.75728>

Kyuchukova, R. (2020). Antibiotic residues and human health hazard – Review. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(3), 664-668

Lai, J. L., Liu, Y. H., Peng, Y. C., Ge, P., He, C. F., Liu, C., ... Hu, C. M. (2017). Indirubin treatment of lipopolysaccharide-induced mastitis in a mouse model and activity in mouse mammary epithelial cells. *Mediators of Inflammation*, 2017, 3082805. <https://doi.org/10.1155/2017/3082805>

Lee, C. G., Homer, R. J., Zhu, Z., Lanone, S., Wang, X., Koteliansky, V., ... Elias, J. A. (2001). Interleukin-13 induces tissue fibrosis by selectively stimulating and activating transforming growth factor β 1. *The Journal of Experimental Medicine*, 194(6), 809–821. <https://doi.org/10.1084/jem.194.6.809>

Lennon, E. M., Borst, L. B., Edwards, L. L., & Moeser, A. J. (2018). Mast cells exert anti-inflammatory effects in an IL10^{-/-} model of spontaneous colitis. *Mediators of Inflammation*, 2018, 7817360. <https://doi.org/10.1155/2018/7817360>

Liao, C. H., Akazawa, H., Tamagawa, M., Ito, K., Yasuda, N., Kudo, Y., ... Komuro, I. (2010). Cardiac mast cells cause atrial fibrillation through PDGF-A-mediated fibrosis in pressure-overloaded mouse hearts. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(1), 242–253. <https://doi.org/10.1172/JCI39942>

Liu, B., Yang, M. Q., Yu, T. Y., Yin, Y. Y., Liu, Y., Wang, X. D., ... Li, J. Y. (2021). Mast cell tryptase promotes inflammatory bowel disease-induced intestinal fibrosis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 27(2), 242–255. <https://doi.org/10.1093/ibd/izaa125>

Liu, F., Yu, C., Qin, H., Zhang, S., Fang, L., Wang, Y., ... Zhuang, S. (2021). Nintedanib attenuates peritoneal fibrosis by inhibiting mesothelial-to-mesenchymal transition, inflammation and angiogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(13), 6103–6114. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16518>

Liu, F., Yu, F., Lu, Y. Z., Cheng, P. P., Liang, L. M., Wang, M., ... Ye, H. (2020). Crosstalk between pleural mesothelial cell and lung fibroblast contributes to pulmonary fibrosis. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1867(11), 118806. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118806>

Liu, P., Yang, C., Lin, S., Zhao, G., Zhang, T., Guo, S., ... Deng, G. (2019). Sodium houttuyfonate inhibits LPS-induced mastitis in mice via the NF- κ B signalling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 19(3), 2279–2286. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9846>

Liu, W., Min, J., Jiang, H., & Mao, B. (2018). Chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells (CRTH2) antagonists in asthma: A systematic review and meta-analysis protocol. *BMJ Open*, 8(4), e020882. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-020882>

- Lohman, R. J., Cotterell, A. J., Barry, G. D., Liu, L., Suen, J. Y., Vesey, D. A., ... Fairlie, D. P. (2012). An antagonist of human protease activated receptor-2 attenuates PAR2 signaling, macrophage activation, mast cell degranulation, and collagen-induced arthritis in rats. *Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB)*, 26(7), 2877–2887. <https://doi.org/10.1096/fj.11-201004>
- Lombardo, J., Broadwater, D., Collins, R., Cebe, K., Brady, R., & Harrison, S. (2019). Hepatic mast cell concentration directly correlates to stage of fibrosis in NASH. *Human Pathology*, 86, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.11.029>
- Lu, C. C., Wang, G. H., Lu, J., Chen, P. P., Zhang, Y., Hu, Z. B., & Ma, K. L. (2019). Role of podocyte injury in glomerulosclerosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1165, 195–232. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8871-2_10
- Lu, H. K., Tseng, C. C., Lee, Y. H., Li, C. L., & Wang, L. F. (2010). Flutamide inhibits nifedipine- and interleukin-1 beta-induced collagen overproduction in gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 45(4), 451–457. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01255.x>
- Ma, J., Sanchez-Duffhues, G., Goumans, M. J., & Ten Dijke, P. (2020). TGF- β -induced endothelial to mesenchymal transition in disease and tissue engineering. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 260. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00260>
- Maouia, A., Rebetz, J., Kapur, R., & Semple, J. W. (2020). The immune nature of platelets revisited. *Transfusion Medicine Reviews*, 34(4), 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2020.09.005>
- Mascharak, S., desJardins-Park, H. E., & Longaker, M. T. (2020). Fibroblast heterogeneity in wound healing: Hurdles to clinical translation. *Trends in Molecular Medicine*, 26(12), 1101–1106. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.07.008>
- Matsumoto, T., Wada, A., Tsutamoto, T., Ohnishi, M., Isono, T., & Kinoshita, M. (2003). Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure. *Circulation*, 107(20), 2555–2558. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000074041.81728.79>
- McLarty, J. L., Meléndez, G. C., Brower, G. L., Janicki, J. S., & Levick, S. P. (2011). Trypsin/protease-activated receptor 2 interactions induce selective mitogen-activated protein kinase signaling and collagen synthesis by cardiac fibroblasts. *Hypertension*, 58(2), 264–270. <https://doi.org/10.1161/Hypertensionaha.111.169417>
- Meng, X. M., Nikolic-Paterson, D. J., & Lan, H. Y. (2016). TGF- β : The master regulator of fibrosis. *Nature Reviews Nephrology*, 12(6), 325–338. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.48>

- Mia, M. M., Boersema, M., & Bank, R. A. (2014). Interleukin-1 β attenuates myofibroblast formation and extracellular matrix production in dermal and lung fibroblasts exposed to transforming growth factor- β 1. *PLOS One*, 9(3), e91559. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091559>
- Min, Y. D., Choi, C. H., Bark, H., Son, H. Y., Park, H. H., Lee, S., ... Kim, S. H. (2007). Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF-kappa B and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflammation Research*, 56(5), 210–215. <https://doi.org/10.1007/s00011-007-6172-9>
- Moon, T. C., Befus, A. D., & Kulka, M. (2014). Mast cell mediators: Their differential release and the secretory pathways involved. *Frontiers in Immunology*, 5, 569. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00569>
- Moon, T. C., St Laurent, C. D., Morris, K. E., Marcet, C., Yoshimura, T., Sekar, Y., & Befus, A. D. (2010). Advances in mast cell biology: New understanding of heterogeneity and function. *Mucosal Immunology*, 3(2), 111–128. <https://doi.org/10.1038/mi.2009.136>
- Möllerherm, H., von Köckritz-Blickwede, M., & Branitzki-Heinemann, K. (2016). Antimicrobial activity of mast cells: Role and relevance of extracellular DNA traps. *Frontiers in Immunology*, 7, 265. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00265>
- Murray, L. A., Argentieri, R. L., Farrell, F. X., Bracht, M., Sheng, H., Whitaker, B., ... Das, A. M. (2008). Hyper-responsiveness of IPF/UIP fibroblasts: Interplay between TGF- β 1, IL-13 and CCL2. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(10), 2174–2182. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.02.016>
- Nakae, S., Suto, H., Iikura, M., Kakurai, M., Sedgwick, J. D., Tsai, M., & Galli, S. J. (2006). Mast cells enhance T cell activation: Importance of mast cell costimulatory molecules and secreted TNF. *Journal of Immunology*, 176(4), 2238–2248. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.4.2238>
- Narita, M., Hanada, K., Kawamura, Y., Ichikawa, H., Sakai, S., Yokono, ... Tomita, H. (2021). Rivaroxaban attenuates cardiac hypertrophy by inhibiting protease-activated receptor-2 signaling in renin-overexpressing hypertensive mice. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 44(10), 1261–1273. <https://doi.org/10.1038/s41440-021-00700-7>
- Netzer, N. C., Küpper, T., Voss, H. W., & Eliasson, A. H. (2012). The actual role of sodium cromoglycate in the treatment of asthma- A critical review. *Sleep & Breathing*, 16(4), 1027–1032. <https://doi.org/10.1007/s11325-011-0639-1>
- Ng, G., & Ohlsson, A. (2017). Cromolyn sodium for the prevention of chronic lung disease in preterm infants. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(1), CD003059. <https://doi.org/10.1002/14651858>

- Nickerson, S. C., Heald, C. W. (1982). Cells in local reaction to experimental *Staphylococcus aureus* infection in bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 65 (1), 105-116.
- Nielsen, E. H. (1975). The fine structure of mast cells in the normal bovine mammary gland. *Anatomia Histologia Embryologia*, 4 (4), 360-367.
- Noguchi, S., Saito, A., & Nagase, T. (2018). YAP/TAZ signaling as a molecular link between fibrosis and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3674. <https://doi.org/10.3390/ijms19113674>
- Notebaert, S., & Meyer, E. (2006). Mouse models to study the pathogenesis and control of bovine mastitis. A review. *The Veterinary Quarterly*, 28(1), 2–13. <https://doi.org/10.1080/01652176.2006.9695201>
- Oppong, E., Flink, N., & Cato, A. C. (2013). Molecular mechanisms of glucocorticoid action in mast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 380(1-2), 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.05.014>
- Overed-Sayer, C., Miranda, E., Dunmore, R., Liarte Marin, E., Beloki, L., Rassel, D., ... Clarke, D. (2020). Inhibition of mast cells: A novel mechanism by which nintedanib may elicit anti-fibrotic effects. *Thorax*, 75(9), 754–763. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2019-214000>
- Overed-Sayer, C., Rapley, L., Mustelin, T., & Clarke, D. L. (2014). Are mast cells instrumental for fibrotic diseases?. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 174. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00174>
- Paivandy, A., & Pejler, G. (2021). Novel strategies to target mast cells in disease. *Journal of Innate Immunity*, 13(3), 131–147. <https://doi.org/10.1159/000513582>
- Pal, M., Regasa, A., & Gizaw, F. (2019). Etiology, pathogenesis, risk factors, diagnosis and management of bovine mastitis: A comprehensive review. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 6, 40-55.
- Parimon, T., Yao, C., Stripp, B. R., Noble, P. W., & Chen, P. (2020). Alveolar epithelial type II cells as drivers of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2269. <https://doi.org/10.3390/ijms21072269>
- Park, H. H., Lee, S., Son, H. Y., Park, S. B., Kim, M. S., Choi, E. J., ... Kim, S. H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31(10), 1303–1311. <https://doi.org/10.1007/s12272-001-2110-5>
- Park, S. W., Ahn, M. H., Jang, H. K., Jang, A. S., Kim, D. J., Koh, E. S., ... Park, C. S. (2009). Interleukin-13 and its receptors in idiopathic interstitial pneumonia: Clinical implications for lung function. *Journal of Korean Medical Science*, 24(4), 614–620. <https://doi.org/10.3346/jkms.2009.24.4.614>

- Parker, M. W., Rossi, D., Peterson, M., Smith, K., Sikström, K., White, E. S., ... Bitterman, P. B. (2014). Fibrotic extracellular matrix activates a profibrotic positive feedback loop. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(4), 1622–1635. <https://doi.org/10.1172/JCI71386>
- Pattabiraman, G., Bell-Cohn, A. J., Murphy, S. F., Mazur, D. J., Schaeffer, A. J., & Thumbikat, P. (2021). Mast cell function in prostate inflammation, fibrosis, and smooth muscle cell dysfunction. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 321(4), F466–F479. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00116.2021>
- Payne, V., & Kam, P. C. (2004). Mast cell tryptase: A review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia*, 59(7), 695–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2004.03757.x>
- Pelaia, C., Calabrese, C., Terracciano, R., de Blasio, F., Vatrella, A., & Pelaia, G. (2018). Omalizumab, the first available antibody for biological treatment of severe asthma: More than a decade of real-life effectiveness. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 12, 1753466618810192. <https://doi.org/10.1177/1753466618810192>
- Petersson-Wolfe, C. S., Leslie, K. E., & Swartz, T. H. (2018). An update on the effect of clinical mastitis on the welfare of dairy cows and potential therapies. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 34(3), 525–535. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.006>
- Piersma, B., Bank, R. A., & Boersema, M. (2015). Signaling in fibrosis: TGF- β , WNT, and YAP/TAZ converge. *Frontiers in Medicine*, 2, 59. <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00059>
- Pufall, M. A. (2015). Glucocorticoids and cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 872, 315–333. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2895-8_14
- Queiroz-Junior, C. M., Pacheco, C. M., Fonseca, A. H., Klein, A., Caliari, M. V., & de Francischi, J. N. (2009). Myeloperoxidase content is a marker of systemic inflammation in a chronic condition: The example given by the periodontal disease in rats. *Mediators of Inflammation*, 2009, 760837. <https://doi.org/10.1155/2009/760837>
- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35–43. <https://doi.org/10.1159/000339613>
- Rollin, E., Dhuyvetter, K. C., & Overton, M. W. (2015). The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. *Preventive Veterinary Medicine*, 122(3), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.006>
- Saito, A., Okazaki, H., Sugawara, I., Yamamoto, K., & Takizawa, H. (2003). Potential action of IL-4 and IL-13 as fibrogenic factors on lung fibroblasts in vitro. *International Archives of Allergy and Immunology*, 132(2), 168–176. <https://doi.org/10.1159/000073718>

Sarıözkan, S. (2019). Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde mastitis nedeniyle oluşan finansal kayıpların tahmin edilmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(2), 147-151. <https://doi.org/10.31196/huvfd.667550>

Sawamukai, N., Yukawa, S., Saito, K., Nakayamada, S., Kambayashi, T., & Tanaka, Y. (2010). Mast cell-derived tryptase inhibits apoptosis of human rheumatoid synovial fibroblasts via rho-mediated signaling. *Arthritis and Rheumatism*, 62(4), 952–959. <https://doi.org/10.1002/art.27331>

Seeley, E. J., Sutherland, R. E., Kim, S. S., & Wolters, P. J. (2011). Systemic mast cell degranulation increases mortality during polymicrobial septic peritonitis in mice. *Journal of Leukocyte Biology*, 90(3), 591–597. <https://doi.org/10.1189/jlb.0910531>

Shaik, Y., Caraffa, A., Ronconi, G., Lessiani, G., & Conti, P. (2018). Impact of polyphenols on mast cells with special emphasis on the effect of quercetin and luteolin. *Central-European Journal of Immunology*, 43(4), 476–481. <https://doi.org/10.5114/ceji.2018.81347>

Sharma, R., Prasad, V., McCarthy, E. T., Savin, V. J., Dileepan, K. N., Stechschulte, ... Sharma, M. (2007). Chymase increases glomerular albumin permeability via protease-activated receptor-2. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 297(1-2), 161–169. <https://doi.org/10.1007/s11010-006-9342-0>

Shaw, T. J., & Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(18), 3209–3213. <https://doi.org/10.1242/jcs.031187>

Shieh, J. M., Tseng, H. Y., Jung, F., Yang, S. H., & Lin, J. C. (2019). Elevation of IL-6 and IL-33 levels in serum associated with lung fibrosis and skeletal muscle wasting in a bleomycin-induced lung injury mouse model. *Mediators of Inflammation*, 2019, 7947596. <https://doi.org/10.1155/2019/7947596>

Shimbori, C., Upagupta, C., Bellaye, P. S., Ayaub, E. A., Sato, S., Yanagihara, T., ... Kolb, M. (2019). Mechanical stress-induced mast cell degranulation activates TGF- β 1 signalling pathway in pulmonary fibrosis. *Thorax*, 74(5), 455–465. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211516>

Siebenhaar, F., Redegeld, F. A., Bischoff, S. C., Gibbs, B. F., & Maurer, M. (2018). Mast cells as drivers of disease and therapeutic targets. *Trends in Immunology*, 39(2), 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.10.005>

Singh, D., Ravi, A., & Southworth, T. (2017). CRTH2 antagonists in asthma: Current perspectives. *Clinical Pharmacology*, 9, 165–173. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S119295>

Sinniah, A., Yazid, S., & Flower, R. J. (2017). The anti-allergic cromones: Past, present, and future. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 827. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00827>

- Sørensen, L.P., Mark, T., Sørensen, M. K., & Østergaard, S. (2010). Economic values and expected effect of selection index for pathogen-specific mastitis under danish conditions. *Journal of Dairy Science*, 93(1), 358-369. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2506>
- Summers, S. A., Gan, P. Y., Dewage, L., Ma, F. T., Ooi, J. D., O'Sullivan, ... Holdsworth, S. R. (2012). Mast cell activation and degranulation promotes renal fibrosis in experimental unilateral ureteric obstruction. *Kidney International*, 82(6), 676–685. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.211>
- Sun, J., Sukhova, G. K., Wolters, P. J., Yang, M., Kitamoto, S., Libby, P., ... Shi, G. P. (2007). Mast cells promote atherosclerosis by releasing proinflammatory cytokines. *Nature Medicine*, 13(6), 719–724. <https://doi.org/10.1038/nm1601>
- Takashima, M., Lalonde, C., Olszanski, L. A., & Zhao, F. Q. (2021). Localized and systemic inflammatory mediators in a murine acute mastitis model. *Journal of Inflammation Research*, 14, 4053–4067. <https://doi.org/10.2147/JIR.S313799>
- Tang, L. Y., Heller, M., Meng, Z., Yu, L. R., Tang, Y., Zhou, M., ... Zhang, Y. E. (2017). Transforming growth factor- β (TGF- β) directly activates the JAK1-STAT3 axis to induce hepatic fibrosis in coordination with the SMAD pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(10), 4302–4312. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.773085>
- Tatler, A. L., Porte, J., Knox, A., Jenkins, G., & Pang, L. (2008). Tryptase activates TGF- β in human airway smooth muscle cells via direct proteolysis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 370(2), 239–242. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.064>
- Thangam, E. B., Jemima, E. A., Singh, H., Baig, M. S., Khan, M., Mathias, C. B., ... Saluja, R. (2018). The role of histamine and histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: The hunt for new therapeutic targets. *Frontiers in Immunology*, 9, 1873. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01873>
- Theocharis, A. D., Manou, D., & Karamanos, N. K. (2019). The extracellular matrix as a multitasking player in disease. *The FEBS Journal*, 386(15), 2830-2869. <https://doi.org/10.1111/febs.14818>
- Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C., & Karamanos, N. K. (2016). Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 97, 4–27. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.001>
- Thurmond R. L. (2015). The histamine H4 receptor: From orphan to the clinic. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 65. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00065>
- Tomimori, Y., Muto, T., Saito, K., Tanaka, T., Maruoka, H., Sumida, M., ... Fukuda, Y. (2003). Involvement of mast cell chymase in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *European Journal of Pharmacology*, 478(2-3), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.08.050>

- Tripathi, T., Abdi, M., & Alizadeh, H. (2014). Protease-activated receptor 2 (PAR2) is upregulated by Acanthamoeba plasminogen activator (aPA) and induces proinflammatory cytokine in human corneal epithelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55(6), 3912–3921. <https://doi.org/10.1167/iov.14-14486>
- Tuchscherr, L. P., Buzzola, F. R., Alvarez, L. P., Caccuri, R. L., Lee, J. C., & Sordelli, D. O. (2005). Capsule-negative *Staphylococcus aureus* induces chronic experimental mastitis in mice. *Infection and Immunity*, 73(12), 7932–7937. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.12.7932-7937.2005>
- Tütüncü, Ş., Torun, A. Ç., Ertuğrul, T. (2020). The role of resveratrol on mast cell and chymase and tryptase expression in blunt-chest trauma-induced acute lung injury in rats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 44, 1260-1268. <https://doi.org/10.3906/vet-2005-23>
- Urb, M., & Sheppard, D. C. (2012). The role of mast cells in the defence against pathogens. *PLOS Pathogens*, 8(4), e1002619. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002619>
- Valent, P., Akin, C., Hartmann, K., Nilsson, G., Reiter, A., Hermine, O., ... Galli, S. J. (2020). Mast cells as a unique hematopoietic lineage and cell system: From Paul Ehrlich's visions to precision medicine concepts. *Theranostics*, 10(23), 10743–10768. <https://doi.org/10.7150/thno.46719>
- Varricchi, G., de Paulis, A., Marone, G., & Galli, S. J. (2019). Future needs in mast cell biology. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4397. <https://doi.org/10.3390/ijms20184397>
- Varricchi, G., Pecoraro, A., Loffredo, S., Poto, R., Rivellese, F., Genovese, ... Spadaro, G. (2019). Heterogeneity of human mast cells with respect to MRGPRX2 receptor expression and function. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 299. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00299>
- Veerappan, A., O'Connor, N. J., Brazin, J., Reid, A. C., Jung, A., McGee, D., ... Silver, R. B. (2013). Mast cells: A pivotal role in pulmonary fibrosis. *DNA and Cell Biology*, 32(4), 206–218. <https://doi.org/10.1089/dna.2013.2005>
- Veerappan, A., Reid, A. C., O'Connor, N., Mora, R., Brazin, J. A., Estephan, R., ... Silver, R.B. (2012). Mast cells are required for the development of renal fibrosis in the rodent unilateral ureteral obstruction model. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 302(1), F192–F204. doi:10.1152/ajprenal.00562.2010
- Vessal, G., Sagheb, M. M., Shilian, S., Jafari P., & Samani, S. M. (2010) Effect of oral cromolyn sodium on CKD-associated pruritus and serum tryptase level: A double-blind placebo-controlled study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(5), 1541–1547. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp628>

- von Köckritz-Blickwede, M., Goldmann, O., Thulin, P., Heinemann, K., Norrby-Teglund, A., Rohde, M., & Medina, E. (2008). Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood*, 111(6), 3070–3080. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-104018>
- Wang, Q., Sui, X., Chen, R., Ma, P. Y., Teng, Y. L., Ding, ... Yang, P. (2018). Ghrelin ameliorates angiotensin II-induced myocardial fibrosis by upregulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma in young male rats. *BioMed Research International*, 2018, 9897581. <https://doi.org/10.1155/2018/9897581>
- Wang, X., Feng, S., Ding, N., He, Y., Li, C., Li, M., ... Li, Y. (2018). Anti-inflammatory effects of berberine hydrochloride in an LPS-induced murine model of mastitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 5164314. <https://doi.org/10.1155/2018/5164314>
- Wang, Y. J., Monteagudo, A., Downey, M. A., Ashton-Rickardt, P. G., & Elmaleh, D. R. (2021). Cromolyn inhibits the secretion of inflammatory cytokines by human microglia (HMC3). *Scientific Reports*, 11(1), 8054. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85702-8>
- Wang, Y., He, Y., Wang, M., Lv, P., Liu, J., & Wang, J. (2017). Role of protease-activated receptor 2 in regulating focal segmental glomerulosclerosis. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 41(3), 1147–1155. <https://doi.org/10.1159/000464121>
- Wang, Y., Sha, H., Zhou, L., Chen, Y., Zhou, Q., Dong, H., & Qian, Y. (2020). The mast cell is an early activator of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and blood-brain barrier dysfunction in the hippocampus. *Mediators of Inflammation*, 2020, 1–15. doi:10.1155/2020/8098439
- Weiskirchen, R., Weiskirchen, S., & Tacke, F. (2018). Organ and tissue fibrosis: Molecular signals, cellular mechanisms and translational implications. *Molecular Aspects of Medicine*, 65, 2–15. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.06.003>
- Weng, D., Chen, X. Q., Qiu, H., Zhang, Y., Li, Q. H., Zhao, M. M., ... Li, H. P. (2019). The role of infection in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Mediators of Inflammation*, 2019, 5160694. <https://doi.org/10.1155/2019/5160694>
- Weng, Z., Zhang, B., Asadi, S., Sismanopoulos, N., Butcher, A., Fu, X., ... Theoharides, T. C. (2012). Quercetin is more effective than cromolyn in blocking human mast cell cytokine release and inhibits contact dermatitis and photosensitivity in humans. *PLOS One*, 7(3), e33805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033805>

- Wernersson, S., & Pejler, G. (2014). Mast cell secretory granules: Armed for battle. *Nature reviews - Immunology*, 14(7), 478–494. <https://doi.org/10.1038/nri3690>
- Wick, G., Backovic, A., Rabensteiner, E., Plank, N., Schwentner, C., & Sgonc, R. (2010). The immunology of fibrosis: Innate and adaptive responses. *Trends in Immunology*, 31(3), 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.12.001>
- Wygrecka, M., Dahal, B. K., Kosanovic, D., Petersen, F., Taborski, B., von Gerlach, S., ... Markart, P. (2013). Mast cells and fibroblasts work in concert to aggravate pulmonary fibrosis: Role of transmembrane SCF and the PAR-2/PKC- α /Raf-1/p44/42 signaling pathway. *The American Journal of Pathology*, 182(6), 2094–2108. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.02.013>
- Wynn T. A. (2004). Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nature Reviews - Immunology*, 4(8), 583–594. <https://doi.org/10.1038/nri1412>
- Wynn, T., Ramalingam, T. (2012). Mechanisms of fibrosis: Therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature Medicine*, 8, 1028–1040. <https://doi.org/10.1038/nm.2807>
- Xiao, H., Ji, A. M., Li, Z. L., Song, X. D., Su, D., & Chen, A. H. (2008). Interleukin-1 β inhibits collagen synthesis and promotes its decomposition in cultured cardiac fibroblasts. *Acta Physiologica Sinica*, 60(3), 355–361.
- Xie, Y., Zhang, H., Liu, S., Chen, G., He, S., Li, Z., ... Wang, L. (2018). Mast cell activation protects cornea by promoting neutrophil infiltration via stimulating ICAM-1 and vascular dilation in fungal keratitis. *Scientific Reports*, 8, 8365. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26798-3>
- Xu, Y., & Chen, G. (2015). Mast cell and autoimmune diseases. *Mediators of Inflammation*, 2015, 246126. <https://doi.org/10.1155/2015/246126>
- Yamada, K. M., Collins, J. W., Cruz Walma, D. A., Doyle, A. D., Morales, S. G., Lu, J., ... Wang, S. (2019). Extracellular matrix dynamics in cell migration, invasion and tissue morphogenesis. *International Journal of Experimental Pathology*, 100(3), 144–152. <https://doi.org/10.1111/iep.12329>
- Yang, F., Guo, L., Li, Y., Wang, G., Wang, J., Zhang, C., ... Sun, J. P. (2021). Structure, function and pharmacology of human itch receptor complexes. *Nature*, 600(7887), 164–169. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04077-y>
- Yazid, S., Leoni, G., Getting, S. J., Cooper, D., Solito, E., Perretti, M., & Flower, R. J. (2010). Antiallergic cromones inhibit neutrophil recruitment onto vascular endothelium via annexin-A1 mobilization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology*, 30(9), 1718–1724. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.209536>
- Yılmaz, Ö. T., Hızlısoy, H., & Onmazı, N. E. (2018). Sütte antibiyotik kalıntı durumunun incelenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(2), 169–178.

- Yu, M., Song, X. T., Liu, B., Luan, T. T., Liao, S. L., & Zhao, Z. T. (2021). The emerging role of mast cells in response to fungal infection. *Frontiers in Immunology*, 12, 688659. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.688659>
- Yu, S., Liu, X., Yu, D., & Yang, J. (2020). Piperine protects LPS-induced mastitis by inhibiting inflammatory response. *International Immunopharmacology*, 87, 106804. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106804>
- Yu, Y., Blokhuis, B. R., Garssen, J., & Redegeld, F. A. (2016). Non-IgE mediated mast cell activation. *European Journal of Pharmacology*, 778, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.07.017>
- Zeisberg, M., & Kalluri, R. (2013). Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 304(3), C216–C225. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00328.2012>
- Zhang, A., Chi, X., Luo, G., Hei, Z., Xia, H., Luo, C., ... Xia, Z. (2013). Mast cell stabilization alleviates acute lung injury after orthotopic autologous liver transplantation in rats by downregulating inflammation. *PLOS One*, 8(10), e75262. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075262>
- Zhang, M., & Zhang, S. (2020). T cells in fibrosis and fibrotic diseases. *Frontiers in Immunology*, 11, 1142. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01142>
- Zhang, Y., Dai, Y., Raman, A., Daniel, E., Metcalf, J., Reif, G., ... Wallace, D. P. (2020). Overexpression of TGF- β 1 induces renal fibrosis and accelerates the decline in kidney function in polycystic kidney disease. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 319(6), F1135–F1148. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00366.2020>
- Zhao, X. Y., Zhao, L. Y., Zheng, Q. S., Su, J. L., Guan, H., Shang, F. J., ... Lu, X. L. (2008). Chymase induces profibrotic response via transforming growth factor-beta 1/smad activation in rat cardiac fibroblasts. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 310(1-2), 159–166. <https://doi.org/10.1007/s11010-007-9676-2>
- Zollinger, A. J., & Smith, M. L. (2017). Fibronectin, the extracellular glue. *Matrix Biology*, 60-61, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.07.011>
- Zou, M. L., Teng, Y. Y., Wu, J. J., Liu, S. Y., Tang, X. Y., Jia, Y., ... Yuan, F. L. (2021). Fibroblasts: Heterogeneous cells with potential in regenerative therapy for scarless wound healing. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 713605. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.713605>

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

\$: Dolar
%: Yüzde
€: Euro
₺: Türk lirası
°C: Derece Santigrat
µg: Mikrogram
µl: Mikrolitre
µm: Mikrometre
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ADAM: A Disintegrin and Metalloproteinases
ADAMT: Trombospodin Motifleri Taşıyan ADAM'lar (Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs)
ALRs: AIM2-Benzeri Reseptörleri (Absent In Melanoma-2-Like Receptors)
ANGPT-1: Anjiyopoitetin-1 (Angiopoietin-1)
APCs: Antijeni Sunan Hücreler (Antigen Presenting Cells)
bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü (Basic Fibroblast Growth Factor)
CCL: Kemokin (C-C Motif) ligandı [Chemokine (C-C Motif) ligand]
CFU: Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Unit)
CMT: Kaliforniya Mastitis Testi (California Mastitis Test)
Colla1: kollajen 1a1 (collagen 1a1)
COPD: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
COX: Sikooksijenaz (Cyclooxygenase-1)
CRT_{H2}: Th₂ Hücreleri Tarafından Ekprese Edilen Kemoatraktan Reseptör-Homolog Molekülü (Chemoattractant Receptor-Homologous Molecule Expressed on T_{H2})
CXCL: Kemokin (C-X-C Motif) ligandı [Chemokine (C-X-C motif) ligand]
CysLT1: Sisteinil-Lökotrien Tip 1 Reseptör Antagonistleri (Cysteinyl-Leukotriene Type 1 Receptor Antagonists)
DAMPs: Hasar İlişkili Moleküler Motifleri (Damage Associated Molecular Patterns)
DEX: Deksametazon (Dexamethasone)
DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DPBS: Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)
DSS: Disodyum sülfat (Disodium sulphate)
ECM: Ekstraselüler Matriks (Extracellular Matrix)
EMT: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (Epithelial to Mesenchymal Transition)
EndoMT: Endotelyal-Mezenkimal Geçiş (Endothelial to Mesenchymal Transition)
FBS: Fötal Sığır Serum (Fetal Bovine Serum)
FcεRI: Yüksek Affiniteli IgE Reseptörü (The High-Affinity IgE Receptor)
FDA: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration)
FGF-2: Fibroblast Büyüme Faktörü-2 (Fibroblast Growth Factor-2)
GAG: Glikozaminoglikan (Glycosaminoglycan)
HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High density lipoprotein, HDL)
HIF-1α: Hipoksi İle İndüklenen Faktör-1α (Hypoxia Inducible Factor-1α)
IBD: Yangısal Bağırsak Hastalığı (Inflammatory Bowel Disease)
IFN-β: İnterferon-β (Interferon-β)

IgE: İmmünglobulin E (Immunglobulin E)
IL: İnterlökin (Interleukin)
IM: Meme içi (Intramammary)
IP: İnteraperitoneal (Intraperitoneal)
LT: Lökotrien (Leukotriene)
LPS: Lipopolisakkarit (Lipopolysaccharide)
MC_C: Kimaz (+) Mast Hücreleri
MRGPRX2: MAS-ilişkili G proteinine bağlı reseptör-X2 (MAS-related G protein-coupled receptor-X2)
MC_T: Triptaz (+) Mast Hücreleri
MC_{TC}: Triptaz-Kimaz (+) Mast Hücreleri
MHC: Majör Histokompatibilite Kompleksi (Major Histocompatibility Complex)
MMP: Matriks Metalloproteinaz (Matrix Metalloproteinase)
MMT: Mezotelyal-Mezenkimal Geçiş (Mesothelial to Mesenchymal Transition)
MPO: Myeloperoksidaz (Myeloperoxidase)
NGF: Sinir Büyüme Faktörü (Nerve Growth Factor)
NK Hücreleri: Doğal Öldürücü Hücreler (Natural Killer Cells)
NLRs: NOD-Benzeri Reseptörler (NOD-Like Receptors)
nm: Nanometre
PAF: Platelet Aktive Edici Faktör (Platelet-Activating Factor)
PAMPs: Patojen-İlişkili Moleküler Motifler (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
PAR-2: Proteaz ile Aktive Edilen Reseptör-2 (Proteinase-Activated Receptor-2)
PBS: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PDGF: Platelet-Kökenli Büyüme Faktörü (Platelet-Derived Growth Factor)
pg: Pikogram
PGD₂: Prostaglandin D₂ (Prostaglandin D₂)
PLA₂: Fosfolipaz A₂ (Phospholipase A₂)
PRRs: Motif Tanıma Reseptörleri (Pattern Recognition Receptors)
RLRs: RIG-Benzeri Reseptörler (RIG-Like Receptors)
ROS: Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
rpm: Dakikadaki Devir Sayısı (Rounds Per Minute)
SCF: Stem Hücre Faktörü (Stem Cell Factor)
SDF-1: Stromal Hücre-Kökenli Faktör-1 (Stromal Cell-Derived Factor-1)
SFMT: Surf Field Mastitis Testi (Surf Field Mastitis Test)
TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (Transforming Growth Factor- β)
T_H2 hücreleri: Yardımcı T₂ hücreleri (T helper 2 cells, T_H2)
TIMPs: MMP Enzimlerinin Dokudaki İnhibitörleri (Tissue Inhibitors of MMPs)
TLRs: Toll-Benzeri Reseptörler (Toll-Like Receptors)
TRAIL-R: TNF ilişkili Apoptozis-İndükleyici Ligand (TNF-related Apoptosis-Inducing Ligand)
U: Ünite
VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor)
W: Watt
WNT: Wingless/Int Sinyalleşme Yolağı
YAP/TAZ: Yes-Associated Protein 1 (YAP)/Transcriptional Coactivator with PDZ-Binding Motif (TAZ)

8. EKLER

EK-1: Tablolar Listesi

Tablo 1. Akut mastitis modeli grupları.....	34
Tablo 2. Kronik mastitis modeli grupları	35
Tablo 3. Çalışmada kullanılan ELISA kitleri.....	40
Tablo 4. Reaksiyon miksi solüsyonunun hazırlanması	44
Tablo 5. Hücre kültürü grupları	51
Tablo 6. İnek meme dokularında yerleşim gösteren ortalama granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka)	62
Tablo 7. Sağlıklı, akut ve kronik mastitisli meme dokularından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	62
Tablo 8. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).....	65
Tablo 9. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	65
Tablo 10. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	65
Tablo 11. Akut mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	66
Tablo 12. Akut mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayıları ve kat artışları (ka)	67
Tablo 13. Akut mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	67
Tablo 14. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle, degranüle ve toplam mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).....	69
Tablo 15. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren granüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	70
Tablo 16. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren degranüle mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	70
Tablo 17. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında yerleşim gösteren toplam mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	70
Tablo 18. Kronik mastitis modeli gruplarında lenf yumrusu medullar sinuslarına infiltre olan mast hücre sayıları ve kat artışları (ka).....	71
Tablo 19. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında bulunan mast hücre immunofenotiplerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).....	71
Tablo 20. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	72
Tablo 21. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).....	74
Tablo 22. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	75
Tablo 23. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).....	76

Tablo 24. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	76
Tablo 25. Akut mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka)	77
Tablo 26. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).....	78
Tablo 27. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	78
Tablo 28. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka).....	79
Tablo 29. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	79
Tablo 30. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücrelerinin ortalama sayıları ve kat artışları (ka)	80
Tablo 31. Kronik mastitis modeli meme dokularında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücre sayılarının istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	81
Tablo 32. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında ölçülen bağ doku yüzdeleri ve kat artışları (ka)	81
Tablo 33. Sağlıklı, akut ve kronik mastitise sahip meme dokularında ölçülen bağ doku yüzdelerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	82
Tablo 34. Akut mastitis modeli meme dokularının ortalama bağ doku miktarları ve kat artışları (ka).....	82
Tablo 35. Kronik mastitis modeli meme dokularının ortalama bağ doku yüzdeleri ve kat artışları (ka)	83
Tablo 36. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama bağ doku yüzdelerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri	83
Tablo 37. Akut mastitis modeli meme dokularında meme dokularında ölçülen ortalama IL-1β değerleri.....	85
Tablo 38. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-1β değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	85
Tablo 39. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 değerleri	87
Tablo 40. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	87
Tablo 41. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 değerleri.....	88
Tablo 42. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	88
Tablo 43. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama TNF-α değerleri	89
Tablo 44. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama triptaz değerleri	90
Tablo 45. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama kimaz değerleri	90
Tablo 46. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama IL-1β değerleri	92
Tablo 47. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen ortalama IL-1β değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	92

Tablo 48. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama IL-13 değerleri	93
Tablo 49. Kronik mastitis modeli gruplarında ölçülen ortalama IL-13 değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	94
Tablo 50. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama IL-6 değerleri.....	94
Tablo 51. Kronik mastitis modeli gruplarında meme dokularında ölçülen ortalama TNF-α değerleri	95
Tablo 52. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama triptaz değerleri	96
Tablo 53. Kronik mastitis modeli gruplarından elde edilen meme dokularında ölçülen ortalama kimaz değerleri	96
Tablo 54. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri	98
Tablo 55. Akut mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	98
Tablo 56. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerleri	99
Tablo 57. Kronik mastitis modeli meme dokularında ölçülen ortalama MPO değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda ulaşılan <i>p</i> değerleri.....	99
Tablo 58. İnek meme fibroblastlarında hücre proliferasyon analizi.....	102
Tablo 59. Fare meme fibroblastlarında hücre proliferasyon analizi.....	104
Tablo 60. İnek meme fibroblastlarında hidroksiprolin analizi.....	106
Tablo 61. Fare meme fibroblastlarında hidroksiprolin analizi.....	108

EK-2: Resimler Listesi

Resim 1. Sağlıklı bir meme bezinin makroskopik görünümü.....	110
Resim 2. Resim 1’de gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.	110
Resim 3. Akut yaygın purulent mastitise sahip olan bir meme bezinin makroskopik görünümü.	110
Resim 4. Resim 3’te gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.	110
Resim 5. Yaygın şiddetli kronik mastitise sahip olan bir meme bezinin makroskopik görünümü.	110
Resim 6. Resim 5’te gösterilen meme dokusuna ait olan süt örneği.	110
Resim 7. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı bir meme bezinin mikroskopik görünümü. <i>Hematoksilen&Eozin boyama, x200 büyütme</i>	111
Resim 8. Akut yaygın şiddetli purulent mastitis. Alveollerin içerisinde (oklar) ve interalveoler dokuda nötrofil lökosit infiltrasyonları. <i>Hematoksilen&Eozin boyama, x100 büyütme</i>	111
Resim 9. Yaygın şiddetli kronik mastitis. İnteralveoler septal dokuda yoğun bağ doku artışı ve şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları (oklar). <i>Hematoksilen&Eozin boyama, x200 büyütme</i>	111
Resim 10. Meme içi enjeksiyon. Meme başı kanalının daha iyi gösterilebilmesi için ötenazisi yapılmış bir hayvanda meme başı pens yardımı ile çekilerek fotoğraflama işlemi gerçekleştirilmiştir	111
Resim 11. Sol 4. meme bezinin makroskopik görünümü.....	111
Resim 12. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıtıcı kanallar (açık ok). <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	111
Resim 13. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme dokusunda salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıtıcı kanal (açık ok). <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	112
Resim 14. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (ok). <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	112
Resim 15. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Meme dokusunda salgı ile dolu alveoller (oklar) ve akıtıcı kanallar (açık oklar). <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	112
Resim 16. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	112
Resim 17. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	112
Resim 18. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. Salgı fonksiyonu devam eden sağlıklı meme alveolleri (oklar). <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	112
Resim 19. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusu. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	113
Resim 20. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtıcı kanal lümenlerindeki (açık ok) nötrofil lökosit çıkışları, damarlarda belirgin hiperemi. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	113
Resim 21. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtıcı kanal lümenlerindeki (açık ok) nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	113
Resim 22. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol lümenlerindeki (oklar) nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	113

Resim 23. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol (oklar) ve akıtıcı kanal lümenlerindeki (açık ok) ve interstisyel alandaki nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	113
Resim 24. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme dokusunda alveol lümenlerindeki (oklar) nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	113
Resim 25. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	114
Resim 26. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	114
Resim 27. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. <i>ediniz. H&E boyama, x100 büyütme</i>	114
Resim 28. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	114
Resim 29. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM yolla kromolin sodyum uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda salgı ile dolu olan sağlıklı alveoller ve kanallar. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	114
Resim 30. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda belirgin hiperemi; alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisinde çok sayıda nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	114
Resim 31. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda belirgin hiperemi; alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisinde çok sayıda nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	115
Resim 32. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP Kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda alveollerin, kanalların ve interstisyel dokunun içerisindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları, interstisyel dokuda belirgin ödem. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	115
Resim 33. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. Dekametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda alveollerin ve kanalların içerisinde salgı materyalleri ve az sayıda nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i> ...	115
Resim 34. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. Dekametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme dokusunda damarlarda hiperemi; alveollerin içerisinde salgı materyalleri ve az sayıda nötrofil lökosit çıkışları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	115
Resim 35. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvolüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	115
Resim 36. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvolüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	115

Resim 37. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvölüsyona uğramış sağlıklı bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. Alveollerin çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli hücre infiltrasyonları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	116
Resim 38. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	116
Resim 39. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezlerde belirgin involüsyon ve yağ doku miktarında artış. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	116
Resim 40. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme dokusunda bezler ve yağ dokusu. İnterstitiyel dokuda ve bezlerin çevresinde involüsyon ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	116
Resim 41. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	116
Resim 42. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	116
Resim 43. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin oluşturulduğu bir meme dokusunda çok şiddetli hücre infiltrasyonları, bezlerin ve kanalların çevresinde yoğun bağ doku artışı. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	117
Resim 44. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	117
Resim 45. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	117
Resim 46. Kronik Mastitis Modeli, IM kromolin grubu. IM yolla kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin sayısında belirgin azalma, alveol ve kanalların çevresinde involüsyon ile ilişkili hafif şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonları. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	117
Resim 47. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	117
Resim 48. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	117
Resim 49. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	118

Resim 50. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x100 büyütme</i>	118
Resim 51. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x200 büyütme</i>	118
Resim 52. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde bağ dokuda belirgin azalma. <i>H&E boyama, x400 büyütme</i>	118
Resim 53. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yeşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine Blue boyama, x200 büyütme</i>	118
Resim 54. Akut mastitisli bir meme bezinde alveol lümenlerinin içerisindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları (açık oklar), interalveoler ve interlobüler septal dokuda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine Blue boyama, x200 büyütme</i>	118
Resim 55. Kronik mastitisli bir meme dokusunda fibrotik kısımlarda yerleşim gösteren çok sayıda metakromazik mast hücresi. <i>Toluidine Blue boyama, x200 büyütme</i>	119
Resim 56. Akut Mastitis Modeli, Kontrol grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveoller arasında yerleşim gösteren metakromazik bir mast hücresi (ok). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	119
Resim 57. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Dermal bağ doku iplikleri arasında yerleşim gösteren mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i> .119	
Resim 58. Akut Mastitis Modeli PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	119
Resim 59. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	119
Resim 60. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde bir akıtıcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	119
Resim 61. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde alveollerin çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120
Resim 62. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120
Resim 63. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120
Resim 64. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120

Resim 65. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP yolla kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve bir akıtıcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120
Resim 66. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	120
Resim 67. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	121
Resim 68. Akut Mastitis Modeli, Kontrol grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	121
Resim 69. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	121
Resim 70. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	121
Resim 71. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	121
Resim 72. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	121
Resim 73. Akut mastitis modeli, LPS grubu. Akut mastitisli bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri (oklar). <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122
Resim 74. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122
Resim 75. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122
Resim 76. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122
Resim 77. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122

Resim 78. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	122
Resim 79. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	123
Resim 80. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	123
Resim 81. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	123
Resim 82. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin, kanalların arasında ve damarların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	123
Resim 83. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	123
Resim 84. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	123
Resim 85. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde ve interstisyel alanda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	124
Resim 86. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında ve fibrotik alanlarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	124
Resim 87. Kronik mastitis modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde ve fibrotik alanlarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	124
Resim 88. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	124
Resim 89. Kronik mastitis modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x200 büyütme</i>	124
Resim 90. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında ve damarların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	124

Resim 91. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	125
Resim 92. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde dermiste, alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x100 büyütme</i>	125
Resim 93. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	125
Resim 94. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	125
Resim 95. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezine ait olan lenf yumrusunun medullar sinuslarında yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	125
Resim 96. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	125
Resim 97. Kronik mastitis modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM yolla kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	126
Resim 98. Kronik mastitis modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP yolla kromolin sodyum ve meme başı kanalı yolu ile LPS'in verildiği bir meme bezinde medullar sinuslarda yerleşim gösteren metakromazik mast hücreleri. <i>Toluidine blue boyama, x400 büyütme</i>	126
Resim 99: Sağlıklı bir meme bezinde alveoller arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar). <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	3
Resim 100: Akut mastitisli meme dokusunda alveoller arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar) <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	126
Resim 101: Kronik mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri (oklar). <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	126
Resim 102: Sağlıklı meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	126
Resim 103: Akut mastitisli bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	127
Resim 104: Kronik mastitisli bir meme dokusunda alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri (oklar). <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	127

- Resim 105:** Triptaz (üst resim) ve kimaz (alt resim) boyama sonuçlarına göre triptaz-kimaz (+) mast hücresi fenotipinin belirlenmesi. Dikdörtgenler içerisine alınan mast hücreleri hem triptaz hem de kimaz antikorı ile pozitif boyananlardır ve triptaz-kimaz (+) mast hücre fenotipine sahiptirler. Üçgen ve daire ile işaretlen hücreler sırasıyla triptaz (+) ve kimaz (+) fenotipindeki mast hücreleridir. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme* 127
- Resim 106. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu.** Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz (+) bir mast hücresi. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme*..... 127
- Resim 107. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu.** PBS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme*..... 128
- Resim 108. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu.** IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme* 128
- Resim 109. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu.** IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme* 128
- Resim 110. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu.** LPS enjeksiyonu ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme* 128
- Resim 111. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu.** IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme*..... 128
- Resim 112. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu.** IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme*..... 128
- Resim 113. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu.** IP Deksametazon ve LPS uygulamasının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme* 129
- Resim 114. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu.** Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel alanda yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme* 129
- Resim 115. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu.** PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyumda ve bir akıtıcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme* 129
- Resim 116. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu.** PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde akıtıcı kanal çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) bir mast hücresi. *Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme*..... 129

Resim 117. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	129
Resim 118. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	129
Resim 119. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	130
Resim 120. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde damarların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	130
Resim 121. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	130
Resim 122. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	130
Resim 123. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	130
Resim 124. Akut mastitis modeli, DEX + LPS grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve kanalların arasında yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	130
Resim 125. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) bir mast hücresi. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	131
Resim 126. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	131
Resim 127. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonu ile akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	131
Resim 128. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	132
Resim 129. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	132

Resim 130. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	132
Resim 131. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	133
Resim 132. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS grubu. IP Deksmetazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	133
Resim 133. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvolüsyona uğramış sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	133
Resim 134. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	133
Resim 135. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 136. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 137. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 138. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 139. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 140. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde yağ hücrelerinin arasında ve alveollerin çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	134
Resim 141. Kronik Mastitis Modeli, PBS grubu. Meme başı kanalı yolu ile PBS enjeksiyonlarının yapıldığı meme bezinde yağ hücrelerinin arasında ve bir akıtıcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x200 büyütme</i>	135

Resim 142. Kronik Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin ve kanalların çevresinde yerleşim gösteren çok sayıda kimaz (+) mast hücresi. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	135
Resim 143. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde bir akıtıcı kanalın çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	135
Resim 144. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	135
Resim 145. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	135
Resim 146. Kronik mastitis modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin ve akıtıcı kanalların çevresinde yerleşim gösteren kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	135
Resim 147. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. İnvolüsyona uğramış sağlıklı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	136
Resim 148. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı ve involüsyona uğramış bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	136
Resim 149. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları ile kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	136
Resim 150. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	137
Resim 151. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	137
Resim 152. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	137
Resim 153. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde alveollerin arasında ve interstisyel alanda yerleşim gösteren triptaz-kimaz (+) mast hücreleri. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	138
Resim 154: Sağlıklı bir meme bezinde bağ doku alanları (mavi) ve alveoller (pembe), Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme	138

Resim 155: Olympus Stream Motion programı ile sağlıklı bir meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	138
Resim 156: Olympus Stream Motion programı kullanılarak sağlıklı bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	138
Resim 157: Akut mastitise sahip olan bir meme bezinde bağ doku alanları (mavi) ve alveoller (pembe). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	138
Resim 158: Olympus Stream Motion programı kullanılarak akut mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 159: Olympus Stream Motion programı kullanılarak akut mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 160: Kronik mastitise sahip olan bir meme dokusunda bağ doku alanları (mavi), ve alveoller (pembe). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 161: Olympus Stream Motion programı kullanılarak kronik mastitise sahip meme bezinde tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 162: Olympus Stream Motion programı kullanılarak kronik mastitise sahip olan bir meme bezinde tespit edilen parankimatöz alanlar (kırmızı). <i>Masson's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 163. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	139
Resim 164. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	140
Resim 165. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	140
Resim 166. Akut Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	140
Resim 167. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	140
Resim 168. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	140
Resim 169. Akut Mastitis Modeli, PBS grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	140
Resim 170. Akut Mastitis Modeli, PBS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	141

Resim 171. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonlarının yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x40 büyütme</i>	141
Resim 172. Akut Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	141
Resim 173. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak akut mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	141
Resim 174. Akut Mastitis Modeli, LPS grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	141
Resim 175. Akut Mastitis modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	141
Resim 176. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	142
Resim 177. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	142
Resim 178. Akut Mastitis modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	142
Resim 179. Akut Mastitis modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonunun yapıldığı sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	142
Resim 180. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	142
Resim 181. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	142
Resim 182. Akut Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	143
Resim 183. Akut mastitis modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	143

Resim 184. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	143
Resim 185. Akut Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	143
Resim 186. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve meme başı kanalı yoluyla LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	143
Resim 187. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	143
Resim 188. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. IP yolla deksametazon ve meme başı kanalı yoluyla LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	144
Resim 189. Akut Mastitis Modeli, DEX + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	144
Resim 190. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x40 büyütme</i>	144
Resim 191. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	144
Resim 192. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Sağlıklı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	144
Resim 193. Kronik Mastitis Modeli, Kontrol Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	144
Resim 194. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	145
Resim 195. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	145
Resim 196. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. PBS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	145
Resim 197. Kronik Mastitis Modeli, PBS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	145

Resim 198. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	145
Resim 199. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin Grubu. IM kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	145
Resim 200. Kronik Mastitis modeli, IP Kromolin Grubu. IP kromolin sodyum enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi renk); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	146
Resim 201. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	146
Resim 202. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	146
Resim 203. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	146
Resim 204. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	146
Resim 205. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. LPS enjeksiyonları yapılarak kronik mastitisin indüklendiği bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	146
Resim 206. Kronik Mastitis Modeli, LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	147
Resim 207. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	147
Resim 208. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. IM kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	147
Resim 209. Kronik Mastitis Modeli, IM Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programı kullanılarak tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	147

Resim 210. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x100 büyütme</i>	147
Resim 211. Kronik Mastitis modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x200 büyütme</i>	147
Resim 212. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. IP kromolin sodyum ve LPS enjeksiyonlarının yapıldığı bir meme bezinde interstisyel bağ doku alanları (mavi); meme alveolleri ve salgı materyalleri (pembe). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	148
Resim 213. Kronik Mastitis Modeli, IP Kromolin + LPS Grubu. Olympus Stream Motion programında tespit edilen bağ doku alanları (siyah). <i>Massons's Trichrome boyama, x400 büyütme</i>	148
Resim 214. IL-1 β ölçümü sırasında kullanılan plaka. (A) TMB substrat solüsyonu ile inkübasyonu takiben kuyucuklarda oluşan mavi renk. (B) Reaksiyon durdurucu solüsyon ilavesini takiben kuyucuklarda oluşan sarı renk	148
Resim 215. MPO testinin gerçekleştirildiği 96 kuyucuklu hücre kültür tabağı.....	148
Resim 216. Fare meme dokusu eksplantından ilk hücre çıkışları	148
Resim 217. İnek meme dokusu eksplantından ilk hücre çıkışları	149
Resim 218. Fare meme fibroblastları.....	1493
Resim 219. Morfolojik değerlendirme için 1. pasajları sırasında Diff Quik boyama prosedürü ile demonstre edilen hücreler. Fare meme fibroblastları. <i>Diff Quik boyama, x400 büyütme</i>	149
Resim 220. Morfolojik değerlendirme için 1. pasajları sırasında Diff Quik boyama prosedürü ile demonstre edilen hücreler. İnek meme fibroblastları. <i>Diff Quik boyama, x400 büyütme</i>	149
Resim 221. Vimentin (+) bir fare meme fibroblastı. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	149
Resim 222. Vimentin (+) inek meme fibroblastları. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	149
Resim 223. İzole edilen hücreler anti-sitokeratin antikoru ile negatif reaksiyon vermiştir. Fare meme fibroblastları. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	150
Resim 224. İzole edilen hücreler anti-sitokeratin antikoru ile negatif reaksiyon vermiştir. İnek meme fibroblastları. <i>Streptavidin-Biotin Peroksidaz, DAB, x400 büyütme</i>	150
Resim 225. Hücre proliferasyon testinin gerçekleştirildiği 96 kuyucuklu hücre kültür tabakları	150
Resim 226. Hidroksiprolin ölçüm testinde kullanılan 96 kuyucuklu hücre kültür tabağı	150

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görüle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Farelerde Lipopolisakkarit (LPS) İle Oluşturulan Mastitis Modelinde Mast Hücrelerinin Aldıkları Rollerın İncelenmesi</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Doç. Dr. Ahmet AKKOÇ BUÜ Veteriner Fakültesi Patoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Dok. Öğr. A. Meriç MUTLU
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	A. Meriç MUTLU'nun Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.10.2019 – 01.10.2021
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2018/11-10 No'lu Etik Onayı alınmış projeye ait hayvanların verileri kullanılacaktır.

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	09.08.2019

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019 - 07 / 04	Tarih : 03.09.2019
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ
ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp- Anatomi	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H
Dr. Öğr. Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H
Prof. Dr. Murat YALÇIN Üye	Veteriner-Fizyoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ☒ H
Doç. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ☒ H
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	☐ E ☒ H
Prof. Dr. Nilüfer ÇINKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	☐ E ☒ H
Asiye Işıl SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	☐ E ☒ H
Filiz KUNLAR Üye	Sivil Üye	Emekli	☐ E ☒ H
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	☐ E ☒ H

9. TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve tez çalışmam boyunca değerli tavsiyeleri ve deneyimleri ile bana yardımcı olan, akademik ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, sonsuz saygı duyduğum ve çok sevdiğim danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet AKKOÇ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Güler yüzü ve neşesi ile beni her daim mutlu eden, en stresli zamanlarımda bile sonsuz sabır ve sevgi gösteren, tez çalışmam da dahil olmak üzere hayatın her alanında bana destek ve yardımcı olan sevgili nişanlım Onur KIZILGÜN'e çok teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, beni her koşulda destekleyen ve seven canım anneciğim Ayşe Mine ŞEKER'e, ablacığım Ayşe İpek KARAMAN'a ve değerli ağabeyim Nihat KARAMAN'a her şey için çok teşekkür ederim.

Sevgili ve çok kıymetli Canan KIZILGÜN'e, Sadi KIZILGÜN'e ve Eylül KIZILGÜN'e beni her daim sevdikleri, destekledikleri ve yanımda oldukları için içtenlikle teşekkür ederim.

Akademik katkıları, samimi yardımları ve geçirdiğimiz mutlu günler için değerli hocalarım Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT'e ve Doç. Dr. Cansel Güzin ÖZGÜDEN AKKOÇ'a çok teşekkür ederim.

Anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN'a, Sayın Prof. Dr. Gürsel SÖNMEZ'e ve Sayın Doç. Dr. İ. Taci CANGÜL'e bilimsel ve manevi katkıları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kıymetli arkadaşlarım Özkan YAVAŞ'a, Esra TANIŞ'a, Zehra AVCI KÜPELİ'ye, Aysun SARIÇETİN'e ve küçük kardeşimiz Ezgi YUMUŞAK'a deneysel kısımlardaki yardımları ve birlikte geçirdiğimiz güzel günler için teşekkür ederim.

Deney materyallerinin temini aşamasını birlikte gerçekleştirdiğimiz Prof. Dr. Abdülkadir KESKİN'e; mikrobiyolojik analizleri gerçekleştiren Doç. Dr. Serpil KAHYA DEMİRBİLEK'e ve Vet. Hek. Dr. Özge ARDIÇLI'ya; istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Ender UZABACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Beni her daim neşelendiren ve huzur veren tatlı kedilerime de çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için akademik ve maddi destek sağlayan TÜBİTAK - Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Destek Grubu (TOVAG)'na (Proje No: 118O893) teşekkürü bir borç biliriz.

10. ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimimi Çapa Gazi İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi ise Akasya Koleji'nde gördüm. 2011 yılında başladığım Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2016 yılında mezun olduktan sonra aynı yılın Ağustos ayında Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım.

