

Işık Mikroskopik Bir Çalışma: Devede Konjunktiva ile İlişkili Lenfoid Doku

Ahmet CEYLAN

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

*Corresponding author e-mail: ceylan@ankara.edu.tr

ÖZ

Konjunktiva ile ilişkili lenfoid doku (CALT), gözün en önemli aksesuar bileşenlerinden biridir. Bu çalışma, sağlıklı develerde konjunktiva ile ilişkili lenfoid dokunun histolojik dağılımını ve karakteristik özelliklerini ışık mikroskobu tekniğiyle ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çalışmada toplam 5 adet (13-19 yaş aralığında) deveye ait alt ve üst göz kapağı kullanıldı. CALT'a ait genel makroskopik görünüm asetik asit uygulamasıyla ortaya konuldu. Tüm develerde CALT'ın en önemli elemanları olan ve soliter ve agregat lenf foliküllerinin varlığı tespit edildi. Foliküllerin üzerlerinin folikülle ilişkili epitel (FAE) olarak bilinen ve intra epitelyal lenfositleri barındıran, kadeh hücrelerinin görülmediği ince, yassılaştırmış epitel ile örtülü olduğu görüldü. Buna ek olarak, lenf foliküllerinin germinal merkez, korona, dom bölgesi ve inter foliküler alanlardan meydana geldiği fark edildi. İnterfoliküler alanlarda CALT en önemli karakteristik özelliklerinden bir olan, yüksek endotelli venüllerin varlığı ortaya konuldu. Sonuç olarak, deve CALT'ının sahip olduğu belirleyici özellikleriyle diğer mukozal lenfoid dokularla oldukça yüksek benzerlikler gösterdiği ve oküler savunma mekanizması içerisinde önemli bir rol oynadığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelime: CALT, Deve, FAE, lenf folikülü, MALT

A Light Microscopic Study: Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue in Camel

ABSTRACT

Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) is one of the most important accessory component of the eye. This study was undertaken to demonstrate the histological distribution and characteristic features of CALT in healthy camels using light microscopy technique. A total upper and lower eyelids of 5 (age range, 13-19) camels were investigated. The gross appearance of CALT were revealed by acetic acid application. Fully intact solitary and aggregated lymphoid follicles were observed as members of CALT in all camels. These follicles were covered by a thin, flattened epithelium called follicular-associated epithelium (FAE) that contained intra epithelial lymphocytes and lacked goblet cells. In addition germinal centers, corona, subepithelial dome region and interfollicular areas were noticed within the lymphoid follicles. The presence of high endothelial venules (HEV), a highly distinctive feature of CALT, was confirmed in interfollicular areas. We conclude that CALT of camel closely resembles other mucosal lymphoid tissues and may serve as an important member of ocular defense mechanism with its determinative features.

Key Words: CALT, camel, FAE, lymphoid follicle, MALT

GİRİŞ

Oküler yüzey sürekli olarak birçok farklı patojen olan ya da olmayan etken ile karşı karşıya gelmektedir (Knop ve Knop, 2005a). Bu etkenlere karşı savunma mekanizmasının bütünlüğünün korunması ve devamlılığının sağlanması mukoza ile ilişkili lenfoid doku (Mucosa associated lymphoid tissue, MALT) ailesinin bir üyesi olan göz ile ilişkili lenfoid doku (Eye-associated lymphoid tissue, EALT) tarafından sağlanmaktadır. EALT, lakrimal bez, konjunktiva ile ilişkili lenfoid doku (Conjunctiva-associated lymphoid tissue, CALT) ve lakrimal kanal ile ilişkili lenfoid dokundan (Lacrimal Drainage-Associated Lymphoid Tissue, LDALT) meydana gelmektedir (Knop ve Knop, 2000).

Hayvan türlerine göre yerleşimi ve yoğunluğu değişebilen ve bünyesinde farklı tipteki immun sistem hücrelerini barındıran CALT, EALT'ın konjunktival kısmını oluşturmaktadır (Chodosh ve ark., 1998, Bayraktaroglu ve Aşti., 2009, Bayraktaroglu, 2011). CALT, oküler yüzey ile dış ortam arasında immunolojik bir ara yüz oluşturarak, immun yanıtın başlatılmasında ve düzenlenmesinde anahtar rolü üstlenir. Antijenleri tespit ederek alımını gerçekleştiren CALT, sonrasında bu antijenleri işleyerek antijen sunan hücrelere sunar ve bunu takiben lenfoid hücrelerin direkt aksiyonu ya da antikör salınımı ile oküler yüzeydeki immun yanıtın oluşmasını sağlar (Knop ve Knop, 2002, Steven ve Gebert, 2009).

MALT ailesinin diğer üyelerinde olduğu gibi EALT'ın da iki farklı şekilde görüldüğü bilinmektedir. Bunlardan ilki "özelleşmiş" MALT (Organized, O-MALT) diğeri ise "yaygın" MALT'dan (Diffuse, D-MALT) oluşmaktadır (Russell ve ark., 2000, Hannant, 2002, Liebler-Tenorio ve Pabst, 2006).

CALT'ı mukozal immun sistem açısından önemli ve etkili kılan; MALT'ın temel özellikleri olarak bilinen, yüksek endotelli venüller (High endothelial venules, HEV), kadeh hücresi içermeyen ve antijen alımı için özelleşmiş membranöz epitel hücrelerini (M cells, M hücreleri) de içeren folikül ile ilişki epitel (Follicle-associated epithelium, FAE) ile dom ve korona bölgesi, germinal merkez, ve interfoliküler alanlar içeren agregat ve/veya soliter lenf foliküllerine sahip olmasıdır (Girard ve Springer, 1995, Neutra ve ark., 1996, Aşti ve ark., 2000b, Beyaz, 2004, Bayraktaroglu, 2010).

Yaşam döngüsü içerisinde tür ve birey düzeyinde farklılıklar sergilemekle birlikte CALT'a ait lenf foliküllerinin sayısının yaşa bağlı olarak değiştiği bilinmektedir (Kessing, 1968). Özellikle ileri yaş grubu canlılarda yapılan çalışmalarda bu foliküllerin sayısında hızlı bir azalma görülse de tamamen yok olmadıkları tespit edilmiştir (Agnifili ve ark., 2014, Cain ve Phillips, 2008). Bunun yanı sıra lenf folikülü

sayısının çeşitli hastalıklar, toksik reaksiyonlar, otoimmün bozukluklara bağlı olarak da değiştiği gösterilmiştir (Siebelmann ve ark., 2013, Ambroziak ve ark., 2016). Bu çalışma, ülkemizde halen, ekonomik değere sahip ve bazı yörelerde ulaşım ve taşımacılık amacıyla kullanılan deveye ait CALT'ın makroskobik ve mikroskobik özelliklerini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada materyal olarak, ilerleyen yaşı nedeniyle (13,14,14,17 ve 19 yaşında) kesime sevk edilen 5 adet sağlıklı deveye ait alt ve üst göz kapaklarının konjunktivaları kullanıldı. Kesimi takiben toplanan materyalin bir kısmı lenf foliküllerinin yerleşimi ve dağılımını makroskobik olarak ortaya koymak amacıyla 24 saat boyunca %3'lük asetik asit ile muamele edildi (Fix ve Arp, 1991).

Kesim sonrası toplanan materyalin diğer kısmı ise ışık mikroskobik incelemeler için %10'luk tamponlu nötral formolde tespit edilerek, rutin ışık mikroskobu takibine tabi tutuldu ve paraplasta bloklandı. Bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitlere genel histolojik yapının ortaya konulması amacıyla Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyaması uygulandı (Crossmon, 1937). FAE'nin makromoleküler düzeydeki maddeleri pinositoz yolu ile hücre içine alımını göstermek amacıyla kesimden yarım saat önce develere 0,15 M NaCl₂ solüsyonunda hazırlanan, 25 mg/ml ferritin (Sigma F 4503) solüsyonu uygulandı. Ferritin partiküllerinin hücre içi varlığının gösterilmesi için 1 µm kalınlığında alınan yarı ince kesitlere de toluidine blue boyaması yapıldı. Tüm bulgular araştırma mikroskobunda (Leica DM 2500) değerlendirildikten sonra fotoğraflandı (Leica DFC450).

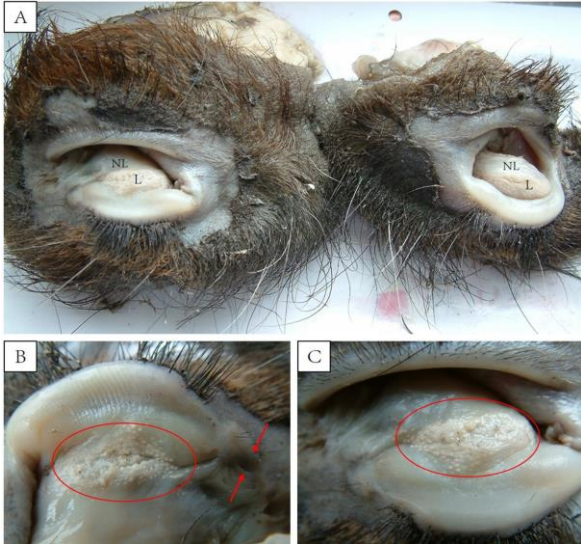
BULGULAR

Makroskobik Bulgular

Oldukça kalın oldukları tespit edilen her iki göz kapağının, asetik asit uygulamasını takiben CALT'a ait lenf foliküllerinin oluşturduğu lenfoid bölgelerinin belirginleşerek nonlenfoid bölgelerden kolaylıkla ayrıldığı görüldü. Konjunktivalar arasında lenf foliküllerinin sayı ve dağılım bakımından bireysel farklılıklar taşımadığı ve simetrik olduğu gözlemlenirken bütün örneklerde lenfoid dokunun oval şekilli lenf foliküllerinden oluştuğu tespit edildi. Alt konjunktivada, agregat lenf foliküllerine palpebra niktisans ve palpebral konjunktivada yoğun olarak rastlanırken, üst konjunktivada ise palpebral konjunktivanın daha az sayıda ve medial açığa yakın bölgelerinde yerleşim gösteren lenf foliküllerine sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 1).

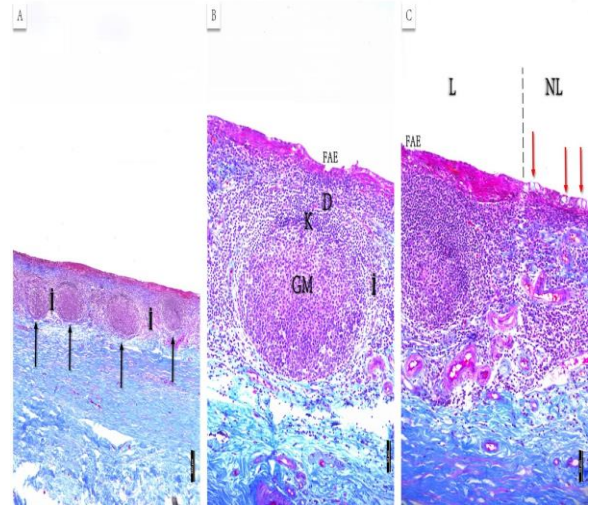
Mikroskopik Bulgular

Makroskopik bulgularla uyumlu olarak mikroskopik düzeyde de lenfoid bölgeler ile nonlenfoid bölgelerin farklı karakterde histolojik özelliklere sahip olduğu görüldü. Nonlenfoid bölgelerin kadeh hücreleri içeren çok katlı epitel ile örtülü olduğu görüldü. Mukozal lenf foliküllerinin epitele yaklaştığı alanlarda meydana getirmiş olduğu etkiye bağlı olarak, epitelin tek katlı yassı hale dönüşmesiyle FAE'nin biçimlendiği fark edildi (Şekil 2). Ayrıca immun sistem hücrelerinin bu alanlarda epitel ile yakın ilişkide olduğu ve bazılarının epitelin içinde intraepiteliyal yerleşim gösterdiği dikkat çekti (Şekil 3). Antijen alınımında özelleşen FAE hücrelerinden olan M hücrelerinin varlığı yapılan ferritin uygulamaları ile gösterildi. Uygulanan ferritin partiküllerinin epitelten alınarak daha alttaki hücelere aktarıldığı gözlemlendi (Şekil 4). Bunun yanı sıra CALT'ı oluşturan lenfoid bölgelerdeki çoğunlukla O-MALT yapısında görülen soliter ya da agregat lenf foliküllerinin, FAE ile örtülü dom bölgesi, germinal merkez ve bu iki bölge arasında bulunan korona bölgesi ile inter foliküler alanlara sahip oldukları gözlemlendi. Korona bölgesinin heterokromatik çekirdekli hücrelerle bir kuşak oluşturduğu tespit edildi. Germinal merkezde ökromatik çekirdekli lenfoblastlara rastlanıldı. Özellikle epitelin hemen altında konumlanmış foliküllerin dip kısımlarında ve inter foliküler alanda yerleşim gösteren çevresi oldukça kalın bir bağ dokusu ile çevrili HEV'lerin varlığı saptandı. Buna ek olarak, HEV duvarı içinde ve çevresinde immun sistem hücrelerine rastlandı (Şekil 5).



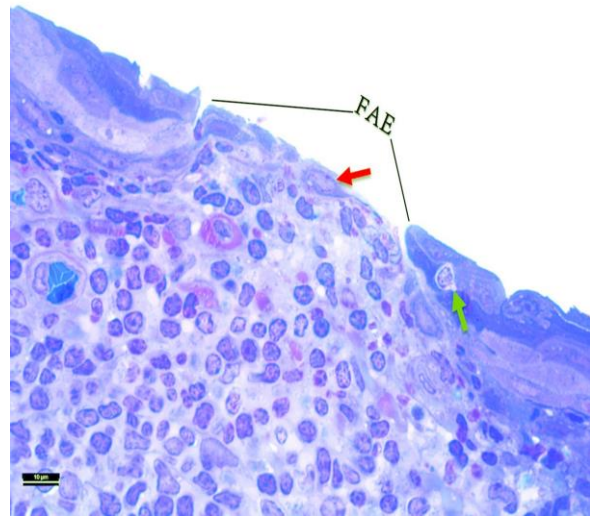
Şekil 1. A. Asetik asit uygulaması sonrasındaki CALT'ın makroskopik görünümü. Nonlenfoid bölgeler (NL), lenfoid bölgeler (L). **B ve C.** Agregat lenf folikülleri (daire). Nazolakrimal punktum (oklar).

Figure 1. A. Macroscopic appearance of CALT after acetic acid application. Nonlenfoid areas (NL), lenfoid areas (L). **B and C.** Aggregate lymphoid follicles (circle). Nasolacrimal punctum (arrows).



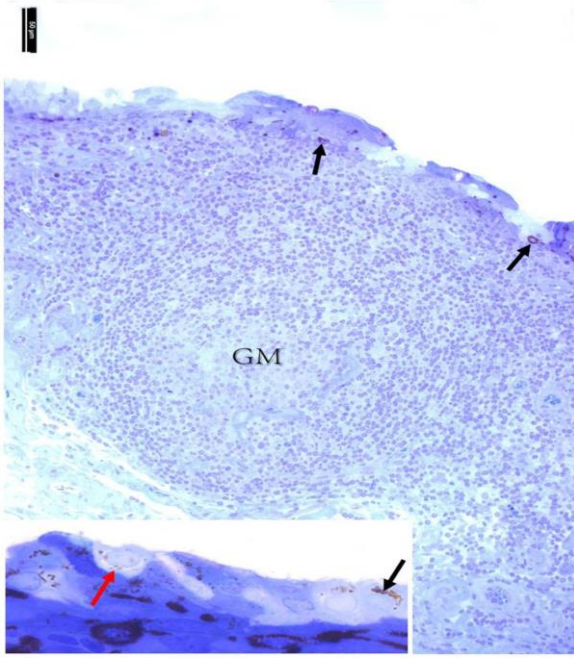
Şekil 2. A. Agregat lenf folikülleri (oklar), interfoliküler alanlar (I). **B.** Soliter lenf folikülü. Dom bölgesi (D), korona (K), germinal merkez (GM), folikül ile ilişkili epitel (FAE), interfoliküler alan (I). **C.** Nonlenfoid bölgeler (NL), lenfoid bölgeler (L), folikül ile ilişkili epitel (FAE), kadeh hücreleri (oklar). Mallory'nin üçlü boyaması.

Figure 2. A. Aggregate lymphoid follicles (arrows). Interfollicular areas (I). **B.** A solitary lymphoid follicle. Dome area (D), corona (K), germinal center (GM), follicle associated epithelium (FAE), interfollicular area (I). **C.** Nonlenfoid areas (NL), lenfoid areas (L), follicle associated epithelium (FAE), goblet cells (arrows). Mallory's trichrome stain.

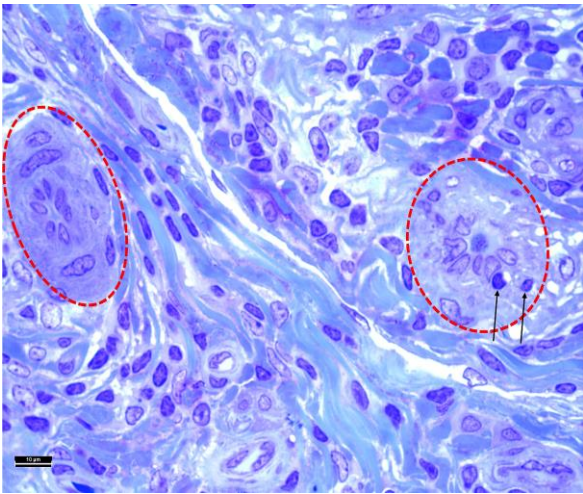


Şekil 3. Folikül ile ilişkili epitel (FAE), M hücresi (kırmızı ok), intraepiteliyal lenfosit (yeşil ok). Toluidine blue boyaması.

Figure 3. Follicle associated epithelium (FAE), M cell (red arrow), intraepitheiial lymphocyte (green arrow). Toluidine blue staining.



Şekil 4. FAE hücreleri tarafından hücre içine alınmış ferritin partikülleri (siyah oklar), M hücresi (kırmızı ok), germinal merkez (GM). Toluidine blue boyaması.
Figure 4. Ferritin particles within FAE cells (black arrows), M cell (red arrow), germinal center (GM). Toluidine blue staining.



Şekil 5. HEV'ler (daireler) ve immun sistem hücre trafiği (oklar). Toluidine blue boyaması.
Figure 5. HEVs (circles) and immune system cell traffic (arrows). Toluidine blue staining.

TARTIŞMA

CALT, gözdeki diğer immun yapılarla birlikte oküler yüzeyin sağlığının korumasında kilit rol üstlenmektedir. Yerleşimi göz önünde bulundurulduğunda, gözün dış ortamla arasında bulunan ilk bariyer olan CALT, oküler yüzeye ait immun toleransın düzenlenmesine ve birçok

yangısal hastalığa karşı verilecek immun yanıtın temel basamaklarının şekillenmesine katkıda bulunur (Zhivov ve ark., 2006, Siebelmann ve ark., 2013). CALT'ın bu özelliklerini başarılı bir şekilde yerine getirebilmesi için MALT'a ait karakteristik özelliklere sahip olması gerekmektedir (Knop ve Knop, 2005b). Literatürde deve CALT'ına ait lenf foliküllerinde bulunan özellikle T lenfosit (Sandıkçı ve ark., 2005), IgG ve IgA salgılayan hücrelerin (Zhang ve ark., 2016) varlığının ve dağılımının gösterildiği çalışmalar bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda CALT'ın temel yapısal özellikleri makroskobik ve mikroskobik olarak detaylı bir şekilde gösterilmemiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak bahsi geçen karakteristik yapısal unsurlar ayrıntılı bir şekilde incelenerek ortaya konulmuştur.

Alt ve üst göz kapaklarındaki CALT'ın yerleşimi ve yoğunluğu türler arasında farklılıklar göstermektedir. Koyun, domuzda (Chodosh ve ark., 1998) ve sığırdada (Bayraktaroğlu ve Aştı, 2009) palpebral konjunktivada, köpek (Guiliano ve ark., 2002) ve farede (Sakimoto ve ark., 2002) palpebra niktans'a yerleşen lenf foliküllerinin, tavşanda (Bayraktaroğlu ve ark., 2010) alt konjunktivanın nazal açısında lakrimal punktuma yakın bölgelerde, tavukta (Fix ve Arp, 1991) ise nazal açıda bulunduğu bildirilmektedir. Sığır, maymun (Ruskell, 1995), tavşan, tavuk ve hindide genellikle alt konjunktivada daha yoğun bir yerleşim gösteren CALT, insanlarda (Knop ve Knop, 2000) tam tersi yerleşim gösterir. Çalışmamızda alt konjunktivada üste oranla daha yoğun bir CALT dağılımı olduğu tespit edildi. Bu durum develerde oküler enfeksiyonların ya da patojenik olmayan çevresel etkilerin daha çok alt göz kapağına yerleşim gösterme olasılığı ile ilişkilendirilebilir. CALT'ta bulunan lenf foliküllerinin makroskobik morfolojilerinin de türler arasında farklılıkları olduğu gösterilmiştir. İnsanlardaki (Knop ve Knop, 2000) lenf folikülleri, disk şeklinde tanımlanırken tavşan (Bayraktaroğlu ve ark., 2010), maymun (Ruskell, 1995), ve diğer memeli türlerinde (Chodosh ve ark., 1998) daha çok oval biçimde tanımlanmaktadır. Devede ise lenf foliküllerinin insanlardan farklı, diğer türleri ile ise benzer makroskobik morfolojiye sahip olduğu görüldü.

Araştırmalarda, konjunktivanın ışık mikroskobik olarak nonlenfoid ve lenfoid bölgelerden meydana geldiğini bildirilmektedir. Lenfoid bölgelerin tepe kısımları kadeh hücresinden yoksun incelenmiş FAE ile örtülü soliter ya da agregat lenf foliküllerinden oluşurken, nonlenfoid bölgelerin ise kadeh hücreli 2-5 sıralı çok katlı yassı epitelden oluştuğu gösterilmiştir (Aştı ve ark., 2000a, Liebler-Tenorio ve Pabst, 2005, Bayraktaroğlu ve ark., 2011). MALT ailesinin bir üyesi olan CALT'ın lenf foliküllerinde, germinal merkez, korona bölgesi, interfoliküler

bölgelerin ve subepiteliyal dom bölgesinin bulunduğu ortaya konulmuştur. (Chodosh ve Kennedy, 2002, Bayraktaroğlu ve ark., 2010). Çalışmamızda elde edilen bulgular deve CALT'ının diğer türlerde tanımlanan CALT'lar ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Kuşlarda yapılan bir çalışmada (Klećkowska-Nawrot ve ark., 2017) üç farklı kuş türünde bizim bulgularımızdan farklı olarak konjunktivanın lenfoid bölgesine ait epitelde kadeh hücrelerinin görüldüğü ortaya konulmuştur. Bu durum, nonspesifik bir mekanizma olan mukus salgısının develerde, FAE içinde yerleşim gösteren M hücrelerinin antijen alımı sürecine olumsuz bir etkisinin olabileceği ihtimalini akla getirmektedir.

MALT'ın diğer bir karakteristik özelliği olan ve lenfositlerin doku spesifik göçlerinde taşıdıkları özel adezyon molekülleri vasıtasıyla görev alan HEV'ler CALT içinde tanımlanmıştır (Girard ve Springer, 1995, Aştı ve ark., 2000b, Chodosh ve Kennedy, 2002, Liebler-Tenorio ve Pabst, 2006). Hayvan türleri arasında HEV'in yapısının farklılık gösterdiği, venüllerin sayısı ve uzunluğunun antijenik uyarımla bağlantılı olarak değiştiği bildirilmektedir (Anderson ve ark., 1978, Knop ve Knop, 2000). Tavuklarda lenf foliküllerinin dip kısımlarında yerleşim gösteren HEV'in kübik endotel hücrelerinden meydana geldiği bildirilmiştir (Fix ve Arp, 1991). Çalışmamızda tavukların aksine, develerde HEV endotelinin yüksek endotel yapısında olduğu tespit edildi. Endotel yapısındaki farklılığın yüksek ihtimalle lenfosit trafiğinin ve diapedez mekanizmasının türler arasında değişiklik göstermesinden kaynaklanıyor olabileceği kanısına varıldı.

Literatürde konjunktival lenf foliküllerinin sayısının ve dağılımının yaş ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiş olup ilerleyen yaşam süresiyle birlikte lenf foliküllerinin sayısında dramatik bir azalmın olduğu ortaya konmuştur (Kessing, 1968, Cain ve Phillips, 2008, Siebelmann ve ark., 2013, Agnifili ve ark., 2014). Çalışmamızda kullanılan develerin ileri yaşları nedeniyle kesime sevk edilmiş hayvanlar olmalarına rağmen; yapılan incelemelerde CALT yapısının yaygın ve yoğun bir şekilde bulunmasının nedeni, develerin yaşam koşullarına bağlı geliştirmiş oldukları bir adaptasyon olarak açıklanabilir. Nitekim develerdeki göz hastalıkları üzerine yapılan bir çalışmada (Fahmy ve ark., 2003) develerin oküler enfeksiyonlara yakalanma oranlarının diğer ruminantlara oranla belirgin bir şekilde daha az olduğunu saptamışlardır.

SONUÇ

Sonuç olarak, EALT'ın konjunktivadaki üyesi CALT'ın develerde diğer türlerde tanımlanan özellikleri taşıdığı ve ileri yaşlarda bile yoğunluğunu koruduğu, ışık mikroskopik olarak agregat ve soliter

tarzda dağılım gösteren lenf folikülleri içerdiği ve bunların epitel ile yakın ilişkide olduğu, FAE'de antijen alımı yapabilen M hücrelerinin varlığı ve HEV'lerin yapısı ortaya konuldu. Elde edilen histolojik bulgular ile CALT'ın develerdeki oküler savunma mekanizmasında görev alan önemli bir yapısal unsur olduğu kanısına varıldı.

Teşekkür

Yazar, çalışmanın araştırma ve kaleme alınma aşamasında değerli katkılarını esirgemeyen Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU'na teşekkürü bir borç bilir.

KAYNAKLAR

- Agnifili L, Mastropasqua R, Fasanella V, Di Staso S, Mastropasqua, A, Brescia L, Mastropasqua, L.** In vivo confocal microscopy of conjunctiva-associated lymphoid tissue in healthy humans in vivo confocal microscopy of CALT. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014; 55(8): 5254-5262.
- Ambroziak AM, Szaflik J, Szaflik JP, Ambroziak M, Witkiewicz J, Skopiński P.** Immunomodulation on the ocular surface: a review. Cent Eur J Immunol. 2016; 41(2): 195-208.
- Anderson ND, Anderson AO, Wyllie RG.** Specialized structure and metabolic activities of high endothelial venules in rat lymphatic tissues. Immunol. 1976; 31:455-473.
- Aştı RN, Kurtdede N, Altunay H, Özen A.** Electron microscopic studies on conjunctiva associated lymphoid tissue(CALT) in Angora goats. Dtsch Tierarztl Wschr. 2000a; 107: 196-198.
- Aştı RN, Kurtdede N, Altunay H, Özen A.** Light microscopic studies on the conjunctiva associated lymphoid tissue (CALT) of Angora goats. AÜ Vet Fak Derg. 2000b; 47: 31-37.
- Bayraktaroğlu AG, Aştı RN.** Light and electron microscopic studies on conjunctiva associated lymphoid tissue (CALT) in cattle. Revue Med Vet. 2009; 160(5): 252-257.
- Bayraktaroğlu A, Ergün E, Beyaz F, Ertuğrul T.** Ankara tavşanında konjunktiva ile ilişkili lenfoid doku. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2010; 7(1): 21-27.
- Bayraktaroğlu AG, Korkmaz D, Aştı RN, Kurtdede N, Altunay H.** Conjunctiva associated lymphoid tissue in the ostrich (Struthio camelus). Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011; 17(1): 89-94.

- Beyaz F.** M cells: membranous epithelial cells. *Erciyes Univ Vet Fak Derg.* 2004; 1: 133-138.
- Cain C, Phillips TE.** Developmental changes in conjunctiva-associated lymphoid tissue of the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008; 49(2): 644-649.
- Chodosh J, Kennedy RC.** The conjunctival lymphoid follicles in mucosal immunology. *DNA Cell Biol.* 2002; 21: 421-433.
- Chodosh J, Nordquist RE, Kennedy RC.** Comparative anatomy of mammalian conjunctival lymphoid tissue: a putative mucosal immune site. *Dev Comp Immunol.* 1998; 22: 621-630.
- Crossmon G.** A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat. Rec.* 1937; 241: 155.
- Fahmy LS, Hegazy, AA, Abdelhamid MA, Hatem ME, Shamaa AA.** Studies on eye affections among camels in Egypt: clinical and bacteriological studies. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences).* 2003; 4(2): 14-24.
- Fix AS, Arp LH.** Morphologic characterization of conjunctiva-associated lymphoid tissue in chickens. *Am J Vet Res.* 1991; 52: 1852-1859.
- Girard JP, Springer TA.** High endothelial venules (HEVs): specialized endothelium for lymphocyte migration. *Immunol Today.* 1995; 16 (9): 449-457.
- Guiliano EA, Moore CP, Phillips TE.** Morphological evidence of M cells in healthy canine conjunctiva-associated lymphoid tissue. *Graves Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002; 240: 220-226.
- Hannant D.** Mucosal immunology: overview and potential in the veterinary species. *Vet Immunol Immunopathol.* 2002; 87: 265-267.
- Kessing SV.** Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1967; 95: 91.
- Klećkowska-Nawrot JE, Goździewska-Harłajczuk K, Łupicki D, Marycz K, Nawara T, Barszcz K, Łukaszewicz E.** The differences in the eyelids microstructure and the conjunctiva-associated lymphoid tissue between selected ornamental and wild birds as a result of adaptation to their habitat. *Acta Zool.* 2017; 00: 1-28.
- Knop E, Knop N.** Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41: 1270-1279.
- Knop E, Knop N.** A functional unit for ocular surface immune defense formed by the lacrimal gland, conjunctiva and lacrimal drainage system. *Adv Exp Med Biol.* 2002; 506: 835-844.
- Knop E, Knop N.** The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. *J Anat.* 2005a; 206: 271-285.
- Knop E, Knop N.** Influence of the eye-associated lymphoid tissue (EALT) on inflammatory ocular surface disease. *Ocul Surf.* 2005b; 3:180-187.
- Liebler-Tenorio E, Pabst R.** MALT structure and function in farm animals. *Vet Res.* 2006; 37: 257-280.
- Neutra MR, Pringault E, Kraehenbuhl JP.** Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1996; 14: 275-300.
- Ruskell GL.** Organization and cytology of lymphoid in the cynomolgus monkey conjunctiva. *Anat Rec.* 1995; 243: 153-164.
- Russell MW, Martin MH, Wu H, Hollingshead SK, Moldoveanu Z, Mestecky J.** Strategies immunization against mucosal infections. *Vaccines.* 2000; 19: 122-127.
- Sakimoto T, Shoji J, Inada N, Saito K, Iwasaki Y, Sawa M.** Histological study of conjunctiva-associated lymphoid tissue in mouse. *Japanese J Ophthalmol.* 2002; 46: 364-369.
- Sandıkçı M, Eren Ü, Kum S.** Alphanaphthyl acetate esterase activity in the spleen, lymph nodes and conjunctiva-associated lymphoid tissues of camels (*Camelus dro-medarius*). *Revue Med Vet.* 2005; 156: 99-103.
- Siebelmann S, Gehlsen U, Hüttmann G, Koop N, Bölke T, Gebert A, Steven P.** Development, alteration and real time dynamics of conjunctiva-associated lymphoid tissue. *PloS one.* 2013; 8(12):1-13.
- Steven P, Gebert A.** Conjunctiva-associated lymphoid tissue – current knowledge, animal models and experimental prospects. *Ophthalmic Res.* 2009; 42: 2-8.
- Zhang XF, Li SX, Li H, Dou SY, Zhang WD, Jia S, Wang WH.** IgA and IgG secreting cells in CALT of Bactrian camel. *Chinese Journal of Veterinary Science.* 2016; 2: 1-32.
- Zhivov A, Stachs O, Kraak R, Stave J, Guthoff RF.** In vivo confocal microscopy of the ocular surface. *Ocul Surf.* 2006; 4: 81-93.