

ORIGINALNI RAD – ORIGINAL PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1106359D

UDK 636.2.09:591.469:616-091.8

**ODNOS RAZLIČITIH DEBLJINA KERATINSKOG SLOJA
DUCTUS PAPILLARIS-a I INFILTRATA LEUKOCITA U
PARENHIMU VIMENA KRAVA***
*EFFECT OF DIFFERENT THICKNESS OF KERATIN LAYER OF
DUCTUS PAPILLARIS ON STATE OF PARENCHYMA IN COW UDDER*

Ivana Davidov, M. Radinović, S. Boboš, Z. Mašić, D. Lalošević**

Ductus papillaris predstavlja prvu liniju odbrane mlečne žlezde od prodora mikroorganizama u mlečnu cisternu i parenhim mlečne žlezde. Specifičnost građe ductus papillaris-a je u stratum corneum-u koji oblaže ductus papillaris. To je jedan fini sloj sličan vosku različite debljine. Debljina stratum corneum-a zavisi od starosti i rase jedinke, kao i od broja laktacije. Stratum corneum odnosno keratinski sloj ductus papillaris-a ima bakteriostatsko i baktericidno dejstvo i onemogućava ascedentni prodor mikroorganizama u mlečnu žlezdu.

Merenjem debljine keratinskog sloja ductus papillaris-a svake četvrti vimena krava, ustanovljeno je da debljina keratinskog sloja nije ista kod svake ispitivane jedinke. Histološkim pregledom isečaka parenhima svake četvrti vimena krava uočen je različit stepen leukocitarne infiltracije. Stepenn leukocitarne infiltracije ukazuje na postojanje različitih inflamatornih procesa u parenhimu koji su nastali kao slabost odbrane prve linije mlečne žlezde od prodora mikroorganizama.

Ključne reči: ductus papillaris, krava, patohistologija, vime

Uvod / Introduction

Patomorfološke promene u mlečnoj žlezdi najčešće nastaju interakcijom makroorganizma, mikroorganizama i spoljašnje sredine. Veoma važan proces u mehanizmu nastajanja intramamarnih infekcija je penetracija mikroorganizama u cisternu papile. Prva linija odbrane od prodora uzročnika u mlečnu žlezdu

* Rad primljen za štampu 07. 07. 2011. godine

** Mr sci med. vet. Ivana Davidov, asistent, mr sci med. vet. Miodrag Radinović, asistent, dr sci med. vet. Stanko Boboš, redovni profesor, dr sci med. vet. Zoran Mašić, redovan profesor, dr sci med. vet. Dušan Lalošević, vanredni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

je *ductus papillaris*, prosečne dužine 8,6 mm i prečnika 1,2 mm sa završetkom u vidu zadebljanja od nekoliko milimetara. Unutrašnjost *ductus papillaris*-a je ispunjena masom sličnom vosku, koja sadrži duge lance masnih kiselina i bazične proteine. Utvrđeno je da ove materije *in vitro* pokazuju baktericidni efekat prema ambijentnoj mikroflori, a bakteriostatski prema specifičnim uzročnicima mastitisa. Ranije se smatralo da je *musculus sphincter papillae* najvažnija prepreka za prodor mikroorganizama u mlečnu žlezdu. Danas se zna da je prva linija odbrane mlečne žlezde *ductus papillaris* (Davidov, 2010).

Ductus papillaris predstavlja longitudinalno-cilindrični kanal, koji je prekriven epitelom kože ispod kojeg se pruža mišićno-elastični sistem, koji ima funkciju da otvara i zatvara kanal. Čelijski detritus se iz kanala izbacuje tokom muže i odmah nakon izbacivanja dolazi do zamene novim ćelijama (Paulrud, 2005). Pounden i Grossman (1950) objašnjavaju da cilindričan oblik *ductus papillaris* ima nakon zatvaranja.

Među prvim podacima iz 1972. Giesecke i sar. su naveli da je epitel *ductus papillaris*-a višeslojan, a debljina mikronska. Višeslojni epitel prelazi naglo u dvoslojni epitel u lumen Fisterbergove rozete. Ispod epitelnog sloja nalaze se razvijeni papilarni i retikularni slojevi.

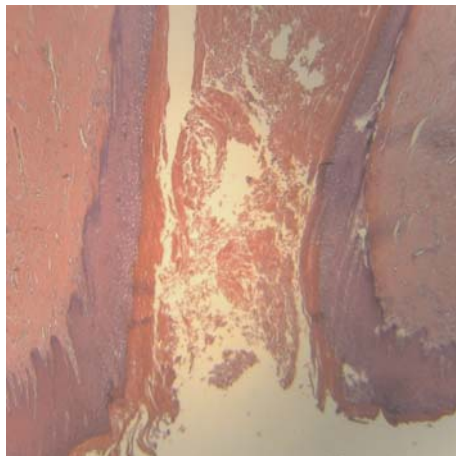
Materijal i metode rada / Material and methods

Ispitivana su vimena 26 krava holštajn-frizijske rase, različite etiologije, koje su isključene iz proizvodnje. Uzorci tkiva parenhima mlečne žlezde i vrha papile su uzete sa svih četvrti mlečne žlezde, odmah nakon klanja. Svi uzorci su fiksirani u puferizovanom 10% rastvoru formalina, potom dehidrirani kroz seriju rastvora etanola rastuće koncentracije i prožeti ksilolom i uklopljeni u parafin. Parafinski kalupi su sečeni na mikrotonu na isečke debljine 5 μm , koji su zatim deparafinisani i bojeni hematoksilin eozinom. Tokom mikroskopskog ispitivanja preparati su posmatrani u celini i fotografisani digitalnim fotoaparatom Canon.

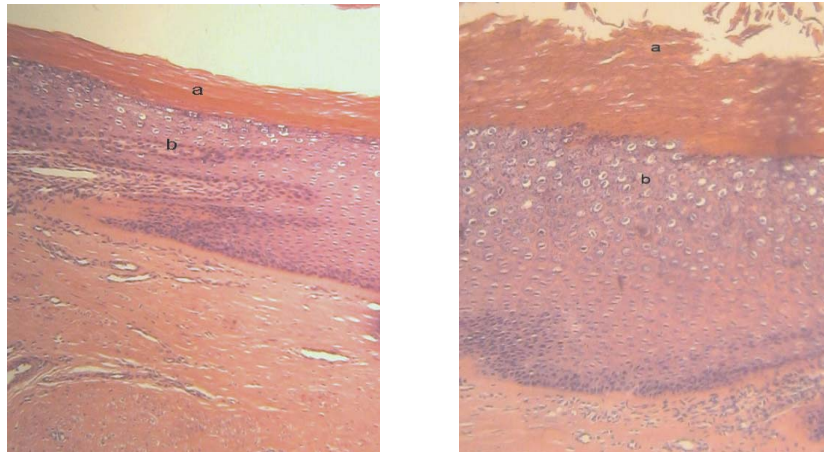
Rezultati / Results

Ductus papillaris (slika 1) predstavlja vezu između spoljašnje sredine i unutrašnjosti mlečne žlezde. Obložen je slojem keratina, koji potpomaže zatvaranje lumena *ductus papillaris*-a. Središnji mišićni sloj, a pogotovo pri njegovom vrhu, sastavljen je iz glatkih mišića i kolagenih vlakana, koja oko *ductus papillaris*-a postaju sve razvijeniji da bi se konačno formirao *musculus sphincter papillae*, koji steže i zatvara *ductus papillaris*. Otvor *ostium papillae* je širok i najčešće začepljen masom deskvamisanog pokrovnog epitela. Debljina *stratum corneum*-a je neujednačena, na 8 (7,70%) papila vimena krava, sloj je tanak i debljina je do 100 μm (slika 2 desno), a na 34 (32,69%) papile vimena krava je širi i debljina je 400 μm (slika 2 levo).

Broj papila vimena krava koji je imao debljinu od 201 μm do 300 μm , iznosi 39 (37,5%) od ukupno 104 histološki pregledanih papila, a samo 8 (7,7%) histološki pregledanih papila ima debljinu do 100 μm (tabela 1, slika 2).



Slika 1. *Ductus papillaris* sa ostium papillae, uočljiv keratinski sloj, višeslojan pločast epitel *ductus papillaris*-a (HE 4x)
Figure 1. *Ductus papillaris* with ostium papillae, visible keratinous layer, stratified squamous epithelium of *ductus papillaris* (HE 4x)



Slika 2. *Ductus papillaris*: a) stratum corneum, b) stratum epithelialis (HE 10x).
Slika desno stratum corneum debljine do 100 μm .
Slika levo stratum corneum debljine od 301 do 400 μm /
Figure 2. *Ductus papillaris*: a) stratum corneum, b) stratum epithelialis (HE 10x).
Figure on right: stratum corneum up to 100 μm in thickness.
Figure on left: stratum corneum 301-400 μm thick

Tabela 1. Debljina keratinskog sloja u papilama vimena krava /
Table 1. Thickness of keratinous layer in cow udder papillae

Debljina keratinskog sloja / Thickness of keratinous layer	0-100 μm	101-200 μm	201-300 μm	301-400 μm	Ukupno / Total
Broj papila / Number of papilla	8	23	39	34	104
%	7,70	22,11	37,50	32,69	100%

Debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a koja je do 100 μm predstavlja najtanji sloj *lactosebum*-a, koji je uslovio pojavu patohistoloških promena parenhima mamarnih kompleksa (tabela 2).

Tabela 2. Količina leukocitarnog infiltrata u odnosu na debljinu keratinskog sloja papila /
Table 2. Pathomorphological changes in parenchyma against thickness of papilla keratinous layer

Debljina keratinskog sloja <i>ductus papillaris</i> -a / Thickness of keratinous layer of <i>ductus papillaris</i>	Leukocitarni infiltrat / <i>Leukocytary infiltrate</i>				Ukupno / Total
	0-25%	25,1-50%	50,1-75%	75,1-100%	
do 100 μm / up to 100 μm					
Broj mamarnih kompleksa / Number of mammary complexes	7	10	41	23	81
% mamarnih kompleksa / % mammary complexes	6,73%	9,61%	39,42%	22,11%	77,87%
do 200 μm / up to 200 μm					
Broj mamarnih kompleksa / Number of mammary complexes	5	7	2	2	16
% mamarnih kompleksa / % mammary complexes	4,81%	6,73%	1,93%	1,93%	15,4%
do 300 μm / up to 300 μm					
Broj mamarnih kompleksa / Number of mammary complexes	2	1	1	0	4
% mamarnih kompleksa / % mammary complexes	1,93%	0,96%	0,96%	0%	3,85%
do 400 μm / up to 400 μm					
Broj mamarnih kompleksa / Number of mammary complexes	1	1	1	0	3
% mamarnih kompleksa / % mammary complexes	0,96%	0,96%	0,96%	0%	2,88%
Ukupan broj mamarnih kompleksa / Total number of mammary complexes	15	19	45	25	104
Ukupan % / Total %	14,42%	18,27%	43,27%	24,04%	100%

Od ukupno 104 histološki pregledana mamarna kompleksa u 81 (77,87%) sa dužinom *ductus papillaris*-a do 100 μm je najveća leukocitarna infiltracija u parenhimu, a u 3 (2,88%) mamarna kompleksa sa dužinom *ductus papillaris*-a od 301 do 400 μm je najmanja leukocitarna infiltracija mase (tabela 2).

Statističkom obradom podataka u tabeli 3 se uočava da postoji negativna korelacija, koja ukazuje na to da sa povećanjem debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a dolazi do pada mase leukocitarnog infiltrata.

Tabela 3. Testiranje korelacije debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a i leukocitarnog infiltrata parenhima mlečnih žlezda /
Table 3. Testing correlation between thickness of keratinous layer of *ductus papillaris* and leukocytary infiltrate in mammary gland parenchyma

Leukocitarni infiltrat / <i>Leukocytary infiltrate</i>	0-25%	25,1-50%	50,1-75%	75,1-100%	Ukupno / <i>Total</i>
Debljina keratinskog sloja 0-100 μm / <i>Thickness of keratinous layer 0-100 μm</i>	7	10	41	23	81
Debljina keratinskog sloja 101-200 μm / <i>Thickness of keratinous layer 101-200 μm</i>	5	7	2	2	16
Debljina keratinskog sloja 201-300 μm / <i>Thickness of keratinous layer 201-300 μm</i>	2	1	1	0	4
Debljina keratinskog sloja 301-400 μm / <i>Thickness of keratinous layer 301-400 μm</i>	1	1	1	0	3
	-0,9845	-0,94673	-0,78739	-0,81793	-0,85512

Diskusija / Discussion

Ductus papillaris je glavna barijera infekcijama. On ima posebno značenje u okvirima nespecifične odbrane od infekcije vimena. Inače, on je glavno i najčešće ulazno mesto mikroorganizama, tj. galaktogenog puta infekcije. To je organ koji na svojstven način koči razmnožavanje bakterija, pri čemu posebnu ulogu ima epitel koji ga pokriva. Prva prepreka na koju naiđu bakterije je keratin epitelnog sloja – *stratum corneum seu lactosebum*, koji služi kao fizička barijera i odlikuje se posebnim sastavom i postepeno se menja u fosfolipid. Keratinski sloj *ductus papillaris*-a (*stratum corneum*) ili *lactosebum* predstavlja barijeru prodoru mikroorganizmima iz spoljašnje sredine u samu mlečnu žlezdu. Merenjima na 104 papile vimena krava ustanovili smo varijacije debljine keratinskog sloja – *lactosebum*-a, što je prikazano u tabeli 1.

Deskvamacijom epitela unutar *ductus papillaris*-a stvara se masni talog, koji ima baktericidni efekat u sprečavanju širenje mikroorganizama unutar papile (Avdić, 2007; Paulrud, 2005). Smanjivanje debljine keratinskog sloja doводи do mogućnosti prodora mikroorganizama. Bakteriostatska moć se verovatno odnosi ili na lipide ili na protein keratina (Seykora i McDaniel, 1985). Gubitak

keratina dovodi do invazije bakterija i kolonizacije *ductus papillaris*-a, čemu prethodi proces njihove adherencije za epitelne ćelije. Zahvaljujući sposobnosti adherencije, bakterije uspevaju da opstanu u mlečnoj žlezdi i da se suprotstave procesu ispiranja tokom muže (Sutra i Poutrel, 1994). Millar i sar. (1992) su ispitivali da li se komponente keratina razlikuju između mamarnih kompleksa sa infekcijom i bez nje. Takođe su poredili i količinu keratina između kliničkih i supkliničkih mastitsa sa neinfektivnim mamarnim kompleksima. Oni su zaključili da ne postoji razlika u komponentama između supkliničkih mastitsa i neinfektivnih mamarnih kompleksa, a količina keratina je neznatno bila manja kod supkliničkog mastitisa u odnosu na neinfektivne mlečne žlezde. U našim istraživanjima debljina keratinskog sloja od 201 do 300 μm je bila u 39 (37,50%) papila, što se smatra optimalnom debljinom keratinskog sloja *ductus papillaris*-a.

Pobrić i sar. (1998) su istraživali debljinu keratinskog sloja kod poželjnih i nepoželjnih oblika završetaka vrhova papile. Utvrdili su da je debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a kod junica bila u proseku 203,67 μm , kod poželjnih oblika papila krava na mašinskoj muži u proseku je bio 243,46 μm , a kod ručno muženih 215,88 μm , što odgovara i rezultatima naših istraživanja. Uppal i sar. (1994) su merili debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a i došli su do zaključka da je prosečna debljina keratinskog sloja 327,25 \pm 5,91 μm kod muznih krava. Našim istraživanjima utvrdili smo variranja u debljini keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 30 do 396 μm , gde je najveći procenat 37,50% imao debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 201 do 300 μm , a samo 7,70% je imalo debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a manju od 100 μm .

Patomorfološke promene mlečne žlezde muznih krava nastaju kad se probije barijera papile i kad patogeni mikroorganizmi dospeju do cisterne ili parenhima mlečne žlezde. Tu dolazi do narušavanja histološke građe cisterne i parenhima. Prema Trinidad-u i sar. (1990) histološka ispitivanja su dragocena u otkrivanju stepena oštećenja tkiva mlečne žlezde krava. Histomorfološka ispitivanja su zabeležene u radovima više autora (Chander i Reid, 1973; Heald, 1979; Nickerson i Head, 1981; Sordillo and Nickerson, 1988). Rezultati navedenih autora odgovaraju našim rezultatima istraživanja, tako da je nalaz leukocitarnog infiltrata bio najveći u parenhimima mlečne žlezde čija je debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a bila od 0 do 100 μm (tabela 2).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja utvrđeno je da:

1. debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a nije ista kod svih ispitivanih jedinki,

2. debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 0 do 100 μm u papilama uslovljava prisustvo leukocitarnog infiltrata od 75 do 100% u 23 (22,11%) parenhimima mlečnih žlezda,

3. postoji negativna korelacija, koja ukazuje na to da sa povećanjem debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a dolazi do pada leukocitarnog infiltrata.

Literatura / References

1. Avdić R. Morfološke karakteristike Fürstenbergove rozete i sisnog kanala kod krava. Veterinaria 2007; 56: 7-16.
2. Chander RL, Reid IM. Ultrastructure and associated observations in clinical cases of mastitis in cattle. J Comp Pathol 1973; 83: 233.
3. Davidov I. Značaj dužine i debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a na pojavu patomorfoloških promena vimena krava. Magistarska disertacija, Novi Sad, 2010.
4. Giesecke WH, Gerneke WH, van Rensburg IJB. The morphology of bovine teat canal – A preliminary report. J S Afr Vet Ass 1972; 43: 351-4.
5. Heald CW. Morphometric study of experimentally induced *Staphylococcus aureus* in the cow. Am J Vet Res 1979; 40: 1249.
6. Miller RH, Bitman J, Bright SA, Wood DL, Capuco AV. Effect of clinical and subclinical mastitis on lipid composition of teat canal keratin. J Dairy Sci 1992; 75: 1436-42.
7. Paulrud CO. Basic Concept of the Teat Canal. Vet Res Communicat 2005; 29: 215-45.
8. Pobrić H, Babić Lj, Filipović-Paničić M, Podžo M, Fejzić N. Patološka građa sisnog kanala s obzirom na debljinu keratina i njegova uloga u nastanku oboljenja vimena krava. Veterinaria 1998; 47: 89-101.
9. Pouden WD, Grossman JD. Wall structure and closing mechanisms of the bovine teat. Am J Vet Res 1950; 41: 349-54.
10. Seykora AJ, McDaniel BT. Udder and teat morphology related to mastitis resistance. J Dairy Sci 1985; 68: 2087-93.
11. Sordillo LM, Nickerson SC. Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. Amer J Vet Res 1988; 49: 1112.
12. Sutura L, Poutrel B. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol 1994; 40: 79-89.
13. Trinidad P, Nickerson SC, Adkinson RW. Histopathology of Staphylococcal Mastitis in Unbred Heifers. J Dairy Sci 1990; 73(3) 639-47.
14. Uppal SK, Singh KB, Nauriyal DC, Bansal BK. Natural defence mechanisms against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. Buffalo J 1994; 2, 125-31.

ENGLISH

EFFECT OF DIFFERENT THICKNESS OF KERATIN LAYER OF *DUCTUS PAPILLARIS* ON STATE OF PARENCHYMA IN COW UDDER

Ivana Davidov, M. Radinović, S. Boboš, Z. Mašić, D. Lalošević

Ductus papillaris presents the frontline of defense of the mammary gland against the penetration of microorganisms into the milk cystem and the mammary gland

parenchyma. The specific structure of *ductus papillaris* is in the *stratum corneum* which lines the *ductus papillaris*. It is a fine layer similar to wax of various thickness. The thickness of the *stratum corneum* depends on the age and breed of the animal, as well as on the number of past lactation periods. The *stratum corneum* or the keratin layer of the *ductus papillaris* has a bacteriostatic and bactericidal effect and prevents the ascendent penetration of microorganisms into the mammary gland.

Measurements of the thickness of the keratin layer of *ductus papillaris* of each udder quarter revealed the existence of different thickness of the keratin layer. Histological examinations of parenchyma sections of each udder quarter showed different degrees of leukocytary infiltration. The degree of the leukocytary infiltration indicates the existence of various inflammatory processes in the parenchyma that occurred due to the weak frontline defense of the mammary gland against the penetration of microorganisms.

Key words: *ductus papillaris*, pathohistology, udder, cow

РУССКИЙ

**ОТНОШЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТОЛЩИН КЕРАТИНОГО СЛОЯ
DUCTUS PAPILLARIS-а И ИНФИЛЬТРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ
В ПАРЕНХИМЕ ВЫМЕНИ КОРОВ**

Ивана Давидов, М. Радинович, С. Бобош, З. Машич, Д. Лалошевич

Ductus papillaris представляет собой первую линию обороны молочной железы от прорыва микроорганизмов в молочную цистерну и паренхиму молочной железы. Специфика строения *ductus papillaris*-а в *stratum corneum*-у, обкладывающий *ductus papillaris*. Это один тонкий слой подобный воску различной толщины. Толщина *stratum corneum*-а зависит от старости и породы единичного животного, словно и от числа лактации. *Stratum corneum* то есть кератиновый слой *ductus papillaris*-а имеет бактериостатическое и бактериоцидное действие и делает невозможный растущий прорыв микроорганизмов в молочную железу.

Измерением толщины кератинового слоя *ductus papillaris*-а каждой четверти вымени коров, установлено существование различных толщин кератинового слоя. Гистологическим осмотром вырезок паренхим каждой четверти вымени коров замечена различная степень лейкоцитарной инфильтрации. Степень лейкоцитарной инфильтрации указывает на существование различных воспалительных процессов в паренхиме, возникшие как слабость обороны первой линии молочной железы от прорыва микроорганизмов.

Ключевые слова: *ductus papillaris*, патогистология, вымя, корова