

AKKARAMAN KOYUNLARININ HEMAL DÜĞÜMLERİNİN HİSTOLOJİSİ VE ALFA-NAFTİL ASETAT ESTERAZ (ANAE) POZİTİF LENFOSİTLERİN YERLEŞİMLERİ ÜZERİNDE IŞIK MİKROSKOPİK BİR ÇALIŞMA

Emrah Sur¹@

Mehmet Faruk Aydın²

İlhami Çelik¹

A Light Microscopic Investigation on the Histology and Alpha-Naphthyl Acetate Esterase (ANAE)-Positive Lymphocyte Localization in the Hemal Nodes of Akkaraman Sheep

Özet: Bu çalışmada, Akkaraman koyunlarındaki hemal düğümlerin histolojik yapıları ve bu organlardaki alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla 2 yaşlı 20 Akkaraman koyunundan alınan hemal düğümü örnekleri materyal olarak kullanıldı. Rutin histolojik işlemleri takiben alınan kesitlere Crossman'ın üçlü boyası, hematoksilen-eozin, Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası, toluidin mavisi, metil-green pironin ve Pappenheim'in panoptik boyama yöntemleri uygulanırken, kriyostat kesitlerinde alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) demonstrasyonu gerçekleştirildi. Hemal düğümlerin düz kas hücrelerini de içeren bağ dokusundan bir kapsülle çevrildiği ve organın, içleri kanla dolu subkapsüler ve derin sinuslardan oluşan gelişmiş bir sinus sistemine sahip olduğu gözlemlendi. Hemal düğümlerin çatısını retiküler bağ dokusu oluşturmaktaydı. Organda korteks ve medula ayırımı belirgin değildi. Lenf folikülleri ve lenfatik kordonlarda plazma hücreleri, megakaryositler, makrofajlar ve mast hücreleri gözlemlendi. Organda belirgin lenf damarları ve lenfatik sinuslara rastlanmadı. ANAE-pozitif lenfositlerin, özellikle sekonder foliküllerin germinal merkezlerinde yoğunlaştığı dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Koyun, hemal düğüm, ANAE.

Summary: This study was performed to determine the histologic structure and localization of the alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE)-positive lymphocytes in hemal nodes of Akkaraman sheep. For this purpose, tissue samples from hemal nodes of twenty, 2-year-old-aged Akkaraman sheeps were used. After processing, tissue sections were taken and stained with Crossman's trichrome, hematoxylin-eosine, Gordon-Sweet's reticular fiber stain, toluidine blue stain, methyl-green-pyronin and Pappenheim's panoptic stain. In frozen sections, alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) was demonstrated. The results showed that the hemal nodes were surrounded by a connective tissue capsule involving smooth muscle fibers and had a sinus system compromised by subcapsular and deep sinuses filled with blood. The node stromal tissues displayed a meshwork pattern of reticular fibers. Cortical and medullar regions were not definite. Lymphatic nodules and cords were formed by clumps of plasma cells, megakaryocytes, macrophages and mast cells. The nodes had no definite lymphatic sinuses. ANAE-positive lymphocytes localized especially in the germinal centers of the secondary lymphatic nodules.

Key Words: Sheep, hemal node, ANAE.

Giriş

Hemal düğümler, uzun yıllardır bilinen, üzerinde değişik çalışmalar ve farklı yorumlar yapılan, ruminantlara özgü organlardır. Özellikle immün sistemdeki rolleri üzerinde yapılan araştırmalar, kanı süzen bu organların dalak benzeri bir fonksiyona sahip olduklarını ve dalağı alınan hayvanlarda büyüdüklerini ortaya koymaktadır. Organ bu nedenle "minyatür dalak" olarak da bilinmektedir (Ceccarelli ve ark., 1986; Tanyolaç, 1999).

Koyun ve keçilerde 1-5 mm boyunda, koyu-kırmızı renkli bu organ; retroperitoneal ve paraaortik olarak yerleşim gösterir. Kan damarları aracılığıyla birbirlerine bağlanan bu oluşumların lenf damarlarına sahip olup-olmadıkları tartışmalıdır (Ezeasor ve Singh, 1990; Yoon ve ark., 1999a). Bununla birlikte hemal düğümlerde hemopoez'in gerçekleştiği konusunda pek çok araştırmacı görüş birliğindedir (Thorp ve ark., 1991; Yoon ve ark., 1999a).

Geliş Tarihi : 18.04.2005 @:emrahsur@selcuk.edu.tr

1. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KONYA

2. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

Yapılan histolojik çalışmalar, organın bağ dokudan bir kapsül içerdiğini ve kapsülün hemen altında yer alan subkapsüler sinusun kanla dolu olduğunu ortaya koymaktadır. Söz konusu subkapsüler sinus kapsülünden organ içine doğru uzanan trabeküller boyunca iç bölgelere ulaşmakta ve bu bölgelerde yine içleri kanla dolu "derin sinusları" oluşturmaktadır (Cerutti ve ark., 1998; Yoon ve ark., 1999a,b). Tipik bir korteks-medula ayırımı yapılamayan hemal düğümlerde lenf folikülleri organın değişik bölgelerine dağılmışlardır (Ezeasor ve Singh, 1988). Bazı araştırmacılar (Gargiulo ve ark., 1987) bu lenf foliküllerini primer ve sekonder lenf folikülleri olarak tanımlamaktadırlar. Organın derinlerinde yer alan lenfoid doku ise "lenfatik kordonlar" ya da "diffüz lenfoid doku" olarak isimlendirilmektedir (Ezeasor ve Singh, 1988; Thorp ve ark., 1991).

Lizozomal bir enzim olan alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi (Knowles ve ark., 1978; Zicca ve ark., 1981), doku ve perifer kan frotilerinde T-lenfosit, B-lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırtılmelerinde kullanılmaktadır (Mueller ve ark., 1975; Higgy ve ark., 1977; Knowles ve Holck, 1978; Pangalis ve ark., 1978; Ranki, 1978; Knowles ve Halper, 1980; Pruthi ve ark., 1987; Blindar ve ark., 1993). Enzimin, T-lenfosit olgunlaşmasının ileri aşamalarında kazanıldığı bildirilmiştir (Basso ve ark., 1980). Pek çok farklı esteraz grubu enzimler gibi ANAE enziminin de, aktive olan T-lenfositlerin sitotoksik fonksiyonları ile makrofajların fagosite ettikleri materyalleri parçalamalarında rol aldığı düşünülmektedir (Mueller ve ark., 1975). Başta insan olmak üzere (Li ve ark., 1972; Çelik ve ark., 1991), sığırlar (Yang ve ark., 1979; Kajikawa ve ark., 1983), tavuklar (Maiti ve ark., 1990), köpekler (Wulff ve ark., 1981; Aşti ve ark., 1993), kediler (Yörük ve ark., 1998) ve farelerde (Mueller ve ark., 1975) T-lenfositlerin ayırımında yararlanan ANAE enziminin, koyun T-lenfositleri için spesifik olmadığı ileri sürülmektedir (Dixon ve Moriarty, 1983).

Bu çalışmada, 2 yaşlı Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinin histolojik yapılarının incelenmesi ve ANAE-pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak mezbahada kesimi gerçekleştirilen 2 yaşlı toplam 20 adet sağlıklı Akkaraman koyununun retroperitoneal ve pelvik bölgelerinden alınan 5'er adet hemal düğümler kullanıldı. Alınan dokular 2 eşit parçaya bölündü. Parçalardan birisi %10'luk tamponlu formal-salin (pH 7,4) solüsyonunda tespit edilirken; ikinci parçalar ise ANAE enzimi demonstrasyonu için 24 saat formal-sükroz (+4 °C, pH 6,8) solüsyonunda tespit edildikten sonra 22 saat Holt solüsyonunda (+4 °C) bekletildi Bu son doku

örneklerinden kriyostatta (Slee London) alınan 12 µm kalınlığındaki kesitler, önceden formaldehit-jelatin karışımı ile muamele edilmiş olan lamlara alınarak oda sıcaklığında (20 °C'de) 30 dakika süreyle kurutuldu.

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi demonstrasyonu:

Bu amaçla, tamponlu fosfat solüsyonunun (pH 5,0) 80 ml'sine, içerisinde 20 mg substrat (alpha-naphthyl acetate, N-8505-Sigma) eritilen 0,8 ml aseton (Merck) dikkatli bir şekilde damlatıldı. Daha sonra %4'lük 2,4 ml sodyum nitrit (S-3421, Merck) solüsyonu ile 2,4 ml pararozanilin (P-3750, Merck) (1 gr pararozanilin, 20 ml distile su, 5 ml konsantre HCl) solüsyonunun 2 dakika bekletilmesi sonucunda elde edilen 4,8 ml hekzazotize edilmiş pararozanilin karışımı, substrat içeren tamponlu fosfat solüsyonuna eklendi. Hazırlanan solüsyonun pH'sı 1N NaOH solüsyonu ile 5,8'e ayarlandıktan sonra hemen süzüldü. Kriyostatta alınan doku kesitleri inkübasyon solüsyonu içerisinde oda sıcaklığında 15 dakika süreyle kontrollü bir şekilde bekletildiler. Kırmızı-kahverengi granüllerin ortaya çıkmasının ardından birkaç kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı (Knowles ve Holck 1978).

Uygulanan diğer histolojik yöntemler:

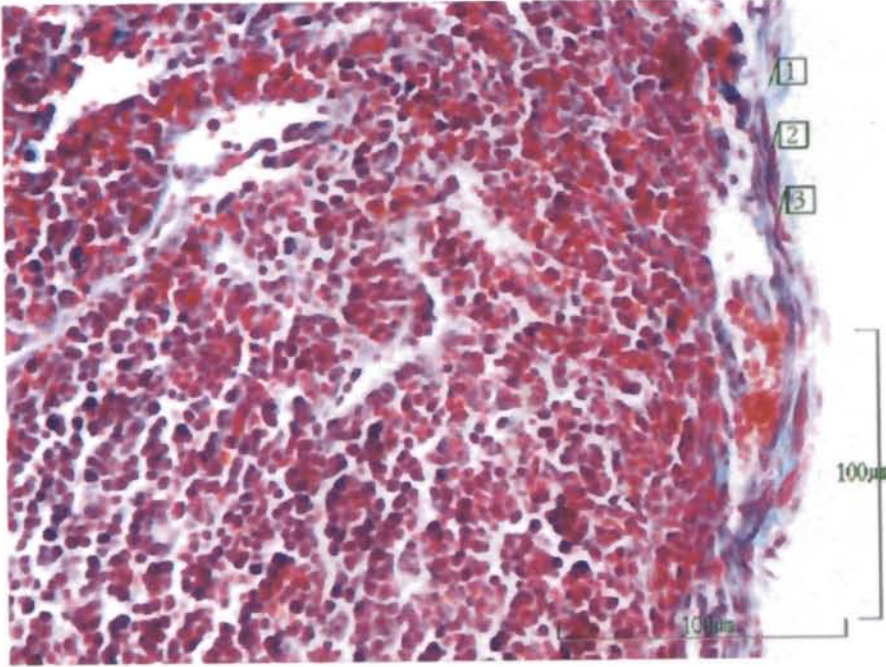
Yüzde onluk tamponlu formal salin solüsyonunda tespit edilen dokular rutin histolojik metotlarla takip edilerek parafinde bloklandılar. Bloklardan alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler Crossman'ın üçlü boyaması, hematoksilen-eozin (Culling ve ark 1985), methyl-green pyronin (Stewens ve Bancroft 1990), Gordon ve Sweets'in retiküler iplik boyaması (Bradbury ve Gordon 1990), toluidine blue-pH 0,5 (Eren ve ark., 1999) ile Pappenheim'in Panoptik boyama (Konuk 1981) yöntemleriyle boyandılar.

Hazırlanan preparatlarda gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları, DS-5M dijital kamera ve DS-L1 kamera kontrol ünitesiyle donatılan Nikon E-400 model mikroskopla çekildi.

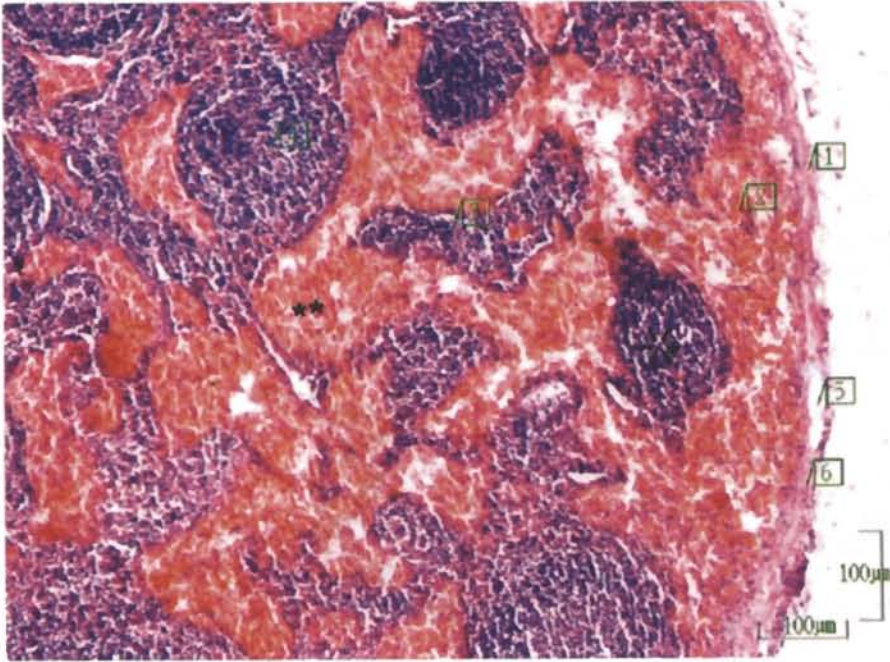
Bulgular

Histolojik bulgular:

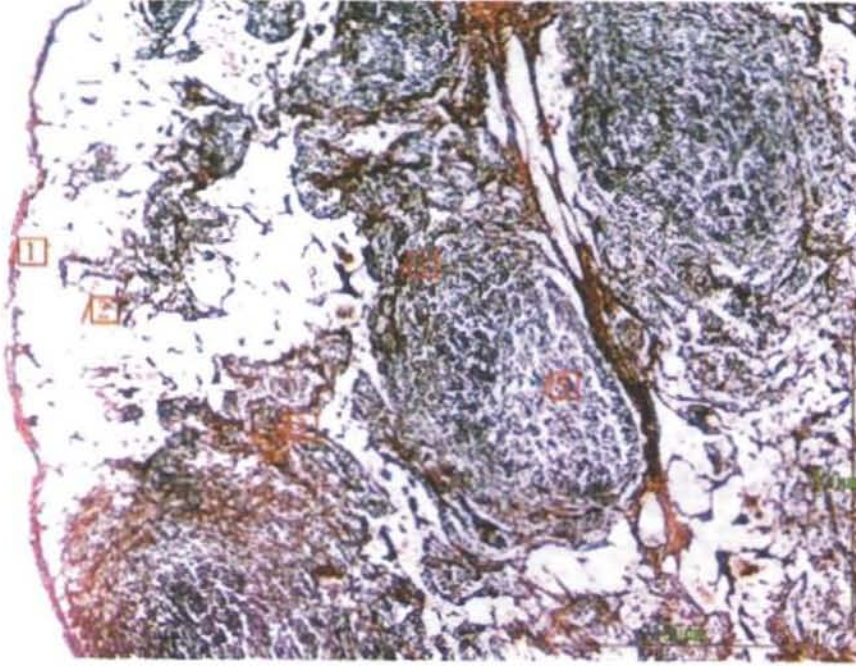
Organın bağ dokusundan bir kapsülle sarılı olduğu ve kapsülün kollajen ipliklerin yanı sıra düz kas hücreleri içerdiği görüldü (Şekil 1). Kapsülün hemen altında ise içi kanla dolu olan geniş bir subkapsüler sinus dikkati çekti. Söz konusu subkapsüler sinus lenfoid doku ve bağ dokusundan organ içine uzanan trabeküller etrafında organın derinliklerine kadar devam ederek derin kan sinuslarını oluşturmaktaydı (Şekil 2).



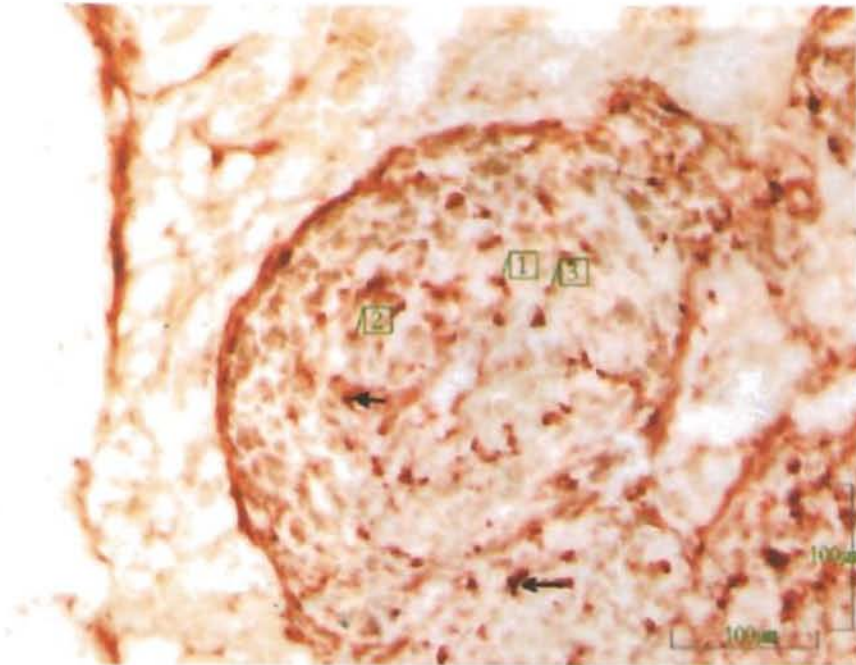
Şekil 1. 1, kapsül; 2 ve 3, kapsülde yer alan düz kas hücreleri. Üçlü boyama. Bar: 100 µm



Şekil 2. 1, kapsül; 2, subkapsüler sinus; 3, lenfatik kordon; 4, sekonder folikül; 5, kapsülde yer alan bir vena; 6, düz kas hücreleri; *, primer folikül; ** derin sinus. Hematoksilen-Eozin. Bar: 100 µm



Şekil 3. 1, kapsül; 2, subkapsüler sinus; 3 ve 4, retiküler iplikler; 5, sekonder bir lenf folikülünün retiküler ağdan bir çatı ile sınırlanmış germinal merkezi. Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyaması. Bar: 100 µm



Şekil 4. Sekonder folikülün germinal merkezinde yoğunlaşmış ANAE-pozitif lenfositler (1, 2, ve 3) ile diffüz ANAE pozitivitesine sahip retikulum hücreleri ve makrofajlar (oklar) görülmektedir. ANAE demonstrasyonu. Bar: 100 µm

Organın paranzimi lenf folikülleri ve lenfatik kordonlardan oluşurken, tipik bir korteks-medula ayırımı yapılamamaktaydı. Lenf foliküllerinin bir bölümü primer lenf folikülü iken, bir bölümü germinal merkezli sekonder lenf folikülü tarzındaydı (Şekil 2). İncelenen kesitlerde lenf damarına rastlanmadı.

Lenf folikülü ve lenfatik kordonlarda megakaryositler ve makrofajlar dikkati çekerken, yer yer plazma hücreleri ve mast hücreleri görüldü.

Organ retiküler bağ dokusundan bir çatıya sahipti (Şekil 3). Özellikle sinusların içini döşeyen endotel hücrelerinin retikulum hücre ve iplikleriyle desteklendiği dikkati çekti.

ANAE demonstrasyonu yapılan kesitlerin incelemede, iki tip ANAE pozitivitesine rastlandı. Makrofajlarla retikulum hücrelerinin sitoplazmalarında diffüz pozitif reaksiyon gözlenirken, lenfositlerdeki pozitive tipi ise lokalize granüler tarzdaydı (Şekil 4). ANAE-pozitivitesine sahip lenfositlerin sekonder foliküllerin germinal merkezinde yoğunlaştıkları dikkati çekerken; primer lenf folikülleri, foliküller arası bölgeler ve lenfatik kordonlardaki lenfositlerin bazılarının da ANAE-pozitif oldukları gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Ruminantlarda paraaortik ve retroperitoneal olarak yerleşim gösteren hermal düğümlerin fonksiyonları ile histolojik yapıları üzerinde yapılan araştırmalar, organın her ne kadar lenf yumrusu ve dalak ile benzer özelliklere sahip olsa da, bunlardan farklı olarak kendilerine özgü bir takım özellikler taşıdığını ortaya koymuştur (Ceccarelli ve ark., 1986; Thorp ve ark., 1991).

Embriyonik dönemin başlarında sıradan lenf yumrularına benzeyen hermal düğümlerde, ilerleyen dönemlerde başlayan miyelopoietik ve eritropoietik aktivite dikkati çekmektedir. Sığır embriyolarında yapılan bir çalışmada (Windquist, 1954), 18 cm.'lik sığır embriyosunun hermal düğümlerinde lenfoid doku içerisinde eritropoietik odakların göze çarptığı, 33 cm.'lik embriyoda ise primer foliküllerin geliştiği ileri sürülmektedir. Aynı çalışmada fetal dönemin ilerleyen aşamalarında sinusların genişleyerek kanla dolduğu, 90cm.'lik fütusta kapsülün iç katmanlarında düz kas hücrelerinin belirmeye başladığı bildirilmektedir. Embriyonik ve fetal dönem boyunca gerek lenfoid doku ve gerekse sinuslar içinde megakaryositlerin değişim ve oluşum aşamalarına rastlanırken, özellikle arterlerin adventisya katmanlarında nötrofil ve eozinofil granülositlerin olgunlaşmamış formlarının yer aldığı miyeloid dokunun varlığı ortaya konmuştur (Windquist, 1954).

Erişkin ruminantlara ait hermal düğümlerin kesitlerinde bağ dokusundan kapsül ve bunun organ içine göndermiş olduğu uzantılar olan trabeküllerin dikkati çektiği ve tip-I kollajen ipliklerin yoğun olduğu bu kapsül ile trabeküllerde, dalakta olduğu gibi kanı genel dolaşıma vermekte rol aldıkları düşünülen düz kas hücrelerinin varlığından bahsedilmektedir (Singh, 1959; Constantinescu ve ark., 1988; Ezeasor ve Singh, 1988). Söz konusu bu kapsülün hemen altında ise içi tamamen kanla dolu bir subkapsüler sinusun bulunduğu; bu sinusun lenfatik doku ve trabeküller etrafında organın derinliklerine kadar devam ederek derin sinusları oluşturduğu ileri sürülmektedir (Yoon ve ark., 1989; Ezeasor ve Singh, 1990). Buna karşın sığırlarda varlığı bildirilen merkezi sinusun koyun ve keçilerde bulunmadığı bildirilmektedir (Gargiulo ve ark., 1987). Gerek subkapsüler sinus ve gerekse derin kan sinuslarının içini ise endotel benzeri retikulum hücrelerinin döşediği, bu hücrelerin retikulum iplikleri ile desteklendiği ve üzerine oturmuş oldukları bazal membranın da tip-IV kollajenden zengin olduğu işaret edilmektedir (Yoon ve ark., 1990; Cerutti ve ark., 1998; Yoon ve ark., 1999b).

Organda lenfoid dokunun organizasyonu ise biraz farklıdır. Lenf folikülleri ve lenfatik kordonların organ içerisinde düzenli bir yerleşim göstermemeleri tipik bir korteks-medula ayırımının yapılmasını güçleştirmektedir (Windquist, 1954; Yoon ve ark., 1989, 1999a). Bununla birlikte bazı araştırmacılar (Ezeasor ve Singh, 1988) subkapsüler sinus ve buna yakın yerleşim gösteren lenf foliküllerin kortikal yapılar, organın daha derinlerinde yer alan derin kan sinusları ve lenfatik kordonları da medular yapılar olarak tanımlarlarken; bazı araştırmacılar ise (Thorp ve ark., 1991) organı subkapsüler sinus, derin kortikal oluşumlar ve medula olarak bölümlendirmektedirler. Söz konusu bu yapıların da tüm lenfoid organlarda olduğu gibi güçlü bir retiküler bağ dokusu tarafından desteklendiği bildirilmektedir (Gargiulo ve ark., 1987; Yoon ve ark., 1990; Cerutti ve ark., 1998).

Yapılan bu çalışmada ise bahsedilen her üç görüşle uyumlu kabul edilebilecek bulgular elde edilmiştir. Lenf yumrularında olduğu gibi belirgin bir korteks-medula ayırımı yapılamamakla birlikte, organda geniş bir subkapsüler sinus ve buna yakın yerleşim gösteren lenf folikülleri ile iç bölgelerde lenfatik kordonların etrafını saran derin kan sinuslarının bulunduğu; bu yapıların da daha önceki çalışmalarda bahsedildiği gibi güçlü bir retiküler bağ dokusu ile desteklendiği görülmüştür. Bunun yanında bazı araştırmacıların (Gargiulo ve ark., 1987; Thorp ve ark., 1991) ileri sürdüğü gibi primer ve sekonder lenf folikülleri de yine bu çalışmada dikkati çekmiştir.

Kan dolaşımı açısından organın kendine has özelliklerinin olduğu ileri sürülmektedir. Garguilo ve ark. (1987) hilus bölgesinden giren aferent arterin dallanarak dış kapsüle ulaştığını ve taşıdığı kanı subkapsüler sinusa boşalttığını; kanın buradan dağılımının ise retiküler hücreler tarafından oluşturulan ve subkapsüler sinusa bağlantılı kanal benzeri yapılarla gerçekleştirildiğini, bu kanalların doğrudan retiküler ağ içine açıldığını ileri sürmektedirler. Dalaktaki açık-yavaş dolaşıma benzeyen bu sirkülasyonun, hemal düğümlerin hemositolitik ve immünolojik fonksiyonları ile ilgili olabileceği de aynı araştırmacılar tarafından ortaya atılmaktadır.

Hemal düğümlerde venöz dolaşımın paranzimdeki venüllerle başladığı, trabeküllere yakın yerleşim gösteren bu venüllerin birleşerek venleri oluşturduğu, dış kapsüle ulaşan bu venlerin ise kapsülün değişik noktalarından organı terk ettiği bildirilmektedir. Venöz kan aynı zamanda hilus bölgesinde yerleşen büyük eferent damar tarafından da organdan uzaklaştırılmaktadır (Garguilo ve ark., 1987).

Organın lenfatik dolaşımı hakkında değişik görüşler mevcuttur. Pek çok araştırmacı (Yoon ve ark., 1989; Thorp ve ark., 1991; Yoon ve ark., 1999a; Akaydin ve Kabak, 2004) organın lenf damarı içermediğini bildirirken; bazı araştırmacılar (Ezeasor ve Singh, 1988; 1990) lenf damarlarının varlığından bahsetmektedirler. Ezeasor ve Singh (1990) subkapsüler sinus ile kortekse karşılık gelen bölgedeki lenf folikülleri arasında sirkumferensiyel lenf damarlarının bulunduğunu, bunların iç bölgelerdeki devamı niteliğindeki radial lenf damarlarının ise birleşerek organı hilus bölgesinden terk eden eferent lenf damarını oluşturduklarını bildirmektedirler. Bu araştırmacılar, diğer araştırmacıların hemal yumrulara lenf damarlarının bulunmadığı yönündeki bulgularının, yaşla birlikte genişleyen kan sinuslarının paranzimi tamamen işgal ederek lenf akışını bastırması ve bu histolojik değişimin lenf damarlarının kesitlerde gözlenmemiş olmasından ileri gelebileceğini de iddia etmektedirler.

Bu çalışmada da subkapsüler sinus ile organın derinliklerindeki kan sinuslarını birbirine bağlayan ve retikulum hücre ve ipliklerince de desteklenen genişlemiş kan damarlarının bulunduğu dikkati çekmekteydi. Hilus bölgesinde ise organa kanı getiren aferent arter ile organdan venöz kanı uzaklaştıran geniş bir vena gözlenmiştir. Kapsül üzerinde de değişik noktalardan organı terk eden küçük venalar bulunmaktaydı. Buna karşın kesitlerde lenf damarlarına rastlanmadı.

Hemal düğümler pek çok araştırmacı tarafından

fonksiyonel olarak dalağa benzetilmektedir (Ceccarelli ve ark., 1986; Thorp ve ark., 1991). Dolaşımdaki antijenlere karşı immünolojik olarak aktif lenfositlerin şekillenmesi, kan depolama ve süzme, eritrosit fagositozu yapan makrofajlar ve kan pulçukları üreten megakaryositlerin bulunması, organın dalakla benzeşen fonksiyonel özellikleri olarak dikkati çekmektedir (Ceccarelli ve ark., 1986; Ezeasor ve Singh, 1988; Ezeasor ve ark., 1989; Thorp ve ark., 1991). Ayrıca bazı araştırmacılar keçi hemal düğümlerinde eozinofil granülositlerce de eritrosit fagoitozunun gerçekleştirildiğini bildirmektedirler (Ezeasor ve ark., 1989). Özellikle lenfatik kordonlarda yerleşim gösteren plazma hücreleri, mast hücreleri, makrofaj ve megakaryositler organın fonksiyonları açısından önemli ip uçları olarak değerlendirilmektedir (Ezeasor ve Singh, 1988; Yoon ve ark., 1999a). Ceccarelli ve Guerrero (2001) ise, sığır hemal düğümlerinde T-lenfosit çoğalması ve B-lenfosit farklılaşmasında rol alan interlökin-4 (IL-4) üreten Th2 hücrelerinin varlığından bahsederek, organın hücrel ve sıvısal bağışıklıkta rol aldığını ileri sürmektedirler.

Bu çalışmada da lenfatik kordonların özellikle kan sinuslarına bakan bölümlerinde yer yer plazma hücresi ve mast hücresi gözlenirken; çok sayıda makrofaj ve megakaryositin varlığı dikkati çekmiştir.

Hemal düğümlerde lenfosit alt tiplerinin yerleşimleri üzerinde yapılan çalışmalarda T- ve B-lenfositlerin farklı bölgelerde lokalize oldukları; hatta T-lenfosit alt tiplerinin de kendilerine özgü bölgelerde yerleştiklerinin üzerinde durulmaktadır. Sığır ve koyun hemal düğümlerinde yapılan bir çalışmada (Ceccarelli ve ark., 1986) primer foliküllerde ve sekonder foliküllerin korteksinde yer alan lenfositlerin ATP-az ve 5'nükleotidaz-pozitif olmalarının yanı sıra yüzey immünglobulinlerine (slg) de sahip olmaları nedeniyle B-lenfosit oldukları; foliküller arası bölge ile sekonder foliküllerin germinal merkezinde yer alan bazı lenfositlerin ise alfa-naftil asetat esteraz (ANAE)-pozitif olmaları nedeniyle de T-lenfosit oldukları ileri sürülmektedir. Buna karşın bazı araştırmacıların (Dixon ve Moriarty, 1983), ANAE enziminin koyunlarda T-lenfositleri için spesifik olmadığı şeklindeki bulguları ise Ceccarelli ve ark. (1986) 'nın yukarıda bahsedilen bulgular ile çelişmektedir. Aynı çalışmada (Ceccarelli ve ark., 1986) lenfatik kordonlardaki bir kısım lenfositin asit fosfataz (ACP-az)-pozitif olduğundan da bahsedilmektedir. Thorp ve ark. (1991)'nın koyunlarda yapmış oldukları çalışmada ise organın medulaya karşılık geldiği öne sürülen iç bölgelerindeki lenfatik kordonlarda yer alan lenfositlerin T-lenfositler olduğu, bu bölgelerde yer alan damarların etrafındaki lenfositlerin pek çoğunun da CD4-pozitif lenfositler oldukları ileri sürülmektedir. Ayrıca aynı çalışmada CD4

ve CD8-pozitif hücrelerin koyun hermal düğümlerindeki oranının sırasıyla %50 ve %7, B-lenfosit oranının ise %46 olduğu tespit edilmiştir. Thorp ve ark. (1991)'nin, hermal düğümlerdeki bazı damarların etrafının T-lenfositlerce kuşatılmış olduğu şeklindeki bulguları, organın dalakla olan benzerliğini ortaya koysa da, lenfosit alt tiplerinin oranları dikkate alındığında dalakla belirgin farklılıkların bulunduğu ve dolayısıyla hermal düğümlerin immün sistemde kendilerine has özellikleri ve görevleri olan özel organlar olduklarını akla getirmektedir. Yoon ve ark. (1999a) ise Kore keçilerinin hermal düğümlerde T- ve B-lenfosit dağılımının yaşla birlikte belirgin bir değişim göstermediğine dikkati çekmişlerdir.

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi lizozomal bir enzim olup (Knowles ve ark., 1978; Zicca ve ark., 1981), doku ve perifer kan frotilerinde T-lenfosit, B-lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırt edilmelerinde kullanılmaktadır (Mueller ve ark., 1975; Blindar ve ark., 1993; Aşti ve ark., 1996). Lenfoid dokularda yapılan çalışmalarda; ANAE pozitif hücrelerin, lenf yumrularında parakortikal (Mueller ve ark., 1975; Wulff ve ark., 1981) ve interfoliküler bölgelerde, tonsillalarda interfoliküler bölgelerde (Knowles ve Holck, 1978), dalakta arteriya sentralis'i saran periarteriyoler lenfoid kılıfta (Mueller ve ark., 1975; Knowles ve Holck, 1978), bronş-ilişkili lenfoid dokularda lenf foliküllerinin korteksinde (Kurtde de ve ark.,2000) ve timusta medula bölgesinde lokalize oldukları tespit edilmiştir. Lenf yumruları ile dalak ve tonsillaların lenf foliküllerinin germinal merkezlerindeki lenfositler ile kortikal timositler ANAE enzimi aktivitesine sahip değildiler (Mueller ve ark., 1975; Knowles ve Holck, 1978; Wulff ve ark., 1981).

Yapılan bu çalışmada da primer foliküller, foliküler arası bölge ve lenfatik kordonlardaki lenfositlerin bazıları ile sekonder foliküllerin germinal merkezinde yer alan lenfositlerin büyük bir bölümünün ANAE-pozitif oldukları görülmüştür. Ayrıca makrofaj ve retikulum hücrelerinin de sitoplazmalarında diffüz ANAE enzimi aktivitesi dikkati çekmiştir.

Tüm bu bulgular ve değerlendirmeler ışığında koyunlardaki hermal düğümlerin lenfatik doku organizasyonu açısından lenf yumrularını andırdığı, buna karşın fonksiyonel açıdan ve lenf damarlarının bulunmaması nedeniyle de dalağa benzediği; ANAE-pozitif lenfositlerin ise sekonder foliküllerin germinal merkezinde yoğunlaşmakla birlikte primer foliküller, foliküller arası bölge ve lenfatik kordonlarda da tek tük gözleendiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Akaydın, Y. ve Kabak, M. (2004). Evcil domuz yavrularında (SUS SCROFA DOMESTICUS) hermal düğümlerin morfolojisi. 3. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi, Kuşadası, Aydın
- Aşti, R.N., Kurtde de, N. ve Ergün, L. (1993). Kagal köpeklerinin perifer kan T-lenfositleri üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmaları. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 40 (4),563-576.
- Aşti, R.N., Alabay, B., Kurtde de, N., Altunay, H. ve Ergün, L. (1996). Farklı hayvan türlerinin perifer kan lökositlerinde alfa-naftil asetat esteraz aktivitesinin belirlenmesi. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 43 (2),129-133.
- Basso, G., Cocito, M.G., Semenzato, G., Pezzutto, A. and Zanesco, L. (1980). Cytochemical study of thymocytes and T lymphocytes, Br J Haematol,44, 577-582.
- Blindar, V.N., Lebedeva, N.B., Zubrikhina, G.N., and Soloveva, E.A. (1993). Alpha-naphthyl acetate esterase-a cytochemical marker of the T-helpers. Klin. Lab. Diagn., 6, 38-40.
- Bradbury, P. and Gordon, K.C. (1990). Connective tissues and stains, In "The Theory and Practice of Histological Techniques", Eds. by JD Bancroft and A Stewens, 119-142, 3rd edition, The Bath Press, Avon.
- Ceccarelli, P., Gargiulo, A.M., Fagioli, O. And Pedini, V. (1986). Cytochemical identification of lymphocytes and other mononuclear cells in ovine and bovine hermal nodes. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 9 (4), 297-302.
- Cerutti, P., Marcaccini, A. and Guerrero, F. (1998). A scanning and immunohistochemical study in bovine haemal node. Anat. Histol Embryol. 27, 387-392.
- Cerutti, P. and Guerrero, F. (2001). Identification of positive cells to interleukin-4 in bovine haemal nodes, Anat. Histol. Embryol., 30(4), 219.
- Constantinescu, G.M., Brown, E.M. and McLure, R.C. (1988). Accesory parotid lymph and hermal nodes in the temporal fossa in three oxen. The Cornell Veterinarian, 78 (2), 147-154.
- Culling, C.F.A., Allison, R.T. and Barr, W.T. (1985). Cellular Pathology Technique, Butterworths and Co Ltd, London.
- Çelik, İ., Aşti, R.N. ve Ergene, N. (1991). İnsan perifer kanındaki B, T ve Null lenfositlerinin esteraz sitokimyası ve yüzey immünoglobülinlerinin immünoenzimatik yöntemle boyanarak belirlenmesi, S.Ü. Tıp. Fak. Derg.,7(4), 497-503.
- Dixon, R.J. and Moriarty, K.M. (1983). Alpha-naphthyl acetate esterase activity is not a specific marker for ovine T lymphocytes. Vet. Immunol. Immunopathol., 4 (4), 505-512.
- Eren, Ü., Aşti, R.N., Kurtde de, N., Sandıkçı, M. ve Sur, E. (1999). İnek uterusunda mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özellikleri ve mast hücre heterojenitesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23 (1): 193-201.
- Ezeasor, D.M. and Singh, A. (1988). Histology of the cap-

rine hemal node. *Acta Anat.*, 133, 16-23.

Ezeasor, D.N., Singh, A. and Sims, D.E. (1989). Erythrophagocytosis in the caprine hemal node. *Acta Anat.*, 134, 341-345.

Ezeasor, D.M. and Singh, A. (1990). Morphological features of lymph vessels in caprine hemal nodes. *American Journal of Veterinary Research*, 51 (7) 1139-1143.

Gargiulo, A.M., Ceccarelli, P. and Pedini, V. (1987). Architecture of sheep haemal nodes. *Research in Veterinary Science*, 42, 280-286.

Higgy, K.E., Burns, G.F. and Hayhoe, F.G.J. (1977). Discrimination of B, T and Null lymphocytes by esterase cytochemistry. *Scand. J. Haematol.*, 18, 437-448.

Kajikawa, O., Koyama, H., Yashikawa, T., Tsubaki, S. and Saito, H. (1983). Use of alpha-naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 44(8), 1549-1552.

Knowles, D.M., Hoffman, H.T., Ferrarini, M. and Kunkel, H.G. (1978). The demonstration of acid α -naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes: Usefulness as a T-cell marker. *Cell. Immunol.*, 35, 112-123.

Knowles, D.M. and Holck, S. (1978). Tissue localization of T-lymphocytes by the histochemical demonstration of acid α -naphthyl acetate esterase. *Lab. Invest.*, 39(1), 70-76.

Knowles, D.M. and Halper, J.P. (1980). Human medullary and cortical thymocytes are distinguishable according to the presence or absence of cytochemically demonstrable acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity. *J. Immunol.*, 125(6), 2823-2825.

Konuk, T. (1981). *Pratik Fizyoloji*, A.Ü. Vet. Fak. Yayın., 378, AÜ Basımevi, Ankara.

Kurtdede, N., Aşti, R.N., Ergün, L. ve Ergün, E. (2000). Ankara keçilerinin bronş-ilişkilili lenfoid dokusu (BALT) üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. *A.Ü.Vet.Fak.Derg.*, 47 (1), 51-58.

Li, C.Y., Yam, L.T. and Crosby, W.H. (1972). Histochemical characterization of cellular and structural elements of human spleen. *J. Histochem. Cytochem.*, 20(12), 1049-1058.

Maiti, N.K., Saini, S.S. and Sharma, S.N. (1990). Histochemical studies on chicken peripheral blood lymphocytes. *Vet. Res. Commun.*, 14, 207-210.

Mueller, J., Brundel, Re G., Buerki, H., Keller, H.U., Hess, M.W. and Cottier, H. (1975). Nonspecific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. *Eur. J. Immunol.*, 5, 270-274.

Pangalis, G.A., Waldman, S.R. and Rappaport, H. (1978). Cytochemical findings in human nonneoplastic blood and tonsillar B and T lymphocytes. *Am. J. Clin. Pathol.*, 69, 314-318.

Pruthi, A.K., Gupta, R.K.P. and Sadana, J.R. (1987). Acid alpha naphthyl acetate esterase activity in peripheral blood lymphocytes and monocytes of chickens. *J. Vet. Med. A.*, 34, 390-392.

Ranki, A. (1978). Non-specific esterase activity in human lymphocytes. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 10, 47-58.

Singh, A. (1959). On the microscopic structure of haemal nodes of buffalo calves. *British Veterinary Journal*, 115, 271-273.

Stewens, A. and Bancroft, J.D. (1990). Proteins and nucleic acids, in "The Theory and Practice of Histological Techniques", Eds. by JD Bancroft and A Stewens, 177-213, 3rd Edition, The Bath Press, Avon.

Tanyolaç, A. (1999). *Özel Histoloji*, Ankara.

Thorpe, B.H., Seneque, S., Staute, K. and Kimpton, W.G. (1991). Characterization and distribution of lymphocyte subsets in sheep hemal nodes. *Developmental and Comparative Immunology*, 15, 393-400.

Windquist, G. (1954). The bovine hemal nodes. *Acta Anat.*, 22, 108-112.

Wulff, J.C., Sale, G.E., Deeg, H.J. and Storb, R. (1981). Nonspecific acid esterase activity as a marker for canine T-lymphocytes. *Exp. Hematol.*, 9(8), 85-870.

Yang, T.J., Jantzen, P.A. and Williams, L.F. (1979). Acid α -naphthyl acetate esterase: presence of activity in bovine and human T- and B lymphocytes. *Immunology*, 38, 85-93.

Yoon, Y.S., Lee, J.S., Lee, H.S. and Kim, J.S. (1989). Morphological studies on the hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *The Korean Journal of Anatomy*, 22 (2), 261-278.

Yoon, Y.S., Lee, J.S., Lee, H.S., Lee, I.S., Kim, D.J. and Kim, J.S. (1990). Ultrastructural studies on the hemal node and the hemolymph node in the Korean native goat. *Korean Society of Electron Microscopy*, 20 (1), 77-89.

Yoon, Y.S., Shin, J.W. and Lee, J.S. (1999a). Ultrastructure of hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean Journal of Veterinary Research*, 39 (5), 855-864.

Yoon, Y.S., Shin, J.W. and Lee, J.S. (1999b). Age-related morphological studies on hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean Journal of Veterinary Research*, 39 (5), 865-877.

Yörük, M., Aşti, R.N., Kurtdede, N., Ağaoğlu, Z., Altunay, H. (1998). Light and electron microscopic studies on alpha-naphthyl acetate esterase activity of the peripheral blood T-lymphocytes in Van cat. *Anat. Histol. Embryol.*, 27(5), 289-292.

Zicca, A., Zeprini, A., Cadoni, A., Franzi, A.T., Ferrarini, M. and Grossi, C.E. (1981). Ultrastructural localization of alpha-naphthyl acetate acid esterase in human Tm lymphocytes. *Am. J. Pathol.*, 105(1), 40-46.