

## HORMONAL BURSEKTOMİNİN BAZI KAN PARAMETRELERİ İLE LÖKOSİT ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Ercan Keskin<sup>1</sup>

Zafer Durgun<sup>1</sup>

Hasan Hüseyin Dönmez<sup>2</sup>

Nurcan Dönmez<sup>1</sup>

### Effect of Hormonal in Ovo Bursectomy on Some Blood Parameters and Leucocyte Percentages

**Summary:** In the study, 20 hormonally bursectomized and 20 intact (control) eggs from native hibrit lines were used. Haematological examinations were performed in these birds at 1., 5., 10. and 15 th weeks of their ages. It was not obtained any differences between the groups in respect of erythrocyte, leucocyte and thrombocyte counts, haemoglobine and haematocrit levels at any time period. Percentages of lymphocyte in the bursectomized group were significantly lower than in the control animals at 1 and 5 th weeks of their ages ( $P<0.05$ ). In the same sampling times eosinophil percentages (7.80, 6.60 %, respectively) in the bursectomized group were observed to be significantly higher than those in the control group (3.80, 4.20 %, respectively). On the other hand in the bursectomized group heterophil counts were determined relatively higher due to the decrease in lymphocyte counts as compared with the control group. The differences between the groups in respect of the percentages of lymphocyte, heterophil and eosinophil were disappeared after 5 th week although eosinophil and heterophil counts were still higher in the bursectomized group. In conclusion, hormonal in ovo bursectomy like surgical bursectomy resulted in higher eosinophil count and both B and T lymphocytes are necessary to maintain eosinophil count in normal range.

**Key words :** Bursectomy, leucocyte percentage, eosinophil.

**Özet:** Araştırmada 20 adet hormonal ovo bursektomili ve 20 adet sağlıklı döllenmiş yumurta kullanıldı. Her gruptaki hayvanlardan yaşlarının 1., 5., 10. ve 15. haftalarında kan alındı. Araştırmada alyuvar, akyuvar ve trombosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit değer açısından gruplar arası farklılık yoktu. Çalışmanın 1. ve 5. haftalarında bursektomili grupta lenfosit yüzdesi kontrol grubununkinden önemli oranda düşük bulundu ( $P<0.05$ ). Aynı örnekleme zamanlarında eozinofil yüzdesi bursektomili grupta (% 7.80, 6.60) kontrol grubununkinden (% 3.80, 4.20) önemli oranda yüksek bulunurken, relatif bir heterofili belirlendi. Diğer örnekleme zamanlarında ise bursektomili hayvanlarda lenfosit oranı düşük, eozinofil ve heterofil oranı kontrol grubundakinden yüksek seyretmesine rağmen istatistiksel önemin ortadan kalktığı dikkati çekti. Sonuç olarak hormonal ovo bursektomi; şırıjikal bursektomide olduğu gibi eozinofil sayısında artışa yol açarken eozinofil sayısının normal sınırlarda korunabilmesi için B lenfositlerin de gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar kelimeler :** Bursektomi, lökosit yüzdeleri, eozinofil.

### Giriş

Bursektomi, uygulanan metot ve zamana göre immunolojik yanıtta değişik derecelerde yetersizliklere yol açmaktadır. Kimyasal ve şırıjikal bursektomi uygulanan piliçler sınırlı B lenfosit sisteminden normale kadar farklılıklar sergilemişlerdir (Van Alten ve ark., 1968; Glick,1971; Kincade ve Cooper, 1973; Eskola ve Toivanen, 1974; Giambone ve ark., 1981).

sektomi uygulanan piliçlerde yapılan histolojik değerlendirmelerin birçoğu (inkubasyonun 52-60. saatleri) B lenfosit, yüzey ve sitoplazmik immunglobulinli hücreler, immunglobulin (Ig) üreten hücreler ve plazma hücrelerinin oluşturulmadığını göstermiştir (Eerola ve ark., 1983; Veromaa ve ark., 1987). Bütün bunlara bağlı olarak şırıjikal olarak ve embriyonal dönemde bursektomi yapılan piliçlerin total olarak spesifik antitadileri üretmedikleri belirlenmiştir (Jalkanen ve ark., 1984; Toivanen ve ark., 1987).

Erken embriyonal dönemde şırıjikal bur-

Diğer taraftan eozinofili, paraziter ve hel-

mintik enfeksiyonlarda belirgin bir yanıtıdır. Eozinofili aynı zamanda allerjik reaksiyonlar, bazı neoplazmalar ve hipereozinofilik sendromla ilişkilidir (Beeson ve Bass, 1977; Colley ve ark., 1986). Eozinofil gelişiminin T lenfositler ve bunların ürünlerine bağlı olduğu ileri sürülmektedir (Basten ve Beeson, 1970).

Somwanshi ve Mohanty (1993) 13 haftalık piliçlerde gerçekleştirilen şirurjikal bursektomi sonucu bu hayvanlarda alyuvar ve akyuvar sayısının kontrol grubununkine göre azaldığını bildirirlerken, differensiyal lökosit sayısının lenfopeni, nötrofil ve eozinofil tablosu sergilediğini kaydetmektedirler. Korpela ve ark. (1987) embriyonal dönemin 60. saatinde şirurjikal bursektomi yapılan 10 haftalık piliçlerde T lenfosit fonksiyonunun normal bulunduğu halde eozinofil sayısının anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışmada şirurjikal bursektomiden farklı olarak kimyasal ovo bursektominin bazı kan parametreleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

Araştırmada 40 adet fertilize tavuk yumurtası kullanıldı. Yumurtalardan 20 tanesi inkubasyonun 36. saatinde % 2'lik testesteron propianat (% 96'lık alkolde çözündürülmüş) solusyonuna 5 sn daldırılarak bursektomi gerçekleştirildi (Glick ve Mc Duffie, 1975). Diğer yumurtalar ise kontrol olarak kullanıldı. Hayvanlar yumurtadan çıktıktan sonra araştırma sonuna kadar standart ticari tavuk yemi ile beslendi.

Çalışmada yaşlarının 1., 5., 10. ve 15. haftalarında her gruptan 5'er hayvan kesilerek kan örnekleri alındı. Kan örneklerinde alyuvar, akyuvar ve trombosit sayıları Natt Herrick solusyonu kullanılarak thoma lamında sayıldı. Hb miktarı Sahli'nin asit-hematin yöntemi ile, hematokrit değer ise mikrohematokrit yöntem ile belirlenirken, akyuvar yüzdeleri May Grünwald-Giemsa yöntemi ile boyanmış kan frotilerinde mikroskopik olarak hesaplandı.

Araştırma boyunca her iki gruptan elde edi-

len bulguların aritmetik ortalamaları ve standart hataları ile aynı örnekleme zamanında gruplar arası farklılıkların olup olmadığı "standart t testi" kullanılarak hesaplandı.

### Bulgular

Araştırmada kontrol grubunda ve bursektomili hayvanlarda alyuvar, akyuvar ve trombosit sayıları ile hematokrit değer, hemoglobin miktarı ve akyuvar tiplerinin yüzde oranlarına ait değerler Tablo 1'de verildi.

### Tartışma ve Sonuç

Somwanshi ve Mohanty (1993) 13 haftalık piliçlerde yapılan şirurjikal bursektomi sonucu alyuvar ve akyuvar sayılarında önemli bir azalma meydana geldiğini bildirmelerine karşın, bu çalışmada hormonal ovo bursektomi uygulanan hayvanlarda gerek bu parametreler gerekse trombosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değer açısından örnekleme zamanları arasında önemli bir farklılık belirlenemedi (Tablo 1).

Araştırmada 1. ve 5. haftalarda elde edilen sonuçlar kimyasal ovobursektominin lenfosit sayısını önemli oranda ( $P < 0.05$ ) baskıladığını, eozinofil sayısını ise artırdığını göstermektedir (Tablo 1). Araştırmanın 10. ve 15. haftalarında daha önceki dönemlerde belirlenen farklılığın ortadan kalktığı, fakat yine de bursektomili hayvanlarda lenfosit sayısının düşük, eozinofil sayısının ise yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 1).

Bursektomili hayvanlarda lenfosit yüzdesinin kontrol grubundakine göre yüksek bulunması hormonal bursektomili genç hindilerdeki sonuçlarla (Whitesides ve ark., 1991) uyum içerisindedir. Somwanshi ve Mohanty (1993) 'nin şirurjikal bursektomi uygulanan piliçlerde lenfopeni ile birlikte bir heterofiliden bahsetmelerine rağmen bu çalışmada bursektomili grupta 1. ve 5. haftada kontrol grubuna göre belirlenen heterofil sayısındaki yükseklik relatif bir artışı yansıtmaktadır.

## Hormonal Bursektominin Bazı Kan Parametreleri...

Tablo 55

>omonal bursektomili piliçlerde bazı kan parametreleri ile lökosit tipleri oranları(%)(n=5)

İNCELENEN ÖZELLİKLER	1. hafta		5. hafta		10. hafta		15. hafta	
	K	B	K	B	K	B	K	B
Alyuvar (milyon/ $\mu$ l)	2.04 $\pm$ 0.19	1.87 $\pm$ 0.22	2.25 $\pm$ 0.26	1.95 $\pm$ 0.16	2.34 $\pm$ 0.31	2.31 $\pm$ 0.19	2.38 $\pm$ 0.11	2.46 $\pm$ 0.14
Akyuvar (bin/ $\mu$ l)	34.2 $\pm$ 1.96	32.6 $\pm$ 1.84	29.8 $\pm$ 1.14	28.4 $\pm$ 2.41	26.6 $\pm$ 1.81	27.4 $\pm$ 2.32	26.4 $\pm$ 1.95	24.8 $\pm$ 2.02
Hemoglobin(g/dl)	8.31 $\pm$ 0.44	8.42 $\pm$ 0.38	9.55 $\pm$ 0.35	9.12 $\pm$ 0.56	10.92 $\pm$ 0.58	10.44 $\pm$ 0.61	11.44 $\pm$ 0.71	11.08 $\pm$ 0.39
Hematokrit(%)	24.8 $\pm$ 1.22	25.6 $\pm$ 0.88	30.4 $\pm$ 1.25	27.8 $\pm$ 0.96	31.8 $\pm$ 1.42	28.6 $\pm$ 1.18	31.4 $\pm$ 0.99	30.6 $\pm$ 1.05
Trombosit (bin/ $\mu$ l)	27.6 $\pm$ 1.42	29.4 $\pm$ 1.18	36.8 $\pm$ 2.01	34.6 $\pm$ 1.46	38.6 $\pm$ 1.47	40.2 $\pm$ 1.54	42.6 $\pm$ 1.10	37.2 $\pm$ 1.90
Akyuvar tipleri (%)	8.20 $\pm$ 0.64a	5.40 $\pm$ 0.55b	9.60 $\pm$ 0.85a	6.20 $\pm$ 1.18b	9.00 $\pm$ 0.53	7.80 $\pm$ 1.10	12.00 $\pm$ 1.40	9.20 $\pm$ 1.03
B. Lenfosit								
K. Lenfosit	59.60 $\pm$ 1.16a	50.80 $\pm$ 2.72b	69.20 $\pm$ 2.40a	54.80 $\pm$ 1.53b	68.60 $\pm$ 3.81	60.40 $\pm$ 2.62	67.40 $\pm$ 3.85	63.60 $\pm$ 3.51
Heterofil	24.40 $\pm$ 1.90b	32.60 $\pm$ 2.28a	19.60 $\pm$ 2.00b	28.40 $\pm$ 2.30a	16.60 $\pm$ 2.12	22.0 $\pm$ 1.82	12.20 $\pm$ 2.55	16.80 $\pm$ 1.90
Eozinofil	3.80 $\pm$ 0.85b	7.80 $\pm$ 0.80a	4.20 $\pm$ 0.40b	6.60 $\pm$ 0.68a	4.40 $\pm$ 0.85	5.40 $\pm$ 0.34	4.60 $\pm$ 0.60	5.20 $\pm$ 0.62
Monosit	3.40 $\pm$ 0.92	3.00 $\pm$ 1.16	4.20 $\pm$ 1.18	3.60 $\pm$ 1.20	3.80 $\pm$ 0.62	3.20 $\pm$ 1.80	3.60 $\pm$ 0.60	4.80 $\pm$ 0.82
Bazofil	0.60 $\pm$ 0.40	0.40 $\pm$ 0.40	0.60 $\pm$ 0.40	0.40 $\pm$ 0.24	0.80 $\pm$ 0.58	1.20 $\pm$ 0.80	0.20 $\pm$ 0.20	0.40 $\pm$ 0.24

B:Bursektomili grup

K:Kontrol grubu

Eozinofil yüzdesinin 1. ve 5. haftalarda kontrol grubunda önemli oranda ( $P<0.05$ ) yüksek bulunması şirurjikal bursektomili kanatlı kanındaki (Somwanshi ve Mohanty, 1993) ve dokularındaki (Korpela ve ark., 1987) eozinofili tablosuyla paralellik arz etmektedir. Eozinofiliyi regüle eden mekanizmalar tam olarak anlaşılmiş değildir. Doku eozinofilisinin başlıca T lenfositlere bağlı bir fenomen olduğu, çünkü bu hücrelerin bir çok eozinofilik kemotaktik faktör ve kemotaktik inhibitör faktör salgıladığı ve bunun da doku eozinofilisini kontrol ettiği bildirilmektedir (Tashiro ve ark., 1985; Hirashima ve ark., 1986). Bununla birlikte bazofiller, mast hücreleri ve polimorf nükleer lökositler gibi diğer bir çok hücre ve hatta bazı serum konponentlerinin de eozinofilotaktik özelliklere sahip olduğu bildirimler arasındadır (Veith ve ark., 1984; Colley ve ark., 1986).

Korpela ve ark. (1987) bursektominin yol açtığı doku eozinofilisinin normal olarak fonksiyon yapan T lenfositlerle B lenfosit defekti arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak gelişebileceğini, dolayısıyla eozinofil sayısının normal düzeyde korunması için B ve T lenfositlerin her ikisinin de gerekli olduğunu ileri sürmektedirler. Çünkü bursektomili piliçlerde bulunan tek defekt bu hayvanların spesifik antibadileri üretmemesidir (Jal-

kanen ve ark., 1983; Jalkanen ve ark., 1984). Bu hayvanların T lenfosit sistemleri gerek doku nakli gerekse karışık lenfosit reaksiyonları açısından normal kapasitede bulunmuştur. Aynı zamanda spesifik ve nonspesifik antijenlere karşı in vitro proliferatif yanıtları ve interlöykin 2 üretimleri de normal düzeyde belirlenmiştir (Eorola ve ark., 1984). Ayrıca bursektomili hayvanlarda T lenfositler tarafından antijen prezentasyonunun da normal çalıştığı bildirimler arasındadır (Veromoaa ve ark., 1987). Bu nedenle bursektomili piliçlerdeki yüksek eozinofil düzeylerinin B lenfosit yokluğu, normal fonksiyon yapan T ve diğer regülatör hücreler ile bu hücreler tarafından üretilen farklı faktörler arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği vurgulanmaktadır (Korpela ve ark., 1987). Bursektomili hayvanlarda supressif faktörlerin üretimini azalabileceği, stimülatör faktörlerin ise artarak eozinofil sayısını artırabileceği bir ihtimal olarak ileri sürülmektedir (Colley ve ark., 1986). Bir diğer ihtimal de spesifik antibadilerin yokluğunu kompanze etmeye yönelik anlamlı bir savunma sistemi olarak eozinofilinin gerçekleşebileceğidir (Colley ve ark., 1986). Çünkü eozinofiller çeşitli hücreler ve parazitler için toksik granüller ve enzimlerce oluşturulan yangının çeşitli alanlarına aktif olarak katılmaktadırlar.

Çalışmada ilk ve 5. haftada bursektomili hayvanlardaki eozinofil sayısının kontrol grubununkinden önemli oranda yüksek bulunması ve daha sonraki örnekleme zamanlarında eozinofil ve lenfosit sayısının yüksek olmasına rağmen önemin ortadan kalkması bu hücrelerin sayılarının ayarlanması ile ilgili hücre ve çeşitli regülatör maddeler arasında farklı bir denge kurulabileceği fikrini akla getirmektedir.

Her ne olursa olsun elde edilen bulgular; eozinofillerin doku ve kandaki seviyelerinin normal düzeylerde korunabilmesi için B lenfositler ve onların diğer hücrelerle işbirliği gereklidir, görüşünü desteklemektedir. Araştırmada elde edilen bir sonuç da hormonal ovobursektominin şırıjikal bursektomi ile benzer değişikliklere yol açtığıdır. Şüphesiz bursektominin, dolayısıyla B lenfositlerin akıyuar tipleri sayıları üzerindeki rollerini ortaya koymak spesifik antitadilerin de ele alınacağı daha kompleks çalışmaları gerektirmektedir.

### Kaynaklar

- Basten, A. and Beeson, P.B. (1970). Mechanisms of eosinophilia. II. Role of the lymphocyte. *J. Exp. Med.*, 131, 1288-1291.
- Beeson, P.B. and Bass, D.A. (1977). *The Eosinophil*. 1st Ed. Saunders, Philadelphia, p:190-192.
- Colley, D.G., Stewart, S.J., Duncan, E.K. and Secor, W.E. (1986). The role of the eosinophil in host defense. In "Leucocytes and Host Defense", J.J. Oppenheim and D.M. Jacobs, eds. Alan, R., Liss Inc., New York, p: 357.
- Eerola, E., Granfors, K., Jalkanen, S. and Toivanen, P. (1984). Immunocapacity of the chicken bursectomized at 60 hr of incubation. Effect of adherent cells on the production of immunoglobulins and specific antibodies in vitro. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 31, 202-206.
- Eerola, E., Jalkanen, S., Granfors, K. and Toivanen, A. (1983). Immunocapacity of the chicken bursectomized at 60 hr of incubation. Mitogen induced cell proliferation and immunoglobulin secretion. *J. Immunol.*, 131, 120-124.
- Eskola, J. and Toivanen, P. (1974). Effect of in ovo treatment with cyclophosphamide on lymphoid system in chicken. *Cell. Immunol.*, 13, 459-471.
- Giambone, J.J., Klesius, P.H., Eckarn, M.K. and Edgar, S.A. (1981). Influence of hormonal and chemical bursektomy on the development of acquired immunity to coccidia in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 60, 2612-2618.
- Glick, B. (1971). The Bursa of Fabricius and immunoglobulin synthesis. *Int. Rev. Cytol.*, 48, 345-402.
- Glick, B. and Mc Duffie, F.C. (1975). Immunoglobulin and the bursa of Fabricius. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 17, 119-125.
- Hirashima, M., Sakata, K., Tashiro, K., Ohmori, J., Iyama, K., Tsuda, H., Nagai, T., Hiroka, T. and Kimura, T. (1986). Spontaneous production of eosinophil chemotactic factors by T lymphocytes by patients with subcutaneous angioblastic lymphoid hyperplasia with eosinophilia. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 39, 231-233.
- Jalkanen, S., Granfors, K., Jalkanen, M. and Toivanen, P. (1983). Immune capacity of the chicken bursectomized at 60 hours of incubation. Failure to produce immune, natural and autoantibodies in spite of immunoglobulin production. *Cell. Immunol.*, 80, 363-373.
- Jalkanen, S., Jalkanen, M., Granfors, K. and Toivanen, P. (1984). Defect in the generation of light chain diversity in bursectomized chickens. *Nature*, 311, 69-76.
- Kincade, P.W. and Cooper, M.D. (1973). A: Site and sequence of expression in developing chicks. *Science*, 179, 398-400.
- Korpela, R., Jalkanen, S., Paljarvi, L. and Toivanen, P. (1987). Early embryonic bursektomy induces eosinophilia. *J. Immunol.*, 139, 3915-3917.
- Somwanshi, R. and Mohanty, G.C. (1993). Characterization of infectious bursal disease in the bursectomized and thymectomized chicken. *Indian J. Animal Sci.*, 63, 115-122.
- Toshiro, K., Sakata, K., Hirashima, M. and Hayashi, H. (1985). The regulation of tissue eosinophilia. *Immunology*, 55, 115-120.
- Toivanen, P., Naukkarinen, A. and Vainio, O. (1987). What is the function of burso Fabricius? In *Avian Immunology: Basis and Practice*, Vol. I. A. Toivanen and P. Toivanen, eds. CRS Press, Boca Raton, FL, p: 79-83.
- Van Alten, P.J., Cain, W.A., Good, R.A. and Cooper, M.D. (1968). Gamma globulin production and antibody synthesis in chickens bursectomized as embryos. *Nature*, 217, 358-360.
- Veith, M., Taylor, D.W., Thorne, K., Richardson, B.A. and Butterworth, A.E. (1984). Studies on the enhancement of human eosinophil function by mononuclear cell products in vitro. *Clin. Exp. Immunol.*, 58, 603-607.
- Veromaa, T., Vainio, O., Eerola, E., Lehtonen, L., Jalkanen, S. and Toivanen, P. (1987). T cell function in the chickens bursectomized at 60 hour of incubation. *Transplantation*, 43, 533-538.
- Whitesides, J.F., Krista, L.M., Mora, E.C., Klesius, P.H., Gray, B.W., Spano, J.S. and Drane, J.W. (1991). Effect of surgical and chemical in ovo bursektomy on lymphocyte density scores and histological evaluations of primary and secondary lymphoid organs in hypertensive and hypotensive turkeys. *Poultry Sci.*, 70, 1362-1371.