



## ARAŞTIRMA MAKALESİ

### Türk merinosu koçlarının hemal düğümlerinde asit fosfataz (ACP-AZ) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma

Emrah Sur\*, Tuğba Özaydın, Yasemin Öznurlu

#### Özet

**Sur E, Özaydın T, Öznurlu Y.** Türk merinosu koçlarının hemal düğümlerinde asit fosfataz (ACP-AZ) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma.

*Eurasian J Vet Sci, 2011, 27, 1, 33-37*

**Amaç:** Bu çalışmada, Türk Merinosu koçlarının hemal düğümlerinde asit fosfataz (ACP-az) pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Bu amaçla 2 yaşlı 6 adet Türk Merinosu koçundan alınan hemal düğüm örnekleri materyal olarak kullanıldı. Alınan kriyostat kesitlerinde ACP-az demonstrasyonu gerçekleştirildi.

**Bulgular:** ACP-az-pozitif lenfositlerin, özellikle sekonder foliküllerin germinal merkezlerinde yoğunlaştığı görüldü. Az sayıda ACP-az-pozitif lenfositin primer foliküller, foliküller arası bölge ve lenfatik kordonlarda yerleşim gösterdiği dikkati çekti.

**Öneri:** Ruminantların hemal düğümleri üzerinde daha kapsamlı deneysel çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

#### Abstract

**Sur E, Ozaydin T, Oznurlu Y.** A light microscopic investigation on acid phosphatase (ACP-ase)-positive lymphocyte localization in the hemal nodes of Turkish merino ram.

*Eurasian J Vet Sci, 2011, 27, 1, 33-37*

**Aim:** This study was carried out to determine the localization of the acid phosphatase (ACP-ase)-positive lymphocytes in hemal nodes of Turkish Merino ram.

**Materials and Methods:** For this purpose, tissue samples from hemal nodes of six 2-year-old-aged Turkish Merino rams were used. In frozen sections, ACP-ase was demonstrated.

**Results:** The results showed that ACP-ase-positive lymphocytes localized especially in the germinal centers of the secondary lymphatic nodules. A few ACP-ase-positive lymphocytes were observed in primary follicles, interfollicular area and lymphatic cords.

**Conclusion:** It was concluded that the further experimental studies should be performed on hemal nodes of ruminants.

## ► Giriş

Farklı memeli türlerinde, kan dolaşımı üzerinde, bağımsız bir lenfoid organ olarak yerleşmiş olan hemal düğümler, kan kökenli patojenlere karşı vücudun savunmasından sorumludurlar. Ruminantlara özgü organlar olarak bilinirlerse de insanda, ratlarda ve bazı kanatlı türlerinde de buldukları bildirilmektedir. 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, Bassan ve ark 1999, Akaydın ve Kabak 2006, Zidan ve Pabst 2010).

Özellikle sublumbal bölgede vena cava ve abdominal aorta boyunca yerleşim gösteren ve koyu-kırmızı renkleri ile yağ dokusu içerisinde hemen göze çarpan hemal düğümlerin boyutları hayvan türlerine göre değişmekle birlikte genelde 1-5 mm çapındadır. Kan damarları aracılığıyla birbirlerine bağlanan bu oluşumların lenf damarlarına sahip olup-olmadıkları ise tartışmalıdır (Ezeasor ve Singh 1990, Yoon ve ark 1999a). Bununla birlikte hemal düğümlerde hemopoezin gerçekleştiği konusunda pek çok araştırmacı görüş birliğindedir (Thorp ve ark 1991, Yoon ve ark 1999a, Zidan ve Pabst 2010).

Yapılan çalışmalar, hayvan türlerine göre küçük varyasyonlar olsa da hemal düğümlerin benzer histolojik yapıya sahip olduklarını göstermektedir. Bağ dokudan bir kapsülle kuşatılan organda, kapsülün hemen altında içi kanla dolu bir subkapsüler sinusun varlığı dikkati çekmektedir (Sur ve ark 2005). Bu sinus, hemal düğümlerin, kendileri ile sıklıkla karıştırılan hemal lenf düğümlerinden ayırt edilmelerinde en önemli kriterdir (Yoon ve ark 1989). Söz konusu subkapsüler sinus kapsülden organ içine doğru uzanan trabeküller boyunca iç bölgelere kadar uzanmakta ve bu bölgelerde yine içleri kanla dolu “derin sinusları” oluşturmaktadır (Cerutti ve ark 1998, Yoon ve ark 1999a, Yoon ve ark 1999b). Tipik bir korteks-medula ayırımı yapılamayan hemal düğümlerde lenf folikülleri organın değişik bölgelerine dağılmışlardır (Ezeasor ve Singh 1988). Bazı araştırmacılar (Gargiulo ve ark 1987, Sur ve ark 2005, Akaydın ve Kabak 2006) 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).

Asit fosfataz (ACP-az) enzimi, miyelositler, polimorf nükleer lökositler, lenfositler, plazma hücreleri, megakaryositler, kan pulcukları ve mononükleer fagositik sistem hücrelerinde bulunan asit hidrolazlar grubundan lizozomal bir enzimdir (Catowsky 1981). Özellikle makrofajlar çok güçlü ACP-az aktivitesi gösterirler (Li ve ark 1972). Kaplow ve Burstone (1964) insan perifer kanındaki lenfositlerin birkaç adet iri granülünden oluşan granül enzim pozitivitesi gösterdik-

lerini, monositlerin ise soluk ve sitoplazmaya dağılmış haldeki ince granüllerden oluşan diffüz pozitiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Enzimin insanlarda T-lenfositlere spesifik olduğu ileri sürülmektedir (Yang ve ark 1982). Tavuklarda ise bu enzimin T-lenfositlerinden ziyade B-lenfositlerinde bulunduğu (Moriya ve Ichikawa 1989); bursa Fabricii'nin embriyonik gelişimini ya da fonksiyonunu etkileyen faktörlerin perifer kan ACP-az-pozitif lenfosit oranlarında da belirgin düşüslere neden olduğu ileri sürülmektedir (Graczyk 1984, Graczyk 1987, Graczyk 1994, Slowik ve ark 1990, Sur ve Çelik 2003).

Bağışıklık sistemi organlarında yer alan hücrelerin türleri ile organ içerisinde yerleştikleri bölgeler, organın fonksiyonları hakkında önemli ipuçları verir. Özellikle enzim histokimyasal metotlar, bize bağışıklık sistemi hücrelerinin yerleşimi konusunda önemli bilgiler sunan, ucuz, pratik, kolay ve kısa sürede sonuç veren yöntemlerdir. Hemal düğümlerde lenfosit alt tiplerinin yerleşiminin belirlenmesi amacıyla da bu tekniklerden zaman zaman yararlanılmaktadır (Sur ve ark 2005). ACP-az enziminin koyunlarda T- ya da B-lenfositleri için spesifik bir enzim olduğunu gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, 2 yaşlı Türk Merinosu koçlarının hemal düğümlerinde ACP-az-pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## ► Gereç ve Yöntem

Araştırmada materyal olarak mezbahada kesimi gerçekleştirilen 2 yaşlı toplam 6 adet sağlıklı Türk Merinosu koçunun retroperitoneal ve pelvik bölgelerinden alınan 5'er adet hemal düğüm dokuları kullanıldı. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'nca onandı. Alınan dokular asit fosfataz (ACP-az) enzimi demonstrasyonu için 24 saat formal-sükroz (+4 °C, pH: 6.8) solüsyonunda tespit edildikten sonra 22 saat Holt solüsyonunda (+4 °C) bekletildi. Doku örneklerinden kriyostatta (Slee London) alınan 12 µm kalınlığındaki kesitler, önceden formaldehit-jelatin karışımı ile muamele edilmiş olan lamlara alınarak oda sıcaklığında (20 °C) 30 dakika süreyle kurutuldu.

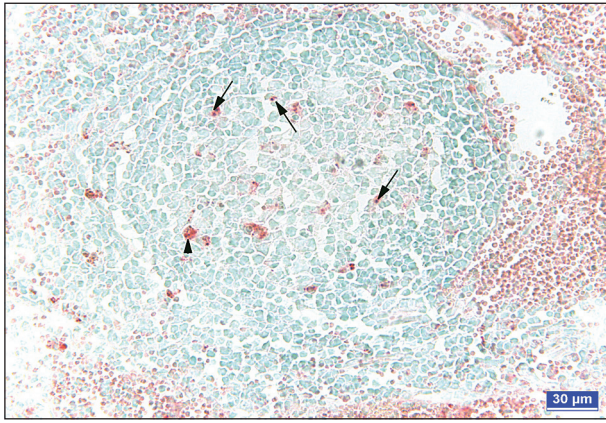
### • Asit fosfataz (ACP-az)

Tamponlu pH'sı 5.0 olan Michael'in Veronal-asetat solüsyonu ile substrat olarak 1 mL N,N-dimetilformamide içerisinde çözdürülmüş 10 mg Naphthol AS-BI phosphate (N-2125, Sigma) kullanıldı. Tampon solüsyonunun 5 mL'sine ilave edilen 1 mL substrat solüsyonu, 13 ml distile su ile karıştırıldıktan sonra 1.6 mL heksazotize edilmiş (0.8 mL pararozanilin, 0.8 mL %4'lük sodyum nitrit) pararozanilin solüsyonu eklendi. Karışımın son pH'sı 1N NaOH solüsyonu ile 5.0'e ayarlandıktan sonra süzüldü. Hazırlanan bu inkübasyon solüsyonu içerisinde kesitler oda sıcaklığında 20 dakika bekletildiler. Hücre sitoplazmalarında spesifik kırmızı granüllerin oluşumunun ardından inkübasyon işlemi sona erdirildi. Üç kez distile su ile yıkanan preparatla-

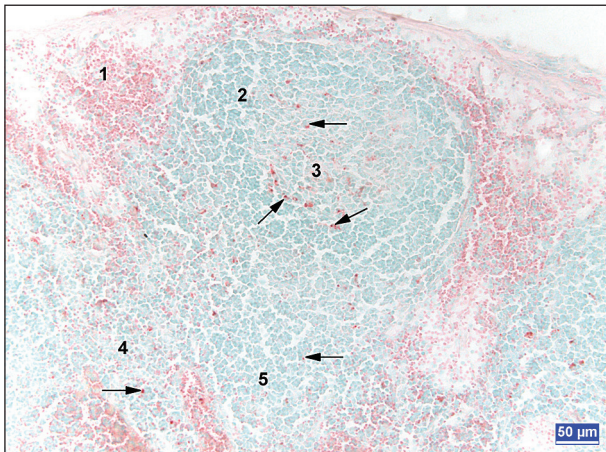
ra %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı (Sur ve Çelik 2003). Hazırlanan preparatlar DFC-320 model kamera ataçmanı olan Leica DM-2500 model ışık mikroskobu ile incelendikten sonra gerekli bölge-lerin dijital görüntüleri kaydedildi.

### ► Bulgular

ACP-az demonstrasyonu yapılan kesitlerin incelenmesi sonucunda iki tip ACP-az pozitivitesine rastlandı. Makrofajlarla retikulum hücrelerinin sitoplazmalarında diffüz pozitif reaksiyon gözlenirken, lenfositlerdeki pozitivite tipi ise lokalize granüler tarzdaydı (Resim 1). ACP-az-pozitivitesine sahip lenfositlerin çoğunlukla sekonder foliküllerin germinal merkezinde yoğunlaştıkları dikkati çekerken; yer yer primer lenf folikülleri, foliküller arası bölgeler ve lenfatik kordonlarda da ACP-az-pozitif lenfositlere rastlandı (Resim 2).



Resim 1. Türk Merinosu koçunun hemal düğümünden alınan bir kriyostat kesitinde sekonder folikül. Oklar: ACP-az pozitif lenfositler. Ok başı: Diffüz pozitif reaksiyon gösteren bir retikulum hücresi. ACP-az demonstrasyonu.



Resim 2. Türk Merinosu koçunun hemal düğümünden alınan bir kriyostat kesiti. ACP-az-pozitivitesine sahip lenfositlerin çoğunlukla sekonder foliküllerin germinal merkezinde yoğunlaştıkları dikkati çekerken; foliküller arası bölgeler ve lenfatik kordonlarda da ACP-az-pozitif lenfositler dikkati çekmekte. Oklar: ACP-az-pozitif lenfositler. 1: Subkapsüler sinus; 2: Sekonder folikül; 3: Germinal merkez; 4: Foliküller arası bölge; 5: Lenfatik kordon. ACP-az demonstrasyonu.

### ► Tartışma

Ruminantlarda özellikle abdominal bölgede vena cava ve abdominal aorta boyunca yerleşim gösteren hemal düğümlerin fonksiyonları ile histolojik yapıları üzerinde yapılan araştırmalar, organın her ne kadar lenf yumrusu ve dalak ile benzer özelliklere sahip olsa da, kendilerine özgü bir takım özellikleri de taşıdığını ortaya koymuştur (Ceccarelli ve ark 1986, Thorp ve ark 1991, Sur ve ark 2005, Akaydın ve Kabak 2006, Akaydın ve Kabak 2010).

Erken embriyonik evrede lenf yumrusu taslağından gelişmeye başlayan ve ilerleyen dönemlerde lenf damarlarını kaybederek miyelopoietik ve eritropoietik aktivitenin başlamasıyla da kendine özgü yapısını kazanan organ (Landsverk 1998), bağ dokusundan bir kapsül ile çevrelenmektedir. Tip-I kollajen ip-liklerden zengin olan bu kapsülün organ içine göndermiş olduğu uzantılar olan trabeküllerde, dalaktakine benzer şekilde düz kas hücrelerinin varlığından bahsedilirken; kapsülün hemen altında içi tamamen kanla dolu bir subkapsüler sinus dikkati çeker (Singh 1959, Constantinescu ve ark 1988, Ezeasor ve Singh 1988). Bu durum, hemal düğümlerin, kendileri ile sıklıkla karıştırılan hemal lenf düğümlerinden ayırt edilmelerinde en önemli kriterdir (Yoon ve ark 1989). Zira hemal lenf düğümlerinde yer alan sinusların içerisi kanın yanı sıra lenf sıvısı ile doludur (Zidan ve Pabst 2010). Bu çalışmada da kapsülün hemen altında içi kanla dolu geniş subkapsüler sinus dikkati çektii (Resim 2).

Organda lenfoid dokunun organizasyonunun farklılığından bahsedilmektedir. Bazı araştırmacılar (Gargiulo ve ark 1987, Sur ve ark 2005, Akaydın ve Kabak 2006) lenf foliküllerini primer ve sekonder lenf folikülleri olarak tanımlamaktadırlar. Lenf folikülleri ve lenfatik kordonların organ içerisinde düzenli bir yerleşim göstermemeleri nedeniyle belirgin bir korteks-medula ayırımı yapılamamaktadır (Windquist 1954, Yoon ve ark 1989, Yoon ve ark 1999a, Akaydın ve Kabak 2010). Bununla birlikte bazı araştırmacılar (Ezeasor ve Singh 1988) subkapsüler sinus ve buna yakın yerleşim gösteren lenf foliküllerini kortikal yapılar, organın daha derinlerinde yer alan derin kan sinusları ile lenfatik kordonları da medular yapılar olarak tanımlarken; bazı araştırmacılar ise (Thorp ve ark 1991) organı subkapsüler sinus, derin kortikal oluşumlar ve medula olarak bölmektedirler (Gargiulo ve ark 1987, Yoon ve ark 1990, Cerutti ve ark 1998, Sur ve ark 2005).

Sur ve ark (2005)'nin Akkaraman koyunlarında yapmış oldukları bir çalışmada, hemal düğümlerde lenf yumrularında olduğu gibi belirgin bir korteks-medula ayırımının yapılamadığı bildirilmektedir. Araştırmacılar (Sur ve ark 2005), organda geniş bir subkapsüler sinus ve buna yakın yerleşim gösteren lenf folikülleri ile iç bölgelerde lenfatik kordonların etrafını saran derin kan sinuslarının bulunduğunu, bu yapıların güçlü bir

retiküler bağ dokusu ile desteklendiğini, primer ve sekonder lenf foliküllerinin de belirgin bir biçimde ayırıldığını bildirmektedir. Bu çalışmada da lenf foliküllerinin düzenli bir yerleşim göstermemesi nedeniyle organda korteks-medula ayırımı yapılamazken; daha iri ve doğurucu merkeze sahip lenf folikülleri sekonder folikül; doğurucu merkez içermeyen küçük foliküller ise primer folikül olarak tanımlandı.

Hemal düğümler işlevsel açıdan dalağa benzetilmektedir (Ceccarelli ve ark 1986, Thorp ve ark 1991). Kan dolaşımındaki antijenlere karşı immünolojik olarak aktif lenfositlerin şekillenmesi, kan depolama ve süzme, eritrosit fagositozu yapan makrofajlar ve kan pulcukları üreten megakaryositlerin bulunması, organın dalakla benzeşen fonksiyonları 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 ipuçları olarak değerlendirilmektedir (Ezeasor ve Singh 1988, Yoon ve ark 1999a). Cerutti 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.

Hemal düğümlerde lenfosit alt tiplerinin yerleşimleri üzerinde yapılan çalışmalarda T- ve B-lenfositlerin farklı bölgelerde lokalize oldukları; 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 (sIg) 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 bulguları ile çelişmektedir. Sur ve ark (2005) da Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinde yapmış oldukları çalışmada primer foliküller, foliküller arası bölge ve lenfatik kordonlardaki lenfositlerin bazıları ile sekonder foliküllerin germinal merkezinde yer alan lenfositlerin büyük bir bölümünün ANAE-pozitif olduklarını ileri sürerlerken; makrofaj ve retikulum hücrelerinin sitoplazmalarında diffüz ANAE enzimi aktivitesine dikkati çekmişlerdir. Yine Ceccarelli ve ark (1986)'nın yaptıkları çalışmada lenfatik kordonlardaki bir kısım len-

fositin asit fosfataz (ACP-az)-pozitivitesi gösterdiğinden bahsedilmektedir.

Yoon ve ark (1999a) Kore keçilerinin hemal düğümlerde T- ve B-lenfosit dağılımının yaşla birlikte belirgin bir değişim göstermediğine dikkati çekerlerken; Thorp ve ark (1991)'nin koyunlarda yapmış oldukları bir 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 hemal düğümlerindeki oranının sırasıyla %50 ve %7, B-lenfosit oranının ise %46 olduğu tespit edilmiştir. Thorp ve ark (1991)'nin, hemal 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 hemal düğümlerin immün sistemde kendilerine has özellikleri ve görevleri olan özel organlar olduklarını düşündürmektedir.

Bu çalışmada da ACP-az-pozitif lenfositlerin çoğunlukla sekonder foliküllerin germinal merkezinde yerleşmekle birlikte primer foliküller, foliküller arası bölge ve lenfatik kordonlarda da gözlemlendiği dikkati çekmiştir. Bu bulgular daha önce Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinde ANAE enzimi demonstrasyonu ile yapmış olduğumuz çalışmanın (Sur ve ark 2005) bulgularına benzer niteliktedir.

Gerek ANAE enzimi ve gerekse ACP-az enziminin koyunlarda T- ya da B-lenfositleri için spesifik enzimler olduğunu gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Farklı yaş gruplarındaki 120 adet Türk Merinosu erkek kuzusunun perifer kan ANAE ve ACP-az-pozitif lenfosit oranlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada (Sur 2004) ANAE-pozitif lenfosit oranları 10, 14, 18, 26 ve 52 haftalık kuzularda sırasıyla %66, %83, %72, %57 ve %67 olarak tespit edilirken; ACP-az-pozitif lenfosit oranları da yine aynı sırayla %34, %21, %30, %42 ve %33 olarak bildirilmiştir. Birbirini tamamlar nitelikteki bu rakamlar dikkate alındığında pek çok memeli türü ile tavuklarda T-lenfositleri için spesifik olan ANAE-pozitif lenfositlerin koyunlarda da T-lenfositleri temsil ettiği, ACP-az-pozitif lenfositlerin ise B-lenfositler için spesifik olabileceğini akla getirmektedir. Ancak gerek ACP-az ve ANAE-pozitif lenfositlerin hemal düğümlerdeki yerleşimindeki benzerlik ve gerekse daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular bu yaklaşımın şüphesizle karşılanması gerektiğini ortaya koymaktadır. Hemal düğümlerin fonksiyonlarının yanı sıra, T- ve B-lenfositlerinin yerleşimlerinin açıklığa kavuşturulabilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## ► Öneriler

Üzerinde yıllardır çalışılan ve ruminantlara özgü lenfoid bir organ olan hemal düğümlerin histolojik organizasyonları hakkında yeterli bilgiye ulaşılmışsa da organda yer alan hücrelerin yerleşimleri ile organın fonksiyonları hakkında henüz tam bir görüş birliğine varılabilmemiş değildir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar ise, daha çok sağlıklı hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen temel çalışmalardan öteye gidememiştir. Organın fonksiyonlarının tam olarak anlaşılabilmesi ve belli bazı hastalık durumlarında meydana gelebilecek değişimlerin söz konusu hastalıkların tanısında histopatolojik bulgu niteliği taşıyıp taşımadığının belirlenebilmesi için organ üzerinde deneysel çalışmaların yapılmasının yanı sıra, otopsielerde bu organın da dikkatle incelenmesinin önemli yararlar sağlayacağı düşünülmektedir.

## ► Kaynaklar

- Akaydin Y, Kabak M, 2006. First description and morphology of haemal nodes in piglets (*Sus scrofa domestica*). *Acta Vet Hung*, 54, 135–142.
- Akaydin Bozkurt Y, Kabak M, 2010. Morphology of haemal nodes in the roe deer (*Capreolus capreolus*). *Anat Histol Embryol*, doi: 10.1111/j.1439-0264.2010.01016.
- Bassan N, Vasquez F, Vinuesa M, Cerrutti P, Bernardi S, 1999. Morphological alterations in hemal nodes in splenectomized cattle. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 51, 445–448.
- Catowsky D, 1981. Leucocyte cytochemical and immunological techniques, In: *Practical Haematology*, Eds; Dacie JV, Lewis SM, Seventh edition, Churchill Livingstone, pp: 143–174.
- Ceccarelli P, Gargiulo AM, Fagioli O, Pedini V, 1986. Cytochemical identification of lymphocytes and other mononuclear cells in ovine and bovine hemal nodes. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 9, 297–302.
- Cerutti P, Marcaccini A, Guerrero F, 1998. A scanning and immunohistochemical study in bovine haemal node. *Anat Histol Embryol*, 27, 387–392.
- Cerutti P, Guerrero F, 2001. Identification of positive cells to interleukin-4 in bovine haemal nodes. *Anat Histol Embryol*, 30, 219.
- Constantinescu GM, Brown EM, McLure RC, 1988. Accessory parotid lymph and hemal nodes in the temporal fossa in three oxen. *Cornell Vet*, 78, 147–154.
- Dixon RJ, Moriarty KM, 1983. Alpha-naphthyl acetate esterase activity is not a specific marker for ovine T lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol*, 4, 505–512.
- Ezeasor DM, Singh A, 1988. Histology of the caprine hemal node. *Acta Anat*, 133, 16–23.
- Ezeasor DN, Singh A, Sims DE, 1989. Erythrophagocytosis in the caprine hemal node. *Acta Anat*, 134, 341–345.
- Ezeasor DM, Singh A, 1990. Morphological features of lymph vessels in caprine hemal nodes. *Am J Vet Res*, 51, 1139–1143.
- Gargiulo AM, Ceccarelli P, Pedini V, 1987. Architecture of sheep haemal nodes. *Res Vet Sci*, 42, 280–286.
- Graczyk S, 1984. The effect of a single dose of sheep's erythrocytes on the activity of acid phosphatase in lymphocytes of peripheral blood in bursectomized chickens. *Folia Histochem Cytobiol*, 22, 85–89.
- Graczyk S, 1987. Cytochemical examination of peripheral blood lymphocytes in bursectomized chickens. *Folia Histochem Cytobiol*, 25, 45–59.
- Graczyk S, 1994. The effect of anti-bursa serum (ABS) on the intensity of acid phosphatase reaction in bursa-dependent structures of the spleen and on the level of antibodies in the blood serum. *Arch Vet Pol*, 34, 25–36.
- Kaplow LS, Burstone MS, 1964. Cytochemical demonstration of acid phosphatase in haemopoietic cells in health and in various hematological disorders using azo dye techniques. *J Histochem Cytochem*, 12, 805–811.
- Landsverk T, 1998. Sheep immunology and goat peculiarities, In: *Handbook of Vertebrate Immunology*, Eds; Pastoret PP, Griebel P, Bazin H, Govaerts A, Academic Press, San Diego, California, USA, pp: 485–533.
- Li CY, Yam LT, Crosby WH, 1972. Histochemical characterization of cellular and structural elements of human spleen. *J Histochem Cytochem*, 20, 1049–1058.
- Moriya O, Ichikawa Y, 1989. Acid phosphatase in lymphoid tissues of developing chick embryos. *Acta Histochem*, 87, 99–105.
- Singh A, 1959. On the microscopic structure of haemal nodes of buffalo calves. *Br Vet J*, 115, 271–273.
- Slowik J, Kuryszko J, Graczyk S, Kuprowski M, 1990. Histochemical studies of acid phosphatase in the bursa-dependent lymphoid tissue of the spleen of chickens after bursectomy and stimulation with ovine erythrocytes. *Pol Arch Weter*, 30, 75–87.
- Sur E, Çelik İ, 2003. Effects of aflatoxin B1 on the development of the bursa of Fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. *Br Poult Sci*, 44, 558–566.
- Sur E, 2004. Farklı yaş gruplarındaki Türk Merinosu erkek kuzularının perifer kan lenfositlerinin alfa naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP-az) enzimi aktiviteilerinin belirlenmesi. *Veterinarium*, 15, 15–22.
- Sur E, Aydın MF, Çelik İ, 2005. Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinin histolojisi ve alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma. *Vet Bil Derg*, 21, 101–108.
- Thorp BH, Seneque S, Staute K, Kimpton WG, 1991. Characterization and distribution of lymphocyte subsets in sheep hemal nodes. *Dev Comp Immunol*, 15, 393–400.
- Windquist G, 1954. The bovine hemal nodes. *Acta Anat*, 22, 108–112.
- Yang K, Bearman RM, Pangalis GA, Zelman RJ, Rappaport H, 1982. Acid phosphatase and alpha-naphthyl acetate esterase in neoplastic and non-neoplastic lymphocytes. *Am J Clin Pathol*, 78, 141–149.
- Yoon YS, Lee JS, Lee HS, Kim JS, 1989. Morphological studies on the hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean J Anat*, 22, 261–278.
- Yoon YS, Lee JS, Lee HS, Lee IS, Kim DJ, Kim JS, 1990. Ultrastructural studies on the hemal node and the hemolymph node in the Korean native goat. *Korean Soc Electron Mic*, 20, 77–89.
- Yoon YS, Shin JW, Lee JS, 1999a. Age-related morphological studies on hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean J Vet Res*, 39, 865–877.
- Yoon YS, Shin JW, Lee JS, 1999b. Ultrastructure of hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean J Vet Res*, 39, 855–864.
- Zidan M, Pabst R, 2010. Histology of hemal nodes of the water buffalo (*Bos bubalus*). *Cell Tissue Res*, 340, 491–496.