

GENÇ VE ERGİN SÜLÜNLERİN (*PHASIANUS COLCHICUS*) PERİFER KAN LÖKOSİT ORANLARI İLE LENFOSİTLERİN ALFA-NAFTİL ASETAT ESTERAZ (ANAE) AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Emrah Sur¹@

İlhami Çelik¹

Yasemin Öznurlu¹

M. Faruk Aydın¹

Determination of the Ratio of Peripheral Blood Leucocytes and Alpha-Naphthyl Acetate Esterase (ANAE) Activity in the Lymphocytes of the Young and Adult Pheasants (*Phasianus colchicus*)

Özet: Bu çalışma, genç ve ergin sülünlerin (*Phasianus colchicus*) perifer kan lökosit formüllerini ve perifer kandaki alfa-naftil asetat esteraz (ANAE)-pozitif lenfosit oranlarını belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmada 11 genç ve 11 erginden alınan kan örnekleri kullanıldı. Genç sülünlerde perifer kan lenfosit, heterofil, monosit, eozinofil ve bazofil oranları sırasıyla %56,00, %30,09, %7,45, %4,64 ve %1,81 ve ANAE-pozitif lenfosit oranları %36,82 olarak tespit edildi. Erişkinlerde ise lökosit oranları sırasıyla %52,91, %41,09, %2,81, %2,00 ve %1,18 iken, ANAE-pozitif lenfosit oranları %33,73 olarak bulundu. İki yaş grubunun, perifer kan lenfosit oranları dışındaki ortalama değerleri arasında önemli ($P<0,05$) farklar tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Sülün, ANAE Pozitivitesi, Lenfosit

Summary: This study was carried out to determine the percentages of both leukocyte types and lymphocytes with alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) positivity in the peripheral blood of young and adult pheasants (*Phasianus colchicus*). For this purpose, heparinised (10 IU heparine/mL blood, Liquepine, Roche) peripheral blood samples of 11 young and 11 adult pheasants were used. In the young pheasants, the percentages of lymphocytes, heterophils, monocytes, eosinophils and basophils were 56,00%, 30,09%, 7,45%, 4,64%, 1,81% respectively and ANAE-positive lymphocyte rate was 36,82%, whereas in the adults the values were found as 52,91%, 41,09%, 2,81%, 2,00% and 1,18% for lymphocytes, heterophils, monocytes, eosinophils and basophils respectively. ANAE-positive lymphocyte rate was 33,73% in the adult pheasants. Except for the percentages of the peripheral blood lymphocytes, the differences between the other values were statistically important ($P<0,05$).

Key Words: Pheasant, ANAE Positivity, Lymphocyte

Giriş

Enzim sitokimyasal ve histokimyasal boyama teknikleri, klasik Romanowsky boyaları ile ayırt edilemeyen bazı kan hücrelerinin henüz bulunmamış formları ile olgun formlarının ayırımında kullanılan basit ve pratik yöntemlerdir. Bunun yanında insanların akut ve kronik lenfoid lösemileri (Catowsky, 1981), sığırların enzootik lökozisi (Kajikawa ve ark., 1983) ve köpeklerin gençlik hastalığı (Appel ve ark., 1992; Şen ve ark., 2002) gibi lenfoproliferatif ve lenfosüpressif hastalıklarının teşhisinde de enzim sitokimyasal yöntemlerden yararlanılmaktadır.

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi asit hidrolazlar grubundan olan lizozomal bir enzimdir. Enzim insanlarda (Li ve ark., 1972; Çelik ve ark., 1991), tavuklarda (Maiti ve ark., 1990), sığırlarda (Yang ve ark., 1979; Kajikawa ve ark., 1983), farelerde (Mueller ve ark., 1975) ve köpeklerde

(Wulff ve ark., 1981) perifer kandaki olgun T-lenfositlerine özgü bir enzimdir (Basso ve ark., 1980). Monosit ve makrofajlarda da güçlü ANAE aktivitesi gözlenmektedir (Mueller ve ark., 1975).

Sülün, *Phasianidae* familyasının *Numinidae* alt familyasında yer alan yaklaşık 50 kuş türünün ortak adı olup, anavatanları Uzakoğu ülkeleridir. İri bir av kuşu olması nedeniyle pek çok sülün türünün nesli yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olmakla birlikte, "Adi Sülün" ya da "Et Tipi Sülün" olarak da isimlendirilen *Phasianus colchicus*, entansif üretime de adapte olabildiği için yetiştiriciliği gittikçe yaygınlaşmaktadır. Sülün eti, diğer kanatlı etlerinden farklı bir tat ve aromaya sahip olması ve diğer çiftlik hayvanlarına nazaran daha az bulunması sebebiyle daha pahalıdır (Çetin ve Kırıkçı, 1999; Tepeli ve ark., 1999).

Bu çalışmada, entansif olarak yaygın bir şekilde yetiştirilen ve ekonomik öneme sahip olan iki farklı

yaş grubundaki et tipi sülünlerin perifer kandaki lökosit oranları ile ANAE-pozitif lenfosit oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırma materyalini, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde yetiştirilen 6 haftalık ve 1 yaşlı anaç her iki cinsiyetten toplam 22 sülünden (*Phasianus colchicus*) alınan kan oluşturmaktadır.

ANAE Enzimi Demonstrasyonu

ANAE demonstrasyonu, Coşkun ve ark. (1998)'nin bildirdiği yöntemle gerçekleştirildi. Bu amaçla, kalpten 5 ml'lik heparinli (Heparin 10 İÜ/ml kan, Liquemine, flc., Roche) tüplere alınan perifer kan örneklerinden 4'er froti hazırlandı. Oda sıcaklığında (20 °C), havada kurutulan frotiler -10°C'de glutaraldehid-aseton solüsyonunda (pH 4.8) tespit edilerek üç kez distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu. İnkübasyon solüsyonu, 0,8 ml aseton (Merck) içerisinde eritilen 20 mg alpha-naphthyl acetate (Sigma, N-8505) ile 4,8 ml hekzazotize pararozaniline [2,4 ml %4'lük sodyum nitrit (Merck-S-3421) ve 2,4 ml %4'lük pararozaniline (Merck-P-3750)] ve 80 ml tamponlu fosfat solüsyonu (pH 5.0) karıştırılarak hazırlandı. İnkübasyon solüsyonu, pH'sı 1 M sodyum hidroksitle 5,8'e ayarlandıktan sonra süzüldü. Her hayvanın kan frotilerinden 2'şer adedi, inkübasyon solüsyonunda 37 °C'de 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda üç kez distile suda yıkanan frotilere, tamponlu asetat solüsyonunda (pH 4.2) hazırlanan % 1'lik metil green solüsyonunda 20 dk süreyle çekirdek boyası uygulandı. Alkol ve ksilen serilerinden geçirilen frotiler Entellan (Merck) ile kapatıldıktan sonra Leitz Laborlux-12 model araştırma mikroskopunda incelenerek her preparatta 200 lenfosit sayıldı. Lenfositlerden 1-4 adet kırmızı-kahverengi granül

içerenler ANAE-pozitif olarak değerlendirilirken, granül içermeyenler ANAE-negatif kabul edildiler. Lenfositlerin ANAE pozitifitesi yüzde (%) olarak ifade edildi.

Her hayvandan hazırlanan kalan 2'şer froti ise May Grünwald-Giemsa boyasıyla boyandı (Konuk, 1981). Boyamayı takiben, alkol ve ksilen serilerinden geçirilerek kapatılan preparatlarda 200 lökosit sayılarak hayvanların lökosit formülleri belirlendi ve her lökosit tipinin oranı yüzde (%) olarak ifade edildi.

İstatistiksel analizler, ark-sinus (arc-sine) metoduyla transforme edilen değerler kullanılarak gerçekleştirildi (Yıldız ve Bircan, 1991). Elde edilen verilerin tablolaştırılmasında elde edilen gerçek değerler kullanıldı.

Bulgular

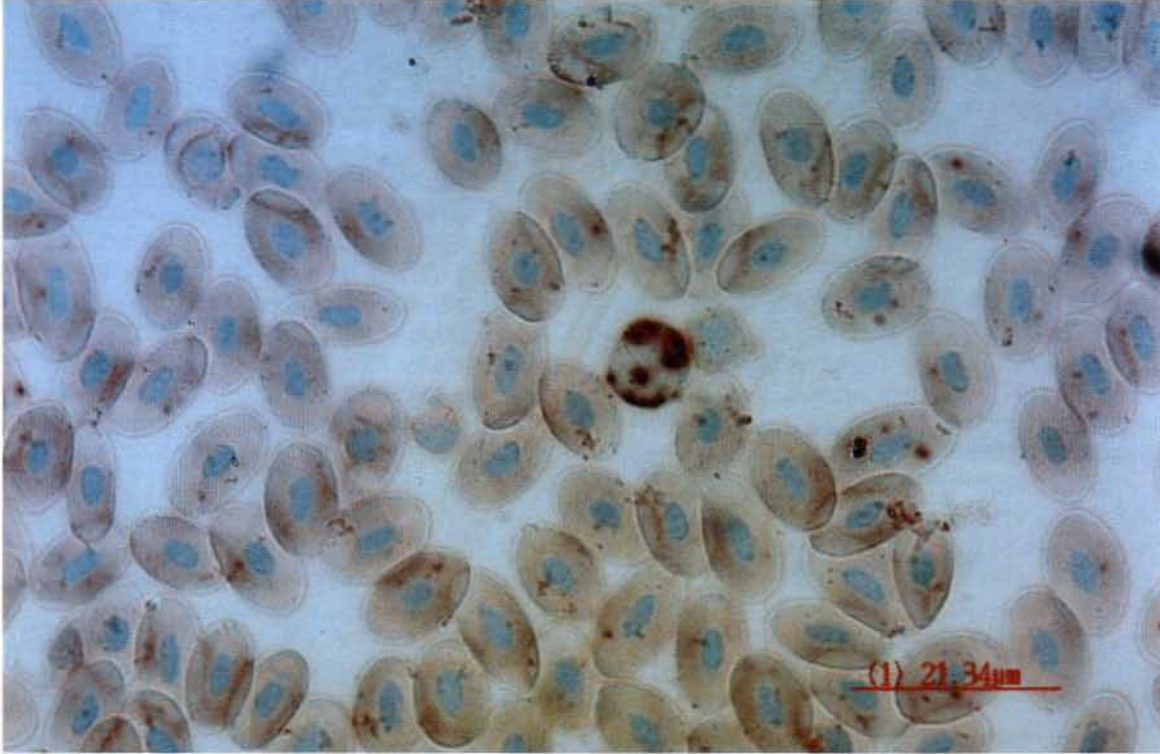
Genç ve ergin sülünlerde, perifer kan lenfositlerindeki alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi aktivitesi hücre zarının altında lokalize olan birkaç adet kırmızı-kahverengi granül tarzında (localised granular positivity) gözlenirken (Şekil 1), monositlerin diffüz granüler enzim pozitifitesi gösterdikleri dikkati çekti. Heterofil, eozinofil ve bazofillerin granüllerinde ise oldukça zayıf enzim pozitifitesine rastlandı.

Çalışmada elde edilen perifer kan ANAE-pozitif lenfosit oranları ile lökosit formülleri Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'de de görüldüğü gibi genç ve ergin sülün gruplarının her ikisinde de birbirlerine oldukça yakın ($P>0.05$) perifer kan lenfosit oranları tespit edildi. Genç sülünler erginlerden önemli derecede ($P<0.05$) daha yüksek monosit, eozinofil, bazofil ve ANAE-pozitif lenfosit oranlarına sahipken iken, ergin sülünlerin perifer kan heterofil oranları gençlerinkinden önemli derecede ($P<0.05$) daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 1. Genç ve ergin sülünlerin perifer kan ANAE-pozitif lenfosit oranları ile lökosit formülleri.

Gruplar n=11	HÜCRE TİPLERİ VE ORANLARI (%)					
	ANAE(+) lenfosit X ±SE	Lenfosit X ±SE	Monosit X ±SE	Heterofil X ±SE	Eozinofil X ±SE	Bazofil X ±SE
Genç sülünler	36,82±0,78	56,00±1,6	7,45±0,76	30,09±1,6	4,64±0,58	1,81±0,18
Ergin sülünler	33,73±0,71	52,91±2,3	2,81±0,30	41,09±2,2	2,00±0,38	1,18±0,12
	*	-	*	*	*	*

* Aynı sütundaki değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 1. Ergin bir sülünün perifer kanında ANAE poziti, bir lenfosit görülmektedir. Enzimatik reaksiyon ürünü olan kırmızı-kahverengi granüllerin hücre zarının hemen altında lokalize oldukları görülmektedir. ANAE demonstrasyonu, Bar: 21,34 μm.

Tartışma ve Sonuç

Ekonomik önemi olan kanatlı türlerinin perifer kan hücreleri üzerinde oldukça fazla sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte, sülünler üzerinde yapılmış olan çalışma sayısı oldukça azdır. Rico ve ark. (1977), kınalı keklıkların perifer kan heterofil oranlarını %32.3, bazofil oranlarını %5.3, eozinofil oranlarını %1.4, lenfosit oranlarını %56.1 ve monosit oranlarını da %4.6 olarak tespit etmişlerdir. Pica ve ark. (1993) ise, aynı türün heterofil oranını % 0-70, bazofil oranını %1-8, eozinofil oranını %0-6, lenfosit oranını %16-50 ve monosit oranını da %4-11 olarak bildirmişlerdir. Oyewale (1987), 32-36 haftalık tavukların perifer kan lenfosit oranını erkek hayvanlarda %67, dişilerde ise %63 olarak belirlemiştir. Durgun ve ark. (1990) 0-26 haftalık yerli hibrit tavukların perifer kan küçük lenfosit oranının erkeklerde %32-76 arasında ve dişilerde %26-74 arasında; büyük lenfositlerin ise erkeklerde %3-11 dişilerde ise %3-13 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Sur (2001) ise, Babcock-380 ırkı civcivlerin perifer kan lenfosit oranının, çıkış gününde %16 iken, dördüncü hafta sonunda %50'ye yükseldiğini bildirmiştir. Rico ve ark. (1977) keklıkların perifer kan lenfosit oranını %56,1 olarak bildirirken,

Pica ve ark. (1993) bu oranın %16-50 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Josef (2001), sülünlerin perifer kan heterofil oranlarının % 4-57 arasında değiştiğini bildirmiştir. Bu çalışmada ise, genç sülünlerin heterofil oranı % 30,09 erginlerin ki ise % 41,09 olarak bulunmuştur. Ergin sülünler önemli derecede ($P<0.05$) daha yüksek heterofil oranına sahiptir. Ergin sülünlerde tespit edilen heterofil düzeyleri tavuklardaki (Durgun ve ark., 1990; Oyewale, 1987) ve keklıklardeki (Rico ve ark., 1977; Pica ve ark., 1993) değerlere (% 32-70) oldukça yakındır.

Farklı sülün ırklarında kan monosit oranlarının %1-24 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Josef, 2001). Rico ve ark. (1977) ile Pica ve ark. (1993), keklıklarında kan monosit oranlarının % 4-11 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, genç sülünlerin perifer kan monosit oranları % 7,45 ve ergin sülünlerinki %2,81 olarak bulunmuştur. Bu değerler, Josef'in (2001) sülünler için bildirdiği değerlerden farklıdır. Bu farklılık, muhtemelen araştırmada kullanılan hayvanların ırk ve yaşlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Josef (2001), sülünlerin perifer kan bazofil

oranlarının % 1-12 ve eozinofil oranlarının ise % 0-4 arasında değiştiğini bildirmektedir. Bu çalışmada ise, genç sülünlerin eozinofil oranları % 4,61 bazofil oranları % 1,81 iken; ergin sülünlerde bu değerler sırasıyla % 2,00 ve % 1,18 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler, Josef'in (2001) sülünler için bildirdiği değerler ile tavuklar (Oyewale, 1987; Durgun ve ark., 1990) ve keklıklar için bildirilen (Rico ve ark., 1977; Pica ve ark., 1993) sonuçlarla benzerdir.

Enzim sitokimyasal ve histokimyasal teknikler, çeşitli hayvan türleri ve insanların immün sistemleri üzerinde yapılan deneysel çalışmalar yanında bazı hastalıkların teşhisi, sınıflandırılmaları ve prognozlarının belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Nitekim, insan (Catowsky, 1991) ve sığırların (Kajikawa ve ark., 1983) bazı lösemi tiplerinin ayırt edilmesinde bu tekniklerden geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Lizozomal bir enzim olan ANAE enzimi, perifer kan ve lenfoid dokulardaki bazı lökosit tiplerinin ayırt edilmeleri ile bu hücrelerin doku lokalizasyonlarının saptanmasında önemli bilgiler sağlamaktadır (Nakanishi ve ark., 1983). Söz konusu enzim, insan (Higgy ve ark., 1977; Osbaldiston ve Sulliman, 1978; Çelik ve ark., 1991), sığır (Yang ve ark., 1979; Kajikawa ve ark., 1983), köpek (Wulff ve ark., 1981), tavuk (Pruthi ve ark., 1987; Maiti ve ark., 1990) ve farelerde (Mueller ve ark., 1975) T-lenfositlerle monositler için spesifik bir enzimdir. Enzimatik reaksiyon ürünü; T-lenfositlerinde 1-4 adet kırmızı-kahverengi lokalize granüller halinde, monositlerde küçük ve yaygın granüller tarzındadır. B-lenfositlerinde ANAE pozitifitesi gözlenmemektedir. Bu enzimatik pozitifite farklılıklarından yararlanılarak, insanlarda ve bazı hayvan türlerinde T- ve B-lenfositleri ile makrofajlar, hem kan frotilerinde ve hem de doku kesitlerinde spesifik olarak ayırt edilebilmektedirler (Yang ve ark., 1979).

ANAE enzimi; embriyonik dönemde gerçekleşen T lenfosit olgunlaşmasının son evrelerinde, timus medullasındaki medullar timositler tarafından kazanılmakta olup, perifer kandaki immüno kompotent, olgun T-lenfositlerinin enzimidir (Basso ve ark., 1980; Çelik ve ark., 1992; Sur, 2001). Sığırlarda, gebeliğin 60. gününde medullar timositler yanında perifer kan, dalak ve bağırsağın lamina propriyasındaki az sayıda lenfositte gözlenen ANAE pozitifitesi, gebeliğin ilerlemesiyle birlikte yükselmekte ve gebeliğin 240. gününde perifer kandaki ANAE-pozitif lenfosit oranı %42'ye ulaşmaktadır (Çelik ve ark., 1992). Basso ve ark. (1980) ise ANAE enziminin insanlarda fetal dönemin sonlarına doğru kazanıldığını bildirirken; Sur (2001), 18 günlük tavuk embriyolarının perifer kan

lenfositlerinin sadece %2'sinde ANAE pozitifitesi tespit etmiştir.

Perifer kandaki ANAE-pozitif lenfosit oranlarında türler arasında önemli farklar gözlenmiştir. İnsanlarda bu oran %53-74 (Higgy ve ark., 1977; Çelik ve ark., 1991) arasında iken, sığırlarda %47-71 (Kajikawa ve ark., 1983; Nakanishi ve ark., 1983; Çelik ve ark., 1994) arasında, köpeklerde %56-58 (Wulff ve ark., 1981; İzci ve ark., 2002) arasında, tavuklarda ise %35-55 (Pruthi ve ark., 1987; Maiti ve ark., 1990; Sur, 2001) arasında değişmektedir. Aynı zamanda, hayvanların ırklarına (Şen ve ark., 2002; Sur ve ark., 2003) ve yaşlarına (Çelik ve ark., 1994) bağlı olarak da perifer kan lenfositlerinin ANAE pozitifitelerinde belirgin farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Şen ve ark. (2002), sağlıklı ve 6-8 haftalık sokak köpeklerinin perifer kan ANAE, asit fosfataz (ACP-az), beta-glukuronidaz (BG-az) ve N-asetil beta glukozaminidaz (NABG-az)-pozitif lenfosit oranlarını sırasıyla %62,64, %46,74, %14,77 ve %49,43 olarak tespit etmişlerdir. Sur ve ark.'nın (2003), 6 aylık Kangal köpeklerinde yaptıkları bir çalışmada söz konusu enzimlerin pozitifiteleri sırasıyla %63,13, %39,37, %55,11 ve %52,45 olarak bildirilmiştir.

Çevre koşullarına ve hayvanların bağışıklık sistemlerinde oluşan bozukluklara bağlı olarak perifer kandaki lenfositlerin ANAE pozitifite oranlarında da belirgin değişiklikler meydana gelmektedir. Özellikle lenfosüpressif ve lenfoproliferatif bozukluklarla seyreden viral hastalıklarda, perifer kan lenfositlerinin ANAE pozitifitelerinde önemli artış veya azalışlar meydana gelmektedir. Nitekim, Kajikawa ve ark. (1983), enzootik ve persistent lökozis'li sığırlarda ANAE-pozitif lenfosit oranlarında önemli düşüşlerin meydana geldiğini saptamışlardır. Şen ve ark. (2002) ise, deneysel olarak gençlik hastalığı oluşturdukları 6-8 haftalık sokak köpeklerinde, virus inokülasyonunu takip eden ve henüz hastalık semptomlarının oluşmadığı 2. günde bile perifer kan ANAE- ve ACP-az-pozitif lenfosit oranlarının belirgin biçimde düştüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (Şen ve ark., 2002), bu bulgunun köpek gençlik hastalığının erken teşhisinde yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, perifer kandaki T lenfosit oranlarının belirlenmesinin, kanda bu hücrelerin artışıyla karakterize olan tavukların Marek hastalığının ayırıcı teşhisinde, klinik ve otopsi bulguları ile histopatolojik bulguları bu hastalıkla karışabilen bazı enfeksiyöz hastalıklardan ayırt edilmesinde yararlı olabileceği bildirilmiştir (Hudson ve Payne, 1973; Jeurissen ve ark., 1989). Yukarıdaki sonuçlar dikkate alındığında, perifer kan lenfositlerinin ANAE pozitifitesinde oluşan de-

ğişiklikler, hem immün sistemin fonksiyonel durumu ve hem de lenfosüpressif veya lenfoproliferatif hastalıkların teşhisi ve prognozlarının saptanmasında diğer bulgulara ek olarak önemli yararlar sağlayabilir.

Bu çalışmada, altı haftalık genç ve bir yaşlı ergin sülünlerin perifer kanındaki lökosit oranları ile ANAE-pozitif lenfositlerin oranları belirlenmiştir. Tablo 1'de de görüldüğü gibi genç sülünler erginlerden önemli derecede ($P<0.05$) daha yüksek monosit, eozinofil, bazofil ve ANAE-pozitif lenfosit oranlarına sahipken iken, ergin sülünlerin perifer kan heterofil oranları gençlerinkinden önemli derecede ($P<0.05$) daha yüksektir. Erginlerin lenfosit oranları, aradaki fark istatistiksel öneme sahip olmamakla birlikte ($P>0.05$), gençlerinkinden daha düşüktür. Ergin sülünlerin ortalama perifer kan ANAE-pozitif lenfosit oranı %33,73 iken, genç sülünlerde bu oran %36,82 olup aradaki fark istatistiksel öneme sahiptir ($P<0,05$).

Tüm omurgalı ve kanatlılarda yaşlanmayla birlikte lenfoid sistemde meydana gelen en önemli değişiklik, timus ve bursa Fabricii'nin involüsyonu (Ciriaco ve ark. 2003; Torroba ve Zapata, 2003) ve bu değişikliklerin bir sonucu olarak da perifer kandaki T ve B lenfosit düzeylerinin düşmesidir (Sainz ve ark., 2003). Nitekim, Kocisová ve ark. (1995), 12 aylık sülünlerde timus ve bursa Fabricii'nin involüsyonunun ileri aşamada olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç, ergin sülünlerin perifer kan lenfositlerindeki düşüşün, ANAE pozitif T lenfositlerinin oranında meydana gelen düşüşten kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle lenfositlerin perifer kandaki sayı oranlarında yaşa bağlı olarak belirgin değişikliklerin ortaya çıktığı iyi bilinmektedir. Nitekim, Çelik ve ark.'nın (1994), farklı yaşlardaki sığırların perifer kan T-lenfosit oranları üzerinde yaptıkları çalışmada; yaşamın ilk günlerinde yüksek olan T-lenfosit oranlarının belli bir süre sonra düşüşe geçtiği ve tekrar yükselerek 6-7 yaşlı sığırlarda en yüksek seviyeye ulaştığı, 8-9 yaşlı sığırlarda ise tekrar düşüşe geçtiği gösterilmiş ve perifer kandaki T-lenfosit oranının dalgalı bir seyir takip ettiği ileri sürülmüştür. Kanatlılarda ise sekünel olgunluğa girişle birlikte merkezi lenfoid organlarda başlayan involüsyon ilerleyen dönemlerde bu organların atrofisi ile sonuçlanmaktadır. Bu involütif değişiklikler de lenfositlerin perifer kandaki sayı ve oranlarında belirgin düşüşlere yol açtığından, hayvanların perifer kanlarındaki lenfositlerin sayı ve oranlarında dalgalanmalar ortaya çıkmaktadır (Kocaöz ve ark., 1997; Dönmez ve Çelik, 1998).

Josef (2001), farklı sülün ırklarının perifer kanlarındaki lenfosit oranlarının %27-90 arasında değiştiğini, incelenen ırkların tamamında lenfositlerin perifer kanda en yüksek oranda bulunan akuyuvarlar olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacının (Josef, 2001) bulduğu değerlerin geniş bir değişim aralığına sahip olması, ırklar arasındaki farklardan kaynaklanabileceği gibi hayvanların yaşlarındaki farklardan da kaynaklanabilir. Bu çalışmada ise, istatistiksel öneme sahip olmamakla birlikte ($P>0,05$), ergin sülünlerin perifer kan lenfosit oranlarının (%52), gençlerinkinden (%56) daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

Sonuç olarak, farklı tat ve aromaya sahip olan etiyile değerli bir av hayvanı olan ve ülkemizde entansif yetiştiriciliği de son yıllarda hızla yaygınlaşan etçi sülünlerin lökosit enzimleri hakkında aydınlatılması gereken pek çok nokta vardır. Zira; bir yandan immün sistemi baskılayan çeşitli etkenler (Coşkun ve ark., 1998) hayvanların hastalıklara karşı duyarlılıklarını artırırken, öte yandan immün sistemin kendi hastalıkları da verim ve karlılığı azaltan önemli faktörlerdir. İnsanlarda ve memeli hayvan türlerinde olduğu gibi kanatlılarda da kan dokusu, hastalıkların teşhisi, ayırıcı tanısı ve prognozunun belirlenmesinde önemli bulgular sağlayan; temini, işlenmesi ve elde edilen sonuçların yorumlanması nispeten daha kolay olan bir materyaldir. Bu anlamda kan hücrelerinin sayı ve oranlarının yanı sıra bu hücrelerin ve özellikle lökositlerin enzimatik profillerinin belirlenmesi oldukça büyük yararlar sağlamaktadır. Enzim sitokimyasal ve histokimyasal teknikler; immünohistokimyasal ve flow sitometrik yöntemler gibi daha kesin sonuçlar veren ileri teknikler kadar kesin sonuçlar vermese de ucuz olmaları, güvenilir sonuçlar vermeleri, kolayca uygulanabilir olmaları nedenleri ile daha pratiktirler. Bu nedenle ülkemizde gelişmekte olan sülün yetiştiriciliği sektöründe çıkabilecek sağlık problemlerinin teşhisi ve uygun tedavilerin planlanmasında perifer kan lökosit enzimleriyle ilgili bilgi ve bulguların artırılması için daha fazla enzim tipi ve daha fazla yaş grubu üzerinde detaylı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Appel, M.J.G., Kelling, S.P. and Summers, B.A. (1992). Dog lymphocytes cultures facilitate the isolation and growth of virulent canine distemper virus. J. Vet. Diag. Invest., 4, 258-263.
- 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.

- Catowsky, D. (1981). Leucocyte cytochemical and immunological techniques, In "Practical Haematology", Eds., J.V. Dacie and S.M. Lewis, 143-174, 7th edition, Churchill Livingstone.
- Ciriaco, E., Piñera, P., Díaz-Esnal, B., Laurà, R. (2003). Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius) *Microsc. Res. Tech.*, 62:482-487.
- Coşkun, B., İnal, F., Çelik, İ., Erganiş, O., Tiftik, A.M., Kurtoğlu, F., Kuyucuoğlu, Y., and Ok, Ü. (1998). Effects of dietary levels of vitamin A on the egg yield and immune responses of laying hens. *Poult. Sci.*, 77, 4, 542-546.
- Çelik, İ., Aştı, R.N. ve Ergene, N. (1991). İnsan perifer kanındaki B, T ve Null lenfositlerinin esteraz sitokimyası ve yüzey immüoglobülinlerinin immünoenzimatik yöntemle boyanarak belirlenmesi *S.Ü. Tıp. Fak. Derg.*, 7, 4, 497-503.
- Çelik, İ., Aştı, R.N. ve Boyraz, M.Ü. (1992). Sığır fetal perifer kan lenfositlerinin alfa-naftil asetat esteraz aktivitesi üzerinde ışık mikroskopik çalışmalar. *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 8, 2, 41-44.
- Çelik, İ., Aştı, R.N., Kadak, R. ve Işık, M.K. (1994). Farklı yaşlardaki sığırların perifer kan T-lenfosit oranlarında görülen değişiklikler. *Hayvancılık Araş. Derg.*, 4, 2, 68-72.
- Çetin, O. Ve Kırıkçı, K. (1999). Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen sülünlerin performansları. *S.Ü. Vet. Bil. Derg.*, 1, 23-26.
- Dönmez, H.H. ve Çelik, İ. (1998). Erken embriyonal dönemde yumurtaya verilen testosteron propiyonat'ın tavuk bursa Fabricii'si üzerindeki etkileri. *Vet. Bil. Derg.*, 14, 1, 119-132.
- Durgun, Z., Eksen, M., Serpek, P. ve Keskin, E. (1990). Değişik yaş gruplarındaki yerli hibrit tavuklarda bazı hematolojik değerler. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*, 7-8, 11-18.
- 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.
- Hudson, L., and Payne, L.N. (1973). An analysis of the T and B cells of Marek's disease lymphomas of the chicken. *Nature New Biol.*, 241, 52-53.
- İzci, C., Çelik, İ., Alkan, F., Oğurtan, Z., Ceylan, C., Sur, E., and Özkan, Y. (2002). Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca *Am. J. Vet. Res.*, 63, 688-694.
- Jeurissen, S.H.M., Janse, E.M., Kok, G.L. and Deboer, G.F. (1989). Distribution and function of non-lymphoid cells positive for monoclonal antibody CVI-ChNL-68,2 in healthy chickens and those infected with Marek's disease virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 22, 123-133.
- Josef, H. (2001). Blood picture and biochemistries in different species of pheasants. Ph.D. Thesis. Viyana Üniversitesi, Veteriner Fakültesi.
- 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.
- Kocaöz, N., Çelik, İ. ve Ünsal, S. (1997). Kuluçkadan çıkıştan sonra tavuk bursa Fabricii'sinde oluşan histolojik değişiklikler. *Vet. Bil. Derg.*, 13, 1, 77-84.
- Konuk, T. (1981). *Pratik Fizyoloji*. A.Ü. Vet. Fak. Yayın., 378, A.Ü. Basımevi, Ankara.
- Kocisová M., Stopek, D., Sirotáková, M., Rybárová, S., Jurgová, T. (1995). ACHE-positive innervation of primary lymphopoietic organs of pheasants after hatching. *Vol. 39, 3-4: 75-78.*
- 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, R.G., Buerki, H., Keller, H.U., Hess, M.W. and Cottier, H. (1975). Non-specific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. *Eur. J. Immunol.*, 5, 270-274.
- Nakanishi, H., Koyama, H., Kajikawa, O. and Saito, H. (1983). Identification of bovine T and B lymphocytes in normal peripheral blood, lymph nodes and spleen. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 45, 1, 97-102.
- Osbaldiston, G.W. and Sulliman, R.J. (1978). Cytochemical demonstration of esterases in peripheral blood leukocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 39, 4, 683-685.
- Oyewale, J.O. (1987). Haematological studies on apparently healthy Nigerian domestic chickens (*Gallus domesticus*). *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, 35, 108-112.
- Pica, A., Lodato, A., Grimaldi, M.C., Della Corte, F., Galderisi, U. (1993). A study of the bone marrow precursors and hemoglobin of the blood cells of the red-legged partridge (*Alectoris rufa rufa* L.). *Ital. J. Anat. Embryol.*, Oct-Dec;98, 4, 277-292.
- 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.
- Rico, A.G., Braun, J.P., Benard, P., Burgat-Sacaze, V. (1977). Biometry, haematology, plasma biochemistry and plasma and tissues enzymology of the red partridge (*Alectoris rufa*). *Ann. Rech. Vet.*, 8, 3, 251-256.
- Sainz RM, Mayo JC, Reiter RJ, Tan DX, Rodriguez C. (2003). Apoptosis in primary lymphoid organs with aging. *Microsc. Res. Tech.*, 15;62,6,524-539.
- Sur, E. (2001). Yumurtaya verilen aflatoksin B1 (AF B1)'in tavukların lenfoid organlarının embriyonal gelişimi

üzerindeki etkilerinin enzim histokimyasal yöntemlerle araştırılması. Doktora Tezi. S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Sur, E., Çelik, İ., Öznurlu, Y., Aydın, M.F., Şen, İ. and Özparlak, H. (2003). Enzyme histochemistry and AgNOR numbers in the peripheral blood leukocytes of 6 month-old Kangal bred Anatolian shepherd dogs. *Revue Méd. Vét.*, 154 (10): 591-598.

Şen, İ., Turgut, K., Çelik, İ. and Kıran, M.M. (2002). The importance of lymphocyte enzyme profile, inclusion bodies in circulating leukocytes conjunctival smear samples in the diagnosis on canine distemper virus infection. *Indian Vet. J.*, 79, 213-217.

Tepeli, C., Kırıkçı, K., Çetin, O., Günlü, A. ve Yılmaz, A. (1999). Farklı kesim yaşlarında sülünlerin (*P. colchicus*)

büyüme, besi performansı, kesim ve karkas özellikleri. *S.Ü. Vet. Bil. Derg.*, 1, 27-32.

Torroba M, Zapata AG. (2003). Aging of the vertebrate immune system. *Microsc.Res.Tech.*, 15;62,6,477-81.

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.

Yıldız, N. ve Bircan, H. (1991). Araştırma ve Deneme Metodları, Atatürk Üniversitesi Yayınları 697, Ziraat Fakültesi No: 305, Ders Kitapları Serisi No: 52, Erzurum.