

## Ergin Evcil Ördeklerin (*Anas Platryhynchos*) Perifer Kan Lenfositlerinde Alfa-Naftil Asetat Esteraz ve Asit Fosfataz Aktivitesinin Belirlenmesi

Hasan Hüseyin DÖNMEZ<sup>1\*</sup>

Emrah SUR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 42031 KONYA  
\*e-posta: hdonmez@selcuk.edu.tr

### Ergin Evcil Ördeklerin (*Anas Platryhynchos*) Perifer Kan Lenfositlerinde Alfa-Naftil Asetat Esteraz ve Asit Fosfataz Aktivitesinin Belirlenmesi

**Özet:** Bu çalışma, ergin ördeklerin (*Anas Platryhynchos*) perifer kan lenfosit (PBL) oranı ile alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP) pozitif lenfosit oranlarını belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmada 8 ergin evcil ördekten alınan kan örnekleri kullanıldı. ANAE-pozitif lenfosit oranları % 32.62 olarak tespit edilirken, ACP pozitif lenfosit oranı % 78.5 olarak bulundu. Perifer kan lenfosit oranı ise % 67 olarak belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** ACP, ANAE, lenfosit, ördek.

#### Determination of the Alpha-Naphthyl Acetate Esterase (ANAE) and Acid Phosphatase (ACP) Activity in the Peripheral Blood Lymphocytes of the Adult Duck (*Anas Platryhynchos*)

**Summary:** This study was carried out to determine the percentages of the peripheral blood lymphocytes (PBL), alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) positive and acid phosphatase (ACP) positive lymphocytes in the peripheral blood of adult domestic ducks (*Anas Platryhynchos*). For this purpose, heparinised (10 IU heparine/mL blood, Liquepine, Roche) peripheral blood samples of 8 adult domestic ducks were used. The percentages of PBL, ANAE positive lymphocyte rate and ACP positive lymphocyte rate were 67%, 32.62%, and 78.5% respectively.

**Key words:** ACP, ANAE, lymphocyte, duck.

#### GİRİŞ

Enzim histokimyasal teknikler, klasik Romanowsky boyaları ile ayırt edilemeyen bazı kan hücrelerinin olgunlaşmamış 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 (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. Enzimin insanlarda (Çelik ve ark., 1991), tavuklarda (Maiti ve ark., 1990), sığırlarda (Kajikawa ve ark., 1983; Çelik ve ark., 1994), farelerde (Mueller ve ark., 1975), devekuşlarında (Ergün ve ark., 2004a), hindilerde (Ergün ve ark., 2004b), Ankara tavşanlarında (Özcan, 2005), Van kedilerinde (Yörük ve ark., 1998) ve köpeklerde (Wulff ve ark., 1981) perifer kandaki olgun T-lenfositlerine özgü olduğu; B-lenfositlerinde ise bulunmadığı bildirilmektedir (Basso ve ark., 1980). Monosit ve makrofajlarda da güçlü ANAE aktivitesi gözlenmektedir (Mueller ve ark., 1975).

Asit fosfataz (ACP) enzimi, miyelositler, polimorf nükleer lökositler, lenfositler, plazma

hücreleri, megakaryositler, kan pulçukları ve mononükleer fagositik sistem hücrelerinde bulunan lizozomal bir enzimdir (Catowsky, 1981). Kaplow ve Burstone (1964) insan perifer kanındaki lenfositlerin birkaç adet iri granülden oluşan granüler enzim pozitivitesi gösterdiklerini, monositlerin ise soluk ve sitoplazmaya dağılmış haldeki ince granüllerden oluşan diffüz pozitiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Enzimin memelilerde T-lenfositlere spesifik olduğu bildirilirken (Yang ve ark., 1982), kanatlılarda B-lenfositler için spesifik olduğu ileri sürülmektedir (Graczyk, 1994).

Ördek yetiştiriciliği ülkemizde ticari olarak gelişmemekle birlikte çoğunlukla halk elinde et ve yumurta üretimi amaçlı yapılmaktadır. Bunun yanında az sayıda ticari işletmenin yanı sıra daha çok bahçe hayvancılığı şeklinde kişisel hobi amaçlı yetiştirilmektedir. Ancak özellikle son yıllarda yurt dışından gelen taleplere paralel olarak artan ihtiyacın karşılanabilmesi için ticari amaçlı ördek çiftliklerinin sayısında bir artış söz konusudur. (www.bahce.biz).

Bu çalışmada, entansif olarak yetiştiriciliği henüz yaygın olmayan ancak son yıllarda kuş gripi vakaları ile de gündeme gelen halk elindeki ördeklerin perifer kan ANAE-pozitif ve ACP-

pozitif lenfosit oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE METOT

Araştırma materyalini, Konya bölgesinde halk elinde yetiştirilen cinsiyet ayrımı yapmaksızın ergin (1-2 yaşlı) 8 adet evcil ördekte (*Anas Platryhynchos*) alınan kanlar oluşturdu.

#### Enzim Demonstrasyonu

ANAE demonstrasyonu, Dönmez ve ark. (2002)'nin bildirdiği yöntemle gerçekleştirildi. Bu amaçla, kanat altı venasından heparinli (Heparin 10 İÜ/ml kan, Liquevine, flc., Roche) tüplere alınan perifer kan örneklerinden 6'şar adet froti hazırlandı. Bu frotilerden ikisi klasik May Grünwald-Giemsa boyama yöntemi ile boyanırken, ikisi ANAE, ikisi de ACP enzimi demonstrasyonları için kullanıldı. Havada kurutulan frotilerden ANAE demonstrasyonu yapılacak olanlar -10 °C'deki glutaraldehid-aseton tespit solüsyonunda (pH=4.8) 3 dakika (Maiti ve ark., 1990), ACP demonstrasyonu yapılacak olan frotiler + 4 °C'de formol-kalsiyum (pH=7) tespit solüsyonunda 10 dakika (Goldberg ve Barka, 1962) süreyle tespit edildiler. Bu sürelerin sonunda distile su ile 3 kez yıkanan frotiler oda sıcaklığında kurutuldu.

Kurumayı takiben frotiler aşağıda ayrıntıları verilen ve her enzim için ayrı ayrı hazırlanan inkübasyon solüsyonlarında gerekli sürelerde inkübe edildi.

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) demonstrasyonu

Bu amaçla, pH'sı 5.0 olan tamponlu fosfat solüsyonunun 80 ml'sine 0.8 ml aseton (Merck) içerisinde eritilen 20 mg substrat (alpha-naphthyl acetate, N-8505-Sigma) yavaş yavaş damlatıldı. Ardından 2.4 ml %4'lük 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 süreyle 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 süzülde. Bu inkübasyon solüsyonu içerisinde kan frotileri 37 °C'de 2 saat kontrollü bir şekilde bekletildiler. Kırmızı-kahverengi granüllerin ortaya çıkmasının ardından inkübasyon işlemi sona

erendirildi ve 3 kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı (Maiti ve ark., 1990).

Asit fosfataz (ACP) demonstrasyonu

Bu amaçla, pH'sı 5.0 olan tamponlu 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 hekzazotize 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 süzülde. Hazırlanan bu inkübasyon solüsyonu içerisinde kan frotileri oda sıcaklığında 1 saat kontrollü bir şekilde bekletildiler. Hücre sitoplazmalarında spesifik kırmızı-pembe granüllerin oluşumunun ardından inkübasyon işlemi sona erendirildi. Üç kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı (Goldberg ve Barka, 1962).

Enzim demonstrasyonu yapılan kan preparatlarının her birinde toplam 200 adet lenfosit sayılarak pozitif lenfosit oranları belirlenirken, May Grünwald-Giemsa boyama metodu ile boyanan diğer kan frotilerinde lenfosit oranları (%) tespit edildi (Konuk, 1981).

Hazırlanan preparatlar Leica DM 2500 model ışık mikroskopunda incelenerek sayım yapıldıktan sonra gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları aynı mikroskoba eklenmiş DFC-320 dijital kamera ünitesiyle çekildi.

Elde edilen veriler tanımlayıcı istatistikler kullanılarak tablolaştırılmıştır (SPSS 13.0, 2004).

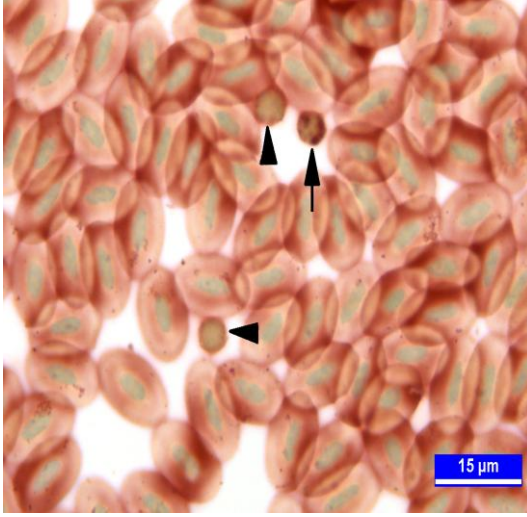
### BULGULAR

Perifer kan lenfositlerindeki alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi aktivitesi hücre zarının altında lokalize olan birkaç adet kırmızı-kahverengi granül tarzında (lokal granüler pozitifite) gözlenirken (Şekil 1), ANAE pozitifitesine benzer şekilde ACP pozitifitesi hücrenin bir ya da birkaç kutbunda kırmızı-pembe granül tarzında dikkati çekti (Şekil 2).

Çalışmada elde edilen perifer kan ANAE-ve ACP-pozitif lenfosit oranları ile perifer kan lenfosit (PBL) oranı Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Perifer kan ANAE ve ACP pozitif lenfosit ile PBL oranları.

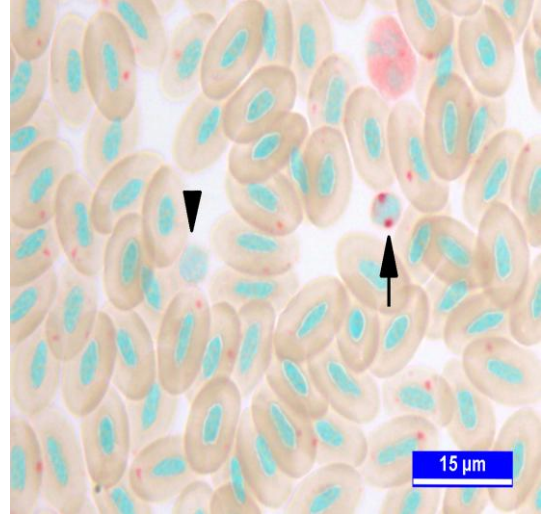
n= 8	En düşük	En yüksek	Ortalama	Std. hata
ANAE (+) lenfosit (%)	30.00	35.00	32.62	0.59
ACP (+) lenfosit (%)	62.00	90.00	78.50	4.01
PBL (%)	58.00	73.00	67.00	1.94



**Şekil 1.** Ergin bir ördeğin perifer kanında ANAE pozitif (ok) ve ANAE negatif (okbaşı) lenfosit görülmektedir. ANAE demonstrasyonu, Bar: 15 µm

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Ekonomik önemi olan kanatlı türlerinin gerek lenfoid dokuları ve gerekse perifer kan lenfositleri (PBL) üzerinde oldukça fazla sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte, bu tür çalışmalar daha çok yumurtacı ve etçi tavuk ırkları üzerinde yoğunlaşmış; kaz, ördek, hindi, sülün, bildircin ve keklik gibi kanatlılar üzerinde oldukça az çalışma yapılmıştır. Nitekim, 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)'nin kınalı keklikler üzerinde yaptıkları bir çalışmada perifer kan lenfosit oranları %56.1 olarak bulunurken; Pica ve ark. (1993) ise, yine aynı türün lenfosit oranını %16-50 arasında bildirmişlerdir. Josef (2001), farklı sülün ırklarının perifer kanlarındaki lenfosit oranlarının %27-90 arasında değiştiğini, incelenen ırkların tamamında lenfositlerin perifer kanda en yüksek oranda bulunan akyuvarlar olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacının (Josef, 2001) bulduğu değerlerin geniş bir değişim aralığına sahip olması, ırklar arasındaki farklılardan kaynaklanabileceği gibi hayvanların yaşlarındaki farklılardan da kaynaklanabilir. Dönmez ve Sur (2007)'un 1 günlük, 5 haftalık ve 12 haftalık kaya kekliklerinde yaptıkları bir başka çalışmada ise PBL oranları sırasıyla %57.5, %49.33 ve %46.17 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 1.** Ergin bir ördeğin perifer kanında ACP pozitif (ok) ve ACP negatif (okbaşı) lenfosit görülmektedir. ACP demonstrasyonu, Bar: 15 µm

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, 1981) ve sığırların (Kajikawa ve ark., 1983) bazı lösemi tiplerinin ayırt edilmesinde bu tekniklerden sıklıkla 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, insanlarda (Osbaliston ve Sulliman, 1978; Çelik ve ark., 1991), sığırlarda (Kajikawa ve ark., 1983), köpeklerde (Wulff ve ark., 1981), tavuklarda (Pruthi ve ark., 1987; Maiti ve ark., 1990), devekuşlarında (Ergün ve ark., 2004a), hindilerde (Ergün ve ark., 2004b), Ankara tavşanlarında (Özcan, 2005), Van kedilerinde (Yörük ve ark., 1998) ve farelerde (Mueller ve ark., 1975) T-lenfositler ile monositler için spesifik bir enzimdir. Enzimatik reaksiyon ürünü; T-lenfositlerinde 1-4 adet kırmızı-kahverengi lokalize granüller halindeyken, monositlerde küçük ve yaygın granüller tarzındadır. B-lenfositlerinde ANAE pozitivitesi gözlenmemektedir. Bu enzimatik pozitivite farklılıklarından yararlanılarak, insanlarda ve bazı hayvan türlerinde T- ve B-lenfositleri ile makrofajlar, hem kan frotilerinde 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'nin 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 (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, kaya keklıklarinde %37-47 arasında (Dönmez ve Sur, 2007), tavuklarda %35-55 (Pruthi ve ark., 1987; Maiti ve ark., 1990; Sur, 2001) arasında değişmekteyken; devekuşlarında %59.3 (Ergün ve ark., 2004a), hindilerde ise %51.8 (Ergün ve ark., 2004b) olarak tespit edilmiştir. Karaca ve ark. (2006) ise Malard, Muscovy ve Pekin ördeklerinde ANAE pozitif lenfosit oranlarını sırasıyla %57.9, %54.8, %55.1 bulmuşlardır. Bu çalışmada ANAE pozitif lenfosit oranı % 32.62 olarak bulunmuştur. Bu değerler hayvan türlerine göre (Şen ve ark., 2002; Sur ve ark., 2003) değişebildiği gibi aynı türün farklı ırklarına göre ve sağlık durumları ile yaşlarına (Çelik ve ark., 1994) bağlı olarak da değişebilmektedir. Şen ve ark. (2002), sağlıklı ve 6-8 haftalık sokak köpeklerinin perifer kan ANAE, asit fosfataz (ACP), beta-glukuronidaz (BG) ve N-asetil beta glukozaminidaz (NABG)-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.

Asit fosfataz (ACP) enzimi de yine asit hidrolazlar grubundan lizozomal bir enzim olup insan T-lenfositleri için 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 pozitif lenfosit oranlarında da belirgin düşürlere neden olduğu ileri sürülmektedir (Graczyk, 1994; Sur ve Çelik, 2003).

Perifer kan ACP pozitif lenfosit oranları türler arasında farklılıklar göstermektedir. Şen ve ark. (2002) 6-8 haftalık sağlıklı sokak köpeklerinde perifer kan ACP pozitif lenfosit oranının %46.74 olduğunu bildirirken, Sur ve ark. (2003) 6 aylık Kangal ırkı köpeklerde bu

oranı %39.37 olarak tespit etmişlerdir. Tavuklarda bu oran kuluçkadan çıkışın ilk gününde %63.70; kuluçkadan çıkışı takip eden dördüncü hafta sonunda ise %71.48 olarak bulunurken (Sur ve Çelik, 2003); bir günlük, 5 haftalık ve 12 haftalık kaya keklıklarinde sırasıyla %70, %81 ve %86.1 olarak tespit edilmiştir (Dönmez ve Sur, 2007).

Gerek bakım ve besleme koşulları ve gerekse hayvanların sağlık durumlarını etkileyen tüm faktörler ve özellikle bağışıklık sistemlerinde meydana gelen bir takım bozukluklar, perifer kan ACP ve ANAE pozitif lenfosit oranlarını da etkilemektedir. Lenfosupresif ya da lenfoproliferatif değişimlere neden olan hastalık etkenleri söz konusu oranlarda belirgin artışlar ya da düşüşlerle seyretmektedir. 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 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 (Jeurissen ve ark., 1989). Yukarıdaki sonuçlar dikkate alındığında, perifer kan lenfositlerinin ANAE pozitifitesinde oluşan değişiklikler, hem immün sistemin fonksiyonel durumu ve hem de lenfosupresif veya lenfoproliferatif hastalıkların teşhisi ve prognozlarının saptanmasında diğer bulgulara ek olarak önemli yararlar sağlayabilir.

Tüm omurgalı ve kanatlılarda yaşlanmayla birlikte lenfoid sistemde meydana gelen en önemli değişiklik, timus ve bursa Fabricii'nin involüsyonu ve bu değişikliklerin bir sonucu olarak da perifer kandaki T ve B lenfosit düzeylerinin düşmesidir (Sainz ve ark., 2003). Nitekim Koëišová ve ark. (1995), 12 aylık sülünlerde timus ve bursa Fabricii'nin involüsyonunun ileri aşamada olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle lenfositlerin perifer kandaki sayı oranlarında yaşa bağlı olarak belirgin değişikliklerin ortaya çıktığı iyi bilinmektedir. 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 seksüel 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 düşüslere yol açtığından, hayvanların perifer kanlarındaki lenfositlerin sayı ve oranlarında dalgalanmalar ortaya çıkmaktadır (Dönmez ve Çelik, 1998).

Ülkemizde ördek yetiştiriciliği henüz ticari amaçlı yetiştiricilik düzeyine ulaşmadığı için özel bir barınak ve teknolojik donanımdan yoksun olarak halk elinde uygun olmayan koşullarda yapılmaktadır. Söz konusu hayvanların her türlü iklim koşullarına karşı dayanıklı olmaları da ülkemizin hemen her bölgesinde kontrolsüz ve kayıt dışı bir şekilde yetiştirilmelerine neden olmaktadır (www.bahce.biz). Özellikle son yıllarda başta Asya ve Avrupa kıtaları olmak üzere tüm dünyayı tehdit eden avian influenza ya da halk arasında bilinen adıyla kuş gribi vakalarında kontrolsüz bir şekilde açık alanlarda beslenen ördeklerin oynadığı rezervuar rol nedeniyle bu hayvanların sağlık durumlarının iyi bilinmesi ve takibi ayrı bir önem kazanmıştır (Hulse-Post ve ark., 2005). Bunun yanı sıra genellikle, yumurtası, eti, karaciğeri, tüyü ve gübresi için yetiştirilen ördek, özellikle yurt dışından gelen taleplerin artması sonucu ülkemizde entansif yetiştiriciliği de yaygınlaşması beklenen bir çiftlik hayvanıdır. Dolayısıyla bağışıklık sisteminin iyi bir göstergesi olan lenfosit enzimleri ve perifer kan enzim pozitif lenfositlerin oranları hakkında aydınlatılması gereken pek çok nokta vardır. Zira bir yandan immün sistemi baskılayan çeşitli etkenler 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 lenfositlerin enzimatik profillerinin belirlenmesi oldukça büyük yararlar sağlamaktadır. Enzim sitokimyasal ve histokimyasal teknikler; immünohistokimyasal ve flow sitometrik yöntemleri 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 ve kuş gribi vakalarında kritik rol oynayan ördek yetiştiriciliği sektöründe çıkabilecek sağlık problemlerinin kontrolü, teşhisi ve uygun

tedavilerin planlanmasında perifer kan lenfosit enzimleriyle ilgili bilgi ve bulguların artırılması gerekmektedir. Bunun için daha fazla enzim tipini ve farklı yaş gruplarını içeren detaylı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

- Basso, G., Cocito, MG., Semenzato, G., Pezzutto, A., 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, 7<sup>th</sup> edition, Churchill Livingstone.
- Çelik, İ., Aştı, RN., Ergene, N. 1991. İnsan perifer kanındaki B, T ve Null lenfositlerinin esteraz sitokimyası ve yüzey immüno globülinlerinin immünoenzimatik yöntemle boyanarak belirlenmesi S.Ü. Tıp. Fak. Derg., 7, 4, 497-503.
- Çelik, İ., Aştı, RN., Boyraz, MÜ. 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, RN., Kadak, R., Işık, MK. 1994. Farklı yaşlardaki sığırların perifer kan T-lenfosit oranlarında görülen değişiklikler. Hayvancılık Araşt. Derg., 4, 2, 68-72.
- Dönmez, HH., Çelik, İ. 1998. Erken embriyonal dönemde yumurtaya verilen testosteron propiyonat'ın tavuk bursa Fabricii'si üzerindeki etkileri. Vet. Bil. Derg., 14, 1, 119-132.
- Dönmez, N., Dönmez, H., Keskin, E., Çelik, İ. 2002. Effects of zinc supplementation to ration on some hematological parameters in broiler chicks. Biol. Trace Element Res., 87, 125-131.
- Dönmez, HH., Sur, E. 2007. Hematology and enzyme histochemistry of the peripheral blood leucocytes in Rock Partridges (*Alectoris graeca*), Poult. Sci., 86: in press.
- Durgun, Z., Eksen, M., Serpek, P., Keskin, E. 1990. Değişik yaş gruplarındaki yerli hibrit tavuklarda bazı hematolojik değerler. Türk Vet. Hekimliği Derg., 7,8, 11-18.
- Ergün, E., Ergün, L., Özen, A., Aştı, RN. 2004a. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (*Stuthio camelus masaicus*), Revue Vét. Méd, 155, 3, 147-150.
- Ergün, L., Özen, A., Ergün, E., Astı, RN. 2004b. Alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of turkeys. Indian Vet. J., 81, 431-434.

- Goldberg, AF., Barka, T. 1962. Acid phosphatase activity in human blood cells. *Nature*, 21, 292.
- 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, 1-2,, 25-36.
- <http://www.bahce.biz/hayvan/ordek.htm> [Erişim: 14.11.2007]
- Hulse-Post, DJ., Sturm-Ramirez, KM., Humbert, J., Seiler, P., Govorkova, EA., et al. 2005. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Microbiol.*, 102,30, 10682-10687.
- İzci, C., Çelik, İ., Alkan, F., Oğurtan, Z., Ceylan, C., Sur, E., 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, SHM., Janse, EM., Kok, GL., Deboer, GF. 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. PhD. Thesis. Viyana Üniversitesi, Veteriner Fakültesi.
- Kajikawa, O., Koyama, H., Yashikawa, T., Tsubaki, S., Saito, H. 1983. Use of alpha-naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 8, 1549-1552.
- 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.*, 12,2, 805-811.
- Karaca, T., Cemek, M., Kanter, M. 2006. Lipid Peroxidation and Antioxidant Levels, and Alpha Naphthyl Acetate Esterase Activity of Peripheral Blood Lymphocytes in Mallard, Muscovy and Pekin Ducks. *Acta Vet. Brno.*, 75, 33-38.
- Konuk, T. 1981. *Pratik Fizyoloji*. A.Ü. Vet. Fak. Yayın., 378, A.Ü. Basımevi, Ankara.
- Koèišová, M., Stopek, D., Siroňáková, M., Rybárová, S., Jurgová, T. 1995. ACHE-positive innervation of primary lymphopoietic organs of pheasants after hatching. *Folia Vet.* 39, 3-4, 75-78.
- Maiti, NK., Saini, SS., Sharma, SN. 1990. Histochemical studies on chicken peripheral blood lymphocytes. *Vet. Res. Commun.*, 14, 207-210.
- Moriya, O., Ichikawa, Y. 1989. Acid phosphatase in lymphoid tissues of developing chick embryos. *Acta Histochem.*, 87,2, 99-105.
- Mueller, J., Brundel, RG., Buerki, H., Keller, HU., Hess, MW., 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., 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, GW., Sulliman, RJ. 1978. Cytochemical demonstration of esterases in peripheral blood leukocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 39, 4, 683-685.
- Oyewale, JO. 1987. Haematological studies on apparently healthy Nigerian domestic chickens (*Gallus domesticus*). *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, 35, 108-112.
- Özcan, Z. 2005. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes in Angora rabbits. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 881-884.
- Pica, A., Lodato, A., Grimaldi, MC., 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, AK., Gupta, RKP., Sadana, JR. 1987. Acid alpha naphthyl acetate esterase activity in peripheral blood lymphocytes and monocytes of chickens. *J. Vet. Med. A.*, 34, 390-392.
- Rico, AG., Braun, JP., 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 ageing. *Microsc. Res. Tech.*, 15; 62,6,524-539.
- SPSS, 2004. SPSS 13.0 for Windows, Copyright © SPSS Inc. Printed in USA.
- Sur, E. 2001. Yumurtaya verilen aflatoksin B<sub>1</sub> (AF B<sub>1</sub>)'in tavukların lenfoid organlarının embriyonal gelişimi üzerindeki etkilerinin enzim histokimyasal yöntemlerle araştırılması. Doktora Tezi. S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- 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. Poultry Sci.*, 44, 558-566.
- Sur, E., Çelik, İ., Öznurlu, Y., Aydın, MF., Şen, İ., 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., Kıran, MM. 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.
- Wulff, JC., Sale, GE., Deeg, HJ., Storb, R. 1981. Nonspecific acid esterase activity as a marker for canine T-lymphocytes. *Exp. Hematol.*, 9, 8, 85-870.
- Yang, TJ., Jantzen, PA., Williams, LF. 1979. Acid alpha-naphthyl acetate esterase: presence of activity in bovine and human T- and B lymphocytes. *Immunol.*, 38, 85-93.
- 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.*, 78,2, 141-149.
- Yörük, M., Aştı, RN., 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, 289-292.