



## RESEARCH ARTICLE

### Yak (Topoz, *Bos grinniens*) hemal düğümlerinin histolojisi ve alfa naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP-AZ) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma

Nariste Kadıralieva<sup>1</sup>, Emrah Sur<sup>2\*</sup>, Tuğba Özaydın<sup>2</sup>, Şamil Sefergil<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Bişkek, Kırgızistan,

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Kampüs, 42075, Konya, Türkiye,

<sup>3</sup>Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi ABD, Bişkek, Kırgızistan

Geliş: 08.08.2016, Kabul: 03.10.2016

\*emrahur@selcuk.edu.tr

### A Light microscopic investigation on the histology and alpha naphthyl acetate esterase (ANAE) and acid phosphatase (ACP-ase) positive lymphocyte localization in the hemal nodes of Yaks (*Bos grinniens*)

Eurasian J Vet Sci, 2017, 33, 1, 26-33

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2016.132

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, Kırgızistan Dağ Yaklarının (Topoz, *Bos grinniens*) hemal düğümlerinin histolojik yapıları ve bu organlardaki alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP-az) pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 2-4 yaşlı 6 adet Kırgız Dağ Yak'ından alınan hemal düğüm örnekleri materyal olarak kullanıldı. Rutin histolojik işlemleri takiben alınan kesitlere Crossmon'ın üçlü boyası uygulanırken, kriyostat kesitlerinde alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP-az) demonstrasyonları gerçekleştirildi.

**Bulgular:** Hemal düğümlerin düz kas hücrelerini de içeren bağ dokusundan oldukça kalın bir kapsülle çevrildiği ve organın, içleri kanla dolu çok geniş subkapsüler ve derin sinuslardan oluşan gelişmiş bir sinus sistemine sahip olduğu gözlemlendi. Organda korteks ve medula ayırımı belirgin değildi. Lenf folikülleri ve lenfatik kordonların daha çok organın iç bölgelerinde yerleştiği dikkati çekti. ANAE ve ACP-az pozitif lenfositlerin daha çok lenf foliküllerinin kenar bölgeleri ile interfoliküler bölgelerde yerleştikleri tespit edildi.

**Öneriler:** Süt ve süt ürünleri ile et ve et ürünleri sağlama açısından yaklar Kırgızistan ekonomisi için son derece önemli hayvanlardır. Ayrıca yaklar yüksek rakım, düşük hava sıcaklığı, buzağularının beslenip büyüebilmesi için kısa bir zaman diliminin olması ve besin tedarikinde büyük mevsimsel değişiklikler gibi oldukça zor koşullara uyum sağlayabilmekte ve yaşayabilmektedirler. Dolayısıyla bu tür üzerinde daha kapsamlı çalışmaların planlanması gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Yak, hemal düğüm, ANAE, ACP-az.

#### Abstract

**Aim:** This study was performed to determine the histologic structure and localization of the alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE)-and acid phosphatase (ACP-ase) positive lymphocytes in hemal nodes of Kyrgyzstan's mountain Yaks (*Bos grinniens*).

**Materials and Methods:** For this purpose, tissue samples from hemal nodes of six, 2-4 year-old-aged Kyrgyzstan's mountain Yaks were used. After processing, tissue sections were taken and stained with Crossmon's trichrome stain. In frozen sections, alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) and acid phosphatase (ACP-ase) were demonstrated.

**Results:** The results showed that the hemal nodes were surrounded by a highly thick connective tissue capsule involving smooth muscle fibers and had a very large sinus system compromised by subcapsular and deep sinuses filled with blood. Cortical and medullar regions were not definite. Lymphatic nodules and cords were observed in the deeper region of hemal nodes. ANAE- and ACP-ase positive lymphocytes localized especially in the margin of the lymphatic nodules and also interfollicular areas.

**Conclusion:** Yaks are very important animals for Kyrgyzstan economy as food source because they provide milk, milk products, meat, and meat products. Besides, yaks can survive and adaptable to the highly extreme ecological conditions such as high altitude, very low annual average temperature, short growing season for calf, and great seasonal variation in feed supply. So it is thought that extensive research regarding this species must be planned.

**Key words:** Yak, hemal node, ANAE, ACP-ase.



## Giriş

Hemal düğümler, kan dolaşımı üzerinde yer alan bağımsız lenfoid organlardır. İlk kez 1884 yılında Gibbes tarafından insanlarda böbrek arteri ve venaları arasında yerleşim gösteren bir grup organ olarak tanımlanan hemal düğümlerin insanın yanı sıra rümlarında da varlığı bildirilse de esas olarak rümlarantlara özgü yapılarıdır (Turner 1971, Castenholz ve Castenholz 1996). Kudo (1954) ise bu yapıları keçilerde "kırmızı lenf yumruları" olarak tanımlamış ve gerek morfolojik gerekse histolojik olarak lenf yumrularından farkını ortaya koymuştur. Koyun (Sur ve ark 2005), koç (Sur ve ark 2011), keçi (Özaydın ve ark 2012), sığır (Ceccarelli ve ark 1986), domuz (Akaydın ve Kabak 2006) ve karacalarda (Akaydın ve Kabak 2010) yapılan çalışmalar, organın paraaortik, retroperitoneal, pelvik ve böbrek çevresindeki bölgelerdeki yağ dokusu içerisinde ve skapular bölgede deri altında yerleştiğini ortaya koymaktadır (Zhang ve ark 2012). Bunun yanı sıra sığırlarda parotid bezi yakınlarında aksesör hemal düğümlerden (Constantinescu ve ark 1988) ve yine baş bölgesinde temporal hemal düğümlerden de (Casteleyn ve ark 2008) bahsedilmektedir. Kahverengine yakın koyu-kırmızı renkli, 1-5 mm boyunda ve sayıları da oldukça değişkenlik gösteren bu organlar sadece kanı süzdüklerinden fonksiyonel açıdan dalağa benzemektedirler (Akaydın ve Kabak 2010, Sur ve ark 2011). Bassan ve ark (1999)'nın sığırlarda yaptıkları bir çalışmada dalağı alınan hayvanlarda belirgin bir biçimde büyüdükleri ileri sürülmektedir.

Hayvan türleri arasında küçük farklılıklar olsa da hemal düğümlerin histolojik organizasyonunun hemen tüm türlerde benzer olduğu ortaya konulmuştur. Organı çevreleyen bağ dokudan kapsülün düz kas hücrelerini de içerdiği (Sur ve ark 2005, Sur ve ark 2011, Özaydın ve ark 2012), kapsülün hemen altında içi kanla dolu bir subkapsüler sinusun yer aldığı, bu sinusun organın derinliklerinde yine içleri kanla dolu derin sinuslarla devam ettiği bildirilmektedir (Cerutti ve ark 1998, Yoon ve ark 1999ab, Özaydın ve ark 2012). Belirgin bir korteks-medula ayırımının yapılamadığı organda lenf foliküllerinin organın farklı bölgelerinde yerleştiği gösterilmiştir (Ezeasor ve Singh 1988). Bazı araştırmacılar (Gargiulo ve ark 1987, Sur ve ark 2005) bu lenf foliküllerini primer ve sekonder lenf folikülleri olarak tanımlarlarken, organın derinlerinde yer alan lenfoid dokunun ise düzensiz lenfatik kordonlar ya da diffüz lenfoid doku tarzında organize olduğu ortaya konulmuştur (Ezeasor ve Singh 1988, Thorp ve ark 1991, Özaydın ve ark 2012). Organda lenf damarlarının olup-olmadıkları konusu tartışmalıdır (Ezeasor ve Singh 1990, Yoon ve ark 1999a). Buna karşın hemal düğümlerde hemopoez'in gerçekleştiği konusunda pek çok araştırmacı görüş birliğindedir (Thorp ve ark 1991, Yoon ve ark 1999a). Yoon ve ark (1999b) Kore keçilerinde yapmış oldukları çalışmada organın yaşla birlikte histolojik organizasyon ve lenfosit alt tiplerinin yerleşimleri açısından herhangi bir farklılık göstermediğini bildirseler de Zidan ve ark (2012)'nin yaşları

40 gün ve 10 yaş arasında değişen 30 Mısır mandası üzerinde yaptıkları bir çalışmada organın morfolojik ve histolojik olarak yaşa bağlı değişimler geçirdiğini bildirmektedir. Araştırmacılar (Zidan ve ark 2012) hemal düğümlerin yaşla birlikte küçüldüklerini, kan sinuslarının genişliğinin azaldığını, lenf foliküllerinin küçüldüğünü ve 7 yaşlı hayvanlarda lenfatik dokuda hiyalin kitlelerinin gözlemlendiğini bildirirlerken; kapsül kalınlığının da yaşa bağlı olarak arttığını ileri sürmektedirler.

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi lizozomal bir enzimdir (Zicca ve ark 1981). T-lenfosit olgunlaşmasının ileri aşamalarında kazanıldığı bildirilen enzim (Basso ve ark 1980), insan (Knowles ve Holck 1978, Knowles ve Halper 1980), fare (Mueller ve ark 1975), sığır (Kajikawa ve ark 1983) ve tavuklarda (Pruthi ve ark 1987) doku ve perifer kan frotilerinde T-lenfosit, B-lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırt edilmelerinde kullanılmaktadır.

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 (Cattowsky 1981). Makrofajların ve retikulum hücrelerinin çok güçlü ACP-az aktivitesi gösterdikleri bildirilmektedir (Li ve ark 1972).

Yaklar (*Topoz, Bos grinniens*), yüksek rakım, düşük hava sıcaklığı, buzağularının beslenip büyüebilmesi için kısa bir zaman diliminin olması ve besin tedarikinde büyük mevsimsel değişiklikler gibi oldukça zor koşullarda yaşayabilen bir rümlarant türüdür (Wiener ve ark 2003). Söz konusu zorlu doğa koşullarında kendi besinini kendisi temin eden bu hayvanlar, özellikle sıcak yaz aylarında 3500-3600 m yüksekliklerde oturlar. Kırgızistan ekonomisi için oldukça önemli bir yere sahip olan Kırgız Dağ Yakları üzerinde yapılan çalışmalar, söz konusu hayvanın yaşadığı coğrafi koşullar, hayvanın mizacı ve halk elinde kontrollü yetiştirmenin güçlükleri nedeniyle oldukça sınırlı kalmıştır (Mamatov ve ark 2012).

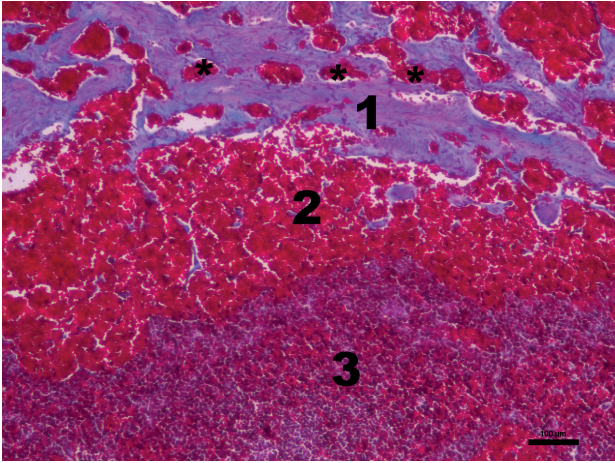
Bu çalışmada, 2-4 yaşlı 6 adet Kırgızistan dağ yakından alınan hemal düğümlerinin histolojik yapılarının incelenmesi ve ANAE- ve ACP-az pozitif lenfositlerin yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

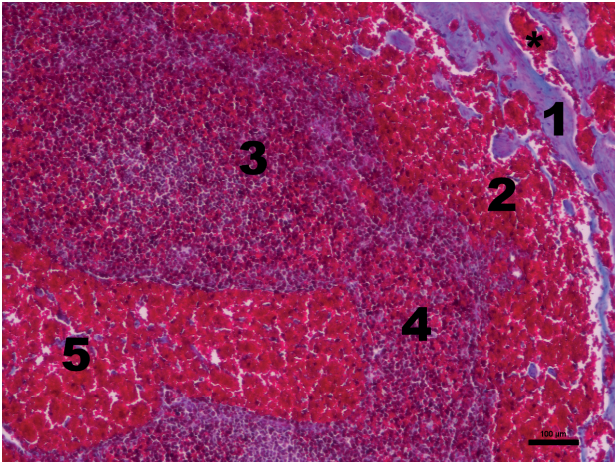
### Hayvan materyali

Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından 2013-03/1 sayı numarasıyla etik kurul onayı alınarak gerçekleştirilen araştırmada materyal olarak Kırgızistan'ın Narın bölgesinde kesimi gerçekleştirilen 2-4 yaşlı toplam 6 adet sağlıklı Kırgızistan dağ yakının retroperitoneal ve pelvik bölgelerinden alınan 5'er adet hemal

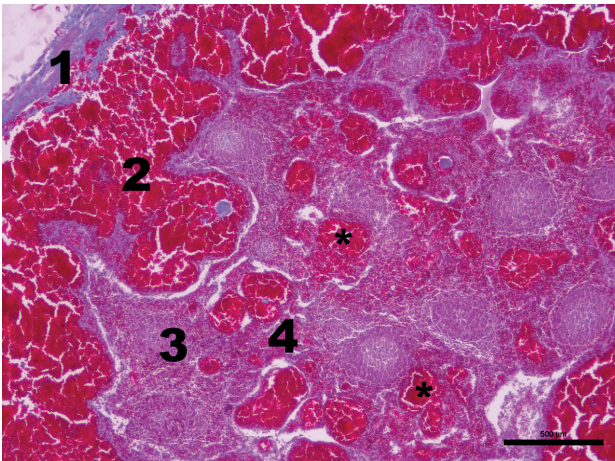




Resim 1: Yaka ait bir hemal düğüm kesiti. 1:Kapsül, 2:Subkapsüler sinus, 3:Lenf folikülü, \*:Kapsülde yer alan kan damarları. Üçlü boyama. Bar: 100 µm.



Resim 2: Yaka ait bir hemal düğüm kesiti. 1:Kapsül, 2:Subkapsüler sinus, 3:Lenf folikülü, 4:Foliküller arası lenfoid doku, 5:Derin kan sinusu \*: Kapsülde yer alan kan damarı. Üçlü boyama. Bar: 100 µm.



Resim 3: Yaka ait bir hemal düğüm kesiti. 1:Kapsül, 2:Subkapsüler sinus, 3:Lenf folikülü, 4:Lenfatik kordon, \*: Derin kan sinusları. Üçlü boyama. Bar: 100 µm.

düğüm kullanıldı. Alınan dokulardan bir bölümü %10'luk tamponlu formal-salin (pH:7.4) solüsyonunda tespit edilirken; bir bölümü ANAE ve 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. Bu son doku örneklerinden kriyostatta alınan 12 µm kalınlığındaki kesitler, önceden formaldehit-jelatin karışımı ile muamele edilmiş olan lamlara alınarak oda sıcaklığında (20°C) 30 dakika süreyle kurutuldu (Özaydın ve ark 2012).

#### Histolojik incelemeler

Yüzde onluk tamponlu formal salin solüsyonunda tespit edilen dokular rutin histolojik metotlarla takip edilerek parafinde bloklandı. Bloklardan alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler genel histolojik yapının belirlenmesi amacıyla Crossmon'un üçlü boyama (Culling ve ark 1985) ve yöntemiyle boyandı.

#### Enzimhistokimyasal demonstrasyonlar

Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) ve ACP-az enzimi demonstrasyonları Özaydın ve ark (2012)'nin bildirdikleri metoda göre gerçekleştirildi. Bu amaçla, kriyostatta alınan doku kesitleri her enzim için özel olarak hazırlanan inkübasyon solüsyonları içerisinde oda sıcaklığında 15-30 dakika süreyle kontrollü bir şekilde bekletildi. Kırmızı-kahverengi granüllerin ortaya çıkmasının ardından birkaç kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı. Hazırlanan preparatlardan gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları, Nikon Ds-Fi2 kamera kontrol ünitesi donanımlı Nikon Eclipse 50i (Japonya) model ışık mikroskopuyla çekildi.

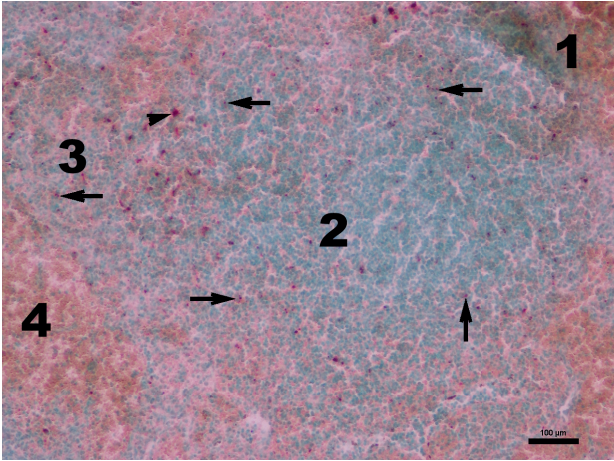
#### Bulgular

##### Histolojik bulgular

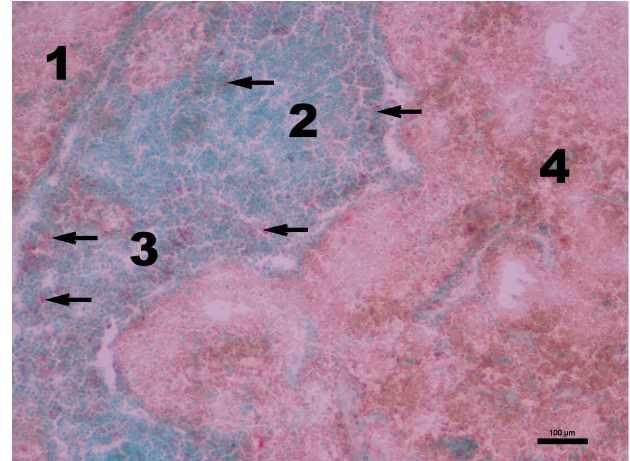
Organın oldukça güçlü ve kalın bağ dokusundan bir kapsülle sarılı olduğu ve kapsülün kollajen iplikleri ve düz kas hücrelerinin yanı sıra bol miktarda kan damarı içerdiği görüldü (Resim 1). Kapsülün hemen altında içi kanla dolu oldukça geniş bir subkapsüler sinus gözlemlendi. Söz konusu sinus organın iç bölgelerinde derin kan sinusları ile devam etmekteydi (Resim 2). Organda tipik bir korteks-medula ayırımı yapılmazken, incelenen kesitlerde organın paraşiminin lenf folikülleri, foliküller arası lenfoid doku ve organın derinlerine doğru inen lenfatik kordonlardan oluştuğu görüldü (Resim 2 ve 3). Kesitlerde lenf damarlarına rastlanmadı.

##### Enzimhistokimyasal bulgular

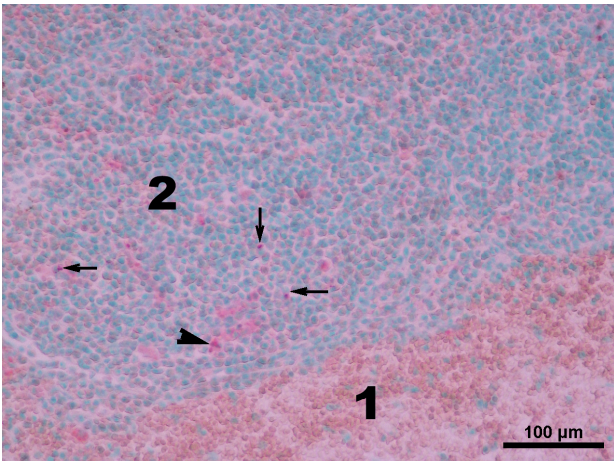
Gerek ANAE demonstrasyonu yapılan kesitlerde ve gerekse ACP-az enzimi demonstrasyonu yapılan kesitlerde, iki farklı enzim pozitivitesi dikkati çekti. Makrofajlar ve retikulum hücrelerinin sitoplazmalarında yayılmış tarzda pozitif re-



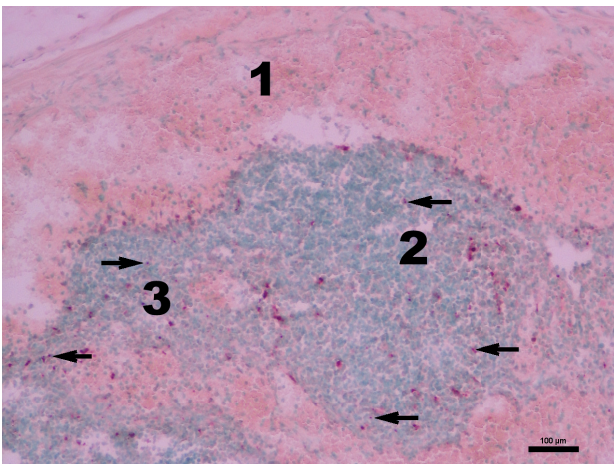
Resim 4: Yaka ait bir hemal düğümden alınan kriyostat kesiti. 1:Subkapsüler sinus, 2:Lenf folikülü, 3:Foliküller arası lenfoid doku, 4:Derin kan sinusu, Oklar: ANAE pozitif lenfositler, Okbaşı: Sitoplazmasında yayılmış tarzda ANAE pozitif reaksiyon gösteren bir retikulum hücresi. ANAE demonstrasyonu. Bar: 100 µm.



Resim 7: Yaka ait bir hemal düğümden alınan kriyostat kesiti. 1:Subkapsüler sinus, 2:Lenf folikülü, 3:Foliküller arası lenfoid doku, 4:Derin kan sinüsü, Oklar: ACP-az pozitif lenfositler. ACP-az demonstrasyonu. Bar: 100 µm.



Resim 5: Yaka ait bir hemal düğümden alınan kriyostat kesiti. 1:Subkapsüler sinus, 2:Lenf folikülü. Oklar: ACP-az pozitif lenfositler, Okbaşı: Sitoplazmasında yayılmış tarzda ACP-az pozitif reaksiyon gösteren bir retikulum hücresi. ACP-az demonstrasyonu. Bar: 100 µm.



Resim 6: Yaka ait bir hemal düğümden alınan kriyostat kesiti. 1:Subkapsüler sinus, 2:Lenf folikülü, 3:Foliküller arası lenfoid doku, Oklar: ANAE pozitif lenfositler. ANAE demonstrasyonu. Bar:100 µm.

aksiyon gözlenirken, lenfositlerdeki reaksiyon ise nokta tarzında lokal granüller şeklindeydi (Resim 4 ve 5). Hem ANAE-pozitivitesine sahip lenfositlerin hem de ACP-az pozitif lenfositlerin daha çok foliküllerin kenar bölgeleri ile foliküller arası bölgelerde yerleştikleri tespit edilirken; lenfatik kordonlarda da az sayıda ANAE-pozitif ve ACP-az pozitif lenfosit göze çarptı (Resim 6 ve 7).

### Tartışma

Ruminantlarda daha çok perirenal, paraaortik, pelvik ve retroperitoneal olarak yerleşim gösteren hemal düğümlerin fonksiyonları ile anatomik ve histolojik yapıları üzerinde yapılan araştırmalar, organın dalağa benzer şekilde kan damarları üzerinde yerleşen ve kanı süzen bir lenfoid organ olduğunu ortaya koymuştur (Ceccarelli ve ark 1986, Thorp ve ark 1991). Embriyonik gelişimin ilerleyen dönemlerde miyelopoietik ve eritropoietik aktivitenin başlaması ve fetal dönem boyunca gerek lenfoid doku ve gerekse gelişen sinuslar içinde megakaryositlerin değişim ve oluşum aşamalarına rastlanması organın miyeloid fonksiyonları hakkında önemli ipuçları vermektedir (Windquist 1954, Landsverk 1998).

Farklı ruminant türleri üzerinde yapılan çalışmalar, hemal düğümlerin tip-I kollajen iplikleri ile düz kas hücrelerinin oluşturduğu güçlü bir kapsül ile kuşatıldığını ve bunun organ içine göndermiş olduğu uzantılar olan trabeküllerde de kapsülde olduğu gibi tip-I kollajen iplikleri ile düz kas hücrelerinin yer aldığı göstermektedir. Kapsül ve trabeküllerde yer alan düz kas hücrelerinin dalakta olduğu gibi kanı genel dolaşıma vermekte rol aldığı ileri sürülürken (Singh 1959, Constantinescu ve ark 1988, Ezeasor ve Singh 1988, Zidan ve Pabst 2004), söz konusu bu kapsülün hemen altında ise organın iç bölgelerinde yer alan derin sinüslerle bağlantılı olan ve içi kanla dolu belirgin bir subkapsüler sinüsün varlığı dikkati çekmektedir (Yoon ve ark 1989, Ezeasor ve Singh 1990). Sinüslerin içinin endotel benzeri retikulum hücreleri tarafından döşendiği, bu hücrelerin retikulum iplikleri ile



desteklendiği; üzerine oturmuş oldukları bazal membranda ise tip-IV kollajenin varlığından bahsedilmektedir (Yoon ve ark 1990, Cerutti ve ark 1998, Yoon ve ark 1999b, Sur ve ark 2005, Özyaydn ve ark 2012). Bu çalışmada da yak hemal düğümlerinin belirgin düz kas hücrelerini içeren son derece güçlü ve kalın bir bağ dokusundan kapsülle çevrelendiği, söz konusu kapsülün üzerinde çalışılan diğer türlere (Sur ve ark 2005, Sur ve ark 2011, Özyaydn ve ark 2012) nazaran daha kalın olduğu dikkati çekti. Kapsül altında yer alan subkapsüller sinus'un da belirgin bir biçimde geniş olduğu göze çarparken aynı şekilde derin sinusların da organda oldukça geniş bir alanı kapladıkları tespit edildi (Resim 1, 2 ve 3).

Hemal düğümlerde paransimi oluşturan lenfoid dokunun organizasyonu üzerinde ise farklı görüşler ortaya atılmaktadır. Lenf folikülleri ve lenfatik kordonların organ içerisindeki dağılık yerleşimi nedeniyle belirgin bir korteks-medula ayrımı yapılamamaktadır (Windquist 1954, Yoon ve ark 1989, 1999a, Sur ve ark 2005, Sur ve ark 2011, Özyaydn ve ark 2012). Ezeasor ve Singh (1988) subkapsüller sinus ve buna yakın yerleşim gösteren lenf foliküllerini kortikal yapılar, organın merkezi bölgelerinde yer alan derin kan sinusları ve lenfatik kordonları da medular yapılar olarak kabul ederlerken; Thorp ve ark (1991)'da organın histolojik açıdan subkapsüller sinus, derin kortikal yapılar ve medula olarak üç bölümde incelenmesinin daha doğru olacağını ifade etmektedirler. Zhang ve ark (2012)'i ise organdaki lenfoid doku organizasyonunu foliküler bölge, parakorteks ve sinusoid bölge olmak üzere yine 3 farklı histolojik bölüme ayırmıştır. Söz konusu bu yapıların da tüm lenfoid organlarda olduğu gibi güçlü bir retiküler bağ dokusu tarafından desteklendiği bildirilmektedir (Gargiulo ve ark 1987, Yoon ve ark 1990, Cerutti ve ark 1998). Bu çalışmada da belirgin bir korteks-medula ayrımı yapılamamıştır. Buna karşın lenf folikülleri, lenfatik kordonlar ve yaygın lenfoid doku tarzındaki foliküller arası bölgenin üzerinde çalışılan diğer türlerle (Sur ve ark 2005, Sur ve ark 2011, Özyaydn ve ark 2012) karşılaştırıldığında organın daha merkezi kısımlarında toplanmış olduğu dikkati çekti (Resim 3).

Kan dolaşımı açısından değerlendirildiğinde hemal düğümlerin kendine özgü özelliklerinin olduğu bildirilmektedir. Gargiulo ve ark (1987)'nin koyun hemal düğümlerinde hilus bölgesinden giren aferent arterin dallanarak dış kapsüle ulaştığı ve kan dağılımının buradan gerçekleştiği, aynı zamanda venöz kanın da organı hem hilus ve hem de kapsülden terk ettiği yönündeki bulguların yak hemal düğümleri için de geçerli olup-olmadığının tartışmaya açık olduğu tespit edilmiştir. Zira daha önceki çalışmalarda (Sur ve ark 2005, Sur ve ark 2011, Özyaydn ve ark 2012) az sayıda gözlenen kapsül içerisindeki kan damarlarının bu çalışmada organı kuşatan oldukça kalın kapsül içerisinde belirgin bir biçimde fazla olmaları dikkati çekmiştir (Resim 1). Söz konusu damarların subkapsüller sinus ile bağlantılı oldukları göz önüne alındığında lenf yumrularında yer alan aferent lenf damarlarına

benzer şekilde yak hemal düğümlerinde de aferent kan damarlarının olabileceği varsayımını akla getirmektedir. Dolayısıyla yak hemal düğümlerindeki kan dolaşımının incelendiği çalışmaların yapılarak konunun aydınlatılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Hemal düğümler üzerinde yapılan çalışmalarda en çok tartışılan konularda birisi de lenfatik dolaşımdır. Bir çok araştırmacı (Yoon ve ark 1989, Thorp ve ark 1991, Yoon ve ark 1999a, Akaydn ve Kabak 2004) organın lenf damarlarına sahip olmadığını öne sürerken; bir grup araştırmacı (Ezeasor ve Singh 1988, 1990) ise organda subkapsüller sinus ile bunun hemen altında yer alan ve korteks karşılığı olan bölgedeki lenf folikülleri arasında sirkumferensiyel lenf damarlarının bulunduğunu, bu damarların medulaya karşılık gelen bölgelerde radial lenf damarları olarak devam ettiklerini ve bu damarların da birleşerek organı hilus bölgesinden terk eden eferent lenf damarını oluşturduklarını bildirmektedirler. Lenf damarlarının varlığını savunan araştırmacılar, genişleyen kan sinuslarının paransimi tamamen kaplayarak lenf damarlarını sıkıştırması ve bu nedenle de lenf damarlarının kesitlerde gözlenememiş olabileceğini iddia ederek organda lenf damarlarının bulunmadığı şeklindeki bulguların eksik bir değerlendirmeden kaynaklanabileceği görüşünü ileri sürmektedirler (Ezeasor ve Singh 1990). Zidan ve Pabst (2004) ise develerde yapmış oldukları çalışmada lenf damarlarına rastladıklarını ve bu durumda söz konusu organın hemal düğüm olarak değil, hemal lenf düğümü olarak değerlendirilmesinin daha doğru olacağını ifade etmektedirler. Bu çalışmada subkapsüller sinus ile derin kan sinuslarının çok geniş olmaları ve organın büyük çoğunluğunu kaplamaları lenf damarlarının olası varlığının tespitini de imkânsız kılmıştır. Dolayısıyla yak hemal düğümlerinde lenfatik dolaşımın da tıpkı kan dolaşımında olduğu gibi detaylı olarak incelendiği çalışmaların yapılması ve konuya açıklık getirilmesinin organın fonksiyonlarına da ışık tutacağı düşünülmektedir.

Fonksiyonel açıdan hemal düğümler bir çok araştırmacı tarafından dalağa benzetilmektedir (Ceccarelli ve ark 1986, Thorp ve ark 1991). Dolaşımdaki antijenlere karşı aktif lenfositlerin oluşumu, kanın depolanması ve süzülmesi, alyuvarların fagositozunu gerçekleştiren makrofajların varlığı ve kan pulçukları üreten megakaryositlerin bulunması, hemal düğümlerin dalağa benzeyen fonksiyonel özellikleri olarak dikkati çekmektedir (Ceccarelli ve ark 1986, Ezeasor ve Singh 1988, Ezeasor ve ark 1989, Thorp ve ark 1991). Ezeasor ve ark (1989) keçi hemal düğümlerinde eozinofil granülositler tarafından; Derbalah ve Zaghoul (2014) da Mısır mandalarında makrofajlarca alyuvar fagoitozunun gerçekleştirildiğini bildirirlerken, Thorp ve ark (1991)'nin hemal düğümlerdeki bazı damarların etrafının T-lenfositlerce kuşatılmış olduğu şeklindeki bulguları da organın dalakla olan benzerliğini ortaya koymaktadır. Zidan ve Pabst (2004) ise develerde yaptıkları çalışmada gerek kapsülde ve gerekse trabeküllerde  $\alpha$ -düz kas aktini pozitif hücrelerin varlığından bahsederek



söz konusu organın tıpkı dalak gibi kontraksiyon yapabildiğini ileri sürmektedirler. Tüm bunların yanı sıra lenfatik kordonlarda dikkati çeken ve özel fonksiyonları olan plazma hücreleri, mast hücreleri, makrofaj ve megakaryositler gibi hücrelerin, organın fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (Ezeasor ve Singh 1988, Yoon ve ark 1999a). Cerutti ve Guerrero (2001) ise, sığır hemal düğümlerinde yapmış oldukları bir çalışmada T-lenfosit çoğalması ve B-lenfosit farklılaşmasını uyaran interlöykin-4 (IL-4) üretiminden sorumlu tip 2 yardımcı T-lenfositlerini (Th2) tespit etmiş ve organın hem hücre sel hem de sıvısal bağışıklıkta önemli görevler üstlendiğini ileri sürmüşlerdir.

Lenfosit alt tiplerinin hemal düğümlerdeki yerleşimleri üzerinde yapılan araştırmalarda T- ve B-lenfositlerin farklı bölgelerde yerleştikleri, T-lenfosit alt tiplerinin de bazı bölgelerde yoğunlaştıkları bildirilmektedir. Ceccarelli ve ark (1986)'nın sığır ve koyun hemal düğümlerinde yaptıkları bir çalışmada yüzey immünoglobulinlerine sahip olmalarının yanı sıra hem ATP-az hem de 5' nükleotidaz-pozitif olmaları nedeniyle B-lenfosit olarak kabul edilen lenfositlerin organın primer foliküllerinde ve sekonder foliküllerin korteksinde yer aldıkları; alfa-naftil asetat esteraz (ANAE)-pozitif olmaları nedeniyle de T-lenfosit oldukları ileri sürülen lenfositlerin ise foliküller arası bölge ile sekonder foliküllerin germinal merkezinde yer aldıkları bildirilmektedir. Aynı çalışmada (Ceccarelli ve ark 1986) lenfatik kordonlardaki bir kısım lenfositin asit fosfataz (ACP-az)-pozitif olduğundan da bahsedilmektedir. Dixon ve Moriarty (1983)'nin ANAE enziminin koyunlarda T-lenfositler için spesifik olmadığı şeklindeki bulguları ise Ceccarelli ve ark (1986)'nın yukarıda bahsedilen bulguları ile çelişmektedir. Thorp ve ark (1991)'nin koyunlarda yapmış oldukları çalışmada ise organın medula karşılığı olarak kabul edilen iç bölgelerindeki lenfatik kordonlarda yer alan lenfositlerin T-lenfositler olduğu, bu bölgede lokalize olan damarların etrafındaki lenfositlerin büyük çoğunluğunun da CD4-pozitif lenfositler oldukları öne sürülmektedir. Yine bu çalışmada (Thorp ve ark 1991) CD4 (yardımcı T-lenfosit) ve CD8 -pozitif (sitotoksik T-lenfosit) hücrelerin koyun hemal düğümlerindeki oranının sırasıyla %50 ve %7, B-lenfosit oranının ise %46 olduğu bildirilmektedir. Zidan ve Pabst (2004)'ın develerde yaptıkları çalışmada ise CD3-pozitif lenfositlerin (T-lenfositler) interfoliküler bölge ile medular kordonlarda az sayıda olmak üzere esas olarak lenf foliküllerinin kenar bölgelerinde yer aldığı tespit edilirken; CD22-pozitif lenfositlerin (B-lenfositler) ise çoğunlukla lenf foliküllerinde yerleştikleri bildirilmektedir. Aynı çalışmada (Zidan ve Pabst 2004) ACP-az-pozitif lenfositlerin lenf foliküllerinin korona bölgesi, interfoliküler bölge ve medular kordonlarda hemen hemen eşit yoğunlukta lokalize oldukları; çok az hücrenin de lenf foliküllerinde yerleştiği ileri sürülmektedir. Zhang ve ark (2012)'nin sığırlarda yaptıkları bir çalışmada da CD4 ve CD8-pozitif lenfositlerin parakortekse karşılık gelen bölgelerde yoğunlaştıkları; dentritik hücrelerin ise çoğunlukla foliküllerin reaksiyon merkezinde tespit

edildikleri ileri sürülmektedir. Yine aynı çalışmada (Zhang ve ark 2012) makrofajların sinuslar boyunca lenfatik kordonlarda yerleştikleri dikkati çekerken antijen sunan hücrelere özgü MHC-II immüno-reaktivitesi gösteren hücrelerin de hemal düğümlerin birçok bölgesinde dağılım gösterdikleri gözlenmiştir. Sur ve ark (2005) Akkaraman ırkı koyunlarda ANAE-pozitif lenfositlerin ve yine Sur ve ark (2011) Merinos ırkı koçlarda ACP-az-pozitif lenfositlerin, çoğunlukla foliküllerin germinal merkezinde toplandıklarını bildirirlerken; Özaydın ve ark (2012)'nin kıl keçilerinde yaptıkları bir başka çalışmada da hem ANAE-pozitif ve hem de ACP-az pozitif lenfositlerin yine foliküllerin merkezi bölgelerinde yerleşmiş oldukları ifade edilmektedir. Yaklarda yapılan bu çalışmada ise gerek ANAE pozitif, gerekse ACP-az pozitif lenfositlerin, lenf foliküllerinin kenar bölgeleri ile interfoliküler bölgede yoğunlaştıkları dikkati çekmiştir. ANAE enziminin sığırlarda (Yang ve ark 1979, Kajikawa ve ark 1983); ACP-az enziminin de insanlarda (Yang ve ark 1982) T-lenfositleri için spesifik bir enzim olduğu bildirilmekle birlikte yaklarda ANAE ve ACP-az enzimlerinin T- ya da B-lenfositler için spesifik olduğuna dair herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak yerleşimindeki benzerlik ve çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların Zidan ve Pabst (2004)'ın develerde yapmış oldukları çalışmada T-lenfositlerin yerleşim bölgeleri ile uyumlu olması dikkat çekici bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

### Öneriler

Yapılan değerlendirmeler sonucunda Kırgız Dağ yaklarındaki hemal düğümlerin histolojik organizasyon açısından koyun, keçi, sığır ve develerdeki hemal düğümlere benzediği dikkati çekmiştir. Buna karşın ANAE pozitif ve ACP-az pozitif lenfositlerin, lenf foliküllerinin kenar bölgeleri ile foliküller arası lenfoid doku ve lenfatik kordonlarda yoğunlaştıkları göz önüne alındığında koyun, keçi ve sığırlardan farklı bir lokalizasyonun varlığı tespit edilmiştir. Yaklarda gerek hemal düğümler ve gerekse ANAE ve ACP-az pozitif hücreler hakkında yeterli çalışma mevcut değildir. Dolayısı ile yapılan bu çalışma ile hem yak hemal düğümlerinin histolojisi hakkında bilgi edinilmiş hem de yaklarda ANAE ve ACP-az enzimi pozitivitesine sahip lenfositlerin hemal düğümlerdeki yerleşimleri belirlenmiştir. Kırgız Dağ yakları, ağır yaşam koşullarına uyum sağlayan güçlü anatomik özelliklerinin yanı sıra gerek fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri ve gerekse organlarının histolojik özellikleri açısından oldukça ilgi çeken ve merak edilen bir türdür. Mizaçları nedeniyle kontrolleri ve yönetimleri zor olan bu hayvanlar üzerinde yapılacak olan her çalışmanın bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutacağı ve ilerleyen dönemlerde olağan üstü doğa koşullarına dayanabilen bu hayvanların daha verimli kullanımının sağlanarak özelde bu hayvanların yaşadıkları ülke ekonomisine, genelde ise dünya hayvancılığına katkı sağlayacağı ümit edilmektedir.





## Teşekkür

Bu çalışma 2015 yılında Viyana'da düzenlenen "The International Conference on Science, Ecology and Technology I (ICONSETE-I)" kongresinde sözlü olarak sunulmuştur.

## Kaynaklar

- Akaydin Y, Kabak M, 2004. Evcil domuz yavrularında (*Sus Scrofa Domesticus*) hemal düğümlerin morfolojisi. 3. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi, Kuşadası, Aydın.
- 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, 39, 456-461.
- 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.
- Basso G, Cocito MG, Semenzato G, Pezzutto A, Zanesco L, 1980. Cytochemical study of thymocytes and T lymphocytes. Br J Haematol, 44, 577-582.
- Casteleyn CR, Breugelmans S, Simoens P, Van den Broeck W, 2008. Morphological and immunological characteristics of the bovine temporal lymph node and hemal node. Vet Immunol Immunopathol, 126, 339-350.
- Castenholz A, Castenholz HE, 1996. Casting methods of scanning electron microscopy applied to hemal lymph nodes in rats. Lymphology, 29, 95-105.
- 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, Guerrero F, 2001. Identification of positive cells to interleukin-4 in bovine haemal nodes. Anat Histol Embryol, 30, 219.
- Cerutti P, Marcaccini A, Guerrero F, 1998. A scanning and immunohistochemical study in bovine haemal node. Anat Histol Embryol, 27, 387-392.
- 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.
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT, 1985. Cellular Pathology Technique, Butterworths and Co Ltd, London, UK, pp: 164-180.
- Derbalah AE, Zaghoul DM, 2014. Hemal node of Egyptian Water Buffalos (*Bos Bubalus*): It's role in erythrophagocytosis. J Vet Anat, 7, 79-88.
- 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 DM, Singh A, 1990. Morphological features of lymph vessels in caprine hemal nodes. Am J Vet Res, 51, 1139-1143.
- Ezeasor DN, Singh A, Sims DE, 1989. Erythrophagocytosis in the caprine hemal node. Acta Anat, 134, 341-345.
- Gargiulo AM, Ceccarelli P, Pedini V, 1987. Architecture of sheep haemal nodes. Res Vet Sci, 42, 280-286.
- 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, 1549-1552.
- Knowles DM, Halper JP, 1980. Human medullary and cortical thymocytes are distinguishable according to the presence or absence of cytochemically demonstrable acid alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) activity. J Immunol, 125, 2823-2825.
- Knowles DM, Holck S, 1978. Tissue localization of T-lymphocytes by the histochemical demonstration of acid alpha-naphthyl acetate esterase. Lab Invest, 39, 70-76.
- Kudo N, 1954. Studies on the red lymph node: III. About the argyrophilic fibers on the peripheral sinus of the red lymph node in goats Japanese J Vet Res, 2(3), 117-128.
- 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.
- Mamatov N, Angeldiyeva G, Comba B, 2012. Yüksek rakımlı meraların kullanımı ve Yak (Topoz) etolojisinin araştırılması. YYÜ Vet Fak Derg, 23, 41-43.
- Mueller J, Brundel RG, Buerki H, Keller HU, Hess MW, Cottier H, 1975. Nonspecific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. Eur J Immunol, 5, 270-274.
- Özaydin T, Sur E, Çelik İ, Öznurlu Y, Aydın MF, 2012. Histological and enzyme histochemical investigation of the hemal nodes of the hair goat. Biotech & Histochem, 87, 377-384.
- 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.
- Singh A, 1959. On the microscopic structure of haemal nodes of buffalo calves. Br Vet J, 115, 271-273.
- Sur E, Aydın MF, Çelik İ, 2005. Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinin histolojisi ve alfa-naftil asetat esterase (ANAE) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma. Eurasian J Vet Sci, 21, 101-108.
- Sur E, Özaydin T, Öznurlu Y, 2011. Türk merinosu koçlarının hemal düğümlerinde asit fosfatase (ACP-AZ) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma. Eurasian J Vet Sci, 27, 33-37.
- 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.
- Turner DR, 1971. Immunological competence of the haemal node. *J Anat*, 110, 1, 17-24.
- Wiener G, Jianin H, Ruijun L, 2003. The yak in relation to its environment, In: *The Yak*, Ed; Wiener G, Jianin H, Ruijun L, Second Edition, FAO Regional Office for Asia and Pacific, Bangkok, Thailand, pp; 61-82.
- 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.
- 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.
- 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 Elec Micros*, 20, 77-89.
- Yoon YS, Shin JW, Lee JS, 1999a. Ultrastructure of hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean J Vet Res*, 39, 855-864.
- Yoon YS, Shin JW, Lee JS, 1999b. Age-related morphological studies on the hemal node and hemolymph node in the Korean native goat. *Korean J Vet Res*, 39, 865-877.
- Zhang W, Nasu T, Hosaka YZ, Yasuda M, 2012. Comparative studies on the distribution and population of immunocompetent cells in bovine hemal node, lymph node and spleen. *J Vet Med Sci*, 74, 405-411.
- Zicca A, Zeprini A, Cadoni A, Franzi AT, Ferrarini M, Grossi CE, 1981. Ultrastructural localization of alpha-naphthyl acetate acid esterase in human Tm lymphocytes. *Am J Pathol*, 105, 40-46.
- Zidan M, Pabst R, 2004. Histological, histochemical and immunohistochemical study of the haemal nodes of the dromedary camel *Anat Histol Embryol*, 33, 284-289.
- Zidan M, Zaghloul D, Derbalah A, Elghoul M, 2012. Age related morphological changes in hemal nodes of the Egyptian Water Buffalo (*Bos Bubalus*). *Alex J Vet Sci*, 37, 373-381.

