



RESEARCH ARTICLE

Kırgızistan dağ yaklarının (Topoz, *Bos grinniens*) perifer kan lökositlerinde alfa naftil asetat esteraz (ANAE) pozitivitesinin belirlenmesi

Nariste Kadıralieva¹, Emrah Sur^{2*}, Yasemin Öznurlu², Tuğba Özaydın²

¹Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bişkek, Kırgızistan
²Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Geliş:06.03.2020, Kabul: 16.06.2020

*emrahsur@selcuk.edu.tr

The determination of alpha naphthyl acetate esterase (ANAE) positivity in peripheral blood leukocytes of Kyrgyzstan's mountain yaks (*Bos grinniens*)

Eurasian J Vet Sci, 2020, 36, 3, 180-186
DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.276

Öz

Amaç: Lizozomal bir enzim olan alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi pek çok türde periferik kan yaymalarında T-lenfosit, B-lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırt edilmelerinde kullanılmaktadır. Bu araştırmada, Topoz olarak da bilinen Kırgızistan dağ yaklarında (*Bos grinniens*) periferik kan lökositlerinin ANAE enzimi pozitivitesinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada materyal olarak 13 adet 2-4 yaşlı sağlıklı Kırgız Dağ Yak'ından alınan periferik kan örnekleri kullanıldı. Örneklerden hazırlanan frotilerde ANAE demonstrasyonları gerçekleştirildi.

Bulgular: ANAE pozitivitesi tüm monositlerde ve sadece bazı lenfositlerde gözlemlendi. Lenfositlerdeki pozitivite 1-4 adet kırmızı-kahverengi sitoplazmik granüllerle karakterize nokta tarzındayken monositlerin tamamı tüm sitoplazmaları boyunca yaygın, ince taneli bir enzimatik reaksiyona sahipti. Nötrofil ve eozinofil lökositlerde ise enzimatik reaksiyon gözlenmedi. Kırgız dağ yaklarında ortalama ANAE pozitif lenfosit oranının %58,85±1,38 olduğu tespit edildi.

Öneri: Kırgızistan dağ yakları hakkında yapılan çalışmalar söz konusu hayvanların yaşam koşulları ve sert mizaçları nedeniyle son derece sınırlı kalmıştır. Dolayısıyla bu hayvanlar üzerinde yapılacak olan her türlü yapısal, histolojik, enzim histokimyasal, fizyolojik, biyokimyasal ve anatomik çalışmaların yanı sıra ülkede görev yapan veteriner hekim klinisyen ya da akademisyenlerin karşı karşıya kalabilecekleri çeşitli hastalıkların olgu sunumlarının, ilerleyen yıllarda bu hayvanlar üzerinde yapılacak olan çalışmalara yön vereceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: ANAE, lökosit, periferik kan, yak

Abstract

Aim: A lysosomal enzyme, alpha naphthyl acetate esterase (ANAE), has been used to differentiate T and B lymphocytes, and monocytes in various species in peripheral blood smears. In this study, it was aimed to determine the positivity of the ANAE in peripheral blood leukocytes of Kyrgyzstan's mountain yaks, as also known Topoz, (*Bos grinniens*).

Materials and Methods: As a material, the peripheral blood samples collected from healthy thirteen Kyrgyzstan's mountain yaks, 2-4 year old aged, were used. ANAE was demonstrated on smears prepared from blood samples.

Results: ANAE-positivity was observed in all monocytes and only some lymphocytes. ANAE-positivity pattern in lymphocytes was dot like characterized with 1-4 reddish-brown cytoplasmic granules while all monocytes have a diffuse, fine granular enzymatic reaction along whole cytoplasm. No enzymatic reaction was observed in neutrophil and eosinophil leukocytes. The ANAE positive lymphocyte rate was found to be 58,85 % in Kyrgyzstan's mountain yaks.

Conclusion: Studies on Kyrgyzstan mountain yaks have been extremely limited due to their living conditions and aggressive temperaments of these animals. Therefore, any kind of structural, histological, enzyme histochemical, physiological, biochemical and anatomical studies on these animals, as well as case reports of various diseases that may be faced by veterinary clinicians or academicians working in the country, will guide the studies to be carried out on these animals in future.

Keywords: ANAE, leukocyte, peripheral blood, yak



Giriş

İnsan ve hayvanlarda lizozomal bir enzim olarak bilinen alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) enzimi (Bergroth ve ark 1983, Özcan 2005), dokulardan alınan kriyostat kesitleri ve periferik kan frotilerinde T-lenfosit, B-lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırt edilmelerinde kullanılmaktadır (Muel-ler ve ark 1975, Higgy ve ark 1977, Knowles ve Holck 1978, Pangalis ve ark 1978, Ranki 1978, Knowles ve Halper 1980, Pruthi ve ark 1987, Blindar ve ark 1993). T-lenfositlerinin olgunlaşma sürecinin ileri aşamalarında kazanıldığı bildirilen bu enzimin (Basso ve ark 1980), diğer esteraz grubu enzimler gibi aktive olan T-lenfositlerin sitotoksik fonksiyonları ile makrofajların fagosite ettikleri materyalleri ortadan kaldırmalarında görev aldığı düşünülmektedir (Mueller ve ark 1975). Başta insan olmak üzere (Li ve ark 1972, Pinkus ve ark 1979, Çelik ve ark 1991), sığırlar (Yang ve ark 1979, Kajikawa ve ark 1983), köpekler (Wulff ve ark 1981, Aşti ve ark 1993), tavuklar (Maiti ve ark 1990), kediler (Yörük ve ark 1998, Bayraktaroğlu ve ark 2015), develer (Sandıkçı ve ark 2005), ceylanlar (Altunay ve ark, 2008), hindiler (Ergün et al, 2004), deve kuşları (Ergün et al, 2004) ve farelerde (Muel-ler ve ark 1975) T-lenfositlerin ayırımında yararlanan ANAE enziminin, koyun T-lenfositleri için spesifik olmadığı ileri sü-rülmektedir (Dixon ve Moriarty 1983, Sur 2004).

Topoz olarak da bilinen Kırgızistan dağ yakları (*Bos grinnens*), yüksek rakımlı bölgelerde ve düşük hava sıcaklığında yaşayabilen hayvanlardır. Otlama alanlarının büyük mevsimsel değişiklikler gibi oldukça zor koşullara açık olması nedeniyle buzağlarının büyüebilmesi için kısa bir zaman dilimine sahip olan bu hayvanlar, sert doğa koşullarında kendi yiyeceğini temin edebilmekte ve sıcaklığın aşırı yükseldiği yaz aylarında da 3000 m'den daha yüksek bölgelerde sürü-ler halinde yaşayabilmektedirler (Sarbagishev ve ark 1990). Gelişmekte olan Kırgızistan'da ekonomik açıdan son derece önemli olan Kırgız dağ yakları sert mizaçlı hayvanlardır. Gerek yaşadıkları coğrafi koşullar, gerek halk elinde kontrollü yetiştirmenin güçlükleri ve gerekse saldırgan doğaları nedeniyle bu hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır (Mamatov ve ark 2012).

Bu çalışmada, 13 adet, 2-4 yaşlı Kırgız dağ yakından alınan periferik kanlardan hazırlanan frotilerde ANAE enzimi demon-strasyonu gerçekleştirilerek söz konusu hayvanların periferik kan lökositlerinde ANAE enzimi pozitifitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan materyali

Bu çalışma, Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 2019-01 sayılı etik kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmada Kırgızistan'ın

Narın bölgesinden getirilerek Bişkek mezbahasında kesimi gerçekleştirilen toplam 13 adet 2-4 yaş aralığında ve herhangi bir sağlık problemi bulunmayan hayvanlardan alınan periferik kan örnekleri materyal olarak kullanıldı.

Enzimhistokimyasal boyamalar

ANAE enzimi demonstrasyonu için hayvanlardan heparinli tüplere alınan kan örneklerinden 2'şer adet frotiler hazırlandı. Havada kurumaya bırakılan frotiler -10°C'deki glutaraldehit-aseton tespit solüsyonunda [9 ml glutaraldehit (Merck-820603), 21 ml distile su ve 45 ml aseton (Merck-100014), pH: 4.8] 3 dakika süreyle tespit edildiler. Bu sürelerin sonunda distile su ile 3 kez yıkanan frotiler aşağıda ayrıntısı verilen inkübasyon solüsyonunda 37°C'de 1-2 saat süreyle kontrollü bir şekilde bekletildiler. Kırmızı-kahverengi granüllerin görülmesinin ardından inkübasyon işlemi sonlandırıldı. Üç kez distile su ile yıkanan preparatlara Giemsa ile çekirdek boyası uygulandı (Sur ve ark 2008).

ANAE enzimi demonstrasyonu için inkübasyon solüsyonunun hazırlanması

Bu amaçla pH'sı 5,0 olan tamponlu fosfat solüsyonunun 80 ml'sine 0,8 ml aseton (100014, 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 heksazotize edilmiş pararozanilin karışımı, substrat içeren tamponlu fosfat solüsyonuna eklendikten sonra hazırlanan solüsyonun pH'sı 1N NaOH solüsyonu ile 5,8'e ayarlandı (Sur ve ark 2008).

İstatistik analiz

Hazırlanan preparatların her birinde toplam 200 adet lenfosit sayılarak pozitif lenfosit oranları belirlendi. Arc Sinus dönüşüm metodu kullanılarak transforme edilen verilere tanımlayıcı istatistik metodu uygulandı (SPSS 22.0). Gerekli görülen bölgelerin görüntüleri, Nikon marka Eclipse 50i model ışık mikroskobuna eklenmiş Ds-Fi2 kamera ile çekilerek elektronik ortamda kaydedildi.

Bulgular

Enzim demonstrasyonu gerçekleştirilen periferik yaymaların ışık mikroskobik incelemelerinde ANAE pozitifitesine lenfositlerin bir kısmında rastlanırken monositlerin tamamı ANAE-pozitif granüllere sahipti. Çekirdek morfolojileri ile birbirlerinden kolaylıkla ayırt edilebilen iki hücre türündeki enzimatik reaksiyonun boyanma tarzı da belirgin bir

farklılık göstermekteydi. Lenfositlerdeki pozitivite 1-4 adet kırmızı-kahverengi sitoplazmik granüllerle karakterize nokta tarzındayken (Şekil 1A ve 1D) monositlerin tamamı tüm sitoplazmaları boyunca yaygın, ince taneli bir enzimatik reaksiyona sahipti (Şekil 1B ve 1C).

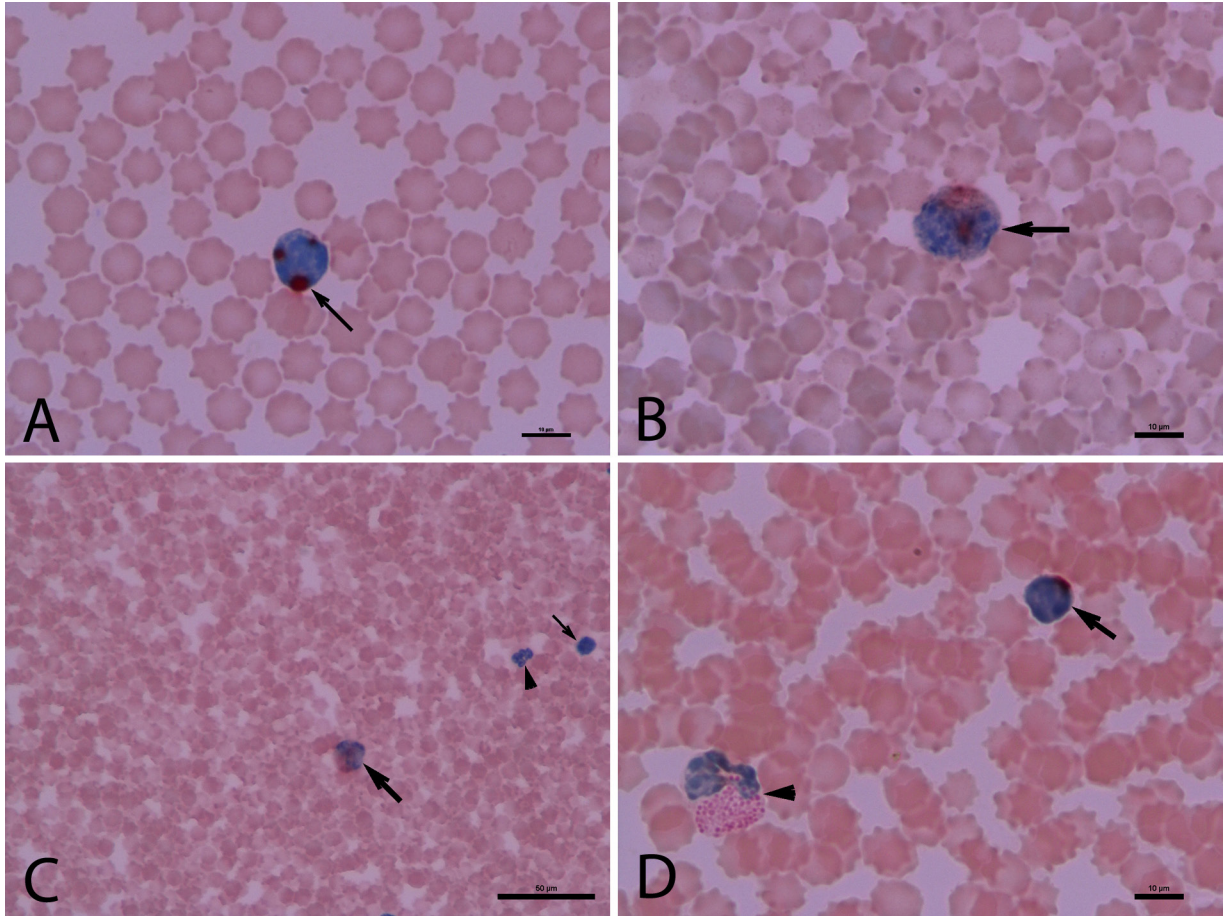
Lizozomlarında ANAE enzimi içermeyen ve dolayısıyla pozitivite göstermeyen lenfositler ANAE negatif lenfositler olarak değerlendirildi (Şekil 1C). Nötrofil ve eozinofil lökositlerin ise ne sitoplazmalarında ne de granüllerinde enzimatik reaksiyon gözlenmedi (Şekil 1C ve 1D).

Periferik yaymalar üzerinde yapılan değerlendirmeler ve sayımlar sonucunda Kırgız dağ yaklarının ortalama ANAE pozitif lenfosit oranının $58,85 \pm 1,38$ olduğu tespit edildi.

Tartışma

Asit hidrolazlar grubundan lizozomal bir enzim olan ANAE enzimi pozitivitesine sahip lenfositlerin lenf düğümlerinde interfoliküler ve parakortikal bölgelerde (Mueller ve ark 1975, Wulff ve ark 1981), tonsillerde interfolliküler bölgede (Knowles ve Holck 1978), dalakta periarteriyoler lenfoid kılıf (Periarteriyoler Lymphoid Sheat, PALS) olarak adlandırılan arteriya sentralis'in etrafındaki bölgede (Mueller ve ark 1975, Knowles ve Holck 1978), akciğerlerde bronş-ilişkili lenfoid dokularda lenf foliküllerinin korteks bölgesinde (Kurtde ve ark 2000) ve timusta medullada yerleştikleri tespit edilmiştir (Sur ve Çelik 2005).

Ruminantlar için önemli bir başka lenfoid organ olan hemal düğümler üzerinde yapılan çalışmalarda ise ANAE pozitif lenfositlerin Akkaraman ırkı koyunlarda sekonder lenf fo-



Şekil 1A. Kırgız dağ yakının periferik kanında ANAE demonstrasyonu. Ok: ANAE pozitif lenfosit. Bar: 10µm.

Şekil 1B. Kırgız dağ yakının periferik kanında ANAE demonstrasyonu. Ok: Sitoplazmasında yaygın granüler pozitivite gösteren bir monosit. Bar: 10µm.

Şekil 1C. Kırgız dağ yakının periferik kanında ANAE demonstrasyonu. Kalın ok: Sitoplazmasında yaygın granüler pozitivite gösteren bir monosit. İnce ok: ANAE negatif bir lenfosit. Ok başı: Reaksiyon göstermeyen bir nötrofil granülosit. Bar: 50µm.

Şekil 1D. Kırgız dağ yakının periferik kanında ANAE demonstrasyonu. Ok: ANAE pozitif lenfosit. Ok başı: Reaksiyon göstermeyen bir eozinofil granülosit. Bar: 10µm.



liküllerinin germinal merkezinde gözlemlendiği (Sur ve ark 2005), buna karşın kıl keçilerinin hemal düğümlerinde ise lenf foliküllerinin germinal merkezlerinin yanı sıra yer yer interfoliküler bölgeler ile lenfatik kordonlarda da yerleşim gösterdikleri bildirilmektedir (Özaydın ve ark 2012). Kırgız dağ yaklarının hemal düğümlerinde yapılan bir başka çalışmada ise söz konusu hücrelerin lenf foliküllerinin kenar bölgeleri ile interfoliküler bölgelerde lokalize oldukları tespit edilmiştir (Kadıralieva ve ark 2017). ANAE pozitif lenfositlerin timusun korteksi ile lenf yumruları ve dalakta B-lenfosit bölgeleri olarak kabul edilen lenf foliküllerinin germinal merkezlerindeki gözlenmedikleri ifade edilmektedir (Muel-ler ve ark 1975, Knowles ve Holck 1978, Wulff ve ark 1981).

Embriyonik dönemde farklı zamanlarda ve belirli bir sırayla kazanılan lenfosit enzimlerinden ANAE enziminin insanlarda fetal hayatın son evrelerinde tespit edildiği (Basso ve ark 1981), benzer şekilde tavuklarda da T-lenfosit olgunlaşmasının son evresinde, kuluçkanın 18. gününde kazanıldığı bildirilmektedir (Sur ve Çelik 2005). Çelik ve ark. (1992) ise sığırlarda 60 günlük fütusların periferik kan, dalak ve bağırsakların lamina propriyasında yer alan az sayıda lenfositte ANAE pozitivitesi tespit ettiklerini ileri sürerlerken, periferik kandaki ANAE-pozitif lenfosit oranının 240 günlük fütuslarda %42 ile en yüksek seviyeye ulaştığını ortaya koymuşlardır.

Farklı türlere ait periferik kan frotileri üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar ANAE-pozitif lenfosit oranlarının türler arasında çok büyük farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. İnsanlarda %53-74 (Higgy ve ark 1977, Çelik ve ark 1991, Akbulut ve ark 2015) arasında tespit edilen bu oran sığırlarda %47-71 (Kajikawa ve ark 1983, Nakanishi ve ark 1983, Çelik ve ark 1994, Sur ve ark 2008), köpeklerde %56-63 (Wulff ve ark 1981, İzci ve ark 2002, Şen ve ark 2002, Sur ve ark 2003) ve tavuklarda %35-55 (Pruthi ve ark 1987, Maiti ve ark.1990, Sur ve Çelik 2005) arasında değişmektedir.

Periferik kan lenfositlerinde ANAE enzimi demonstrasyonu çalışmaları sadece yukarıda bahsedilen türlerle sınırlı kalmamıştır. Aydın ve ark. (2006) Ankara tavşanlarında bu oranı erkek ve dişilerde sırasıyla %34,63 ve %34,25 olarak tespit ederlerken Özcan (2005) 10 adet Ankara tavşanında yapmış olduğu çalışmada ANAE-pozitif lenfosit oranını %68,2 olarak bulmuştur. Altunay ve ark. (2008)'nin ceylanlarda yaptıkları çalışmada periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranı %72 olarak tespit edilirken, Sandıkcı ve ark. (2005) söz konusu pozitif hücrelerin develerdeki oranının %81,3 olduğunu bildirmektedirler. Özaydın ve ark. (2013) ise 1 günlük, 3 günlük ve 1 yaşlı erkek taylarda ANAE-pozitif lenfosit oranlarını sırasıyla % 64, % 70,53 ve % 50,6 olarak bildirirlerken dişi taylarda bu oranların yine aynı yaş sıralaması ile % 67,7, % 73,1 ve % 49,2 olduğunu ileri sürmüşlerdir. Buna karşın Aydın ve ark. (2010) ise 4 yaşındaki Arap yarış atlarında bu oranın % 76 olduğunu tespit etmiştir. Kısadere ve ark. (2017) ise Kırgızistan'ın Tong bölgesindeki merkepler üzerinde yaptığı

bir çalışmada periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranının % 42,9 olduğu ortaya konmuştur.

Bağışıklık sisteminin en önemli üyesi olarak kabul edilen periferik kan lenfositlerinin ANAE enzimi pozitivitesi açısından dikkate alınması ve diğer parametrelerle birlikte hayvanların sağlık durumları hakkında önemli fikirler verebileceği hipotezi ile yapılan çok sayıda çalışma vardır. Çiftçi ve ark. (2011)'nin T-lenfositlerinin proliferasyonu ile karakterize Marek hastalığı teşhisi konmuş yumurtacı tavuklarda yapmış oldukları bir çalışmada sağlıklı hayvanlarda % 53,44 olan periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranlarının Marekli hayvanlarda % 64,26'ya yükseldiği tespit edilmiştir. Kale (2003) Burdur bölgesi süt sığırlarında Enzootik Sığır Löykozu (Enzootic Bovine Leukosis) enfeksiyonu açısından yapılan AGID ve ELISA testi taramalarının her ikisinde de negatif sonuç veren sağlıklı hayvanlarda periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranının % 49,38 olduğunu, buna karşın her iki testte de pozitif sonuç veren enfekte hayvanlarda ise bu oranın % 25,17 olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacı (Kale 2003) benzer şekilde sadece tek test açısından değerlendirilen hayvanlarda da sero-pozitif olanların periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranlarının sero-negatif olanlara kıyasla daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Atakişi ve ark. (2014) ise Kars bölgesinde klinik belirtiler ve idrar örneklerinin karanlık saha mikroskobu ile incelenmesi ile leptospiroz teşhisi koydukları 20 adet sığır ile 20 adet sağlıklı sığır üzerinde yaptıkları bir çalışmada sağlıklı hayvanlarda % 61 olan periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranının hasta hayvanlarda % 43'lere düştüğünü tespit etmişlerdir.

ANAE-pozitif lenfosit oranlarında tespit edilen sapmalar sadece hastalık durumlarında değil aynı zamanda geçici fizyolojik değişimlerin yaşandığı gebelik ve stres gibi durumlarda da karşımıza çıkabilmektedir. Akbulut ve ark. (2015)'nin yapmış oldukları bir çalışmada hamile olmayan sağlıklı kadınlarda %70 olan periferik kan ANAE pozitif lenfosit oranının sağlıklı hamile bayanlarda %58'lere kadar düştüğü bildirilirken; Merinos ırkı sağlıklı koyunlarda yapılan benzer bir çalışmada gebe olmayan kontrol grubu hayvanlarda %73 olan ANAE pozitif lenfosit oranının gebeliğin ilk ayında %63,5'lere düştüğü görülmüştür (Sur ve ark 2013). Farelerde yapılan benzer bir çalışmada da (Sur ve ark 2014) gebe olmayan kontrol grubu hayvanlarda %67,5 olan söz konusu hücrelerin oranının gebeliğin erken ve orta dönemlerinde sırasıyla %43,83 ve %44,17'lere düştüğü tespit edilmiştir. Aynı çalışmada (Sur ve ark 2014) gebe olmayan farelerde histometrik olarak belirli bir endometriyum alanındaki ortalama ANAE-pozitif lenfosit sayısının 17,67 iken bu sayının gebe hayvanların aynı birim alana karşılık gelen desidua bazalis dokusunda gebeliğin erken, orta ve geç dönemlerinde sırasıyla 13,67, 10,83 ve 12,67'ye gerilediği bulunmuştur. Kırgızistan konkur atlarında egzersizin neden olduğu fiziksel stresin periferik kan ANAE-pozitif lenfosit oranları üzerindeki etkilerinin belirlenmesinin amaçlandığı enzim his-

tokimyasal bir çalışmada da yarış öncesi %54,9 olan oranın yarıştan hemen sonra %38,3'e düştüğü ortaya konulmuştur (Oruç ve ark 2017).

Bu çalışmada da %58,85 olarak tespit edilen periferik kan ortalama ANAE-pozitif lenfosit oranının insan, sığır ve köpeklerde yapılan çalışmalardan elde edilen ANAE-pozitif lenfosit oranı sınırları içerisinde yer aldığı görülmüştür.

ANAE-enzimi lenfositlerin yanı sıra başta monositler olmak üzere diğer kan hücrelerinde de bulunabilmektedir. Özcan (2005) Ankara tavşanlarında yaptığı çalışmada monositlerin yanı sıra nötrofil ve eozinofil granüositlerde de ANAE pozitifitesi bulunduğunu ileri sürmüştür. Aştı ve ark. (1996) da sığırlarda monositlerle nötrofil granüositlerde granüler tarzda ANAE pozitifitesi tespit etmişlerdir. Altunay ve ark. (2008) ise ceylanlarda monositlerle birlikte eozinofil granüositlerin ANAE pozitif iken nötrofil granüositlerle kan pulcuklarının negatif reaksiyon verdiklerini göstermişlerdir. Özyayın ve ark. (2013)'nin taylarda yapmış oldukları bir başka çalışmada ise monositlerin pozitif reaksiyon verdiği, nötrofil granüositlerin zayıf pozitifite gösterdikleri, eozinofil granüositlerin ise zayıf ya da negatif oldukları ileri sürülmüştür. Sandıkçı ve ark. (2005) da develerde ANAE pozitifitesinin monositlerin sitoplazmasında yaygın granüler tarzda olduğunu, buna karşın alyuvarlar, tüm granüositler ve kan pulcuklarında ise reaksiyon gözlenmediğini bildirmişlerdir. Aydın ve ark. (2012)'nin tazılarda yaptığı bir çalışmada da ANAE pozitifitesinin monositlerin sitoplazmasında yaygın granüler, eozinofil granüositlerde granüler tarzda iken nötrofil granüositlerin boyanmadığı tespit edilmiştir.

Sunulan bu çalışmada da monositlerin sitoplazmasında yaygın granüler tarzda ANAE pozitifitesi gözlenmiştir (Şekil 1B ve 1C). Buna karşın nötrofil ve eozinofil granüositlerde ise herhangi bir reaksiyon tespit edilememiştir (Şekil 1C ve 1D).

İnsanlarda olduğu gibi memeli hayvanlarda da kan dokusu, hastalıkların teşhisi, ayırıcı tanısı, ilerleyişi ve tedavi süreçlerinin takip edilmesinde önemli veriler elde etmemizi sağlayan; aynı zamanda da temini, işlenmesi ve elde edilen sonuçların yorumlanması nispeten daha kolay olan bir materyaldir. Dolayısıyla kan hücrelerinin sayı ve oranlarının yanı sıra bu hücrelerin ve özellikle bağışıklık sisteminin iyi bir göstergesi olan lenfositlerin enzimatik profillerinin belirlenmesi oldukça büyük yararlar sağlamaktadır. 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. Enzim histokimyasal teknikler; immünohistokimyasal ve flow sitometrik yöntemler kadar kesin sonuçlar vermese de ucuz olmaları, güvenilir sonuçlar vermeleri, kolayca uygulanabilir ve kısa sürede tekrarlanabilir olmaları gibi nedenlerle oldukça pratiktirler. Bunun için daha fazla enzim tipini ve farklı yaş gruplarını içeren detaylı çalışmaların yapılması

nın yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

Öneriler

Kırgızistan et üretiminde önemli bir yere sahip olan ve topo olarak da bilinen Kırgızistan dağ yakları hakkında yapılan çalışmalar söz konusu hayvanların yaşam koşulları ve sert mizaçları nedeniyle son derece sınırlı kalmıştır. Dolayısıyla bu hayvanlar üzerinde yapılacak olan her türlü yapısal, histolojik, enzim histokimyasal, fizyolojik, biyokimyasal ve anatomik çalışmaların yanı sıra ülkede görev yapan veteriner hekim klinisyen ya da akademisyenlerin karşı karşıya kalabilecekleri çeşitli hastalıkların olgu sunumlarının, ilerleyen yıllarda bu hayvanlar üzerinde yapılacak olan çalışmalara yön vereceği ve sonuç olarak Kırgızistan yak üretimine de önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Kaynaklar

- Altunay H, Harem İŞ, Harem MK, Aştı RN et al., 2008. Determination of acid α -naphthyl acetate esterase enzyme activity in peripheral blood leukocytes of gazelles (*Gazella subgutturosa*). *Biotech&Histochem*, 83(6), 279-283.
- Akbulut B, Sur E, Okur DN, 2015. Gebelerin kan lenfositlerinde AgNOR ve MN değeri ile ANAE ve ACP-az pozitifitelerinin belirlenmesi. *Selçuk Tıp Derg*, 31(4), 344-350.
- Aştı RN, Alabay B, Kurtdede N, Altunay H ve ark., 1996. Farklı hayvan türlerinin periferik kan lökositlerinde alfa naftil asetat esteraz aktivitesinin belirlenmesi. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 43, 129-133.
- Aştı RN, Kurtdede N, Ergün L, 1993. Kangal köpeklerinin periferik kan T-lenfositleri üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 40(4), 563-576.
- Atakışi E, Kırmızıgül AH, Atakışi O, Karadağ Sarı E ve ark., 2014. Leptospirozlu sığırlarda plazma nitrik oksit (NO) ve Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α) düzeyleri ile Adenozin Deaminaz (ADA), Gama Glutamil Transferaz (GGT) aktiviteleri ve periferik kan lökositlerinde alfa naftil asetat esteraz (ANAE) yöntemiyle lenfosit oranlarının belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20(3), 451-455.
- Aydın MF, Telatar T, Öznurlu Y, Çelik İ ve ark., 2006. Angora

- tavşanlarının perifer kan lenfositlerinin alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) aktivitelerinin belirlenmesi. VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 27-30 Haziran 2006, Malatya.
- Aydın MF, Çelik İ, Sur E, Öznurlu Y et al., 2010. Enzyme histochemistry of the peripheral blood lymphocytes in Arabian horses. *J Anim Vet Adv*, 9(5), 920-924.
- Aydın MF, Çelik İ, Sur E, 2012. Investigation of a -naphthyl acetate esterase and acid phosphatase in the peripheral blood leukocytes of greyhounds. *Biotech&Histochem*, 87(4), 265-272.
- Bayraktaroğlu AG, Şimşek Ö, Kürüm A, Arıkan Ş et al., 2015. Determination of alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) activity in peripheral blood leukocytes of pregnant, adult, and kitten Angora cats. *Turk J Vet Anim Sci*, 39, 57-61.
- Basso G, Cocito MG, Semenzato G, Pezzutto A et al., 1980. Cytochemical study of thymocytes and T lymphocytes. *Br J Haematol*, 44, 577-582.
- Bergroth V, Konttinen YT, Reitamo S, 1983. Method for the identification of human peripheral blood T lymphocytes by sequential immunogold and esterase double staining. *J Histochem Cytochem*, 31(6), 831-839.
- Blindar VN, Lebedeva NB, Zubrikhina GN, Soloveva EA, 1993. Alpha-naphthyl acetate esterase-a cytochemical marker of the T-helpers. *Clin Lab Diagn*, 6, 38-40.
- Çelik İ, Aştı RN, Ergene N, 1991. İnsan perifer kanındaki B, T ve Null lenfositlerinin esteraz sitokimyası ve yüzey immünoglobülinlerinin immünoenzimatik yöntemle boyanarak belirlenmesi. *SÜ 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. *SÜ 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 Araş Derg*, 4(2), 68-72.
- Çiftçi MK, Çelik İ, Tuzcu M, Sur E et al., 2011. The evaluation of enzyme histochemical and histopathological findings in the diagnosis of Marek's Disease. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 2(3), 50-57.
- Dixon RJ, and Moriarty KM, 1983. Alpha-naphthyl acetate esterase activity is not a specific marker for ovine T lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol*, 4(4), 505-512.
- Ergün E, Ergün L, Özen A, Aştı RN, 2004. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (*Stuthio camelus masaicus*). *Revue Vet Med*, 155(3), 147-150.
- Ergün L, Özen A, Ergün E, Aştı RN, 2004. Alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of turkeys. *Indian Vet J*, 81, 431-434.
- Higgy KE, Burns GF, Hayhoe FGJ, 1977. Discrimination of B, T and Null lymphocytes by esterase cytochemistry. *Scand J Haematol*, 18, 437-448.
- İzci C, Çelik İ, Alkan F, Oğurtan Z et al., 2002. Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of the third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Am J Vet Res*, 63(5), 688-694.
- Kadıralieva N, Sur E, Özaydın T, Sefergil Ş, 2017. 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. *Eurasian J Vet Sci*, 33 (1), 26-33.
- Kale M, 2003. Burdur bölgesi süt sığırlarında Enzootik Bovine Löykozis (EBL) enfeksiyonunun Agar Jel İmmüno-diffüzyon (AGID), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testleri ve hematolojik uygulamalar ile araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Kajikawa O, Koyama H, Yashikawa T, Tsubaki S et al., 1983. Use of alpha-naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle. *Am J Vet Res*, 44(8), 1549-1552.
- Kısadere İ, Kadıralieva N, Cihan H, Sur E et al., 2017. Some physiological, hematological values and ANAE-positive lymphocyte rations of domestic donkeys (*Equus asinus*) in Kyrgyzstan. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 23(1), 165-168.
- Knowles DM, Holck S, 1978. Tissue localization of T-lymphocytes by the histochemical demonstration of acid α -naphthyl acetate esterase. *Lab Invest*, 39(1), 70-76.
- Knowles DM, Halper JP, 1980. Human medullary and cortical thymocytes are distinguishable according to the presence or absence of cytochemically demonstrable acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity. *J Immunol*, 125(6), 2823-2825.
- Kurtdede N, Aştı RN, Ergün L, Ergün E, 2000. Ankara keçilerinin bronş-ilişkili lenfoid dokusu (BALT) üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 47(1), 51-58.
- Li CY, Yam LT, Crosby WH, 1972. Histochemical characterization of cellular and structural elements of human spleen. *J Histochem Cytochem*, 20(12), 1049-1058.
- Maiti NK, Saini SS, Sharma SN, 1990. Histochemical studies on chicken peripheral blood lymphocytes. *Vet Res Commun*, 14, 207-210.
- 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 et al., 1975. Nonspecific 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 spleens. *Jpn J Vet Sci*, 45(1), 97-102.
- Oruç E, Kısadere İ, Kadıralieva N, Sur E, 2017. Kırgızistan Bişkek yöresi konkur (engel) atlarında yarış öncesi ve sonrası bazı hematolojik, biyokimyasal analizler ile ANAE profili ve nazal eksfoliyasyonun karşılaştırılması. *Manas J Agr Vet Life Sci*, 7(1), 12-20.
- 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.



- Özaydın 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.
- Özaydın T, Çelik İ, Sur E, Öznurlu Y et al., 2013. Cytochemistry of peripheral blood leukocytes in thoroughbred foals. *Biotech&Histochem*, 88(6), 295-301.
- Pangalis GA, Waldman SR, Rappaport H, 1978. Cytochemical findings in human nonneoplastic blood and tonsillar B and T lymphocytes. *Am J Clin Pathol*, 69, 314-318.
- Pinkus GS, Hargreaves HK, McLeod JA, Nadler LM et al., 1979. α -Naphthyl Acetate Esterase Activity-A Cytochemical Marker for T Lymphocytes. *Am J Pathol* 97, 17-42.
- 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.
- Ranki A, 1978. Non-specific esterase activity in human lymphocytes. *Clin Immunol Immunopathol*, 10, 47-58.
- Sandıkçı M, Kum Ş, Eren E, 2005. Develerin (*Camelus dromedarius*) periferik kan lökositlerinde alfa-naftil asetat esteraz aktivitesinin belirlenmesi. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 52, 13-16.
- Sarbagishev BS, Rabochev VK, Terebaev AI, 1989. Yaks, In: *Animal Genetic Resources of The USSR*, Ed; Dmitriev NG, Emst LK, FAO Animal Production and Health Paper, 65, Rome, Italy, pp; 357-364.
- Sur E, Çelik İ, Öznurlu Y, Aydın M et al., 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.
- Sur E, 2004. Farklı yaş gruplarındaki Türk Merinosu erkek kuzularının periferik kan lenfositlerinin alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) ve asit fosfataz (ACP-az) enzimi aktivitelerinin belirlenmesi. *Veterinarium*, 15, 15-22.
- Sur E, Çelik İ, 2005. Effects of aflatoxin B1 on the development of chicken thymus and blood lymphocyte alpha naphthyl acetate esterase activity. *Vlaams Dierg Tijds*, 74, 432-439.
- Sur E, Aydın MF, Çelik İ, 2005. Akkaraman koyunlarının hemal düğümlerinin histolojisi ve alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) pozitif lenfositlerin yerleşimleri üzerinde ışık mikroskopik bir çalışma. *Eurasian J Vet Sci*, 21, 101-108.
- Sur E, Aydın İ, Öznurlu Y, Özaydın T, 2013. Merinos ırkı sağlıklı gebe koyunların periferik kan lenfositlerinde alfa naftil asetat esteraz ve asit fosfataz aktivitelerinin belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19(3), 483-488.
- Sur E, Öznurlu Y, Özaydın T, Çelik İ, 2014. Gebe farelerde periferik kan ve endometriyum dokusunda T-lenfosit, null lenfosit ve asit fosfataz pozitif lenfositlerin oran ve dağılımları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20(1), 135-141.
- Şen İ, Turgut K, Çelik İ, Kıran MN, 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 α -naphthyl acetate esterase: presence of activity in bovine and human T- and B lymphocytes. *Immunol*, 38, 85-93.

Yörük M, Aştı RN, Kurtde N, Ağaoğlu Z et al., 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(5), 289-292.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Nariste Kadıralieva, Emrah Sur

Tasarım: Nariste Kadıralieva, Emrah Sur

Denetleme/Danışmanlık: Emrah Sur, Yasemin Öznurlu, Tuğba Özaydın

Veri Toplama Ve/Veya İşleme: Nariste Kadıralieva, Emrah Sur
Analiz Ve/Veya Yorum: Emrah Sur, Yasemin Öznurlu, Tuğba Özaydın

Kaynak Taraması: Nariste Kadıralieva, Emrah Sur, Yasemin Öznurlu, Tuğba Özaydın

Makalenin Yazımı: Emrah Sur, Nariste Kadıralieva, Yasemin Öznurlu, Tuğba Özaydın

Eleştirel İnceleme: Yasemin Öznurlu, Tuğba Özaydın

Etik Onay

Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu. 20.11.2019 tarihli 2019/01 Sayılı Karar.

CITE THIS ARTICLE: Kadıralieva N, Sur E, Öznurlu Y, Özaydın T, 2020. Kırgızistan dağ yaklarının (*Topoz, Bos grinniens*) periferik kan lökositlerinde alfa naftil asetat esteraz (ANAE) pozitivitesinin belirlenmesi. *Eurasian J Vet Sci*, 36, 3, 180-186.

