

## **PARAINFLUENZA-3 VİRUSU İLE FARE AKCIĞERLERİNDE VE FİBROBLAST KÜLTÜRLERİNDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN İNCELENMESİ**

**Cemalettin Köküuslu\***

### **Determination of Changes of Parainfluenza-3 Virus on Mice Lungs and on Fibroblast Cultures**

**Summary :** PI-3 virus was given to 7 days old mice, through intra nasal way, in order to determine the changes on mice lungs. Subsequent days a necropsy was carried out for microscopical studies; and CPE was determined after given of PI-3 virus on the 3 days old fibroblast cultures.

The results were:

- 1- Four days after inoculation of PI-3 virus, interstitial pneumonia was seen on mice.
- 2- Eight days after inoculation of PI-3 virus, histologically no pneumonia picture was seen on mice.
- 3- After given of PI-3 virus on the fibroblast cultures, CPE was observed by the four days and CPE was increased by the following days; after 14 th days no cell was seen through the microscope.
- 4- In vivo and in vitro studies were resulted that PI-3 virus was effective on the connective tissue and fibroblastic cells.

**Özet :** Parainfluenza-3 (PI-3) virusunun fare akciğerlerinde meydana getirdiği bulguları incelemek amacıyla, PI-3 virüsü 7 günlük farelere intranasal yolla verildi. Daha sonraki günlerde otopsi yapılan farelerde akciğer bulguları mikroskopik olarak incelendi. Ayrıca doku kültüründe 3 günlük fibroblast kültürleri üzerine ilâve edilen PI-3 virusunun sebep olduğu sitopatolojik bulgular saptandı.

Alınan sonuçlara göre :

- 1- PI-3 virüsü, farelere verilmesinden 4 gün sonra interstisyel pnömoni meydana getirmiştir.
- 2- PI-3 virusunun verilmesinden 8 gün sonra otopsi yapılan farelerde pnömoni görülmemiştir.

---

\*A.Ü. Veteriner Fakültesi Genel ve Deneysel Patoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye.

3- Fibroblast kültürlerine PI-3 virusunun ilâve edilmesinden 4 gün sonra saptanan sitopatolojik bulgular, daha sonraki günlerde ilerlemiş ve 14 gün sonra mikroskop alanında hiçbir hücreye rastlanmamıştır.

4- Yapılan in vivo ve in vitro çalışmaların sonuçları, PI-3 virusunun bağ dokusu ve fibroblastlara etkili olduğu kanısını vermektedir.

## Giriş

Parainfluenza-3 (PI-3) virusu ile insan, sığır, manda, at, koyun, maymun, domuz, hamster ve farelerde solunum sistemi hastalığının meydana geldiği bilinmektedir (1,2,3,4,6,7). Ancak Craighead (3) isimli bir araştırmacı, PI-3 virusunu farelere intranasal olarak verdikten sonra yaptığı incelemelerde, yalnız ön solunum yolları mukozasında belirgin bir yangı tablosunun oluştuğunu görmüş, fakat akciğerlerde ne makroskopik ve ne de mikroskopik olarak herhangi bir bulguya rastlamadığını bildirmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada fare akciğerlerinde PI-3 virusu ile deneysel olarak geliştirilen pnömoni olayları ve aynı virusun fibroblast kültürleri üzerinde meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. Tetkik edebildiğimiz literatürler arasında doku kültüründe fibroblastlar üzerinde PI-3 virusunun meydana getirdiği değişiklikleri inceleyen bir yayına rastlayamadığımızdan, çalışmamızın doku kültürü kısmında fibroblast kullanılmasının ilginç olacağı kanısındayız.

## Materyal ve Metot

Fakültemiz Viroloji Kürsüsünden alınan PI-3 virusunun fare akciğerlerinde hangi bulguları geliştirebildiğini saptamak için, 7 günlük kontrol (8), Grup I (8), Grup II (8) olmak üzere 24 adet beyaz fare, anneleriyle birlikte ayrı ayrı kafeslerde muhafaza edildi. Grup I ve Grup II ye ait 7 günlük farelere 20 No.lu iğne ile intranasal olarak 0.03 ml. dozunda PI-3 virusu ( $100.10^{-4.25}$  DKİD 50/1.0 ml.) verildi. Virus verildikten 4 gün sonra 4 adet kontrol ve grup I fareleri, 8 gün sonra da 4 adet kontrol ve grup II fareleri öldürülerek, otopsileri yapıldı. Bütün farelerin akciğerleri ana bronşlarıyla birlikte tespit edilmek üzere % 10 formol solüsyonuna kondu. Parafin bloklardan 5-7 mikron kalınlığında yapılan kesitler, H.E ile boyandı.

PI-3 virusunun doku kültüründe fibroblastlar üzerinde meydana getireceği bulguları incelemek amacıyla ise, 9-10 günlük civciv embriyosu kalbi fragmanları, petri kutuları (çapları: 5 cm, 10 cm.) içinde muhafaza edilen lamalar üzerine ve horoz plazması koagulumuna ekil-

di. Ayrıca, civciv embriyosu ekstraktı, Earle vasatı ve Phosphate Buffer Solüsyonu (PBS) kullanıldı. Üç günlük fibroblast kültürleri üzerine  $100.10^{-4.25}$  DKİD 50/1.0 ml. PI-3 virusu, PBS içinde 1:10 sulandırılarak petri kutularına 5 ml., 10 ml. miktarında ekildi (5). Virusun ekilmesinden sonra 4.,7.,10. ve 14. günlerde kontrolleriyle birlikte bütün fibroblast kültürleri H.E. ile boyandı. Değişik günlerde boyanan, PI-3 viruslu ve kontrol olarak kullanılan fibroblast kültürlerinin sayıları cetvel 1. de gösterilmiştir.

CETVEL 1.

Günler	Boyanan Fibroblast Kültürleri Sayısı	
	Kontrol	PI-3 Viruslu
4. gün	4	12
7. gün	9	20
10. gün	2	2
14. gün	2	8
Toplam	17	42

### Bulgular

a) Histolojik İncelemeler: PI-3 virusunun intranasal olarak inokulasyonundan 4 gün sonra öldürülen ve otopsi yapılan 1. gruba ait 8 farenin akciğerlerinden elde edilen preparatların mikroskopik incelenmesinde; kontrol gruptaki fare akciğerlerinden farklı olarak 6 fare akciğerinde bronş ve bronşioollerin epitel hücrelerinde hiperplazi, bazı epitel hücrelerinde deskuamasyon, bütün interstisyumda, bronş ve bronşiol çevrelerinde topluluklar halinde olmak üzere, yaygın lenfositler hücre infiltrasyonu ile alveol septumlarının lenfosit infiltrasyonuna bağlı olarak kalınlaştığı görüldü. İnterstisyumda yer yer perivasküler eritrosit topluluklarının bulunduğu göze çarptı. Ayrıca bu kısımlara yakın olan alveol boşluklarında da eritrositler seçildi (İnterstisyel pnömoni) (Mikrofoto: 1,2). Bu gruptaki diğer 2 fare akciğerinde patolojik bir bulgu görülmedi. II. gruba ait farelerin akciğerlerinden yapılan preparatların incelenmesinde ise, kontrol fare akciğerlerinden farklı olarak, bazı interstisyum damarlarında hiperemi, perivasküler eritrosit toplulukları ve bazı alveol boşluklarında yer alan tek tük eritrositlerin seçilmesinden başka interstisyel pnömoniyeye ait bir bulguya rastlanmadı.

b) Fibroblast Kültürlerinin İncelenmesi: PI-3 virusunun 3 günlük fibroblast kültürlerine verilmesinden sonraki 4., 7., 10. ve 14. günlerde boyanan kültürlerle ait mikroskopik bulgular:

4. Gün: PI-3 viruslu kültürlerde ekseri fibroblastların kontrol kültürlerindeki fibroblastlardan farklı olarak füziform yapılarını kaybettiği, yuvarlak veya oval bir biçime dönüştüğü, normal fibroblastlar arasında sitoplazmik ve çekirdeklere ait artıkların şekillendiği görüldü. Hücre çoğalmasında belirli bir gerilemenin olduğu dikkati çekti.

7. Gün: 10 günlük kontrol kültürlerde fibroblastlar normal biçimde oldukları halde, PI-3 viruslu fibroblast kültürlerinde ancak sayılabilecek kadar az sayıda füziform fibroblastların seçilebildiğini, mikroskop alanında ya büyük sitoplazmalı ve üçgen şeklinde birkaç hücre veya küçük oval, yuvarlak sitoplazma şekilleriyle, hiperkromatik çekirdek artıkları görüldü (Mikrofoto: 3,4).

10. Gün: PI-3 viruslu kültürlerde eksplantın çevresinde ancak birkaç geniş sitoplazmalı hücre seçilebildi. Diğer bütün alanlarda serpilmiş durumda çekirdek artıkları tespit edildi. Kontrol kültürlerinde normal fibroblastların geniş bir üreme alanına yayıldığı görüldü.

14. Gün: PI-3 viruslu kültürlerde eksplant çevresinde hücreye benzer hiçbir yapı görülmedi. 17 günlük kontrol kültürlerinde ise normal fibroblastlar yine geniş bir alanı kaplamışlardı (Mikrofoto: 5, 6).

### Tartışma

PI-3 virusu ile Craighead (4) tarafından yapılan bir çalışmada virusun intranasal yolla ve 27 No.lu iğne ile yeni doğmuş farelere 0.013-0.015 ml.dozda verildiği göz önüne alınarak, çalışmamızda kullanılan 7 günlük farelere 20 No.lu iğnelerle 0.03 ml. dozda PI-3 virusu verilmesi uygun görülmüştür. Ancak Craighead (4), çalışmasında fare akciğerlerinde makroskopik ve mikroskopik olarak bir değişiklik görmediğini bildirdiği halde, yaptığımız bu çalışmada, 7 günlük farelere virusun verilmesinden 4 gün sonra, 1. Gruptaki 8 fareden 6 tanesinde interstisyel pönmoni meydana gelmiştir. Burada mikroskopik olarak tespit ettiğimiz bronş ve bronşiol epitellerindeki hiperplazi, bronş ve bronşiol çevrelerinde yoğunlaşan, fakat bütün interstisyumda yaygın olan lenfositler hücre infiltrasyonu, viral pnömonilerde beklediğimiz histopatolojik tabloya uymakta ve Buthala ve Sorci (2) tarafından yapılan bir çalışmada, yine PI-3 virusunun verilmesi sonucu hamsterlerde meydana getirilen pnömoniye de benzemektedir. Buna karşılık, 1.Gruptaki 8 fareden 2 tanesinde pnömoniye belge bir bulgunun görülmemesi, kanımızca

bu farelerin virusa karşı bir dayanıklılık göstermesiyle açıklanabilir. Ancak PI-3 virusunun verilmesinden 8 gün sonra öldürülen ve otopsi yapılan 2. Grup farelerin akciğerlerinde yalnız hiperemi ve tek tük alveol boşluğunda eritrositlerin bulunması, fakat interstisyel pnömoninin görülmemesi, Buthala ve Soret (2)'in aynı virusla hamsterler üzerinde yaptığı çalışmada, 5-7 günden sonra tespit ettiği bulguları kanıtlamaktadır.

Çünkü, bu araştırmacılar (2) da, PI-3 virusunun hamsterlere verilmesinden 5-7 gün sonra pnömoninin süratle iyileştiğini ve daha sonraki günlerde akciğerlerin normale döndüğünü açıklamaktadırlar. Bizim çalışmamızdaki PI-3 virusunun verilmesinden 8 gün sonra öldürülen 2. Grup farelerde de bir interstisyel pnömoni tablosunun görülmemesi, bu farelerin akciğerlerinde de yine normalleşmeye doğru bir gidiş olduğunu göstermektedir.

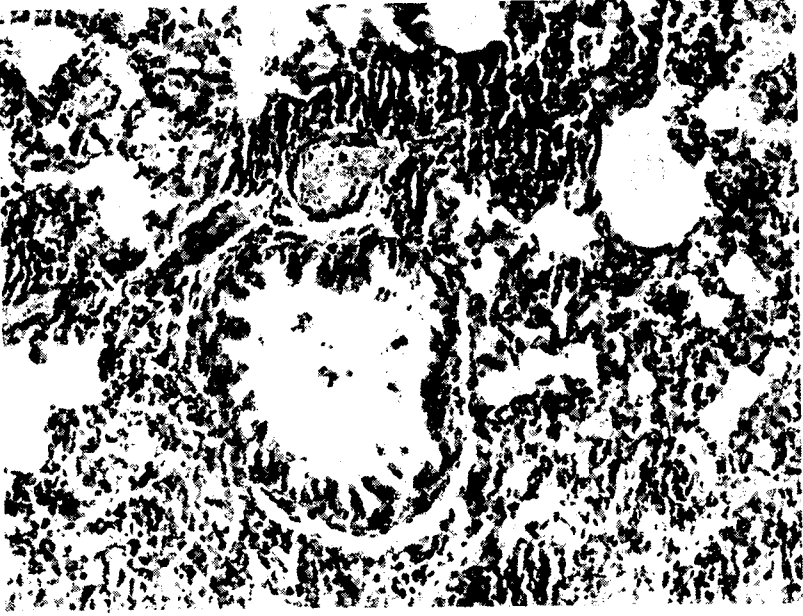
PI-3 virusunun farelerde interstisyel pnömoni tablosunu oluşturduğu göz önüne alınarak, doku kültüründe fibroblastlar üzerinde ne gibi değişiklikler yapacağının saptanması bakımından, doku kültüründe fibroblast kullanılması uygun görülmüştür. Yapılan doku kültürü çalışmalarında, fibroblast kültürleri üzerinde PI-3 virusunun verilmesinden 4 gün sonra, yuvarlak veya oval biçimde sitoplazmaların görülmesi, sitoplazmik ve çekirdek artıklarının meydana gelmesiyle belirlenen sitopatolojik etkinin, 7 gün sonra çok belirgin olması ve 10 gün sonra da mikroskop alanında ancak bir kaç dejenere hücrenin seçilebilmesi, fakat 14 gün sonra ise eksplant çevresinde hiçbir hücrenin seçilememesi; PI-3 virusunun fibroblast kültürlerinde hücre ölümüne kadar varan bulgular meydana getirebilecek nitelikte olduğunu göstermektedir.

Gerek in vivo ve gerekse in vitro olarak yaptığımız çalışmaların sonuçları, PI-3 virusunun fare akciğeri bağ dokusu ve fibroblast kültürleri üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

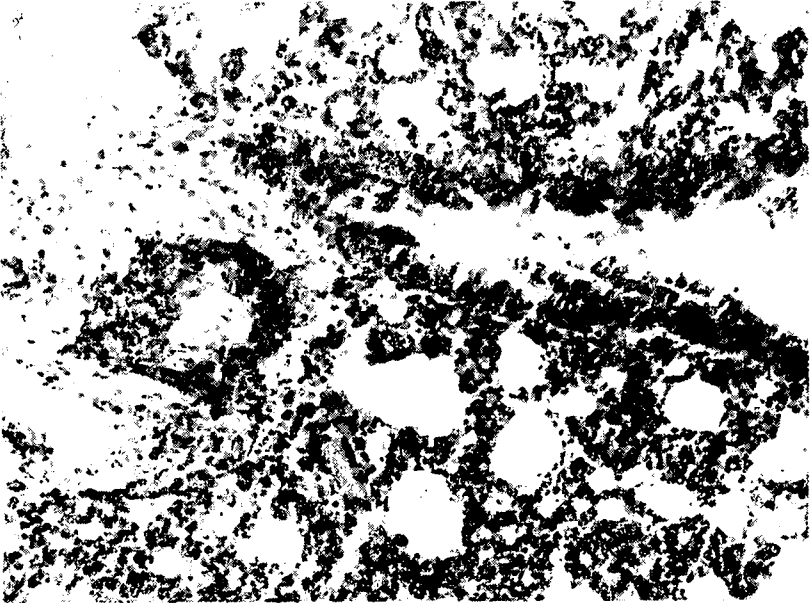
### Literatür

- 1- **Afzal, Hameed**, (1975) : *Türkiye'de Sığırlarda Parainfluenza-3 Hastalığı Üzerinde Araştırmalar*. A.Ü.Basımevi, Ankara.
- 2- **Buthala, D.A. and Soret, M.G.** (1964) : *Parainfluenza Type 3 Virus Infection in Hamsters: Virologic, Serologic and Pathologic Studies*. J.inf. Dis., 114, 226-234.
- 3- **Campbell, R.S.F., Thompson, H., Leighton, E. and Penny, W.** (1969) : *Pathogenesis of Bovine Parainfluenza 3 Virus Infection in Organ Cultures*. J.Comp. Path., 79, 347-354.

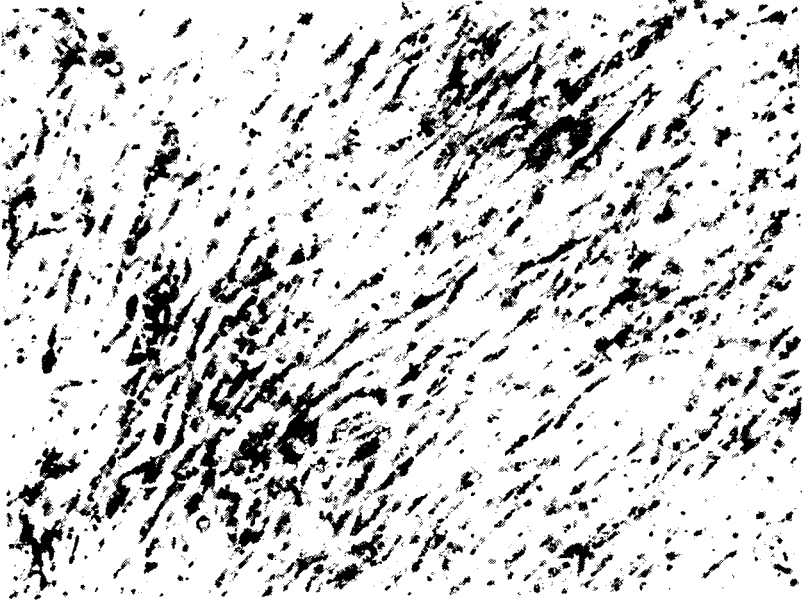
- 4- **Craighead, J.E.** (1966) : *Growth of Parainfluenza Type 3 Virus and Interferon Production in Infant and Adult Mice.* Br.J.Exp. Path., XLVII, 235-241.
- 5- **Gürtürk, S., Finci, E. ve Burgu, İ.** (1974) : *Yurdumuz Sığırlarında Sığır Vebası Üzerinde Araştırmalar.* A.Ü.Vet.Fak. Derg., XXI, 1-2, 102-113.
- 6- **Pamukçu, M.** (1970) : *Veteriner Patoloji.* A.Ü.Basımevi, Ankara, 122-123.
- 7- **Reisinger, R.C.** (1962) : *Parainfluenza 3 Virus in Cattle.* Ann. N.Y.Acad. Sci., 101, 576-582.



Mikrofoto 1. Peribronşiyoler ve perivasküler lenfosit infiltrasyonu. H.E. 250 X.  
Peribronchiolar and perivascular lymphocytic infiltration.



Mikrofoto 2. İnterstiyel pnömoni. H.E. 250 X.  
Interstitial pneumonia.



Mikrofoto 3. Normal fibroblast kültürü. 10. gün. H.E. 100 X.  
The normal fibroblastic cells, 10 days in culture.

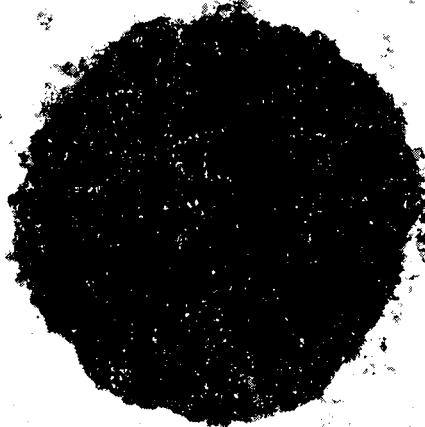


Mikrofoto 4. PI-3 virusunun verilmesinden 7 gün sonra fibroblastlar. H.E. 200 X.  
The fibroblastic culture, 7 days after given of PI-3 virus.





Mikrofoto 5. Normal fibroblast kültürü. 17. gün. H.E. 100 X.  
The normal fibroblastic cells, 17 days in culture.



Mikrofoto 6. PI-3 virusunun verilmesinden 14 gün sonra fibroblastlar görülmemektedir. H.E. 100 X.  
14 days in culture, after given of PI-3 virus, no cell was seen.