

## KOYUN ÇİÇEĞİNDE AKCİĞER LEZYONLARININ IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK İNCELENMESİ<sup>1</sup>

Ümit H. Milli<sup>2</sup>

Günay Alçıgır<sup>2</sup>

M. Serdar Altınsaat<sup>3</sup>

Light and electron microscopic studies on pulmonary lesions in sheeppox

**Summary:** *The pulmonary lesions of sheeppox have been investigated by light and electron microscopy in 17 and 8 cases, respectively. Ultrastructural studies carried out on lambs aged between fifteen days and one month.*

*Macroscopically, the pulmonary lesions were subpleural, gray-white multiple nodules up to 2-3 cm in diameter. Histologically, alveoli were completely lined by proliferating epithelial cells and filled with eosinophilic, PAS-positive material. The alveolar septa appeared widened by sheeppox cells and other mononuclears. The nuclei of sheeppox cells were vacuolated and had margined chromatin, and the cytoplasm contained eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies. The bronchiolar epithelial cells were hyperplastic and also contained inclusion bodies. Lymphocytic aggregations were seen in perivascular, peribronchial and peribronchiolar sheaths. Another change was hyperplasia of smooth muscle in the walls of terminal bronchioles and alveolar ducts.*

*Ultrastructural studies revealed that the proliferating cells in the alveoli were type II pneumonocytes. The material within the alveoli was composed of types A and C multilamellated structures and surfactant. Sheeppox cells were predominantly macrophages and rarely monocytes and fibroblasts. The nuclei of sheeppox cells had central electron-lucent material containing a very fine granular and filamentous substance, and the chromatin and nucleolus*

1 Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 88.10.00.04).

2 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fak., Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

3 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fak., Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

were displaced peripherally. These cells showed virus replication sites in their cytoplasm. These areas consisted of membranous semi-circular and spherical or ovoid immature particles, rectangular or ovoid mature particles and cylindrical structures. Viral replication also occurred in type II pneumocytes and bronchiole epithelial cells.

**Özet:** Koyun çiçeğinin akciğer lezyonları ışık mikroskopik olarak 17 olguda, elektron mikroskopik olarak da 8 olguda incelendi. Onyeddi olgunun 14'ü kuzu, 3'ü ise koyundu. Elektron mikroskopik inceleme kuzular üzerinde yapıldı.

Makroskopik olarak, subpleural, 2-3 cm çapına varabilen diseminasyon nodülleri görüldü. Histolojik olarak, alveol epitellerinde yoğun proliferasyonlar, alveol lumenlerinde eozinofilik ve PAS-pozitif bir materyal, interalveoler septal dokularda yoğunluğunu koyun çiçeği hücrelerinin oluşturduğu mononükleer hücre infiltrasyonları, bronşiol epitellerinde hiperplazi, perivasküler, peribronşial ve peribronşoller lenfoid hücre infiltrasyonları, ductus alveolaris ve terminal bronşiol duvarlarında düz kas hiperplazileri ve bazı olgularda nekroz odakları görüldü. Koyun çiçeği hücrelerinde çekirdekte marjinal hiperkromazi, sitoplazmada hafif bazofili ve eozinofilik inklüzyon cisimcikleri vardı. Inklüzyonlara ayrıca bronşiol epitellerinde de rastlandı.

Elektron mikroskopik olarak, alveol duvarlarında proliferasyon olan hücrelerin tip II pnömonositler olduğu görüldü. Alveol lumenlerindeki materyal içinde A ve C tipi multilamellar yapılar ve surfactanta rastlandı. Koyun çiçeği hücreleri büyük oranda makrofajlar, ender olarak da monosit ve fibroblastlardı. Koyun çiçeği hücrelerinde kromatin çekirdek membranına yakın yerleşmişti, merkezi kısım ise elektron-lucent çok ince granüller ve filamentöz yapıdaydı. Bu hücrelerin sitoplazmalarında viral replikasyon bölgelerine rastlandı. Bu bölgeler granüler viroplazmik matrix ile bu matrix içinde veya çevresinde yarım daire ve yuvarlak veya oval çift membranlı yapılar şeklindeki olgunlaşmamış viral partiküller, silindirik ve dikdörtgen veya ovoid şekillerdeki olgun viral partiküllerden oluşmaktaydı. Viral replikasyona koyun çiçeği hücreleri dışında tip II pnömonositler ve bronşiol epitellerinde de rastlandı.

## Giriş

Koyun çiçeği Poxviridae familyası, Capripox cinsine ait koyun çiçek virüsü tarafından oluşturulur (14). Hastalığın esas ve tipik lezyonları deride generalize erupsiyonlardır (14,18). Bununla birlikte, koyun çiçeği sistemik bir hastalık olup başta akciğerler olmak üzere kalp, böbrekler, karaciğer, adrenler, tiroid ve pankreasta da lezyonlar oluşabilir (14, 22).

Hayvanların yaklaşık üçte birinde multiple akciğer lezyonları şekillenir. Bu lezyonlar proliferatif alveolitis ve bronchiolitis karakterindedir. İnteralveolar septumlarda büyük çoğunluğunu koyun çiçeği hücrelerinin oluşturduğu mononükleer hücre toplulukları, bu hücrelerde ve bronşiol epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülür. Lezyonlu bölgelerde fokal nekroz odakları şekillenebilir (14,20).

Bu çalışmayla, yurdumuzda yaygın olarak görülen koyun çiçeği hastalığında karakteristik akciğer lezyonlarının ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırma materyalini, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na değişik tarihlerde getirilen 9 hayvana ait akciğer örnekleri ile 1988 yılında Erzincan ili ve Ankara ili Balı ilçesinde çıkan koyun çiçeği salgılarından sağlanan 8 hayvana ait akciğer örnekleri olmak üzere toplam 17 akciğer oluşturdu. Işık mikroskopik olarak incelenen 17 olgunun 14'ü yaşları 15 gün- 2 ay arasında değişen kuzular, 3'ü ise 3-4 yaşlı koyunlardı. Elektron mikroskopik olarak incelenen 8 olguyu ise yaşları 15 gün- 1 ay arasında değişen kuzular oluşturdu.

Işık mikroskopik inceleme için akciğerlerdeki lezyonlu doku örnekleri %10 tamponlu formolde tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklar 5-6 mikron kalınlığında kesilerek hematoxylin-eosin ve periodic-acid-Schiff (PAS) ile boyandı.

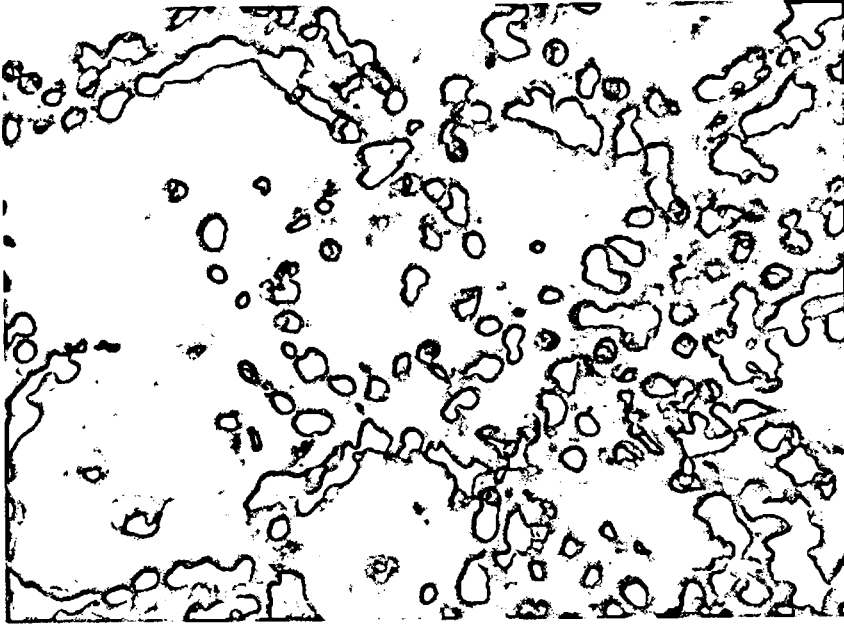
Elektron mikroskopik inceleme için, her bir akciğerin lezyonlu bölgelerinden 1 mm kalınlığında alınan doku örnekleri % 2'lik glutaraldehide solüsyonunda tespit edildi ve cacodylate tamponunda yıkandıktan sonra % 1'lik osmium tetroxide'de post-fiksasyon ya-

pıldı. Dereceli alkollerde dehidrasyon yapıp propylene oxide'den geçirildikten sonra epon 812 ile bloklandı. Yarı-ince kesitler toluidine blue, ince kesitler ise uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı. İnce kesitler Zeiss-9S elektron mikroskobunda incelendi.

### Bulgular

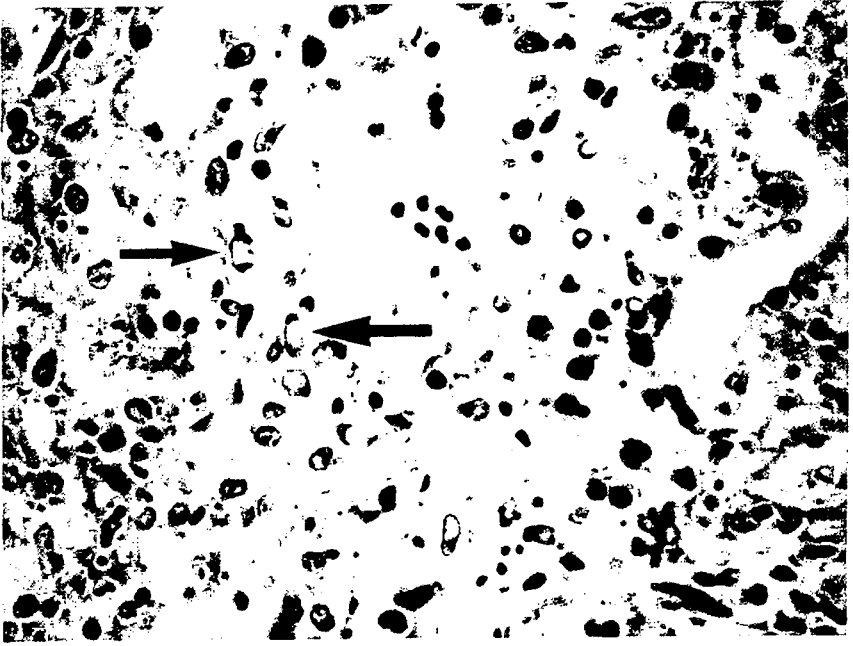
*Makroskobik bulgular:* Akciğerlerdeki çiçek lezyonlarının çoğunluğu subpleural olarak lokalize olan dissemine nodüllerden oluşmuştu. Birkaç mm'den 2-3 cm çapına kadar varabilen bu nodüller gri-beyaz renkte, mat görünümlü ve sertçe kıvamda olup çevrelerindeki normal akciğer dokusundan hiperemik bir bölgeyle ayrılmışlardı. Kuzularda, özellikle yeni şekillenmekte olan küçük odaklar hiperemik görünüşteydiler.

*Mikroskobik bulgular:* Alveollerdeki epitel hücre hiperplazisi (epitelializasyon) dikkati çeken en önemli bulguydu (Şekil 1).



Şekil 1. Alveol duvarlarında epitel hücre hiperplazisi HE x 490. The alveolar wall is lined by proliferating epithelial cells.

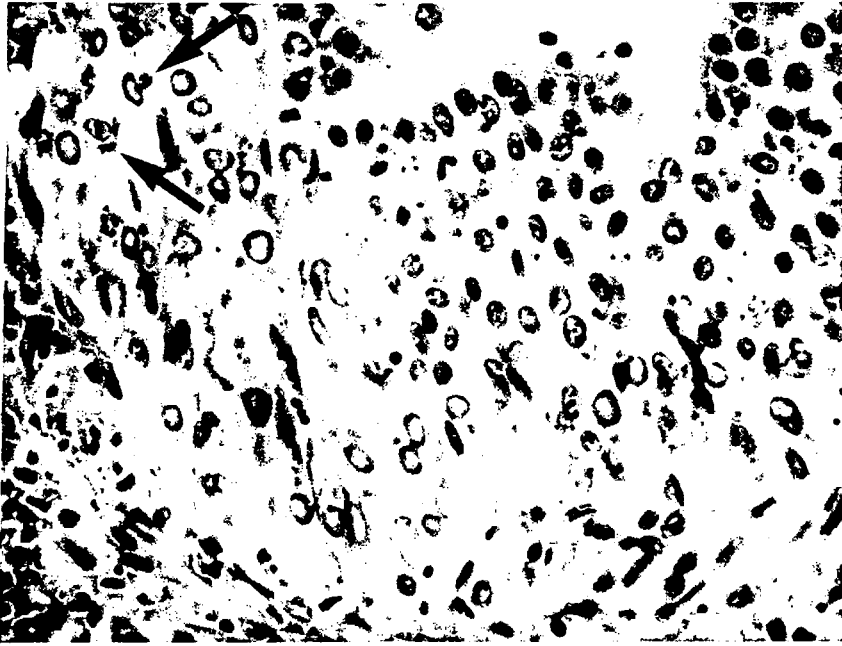
Alveol duvarlarının büyük bir kısmı kübik görünüşlü, tek sıra dizilmiş bu hücrelerce döşenmişti. Bazı alveollerde lumen hiperplazik epiteller nedeniyle oblitere olmuştu. Beş kuzuda epitelializasyon hafif derecede bulundu. Epitel hiperplazisinin şiddetli olduğu alveollerin lumenlerinde eozinofilik ve PAS-pozitif materyale rastlandı. Ayrıca, bu kısımlarda az sayıda makrofajlar da görüldü. Yeni şekillenmekte olan lezyonlu bölgelerdeki interalveolar septal dokular ödem ve lenfositler hücre infiltrasyonlarıyla kalınlaşmıştı. Tipik lezyonlu bölgelerde ise makrofajlar ve koyun çiçeği hücreleri çoğunlukta idi (Şekil 2). Çekirdekleri marjinal hiperkromazi gösteren,



Şekil 2. Interalveolar septumlarda koyun çiçeği hücreleri (oklar) HE x 510  
Sheepox cells in the interalveolar septa (arrows)

ren, sitoplazmaları hafif bazofilik ve inklüzyon cisimcikleri içeren, hastalık için karakteristik olan koyun çiçeği hücrelerine her hayvanda yoğun şekilde rastlandı. Hiperplazi, ductus alveolaris ve bronşiol epitellerinde de belirgindi. Bronşioleler hiperplaziye yalnızca bir koyunda rastlanmadı. İki koyun ve sekiz kuzuda bronşiolelerde hiperplazi yanında epitellerde yer yer nekroza kadar giden dejeneratif değişiklikler görüldü. Hidropik dejenerasyon gösteren bu

hücrelerin çekirdeklerinde marjinal hiperkromazi ve sitoplazmalarında inklüzyon cisimcikleri şekillenmişti (Şekil 3). Yine lezyonlu bölgelerde perivasküler, peribronşial ve peribronşiyoler lenfoid hücre infiltrasyonları oniki olguda belirgindi. Üç koyun ve altı kuzuda bu nodüllerde yer yer nekroz ve kanama alanlarına rastlandı. İki olguda nekroz alanlarında kalsifikasyon görüldü. Bazı olgularda hafif fibrotik değişikliklere rastlandı. Ayrıca, ductus alveolaris ve terminal bronşiol duvarlarında düz kas tabakalarında hiperplazi görüldü, hiperplazik kas tabakaları yer yer alveol duvarlarına kadar uzanmıştı. Altı olguda ise bazı alveoller içerisinde nötrofil lökosit hücre toplulukları görüldü. Çiçek nodüllerinin çevresindeki akciğer dokusunda konjesyon dışında önemli bir değişikliğe rastlanmadı.

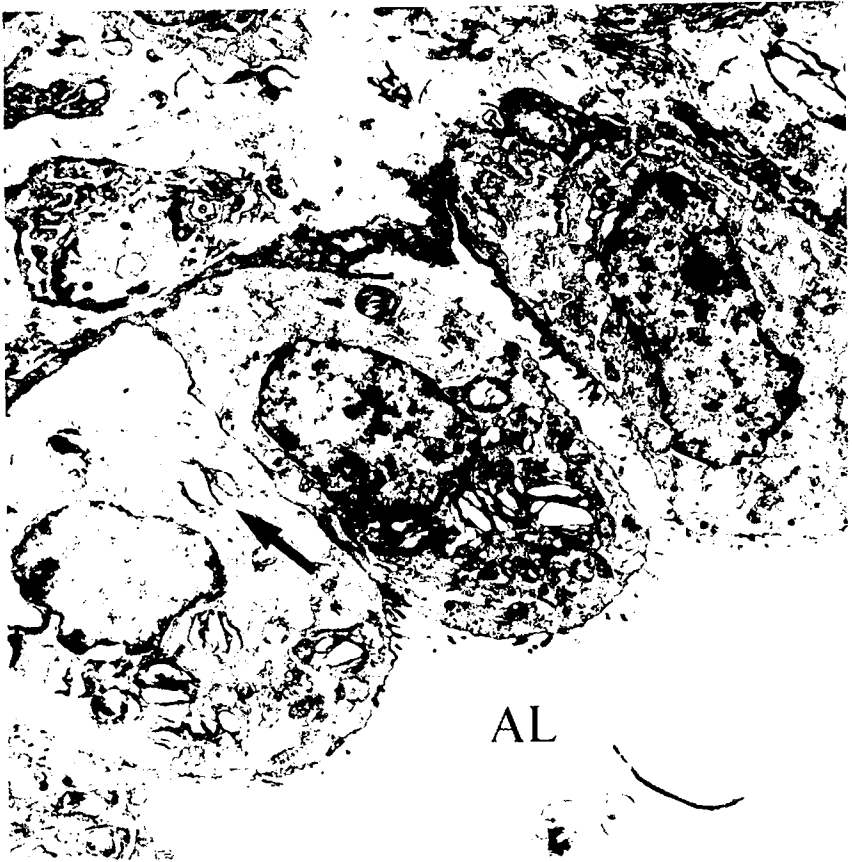


Şekil 3. Bronşiol epitellerinde hiperplazi. Bazı dejenere epitellerde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (oklar) ve çekirdekte kromatinin marjinal lokalizasyonu görülmekte  
HEX510

Hyperplasia of the bronchiolar epithelium. Intracytoplasmic inclusion bodies (arrows) and marginal hyperchromasia in some degenerated epithelial cells

*Elektron mikroskopik bulgular:* Alveollerin çoğu kübikten-kolumnara değişen şekilli tip II pnömonositlerce döşenmişti (Şekil

4). Epitel hücreleri tek sıralı dizilim içindeydiler. Tek ve çevresindeki hücrelerden bağımsız epitel hücrelerine rastlandıysa da, iyi gelişmiş bağlayıcı kompleksleriyle birbirlerine bitişik epitel hücreleri çoğunlukta idi. Bazı alveollerde epitel hücrelerinin asinus oluşturacak tarzda kümелendikleri görüldü (Şekil 5). Hücrelerin serbest yüzlerindeki mikrovilluslar bazı hücrelerde belirgin azalma göstermekteydi. Multilamellar cisimciklere apikal sitoplazmada yoğun şekilde rastlandı. Çoğunlukla iç yapılarında osmiofilik konsantrik veya paralel lamellasyon gösteren bu cisimciklerin bazıları



Şekil 4. Alveol duvarında proliferatif tip II pnömonsitler. Hücrelerin sitoplazmalarında multilamellar cisimcikler görülmekte (ok). Hücrelerdeki mikrovillus miktarında farklılıklar var. AL. alveol lumeni x 2,500

The alveolar wall is lined by proliferating type II pneumocytes. Multilamellar bodies (arrow) and varied numbers microvilli are seen in these cells. AL. alveolar lumen

sekresyon nedeniyle boşalmıştı. Mitokondrionlarda şişme, kristallerinde bozulma veya tümden gözden silinme dikkati çekti. Hiperplazik epitellerde endoplazmik retikulumda yer yer dilatasyon ve vezikülleşmelere rastlandı. Çekirdekler genellikle normal görünüşteydiler. Yuvarlaktan-ovale kadar değişen şekiller yanında, uzamış, irregüler membranlı ve lobüllü çekirdeklere de rastlandı. Bazı çekirdeklerde nükleoluslarda hipertrofi, birden fazla nükleolus ve genellikle çekirdek membranına yakın periferal yerleşimler gözlenen diğer bulgulardı.



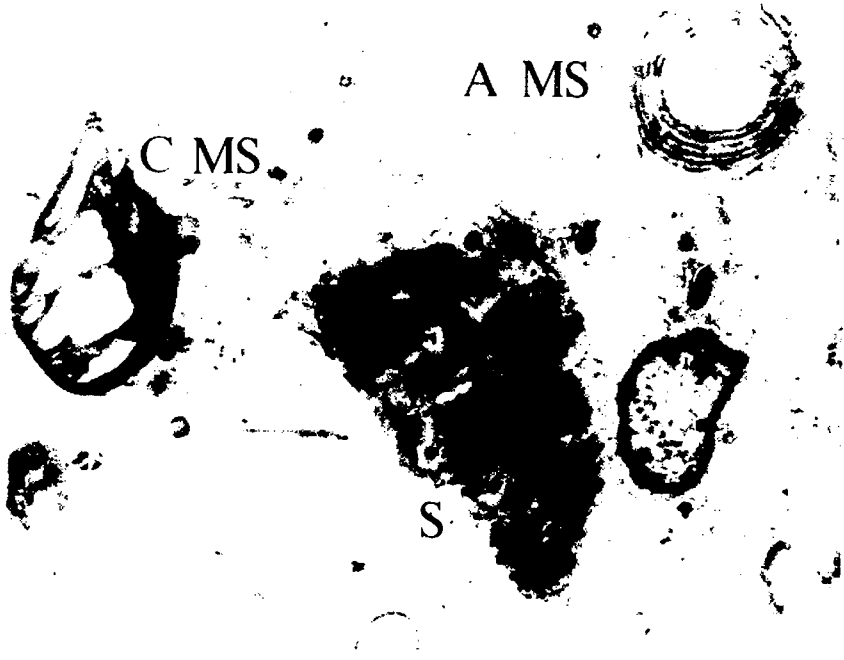
Şekil 5. Tip II pnömonsitlerdeki hiperplazi nedeniyle alveol lumeninin obliterasyonu.

AL. alveol lumeni x 1,800

Obliteration of the alveolar lumen by proliferating type II pneumocytes. Al. alveolar lumen

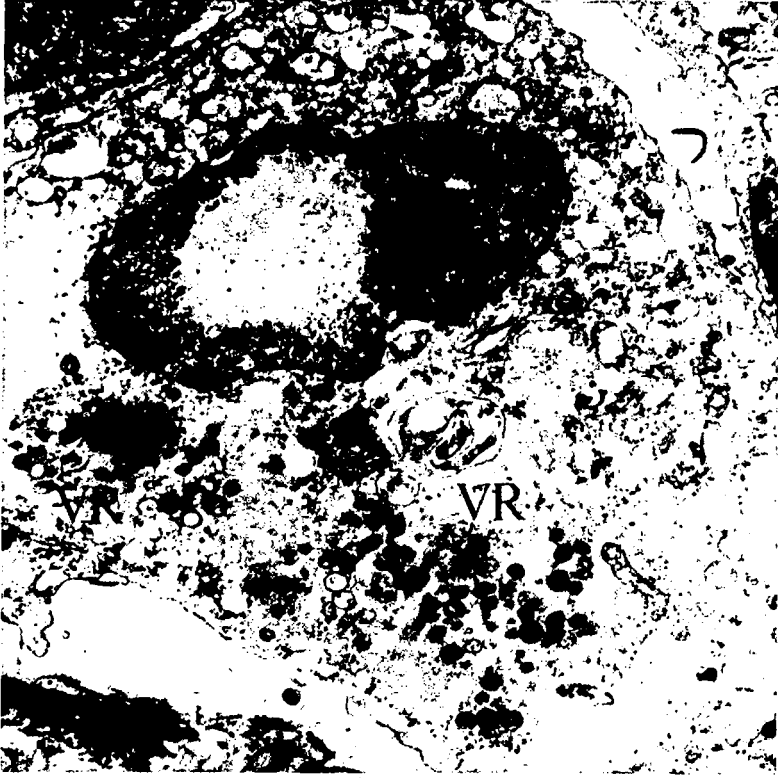


Alveol lumenlerinde dejenere ve nekrotik hücre artıkları yanında değişik formlarda multilamellar strüktürler de vardı. Bunlardan en yaygın olarak gözlenen C tipi multilamellar strüktürlerdi. Bunlar tip II pnömonositlerin multilamellar cisimciklerine oldukça benzemekteydiler. Yuvarlaktan-ovale kadar değişen bu strüktürlerde boyutlar 0.7-1.2  $\mu\text{m}$  arasında değişmekteydi. Düzensiz boşluklar içeren bu yapılarda dalgalı konsantrik elektron-dense tabakalar vardı. A tipi multilamellar strüktürler ise yuvarlak şekilli ve düzenli lamellar membranlardan oluşmuştu. Çapları 0.7-1.5  $\mu\text{m}$  arasında değişen bu strüktürlerin merkezi kısımları ise lamellasyon göstermeyen elektron-lucent alanlar halindeydi. Üçüncü tip multilamellar strüktürler ise U-şekilli veya parmak izi görünümünde konsantrik laminalı yapıdaki surfactant olup, elektron-dense çizgiler 15-20 nm, aradaki boşluklar ise 25-40 nm kalınlıktaydı (Şekil 6).



Şekil 6. Bir alveol lumeninde nekrotik hücre artıkları yanında görülen üç tip multilamellar strüktür. C MS. C tipi multilamellar strüktür. A MS. A tipi multilamellar strüktür ve S. surfactant x 34,470

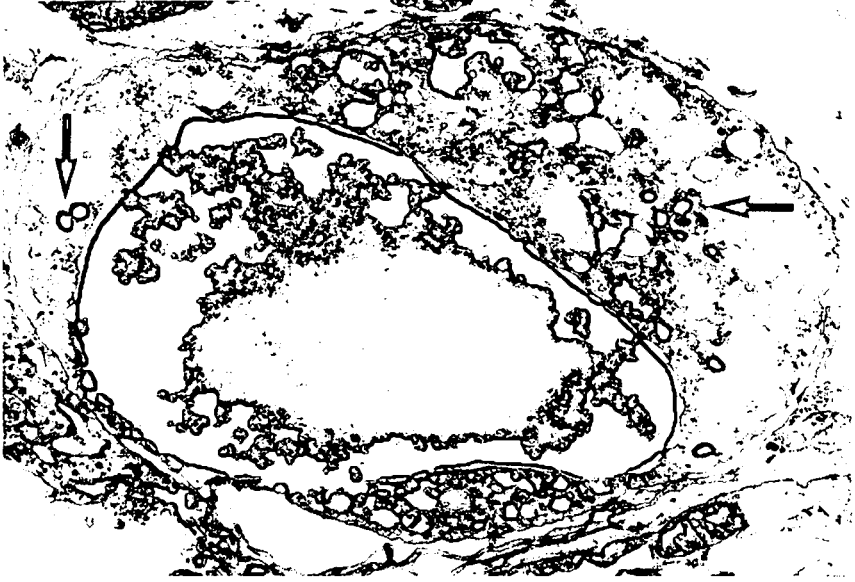
Necrotic debris and three types multilamellated structures within an alveolar lumen. C MS. type C multilamellated structure, A MS. type A multilamellated structure and S. surfactant



Şekil 7. Koyun çiçeği hücresi karakterinde bir makrofaj. Çekirdekte kromatinin periferale yerleşimi ve mitokondrionlarda dejeneratif değişiklikler. Viroplazmik matrix ile olgunlaşmış ve olgunlaşmamış viral partiküllerin yer aldığı viral replikasyon bölgeleri (VR) x 8,900

A characteristic sheeppox cell. The nucleus have marginated chromatin. Mitochondria are swollen and have disrupted internal structure. Cytoplasmic foci of viral multiplication showing viroplasmic matrices and mature and immature viral forms (VR)

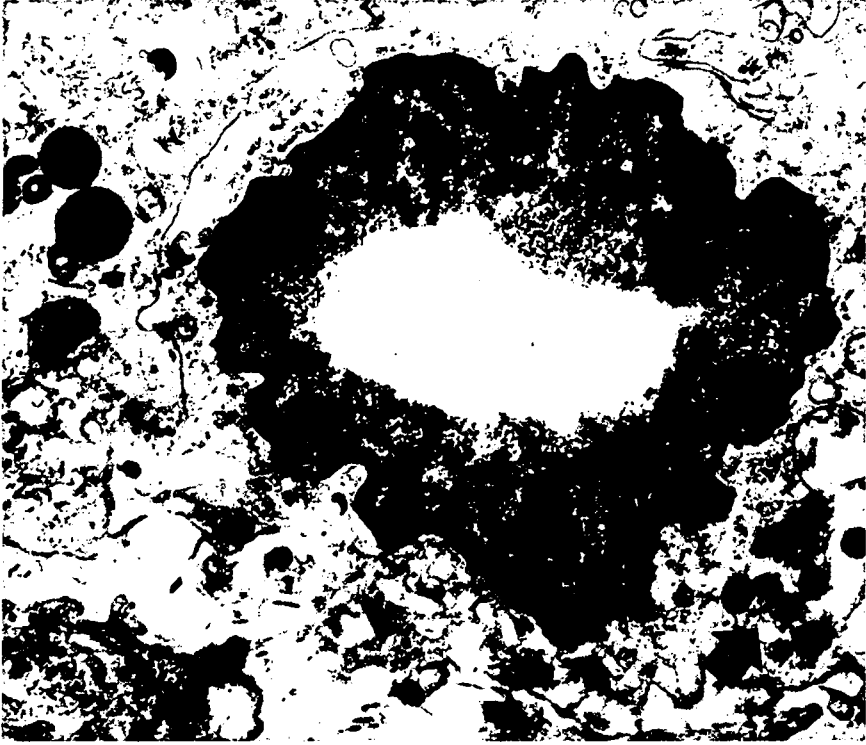
Koyun çiçeği hücrelerini büyük çoğunlukla makrofajlar (Şekil 7-12), ender olarak da monositler (Şekil 13) ve fibroblastlar oluşturmuştu. Viral replikasyonun görüldüğü bu hücrelerde çekirdekler yuvarlak, oval, uzamış, irregüler membranlı ve lobüllü olmak üzere çeşitli formlardaydı. Kromatinin dağılımı bazılarında normal olmakla birlikte, koyun çiçeği hücreleri olarak tanımlananlarda kromatin ve nükleolusun marjinal lokalizasyonu belirgindi. Bu hücrelerde çekirdeğin orta kısımları elektron-lucent görünüşte olup, çok ince granüler ve filamentöz yapıdaydı (Şekil 7-9 ve 12). Makrofajların sitoplazmalarında çoğunlukla tek, bazen de multifo-



Şekil 8. Koyun çiçeği hücresi. Çekirdekte kromatinin marjinasyonu. Sitoplazmada olgun virus partikülleri (oklar) x 12,450  
 A sheeppox cell. Marginated chromatin in the nucleus.  
 A few mature viral forms (arrows)

kal olabilen orta derecede elektron-dense, granüler viroplazmik matrix vardı. Viroplazmik matrixin içinde veya çevresinde olgunlaşmış ve olgunlaşmamış viral partiküllere ve viruslarla-ilişkili yapılara rastlandı (Şekil 7, 10-16). Bazı hücrelerde viroplazmik matrix içinde, matrixten daha yoğun ve viral partiküller içermeyen yuvarlak bölgelere rastlandı (Şekil 14 ve 15). Viruslarla-ilişkili strüktürler arasında dikkati çeken silindirik yapılardı. Bunların bazıları birbirlerine yakın, paralel uzanan elementler şeklinde, bazıları da tek olarak görüldüler ve genellikle zayıf elektron-dense bir materyal içermekteydiler. Ayrıca, bu silindirlerin bazılarında içeriğin fokal yoğunlaşması ile birlikte bu kısımlara komşu membranöz yapılarında da elektron yoğunlukta artış dikkati çekti (Şekil 15 ve 16). Viral partiküllerin ilk formları yarım daire veya yay şeklinde membranöz yapılardı. Bunlar viroplazmik matrix içinde yar almaktaydılar ve bir kısım matrixi kuşatmışlardı (Şekil 16). Bunların gelişmesiyle ortaya çıkan formlar ise yuvarlak veya oval çift membranlı strüktürlerdi (Şekil 13-16). Bu partiküllerin dış membranları radier dikenimsi çıkıntılara sahipti. Bu olgunlaşmamış viral partiküllerin içinde elektron-dense bir materyale ve bazılarında da ek-

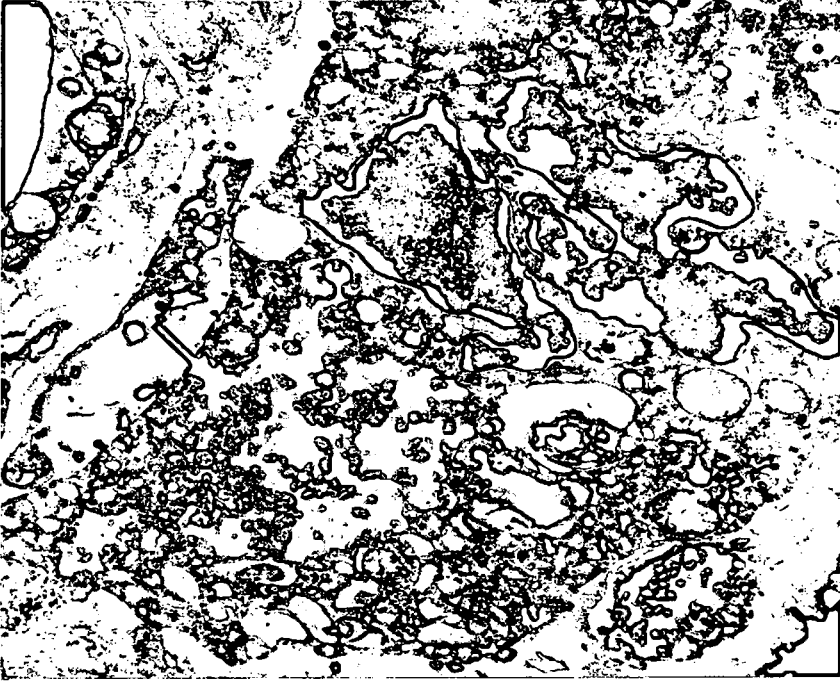
santrik lokalizasyonlu nükleoidlere rastlandı. Viral replikasyon bölgelerinde daha az sıklıkla birçok yarım daire şeklindeki strüktürün birleşmesiyle oluşan formlar görüldü (Şekil 16). Olgun virus partiküllerine viroplazmik matrixin yakın çevresinde daha çok rastlandı. Virus partikülleri uçları yuvarlaklaşmış dikdörtgen veya ovoid şekillerde olup yaklaşık 250-340 nm uzunluğunda ve 150-250 nm genişliğinde idi. Bunların merkezi kısımlarında bikonkav nükleoid ve viroplazma, bu kısım ile partikülün dış tabakaları arasında lateral cisimcikler yer almaktaydı (Şekil 13, 14, 16). Olgunlaşmış virus partiküllerinin bir kısmı sitoplazma içinde golgi vezikül membranlarına yakın yerleşimi ile dikkat çekerken, bir kısmı da tümüyle veziküller içinde görüldü. Viral partiküllere sık sık eks-



Şekil 9. Bir koyun çiçeği hücresinde çekirdekte marjinal hiperkromazi ve çekirdek membranının düzensiz yapısı görülmekte. Sitoplazmada olgun virus partikülleri (ok) x 16,300

Irregular nuclear membrane and marginated chromatin in a sheepox cell. Cytoplasmic focus of viral particles (arrow)

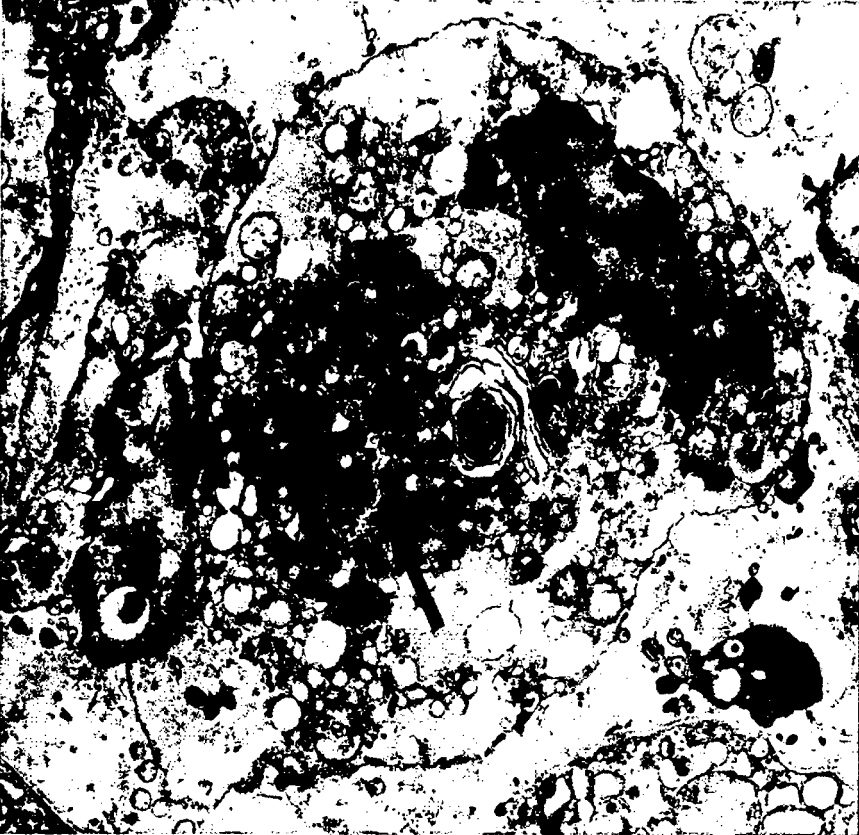
trasellüler olarak da rastlandı. Bunlar çevrede bulunan hücrelerin sitoplazmik membranlarına yakın lokalizasyonlarda olup, bazı viral partiküllerin hücre sitoplazmalarına adsorpsiyon ve penetrasyonları dikkati çekti. Bu kısımlarda hücre membranlarında invaginasyonlar gözlemlendi (Şekil 17). Ekstrasellüler dokuda viruslar çıplak olabildiği gibi, membranla çevrili olarak da görüldüler.



Şekil 10. Lobüllü çekirdeğe sahip bir koyun çiçeği hücresinde ışık mikroskopunda intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği olarak görülen viral replikasyon bölgesi (ok) x 9,375

A sheeppox cell which has a lobulated nucleus contain a large viral replication focus composed of viroplasmic matrix and viral particles in different stages of maturation (arrow). This focus is seen as a intracytoplasmic inclusion body with the light microscopy.

Tip II pnömonositlerin çok azında virus partikülleri ve viral replikasyon dikkati çekti. Genellikle, apikal sitoplazmada olgun virus partiküllerine rastlandı (Şekil 18). Yer yer, küçük odaklar halinde viroplazmik matrix ve olgunlaşmamış membranöz yuvarlak formlar görüldü.

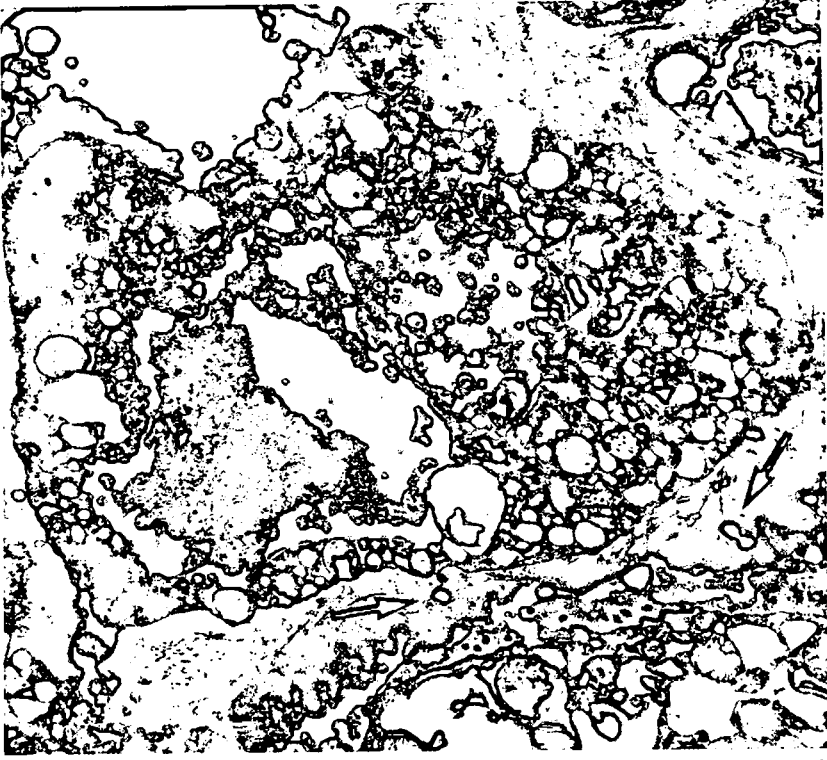


Şekil 11. Bir koyun çiçeği hücresinde viroplazmik matrix içinde değişik olgunlaşma devresindeki viral formlar (ok) x 9,000

Viroplasmic matrix in a sheeppox cell showing several viral forms in various phases of development (arrow)

Bronşiol epitellerinde hiperplazi şekillenmişti. Ayrıca, epitellerde çeşitli dejeneratif değişikliklerin sitoplazmik formlarına rastlandı. Bunlar arasında özellikle mitokondrionların şişkinliği ve yapılarının bozulması ile sitoplazmada geniş vakuollerin oluşması ön plandaydı. Bronşiol epitellerinde de koyun çiçeği hücrelerindeki kadar yoğun olmamakla birlikte viral replikasyon bölgelerine rastlandı (Şekil 19).

İnteralveolar septal dokularda koyun çiçeği hücreleri dışında, lenfoid ve plasma hücre infiltrasyonları, ödem ve kollagen fibrillerde yer yer artış gözlemlendi.



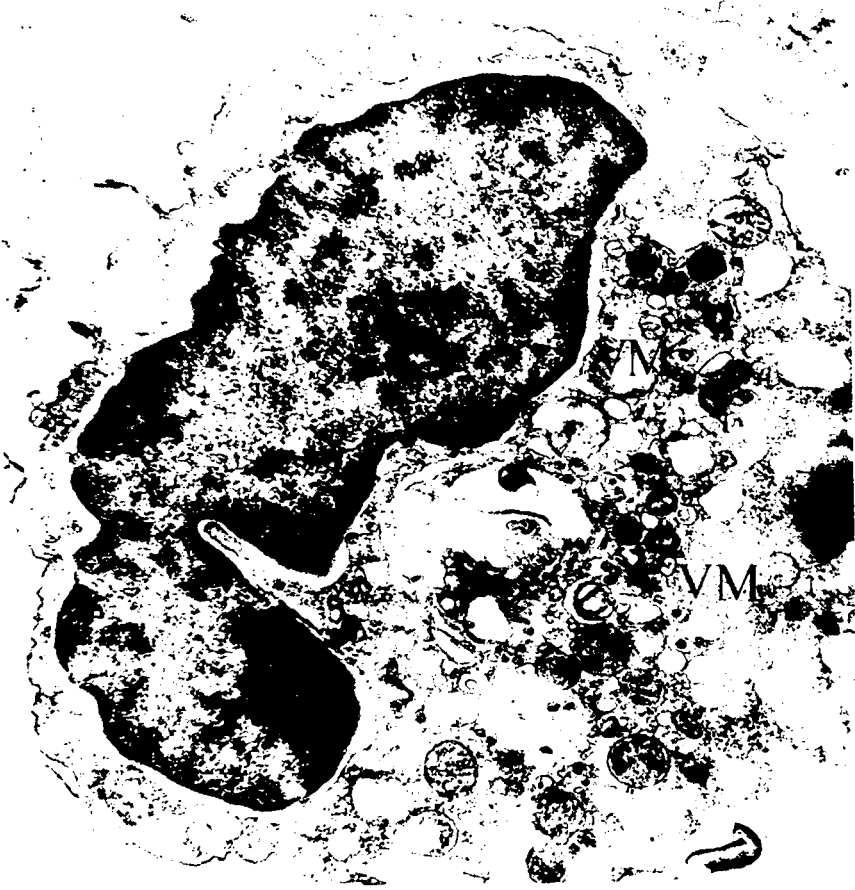
Şekil 12. Bir koyun çiçeği hücresinde viral replikasyon bölgesi (VR). Ekstrasellüler olarak birkaç virus partikülü de görülmekte (oklar) x 8,885

A viral replication focus in a sheeppox cell (VR). A few mature virus particles are seen in the extracellular tissue (arrows)

### Tartışma

Koyun çiçeğinin akciğer lezyonları üzerinde az sayıda yapılan çalışmalarda ışık mikroskopik bulgular tanımlanmıştır (4, 20). Sunulan bu çalışmayla koyun çiçeğinin pulmoner lezyonları ultrastruktürel olarak ilk kez incelenmiş olmaktadır.

Alveol duvarlarının yaygın epitelializasyonuna bütün olgularda rastlandı. Elektron mikroskopik incelemede prolifer hücrelerin tip II pnömonositler olduğu görüldü. Bu hücrelerin hiperplazisi alveollerin zedelenmeye karşı gösterdiği nonspesifik bir reaksiyon olarak kabul edilmektedir (1, 14). Bununla birlikte, incelenen olgu-

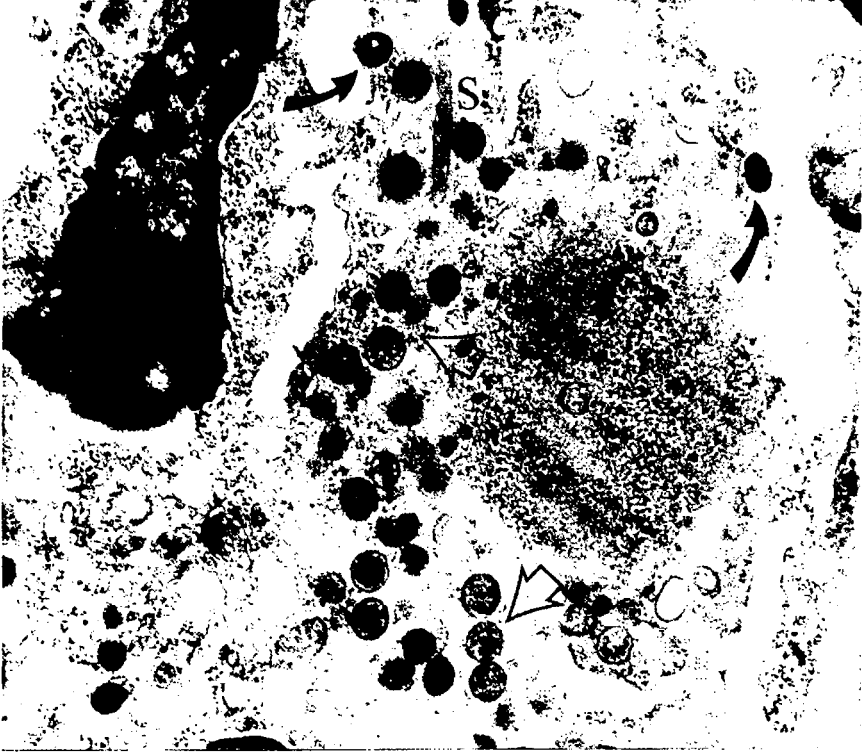


Şekil 13. Bir monositte viral morfogenezis bölgeleri (VM) x 17, 630  
Viral morphogenesis foci (VM) in a monocyte



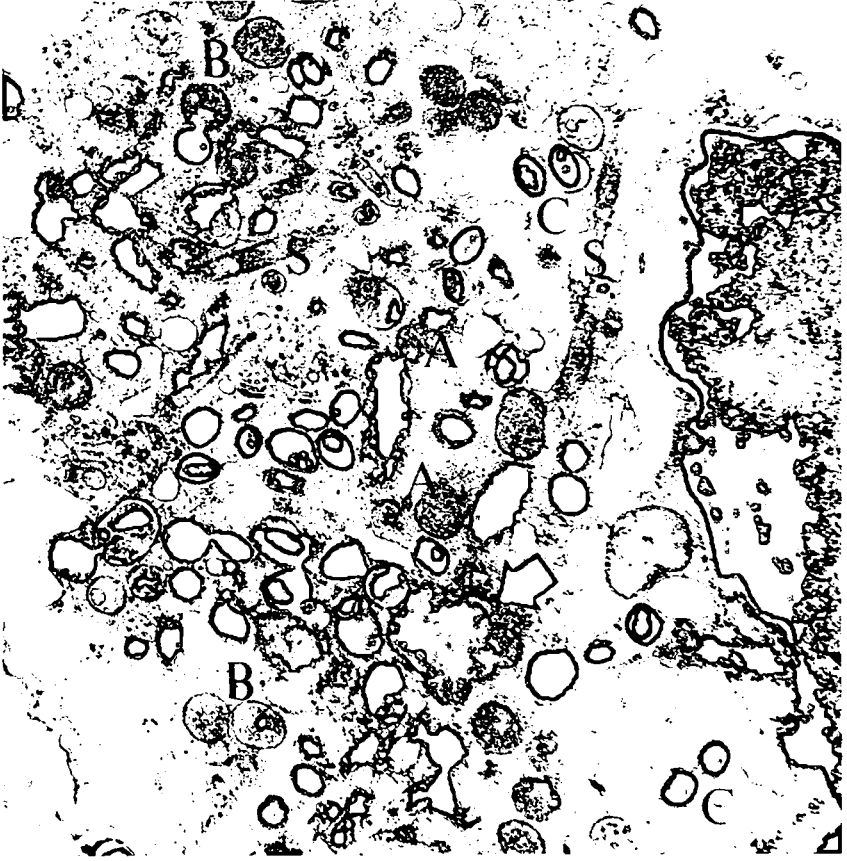


Şekil 14. Bir makrofajda değişik gelişim devrelerindeki viral formlar.  
Viral partiküller içermeyen elektron-dense, granular bir bölge de görülmekte  
(ok) x 22, 230  
Dense granular material (arrow) surrounded by different viral forms in a macrophage



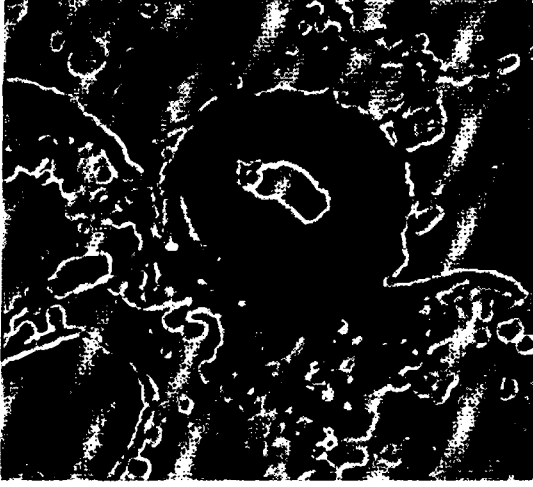
Şekil 15. Bir makrofajda viral replikasyon bölgesi. Viral formlar içermeyen elektron-dense, granular bir yapı (G) ile birlikte çeşitli formlarda membranla çevrili olgunlaşmamış viral partiküller (kısa oklar), bir silindirik yapı (S) ve birkaç olgun virus partikülü (uzun oklar) görülmekte x 19, 860

Dense granular material (G) surrounded by clusters of immature (short arrows) and mature (long arrows) viral particles and a cylinder (S)



Şekil 16. Bir makrofajda viral replikasyon bölgesi. Yarım daire şeklinde viral formlar (A), yuvarlak, membranlı viral formlar (B), olgun viral partiküller (C), silindirler (S) ve birçok yarım daire şeklindeki viral formların birleşmesiyle oluşan strüktürler (ok) x 20,780

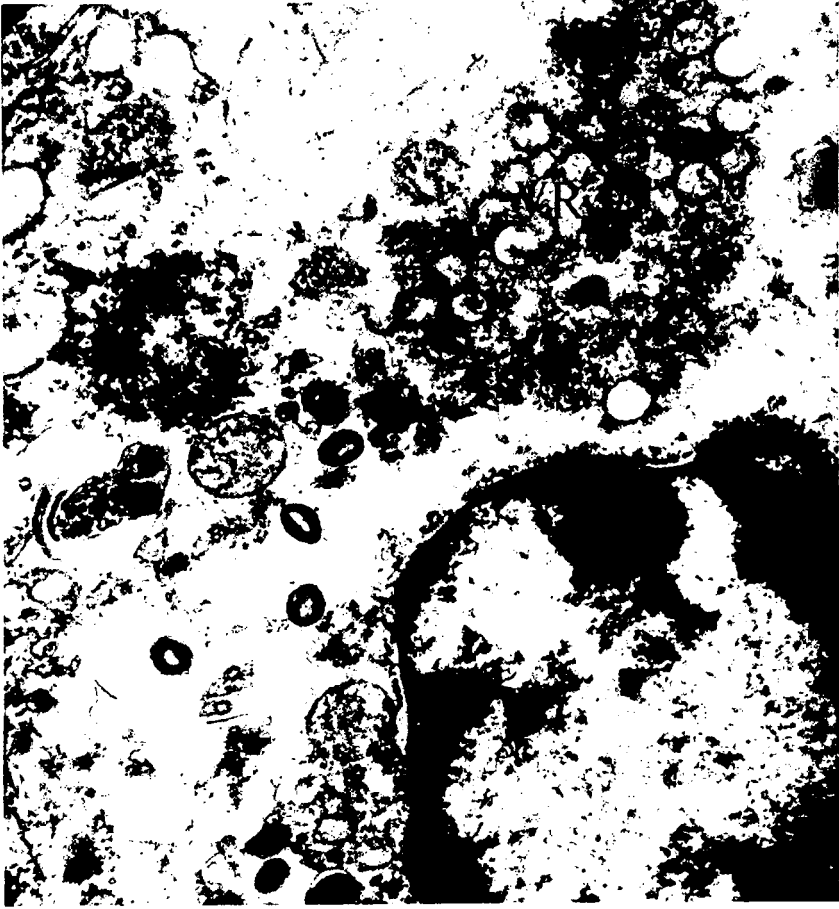
Various phases of viral development in a macrophage. Semi-circular viral forms (A), spheric, membranous viral forms (B), mature viral particles (C), cylinders (S) and another viral form composed of numerous semi-circular structures (arrow)



Şekil 17. Bir virus partikülünün hücreye girişi x 92,000  
A viral particle attached to the cell membrane is seen



Şekil 18. Tip II pnömonosit sitoplazmasında olgun virus partikülleri (oklar) x 30, 225  
Mature viral particles in a type II pneumocyte (arrows)



Şekil 19. Bir bronşiol epitelinde viroplazmik matrix ile olgunlaşmamış ve olgun viral partikülleri içeren viral replikasyon bölgesi (VR) x 19,000

A bronchiolar cell cytoplasm contains viroplasmic matrix, immature and mature viral particles (VR)

larda alveoler epitelializasyonun şiddeti, bu değişikliğin hastalığın pulmoner formu için karakteristik bir bulgu olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Tip II pnömonosit hiperplazisiyle direkt ilişkili olduğu düşünülen bir diğer bulgu da alveol lumenlerinde görülen materyaldi. İçinde yer yer nekrotik hücre artıkları da içeren bu materyal eozinofilik ve PAS-pozitif idi. Elektron mikroskopik olarak, bu materyalde tip A ve tip C multilamellar strüktürler yanında surfactanta da rastlandı. Benzeri multilamellar strüktürler insanlarda etiyojisi bilinmeyen pulmoner alveoler proteinosis'te görülmektedir (21, 25). Tip II pnömonosit proliferasyonunun da şekillendiği bu hastalıkta materyalin lipid, protein ve karbonhidratlardan oluştuğu saptanmıştır (25).

Koyun çiçeği hücreleri hastalığın patognomonik bulgularından biridir. Bu hücrelerin çekirdekleri vakuollü olup marjinal hiperkromazi gösterirler, sitoplazmaları bazofiliktir ve tek veya multiple eozinofilik inklüzyon cisimcikleri kapsayabilir (14, 18). Murray ve ark. (17), deneysel koyun çiçeği üzerinde yaptıkları ultrastrüktürel bir çalışmada koyun çiçeği hücrelerinin virus ile enfekte monosit, makrofaj ve fibroblastlar olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada da, akciğerlerdeki lezyonlarda interalveoler septal dokularda yaygın şekilde koyun çiçeği hücrelerine rastlandı. Elektron mikroskopik incelemede, bu hücrelerin çoğunun makrofajlar olduğu saptandı. Ender olarak, koyun çiçeği hücresi karakterinde monosit ve fibroblastlara da rastlandı. Bu hücrelerin çoğunda kromatinin ve nükleolusun çekirdek membranı boyunca periferik yerleşimi, çekirdeğin merkezi kısmının elektron-lucent görünüşü ve çok ince granüler ve filamentöz yapısı ile karakterize durum, bu hücrelerdeki viral replikasyona bağlı sekonder bir değişiklik olarak düşünülebilir. Benzeri değişiklikler diğer birçok çiçek enfeksiyonlarında farklı hücrelerde gözlenmiştir. Domuz çiçeği üzerinde yapılan araştırmalarda Cheville (5) epidermal hücrelerde, Conroy ve Meyer (9) epidermal hücrelerde ve domuz böbrek hücre kültürlerinde ve Smid ve ark. (23) da epidermal hücrelerde çekirdeklerde kromatinin marjinal lokalizasyonunu ve vakuoler kısmın ince fibriller bir ağdan oluştuğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Arhelger ve Randal (2) kanatlı çiçeğinde chorioallantoic membran hücrelerinde, Casey ve ark. (3) maymunlarda Tana pox virus enfeksiyonunda epidermal hücrelerde, Cheville (7) sığır çiçeğinde virusla enfekte hücrelerde ve Crandel ve ark. (10) primer vervet böbrek ve primer rhesus maymun böbrek hücre kültürlerinde çekirdeklerde benzeri değişiklikleri görmüşlerdir.

Koyun çiçeğinde viral replikasyona değişik hücre tiplerinde rastlanmaktadır. Deri lezyonlarında özellikle epidermal hücreler ve dermiste makrofaj, monosit ve fibroblastlarda virus gelişiminin çeşitli devreleri saptanmıştır (17). Diğer çiçek enfeksiyonlarında da epidermal hücrelerde (6, 11, 12, 15, 19, 24), chorioallantoic membrandaki ektodermal hücrelerde (2, 6), çeşitli doku kültürü hücrelerinde (9-11, 13), tümör hücrelerinde (26) ve vaccinia ile farelerde oluşturulan deneysel pnömoni olgularında akciğerlerde tip I ve tip II pnömonositlerde, kapiller endotelinde ve alveol duvarlarındaki interstitiel hücrelerde (16) viral replikasyona rastlanmıştır. Sunulan bu çalışmada koyun çiçeği virusunun replikasyonuna büyük oranda makrofajların sitoplazmalarında rastlandı. Her ne kadar, benzeri viral gelişimlere monosit, fibroblast, tip II pnömonosit ve bronşiol epitellerinde de rastlandıysa da bu hücrelerde virus replikasyonu daha zayıf olarak görüldü. Tip II pnömonositlerde daha çok olgun viral partiküller gözlemlendi. Benzeri morfolojik özelliklere sahip viral replikasyon bölgeleri diğer çiçek enfeksiyonlarında da tanımlanmıştır. Bunlar arasında sığır çiçeği (13), vaccinia (16), ecthyma contagiosum (15), kanatlı çiçeği (2,6), tavşanlarda myxomatosis (19), domuz çiçeği (5, 9, 23), molluscum contagiosum (12, 24) ve maymunlarda görülen Yaba (11, 26) ve Tana (3, 10) çiçek enfeksiyonları sayılabilir. Hücre sitoplazmalarında viroplazmik matrix ile yarım daire ve yuvarlak veya oval çift membranlı struktürlere oluşan olgunlaşmamış viral partiküller viral replikasyonun başlangıç bölgelerini oluşturmaktadır. Viral replikasyon bölgelerinde görülen birbirlerine yakın ve paralel uzanan silindirik yapılar, koyun çiçeği üzerinde yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda (8, 17) tanımlanmamıştır. Yalnızca, Yaba maymun tümör çiçek virus enfeksiyonlarında (11, 26) benzeri silindirler görülmüştür. de Harven ve Yohn (11), bunların topoğrafik lokalizasyonları ve olgunlaşmamış virusları çevreleyen subünitelerle silindirik subünitelerin benzerlikleri nedeniyle viruslarla ilişkili olabileceğini veya bu silindirlerin virusların hatalı formlarını yansıttığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada da, silindirlerin viral replikasyon bölgelerinde görülmesi, bazı silindirik yapılarda içeriğin fokal elektron-dense görünümü ve bu kısımların yüzeysel membranlarındaki yoğunlaşmalar bunların viruslarla-ilişkili yapılar olarak ele alınmasına yol açmıştır. Olgun virus partikülleri dikdörtgen veya ovoid şekillerde olup, çoğunlukla viroplazmik matrix çevresindeki sitoplazmada serbest veya veziküller içinde yer almaktaydı. Bazılarının golgi vezikül membranlarına yakınlığı dikkati çekti. Olgun virus



partiküllerinin hücre dışına çıkışında birinci devrede virus yüzeyi ile golgi vezikülü arasındaki etkileşim sonucu içinde virusun yer aldığı çift membranlı sisternalar oluşmakta, bunu virus ve sisternanın yüzeye doğru göçü izlemekte, üçüncü devrede sisternanın dış duvarı ile plazma membranı kaynaşmakta, sonra da rezidüel iç membrandaki ruptur olgun virus partikülünün hücre dışına çıkışını sağlamaktadır (13). Virus partiküllerinin yeni bir hücreye girişi de hücre membranındaki invaginasyon ve fagositozis yolu ile olmaktadır (2, 8). Sunulan bu çalışmada da, ekstrasellüler olgun virus partiküllerine yaygın şekilde rastlanmıştır. Ayrıca, birçok virus partikülünün hücrelere adsorpsiyon ve penetrasyonları da belirgin şekilde dikkati çekmiştir.

Işık mikroskopunda makrofajlarda ve bronşiol epitellerinde görülen intrasitoplazmik eozinofilik inklüzyon cisimciklerinin, viroplazmik matrix ile olgunlaşmış ve olgunlaşmamış viral partiküllerin yer aldığı koyun çiçeği virus replikasyon bölgeleri olduğu görülmüştür.

#### Kaynaklar

1. Alley, M.R. and Manktelow, B.W. (1971). *Alveolar epithelialisation in ovine pneumonia*. J. Path., 103: 219-224.
2. Arhelger, R.B. and Randall, C.C. (1964). *Electron microscopic observations on the development of fowlpox virus in chorioallantoic membrane*. Virology, 22: 59-66.
3. Casey, H.W., Woodruff, J.M. and Butcher, W.I. (1967). *Electron microscopy of a benign epidermal pox disease of rhesus monkeys*. Amer. J. Path., 51: 431-446.
4. Chen, H.T. (1983). *Pathology of the pulmonary lesions of sheep pox*. Chinese J. Vet. Med., 9: 15-16. Alınmıştır "Vet. Bull., 54: 7107, 1984".
5. Cheville, N.F. (1966). *The cytopathology of swine pox in the skin of swine*. Amer. J. Path., 49: 339-352.
6. Cheville, N.F. (1966). *Cytopathologic changes in fowlpox (turkey origin) inclusion body formation*. Amer. J. Path., 49: 723-737.
7. Cheville, N.F. (1975). *Cytopathology in Viral Diseases*. In "Monographs in Virology" v. 10, Karger, Basel, New York pp. 1-22.
8. Cohen, J., Bererhi, A., Ribero, M., Vincent, J. et DeLagneau, J.-F. (1971). *Etude en microscopie électronique de la morphogénese du virus de la clavelée (varirole ovine) en culture de tissus*. Anns. Inst. Pasteur, Paris, 121: 569-577.
9. Conroy, J.D. and Meyer, R.C. (1971). *Electron microscopy of swinepox virus in germfree pigs in cell culture*. Amer. J. Vet. Res., 32: 2021-2032.

10. Crandell, R.A., Casey, H.W. and Brumlow, W.B. (1969). *Studies of a newly recognized poxvirus of monkeys*. J. Infect. Dis., 119: 80-88.
11. De Harven, E. and Yohn, D.S. (1966). *The fine structure of the Yaba monkey tumor poxvirus*. Cancer Res., 26: 995-1008.
12. Epstein, W.L. and Fukuyama, K. (1973). *Maturation of molluscum contagiosum virus (MCV) in vivo: quantitative electron microscopic autoradiography*. J. Invest. Derm., 60:73-80.
13. Ichihashi, Y., Matsumoto, S. and Dales, S. (1971). *Biogenesis of poxviruses: Role of A-type inclusions and host cell membranes in virus dissemination*. Virology, 46: 507-532.
14. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N. (1985). *Pathology of Domestic Animals*. Third ed., vol. 2, Academic Press, Inc., Orlando, Florida. pp. 466-468.
15. Kluge, J.P., Chevillat, N.F. and Perry, T.M. (1972). *Ultrastructural studies of contagious ecthyma in sheep*. Amer. J. Vet. Res., 33:1191-1200.
16. Montasir, M., Rabin, E.R. and Phillips, C.A. (1966). *Vaccinia pneumonia in mice. A Light and electron microscopic and viral assay study*. Amer. J. Path., 48: 877-895.
17. Murray, M., Martin, W.B. and Köylü, A. (1973). *Experimental sheeppox. A histological and ultrastructural study*. Res. Vet.Sci., 15:201-208.
18. Plowright, W., MacLeod, W.G. and Ferris, R.D. (1959). *The pathogenesis of sheep pox in the skin of sheep*. J. Comp. Path. 69:400-413.
19. Purcell, D.A. and Clarke, J.K. (1972). *Some aspects of the morphogenesis of myxoma virus in vivo*. Arch. ges. Virusforsch., 39: 369-375.
20. Ramchandran, S. (1967). *Observations on the histopathology of lung lesions in experimental pox infection of sheep and goats*. Ceylon Vet. J., 15: 78-82. Alınmıştır "Vet. Bull., 38: 3579, 1968".
21. Shelburne, J.D., Wisseman, C.L., Broda, K.R., Roggli, V.L. and Ingram, P. (1983). *Lung-non-neoplastic conditions*. In: Diagnostic Electron Microscopy. B.F. Trump and R.T. Jones, eds. John Wiley and Sons, New York, vol. 4, pp. 494-527.
22. Singh, I.P., Pandey, R. and Srivastava, R.N. (1979). *Sheeppox: a review*. Vet. Bull., 49: 145-154.
23. Smid, B., Valicek, L. and Mensik, J. (1973). *Replication of swinepox virus in the skin of naturally infected pigs: electron microscopic study*. Zbl. Vet. Med., B, 20: 603-612.
24. Sutton, J.S. and Burnett, J.W. (1969). *Ultrastructural changes in dermal and epidermal cells of skin infected with molluscum contagiosum virus*. J. Ultrastruct. Res., 26: 177-196.
25. Takemura, T., Fukuda, Y., Harrison, M. and Ferrans, V.J. (1987). *Ultrastructural, histochemical, and freeze-fracture evaluation of multilamellated structures in human pulmonary alveolar proteinosis*. Amer. J. Anat., 179: 258-268.
26. Tsuruhara, T. (1971). *Immature particle formation of Yaba poxvirus studied by electron microscopy*. J. Natl. Cancer Inst., 47: 549-554.