

KOYUNLARIN PULMONER ADENOMATOZİSİNİN ULTRASTRÜKTÜRÜ

Ümit H. Milli¹

Günay Alçıgır²

Nalan Karademir³

Ultrastructure of sheep pulmonary adenomatosis

Summary: *Electron microscopic studies were carried out on early lesions from 7 naturally occurring cases of sheep pulmonary adenomatosis.*

Tumor cells were mostly derived from type II pneumonocytes. These cells had microvilli, well-developed junctional complexes, multilamellar bodies, multivesicular bodies and filaments. Nonciliated bronchiolar (Clara) cells characterized by electron-dense cytoplasmic granules and microvilli were prominent in the bronchiolar neoplastic foci. Some tumor cells had both secretory granules and multilamellar bodies. In two cases, virus particles, 55-95 nm in diameter, were found in type II pneumonocytes, Clara cells and macrophages.

Özet: *Pulmoner adenomatozisin erken lezyonları 7 koyun akciğerinde elektron mikroskopik olarak incelendi.*

Tümörü büyük oranda tip II pnömonositler oluşturmuştu. İntrabronşial tümöral odaklardaki hücreler ise siliumsuz bronşioleler (Clara) hücrelerdi. Mikrovillular, multilamellar cisimcikler, filamentler ve multiveziküler cisimcikler tümör hücrelerinin karakteristik ultrastrüktürel özelliklerindendi. Hücreler arasında iyi gelişmiş bağlayıcı kompleksler şekillenmişti. İki olguda, tip II pnömonosit, Clara hücresi ve makrofajlarda 55 - 95 nm çapında virus partiküllerine rastlandı.

Giriş

Koyunların pulmoner adenomatozisi (jaagsiekte) Retroviridae familyasına ait bir virus tarafından oluşturulan bronchioloalveoler bir tümördür (4, 8, 13). Lezyonlar adenom veya adenokarsinom yapısında olup, zaman zaman bölgesel lenf düğümlerine ve daha ender olarak da ekstratorasik lenf düğümleri ve parankim organlarına metastazları görülmektedir. Bu nedenle, tümör ovine pulmoner karsinoma

1 Prof. Dr., A Ü Veteriner Fak., Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

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

3 Arş. Gvl. Dr., A Ü Veteriner Fak., Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

olarak da isimlendirilmektedir (3, 10). Pulmoner adenomatozis karakteristیک histolojik lezyonu kübik veya kolumnar hücrelerden oluşan, multiple, papiller proliferasyon odakları şeklindedir (1,2, 4, 10). Tümöral odaklar çevresindeki alveol lumenlerinde yoğun makrofaq toplulukları görülür. Elektron mikroskopik çalışmalar tümör hücrelerinin büyük oranda tip II pnömonsit (2, 3, 7, 9) ve az olarak da Clara hücrelerinden (6, 10) köken aldığını göstermiştir.

Bu çalışmayla, yurdumuzda yaygın olarak görülen koyunların pulmoner adenomatozisinin erken lezyonları elektron mikroskopik olarak incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Araştırma materyalini, Ankara Et ve Balık Kurumu Kombine-sında kesilen 7 koyuna ait akciğerlerdeki tümör odakları oluşturdu. Bu odaklar, pulmoner adenomatozis için yeni şekillenmekte olan ve büyüklükleri 1-2 cm'yi aşmayan erken lezyonlardı.

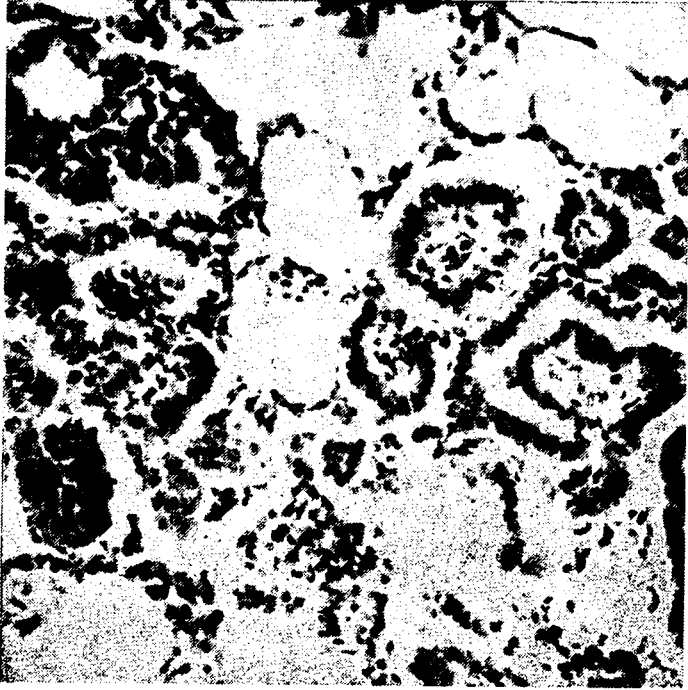
Işık mikroskopik inceleme için akciğerlerdeki tümörlü doku örnekleri % 10 tamponlu formolde tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklar 5-6 mikron kalınlığında kesilerek hematoxylin-cosin ile boyandı.

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

Bulgular

Pulmoner adenomatozis için incelenen lezyonların kaudal lobların dorsalinde subpleural, 1-2 cm büyüklüğünde, koyu-kırmızı ve hafif sert nodüller oluşturdu.

Mikroskopik olarak, multifokal dağılımlı tümör odaklarını asinus oluşturacak şekilde dizilmiş kübik veya silindirik hücreler şekillendirmişti (Şekil 1). Asinularda tümör hücrelerinin yer yer lumene



Şekil 1. Kübik epitel hücrelerinden oluşan pulmoner neoplastik odaklar. HE x 200
Pulmonary neoplastic foci composed of cuboidal epithelial cells

papiller uzantıları görüldü. Papiller neoplastik üremelere bronşiolerde de rastlandı (Şekil 2). Tümör hücreleri çoğunlukla vakuoler görünümlü bir sitoplazmaya sahipti. Çekirdekler büyük ve veziküler olup nükleoluslar belirgindi. Tümör odaklarının çevresindeki alveoller yoğun şekilde makrofaj topluluklarıyla oblitere olmuşlardı. Makrofajların arasında dikkati çekecek derecede multinükleer dev hücreleri vardı. Tüm olgularda bronş, bronşiol ve damarlar çevresinde lenfoid hücre infiltrasyonları görüldü. Tümörün bu erken lezyonlarında fibroplazi minimal düzeydeydi ve 4 olguda oldukça hafif olarak şekillenmişti.

Elektron mikroskopik olarak, tümör hücreleri büyük çoğunlukla tip II pnömonosit karakterindeydi. Bu hücreler ya ince bir bazal membran üzerine oturmuş kısa sıralı veya asiner yapı oluşturan kübikten -silindiriğe değişen formlarda (Şekil 3) ya da alveol lumenlerinde kümeler şeklinde görüldüler (Şekil 4). Tümör hücrelerinin alveol



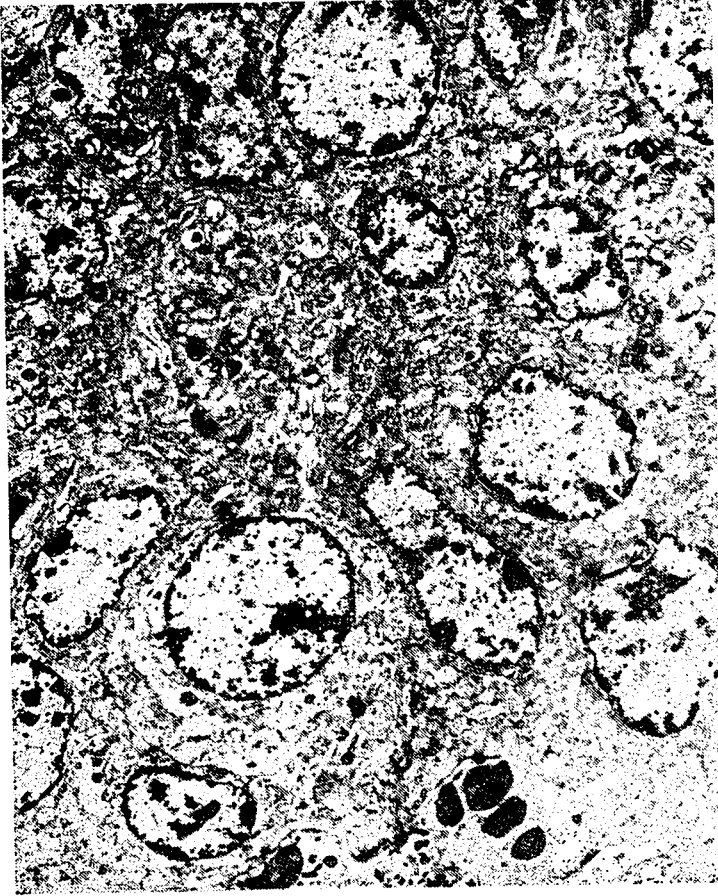
Şekil 2. Bir bronşiolde silindirik hücrelerden oluşan papiller neoplastik üremeler. HE x 200
Columnar neoplastic epithelial cells with bronchiolar ingrowths

lümenine bakan yüzeylerinde mikrovilluslar vardı (Şekil 5). Mikrovillusların sayısı değişkendi. Bazı hücrelerde çok az sayıda veya hiç yoktu. Hücreler arasında iyi gelişmiş bağlayıcı kompleksler şekillenmişti. Bazı olgularda, hücrelerin bazal kısımlarında lateral uzantılar görüldü (Şekil 6). Asinus boşluklarını çevreleyen hücrelerde daha fazla sayıda olmak üzere tümör hücrelerinin sitoplazmalarının apikal kısımlarında tip II pnömonositlerin karakteristik özelliği olan ozmiofilik multilamellar cisimciklere rastlandı (Şekil 7). Bu cisimciklerin büyüklükleri 0.7-1.5 mikron arasında değişmekteydi. İç yapılarında konsantrik veya paralel lamellasyon gösteren multilamellar cisimciklerin bazıları boşalmış durumdaydı. Mitokondriyumlar şişkindi ve kristalleri dejenere olmuştu. Mikroveziküler cisimcikler ve filamentler çoğu hücrelerde görüldüler (Şekil 8). Hücreler çok sayıda serbest ribozom ve polizomlar kapsamaktaydı. Hücre çekirdekleri yuvarlak veya oval olup silindirik hücrelerde bazalde lokalize olmuşlardı. Bazı hücrelerde çekirdek membranları belirgin invaginasyonlar göstermekteydi. Nükleoluslar çoğunlukla çekirdek membranına yakın yerleşmişlerdi. Nükleolusların bir kısmında retiküler nükleolonema yapısı görüldü. Tümör hücrelerinin bir kısmında sitoplazmada yer yer

geniş bir alan kapsayan glikojen granüllerine rastlandı. Bazı hücrelerde tüm sitoplazma glikojen ile dolu olup, çekirdek ve organeller hücre periferine yerleşmişti (Şekil 9). Özellikle intrabronşial tümöral odaklardaki hücrelerin Clara hücresi olarak tanımlanan siliumsuz bronşioleler epitellerden köken aldığı görüldü. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında elektron-dense sekretorik granüller ve serbest yüzeylerinde mikrovilluslar bulunmaktaydı. Bazı tümör hücrelerinin hem tip II pnömonositlerin multilamellar cisimciklerini hem de Clara hücrelerinin sitoplazmik granüllerini kapsadığı dikkati çekti (Şekil 10).



Şekil 3. Kübikten-silindiriğe kadar değişen neoplastik epitelial hücreler. Hücrelerin çoğunda multilamellar cisimcikler (oklar) görülmekte. AL., asinus lumeni. x 3950
Cuboidal to columnar neoplastic epithelial cells. The epithelial cells contain multilamellar bodies (arrows) at their apical cytoplasm. AL. acinar lumen



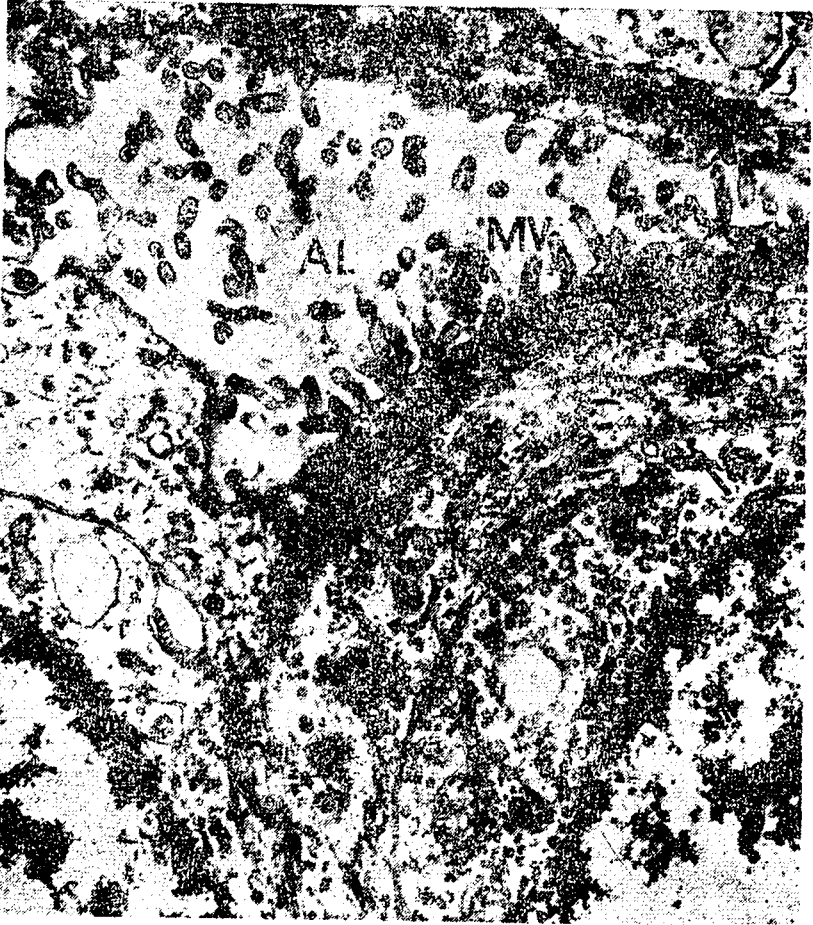
Şekil 4. Alveol lumenini dolduran bir neoplastik odak. x 3600
A neoplastic focus filling the alveolar lumen

Olgulardan yalnızca ikisinde viral partiküllere rastlandı. İntrasitoplazmik viral partiküller bir olguda tip II pnömonosit ve makrofajlarda tek olarak veya 4-5 partikülün oluşturduğu kümeler şeklinde görülürken (Şekil 11 ve 12), diğer olguda Clara hücrelerinde yer almaktaydı (Şekil 13). Yuvarlak ve elektron-dense olan viral partiküller 55-95 nm çapındaydılar.

Alveol lumenlerinde çok sayıda makrofaja rastlandı. Sitoplazmalarında bol miktarda fagozom bulunan makrofajlarda hücre yüzeyleri uzun mikrovilluslara sahipti (Şekil 14).

Tartışma

Bu çalışmada koyunların pulmoner adenomatozisinin erken lezyonları incelendi. Histopatolojik bulgular daha önce tanımlanan bulgularla benzerlik içindeydi (1, 2,10,11). Erken lezyonlarda, neoplastik üremeler multifokal şekilde dağılmıştı. Alvcoller proliferasyon odakları yanında, bronşiyoler papiller üremelere de rastlandı. İlerlemiş lezyonların bir komponenti olan fibroplaziye (2,3,4,9) yalnızca 4 olguda ve hafif şekilde rastlandı. Neoplastik üremeler yanında,



Şekil 5. Bir asinus lumenini (AL) çevreleyen neoplastik epitelyal hücreler. Tümör hücrelerinin yüzeylerinde mikrovilluslar (MV) ve bağlayıcı kompleksler (oklar). x 19000
Neoplastic epithelial cells lining an acinar lumen (AL). Note the microvilli (MV) on the surface of the cells and junctional complexes (arrows)



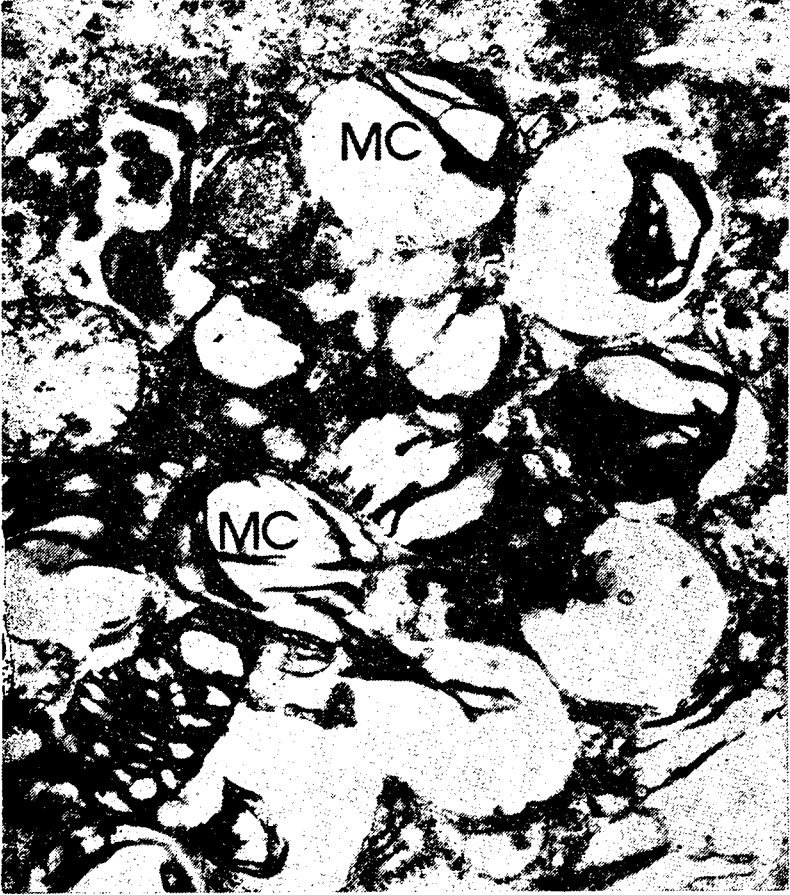
Şekil 6. Tümör hücre membranları arasındaki lateral uzantılar (oklar). x 21000
Interdigitations of adjacent tumor cell membranes (arrows)

tüm olgularda bronş, bronşiol ve damarlar çevresinde lenfoid hücre infiltrasyonu dikkati çekti.

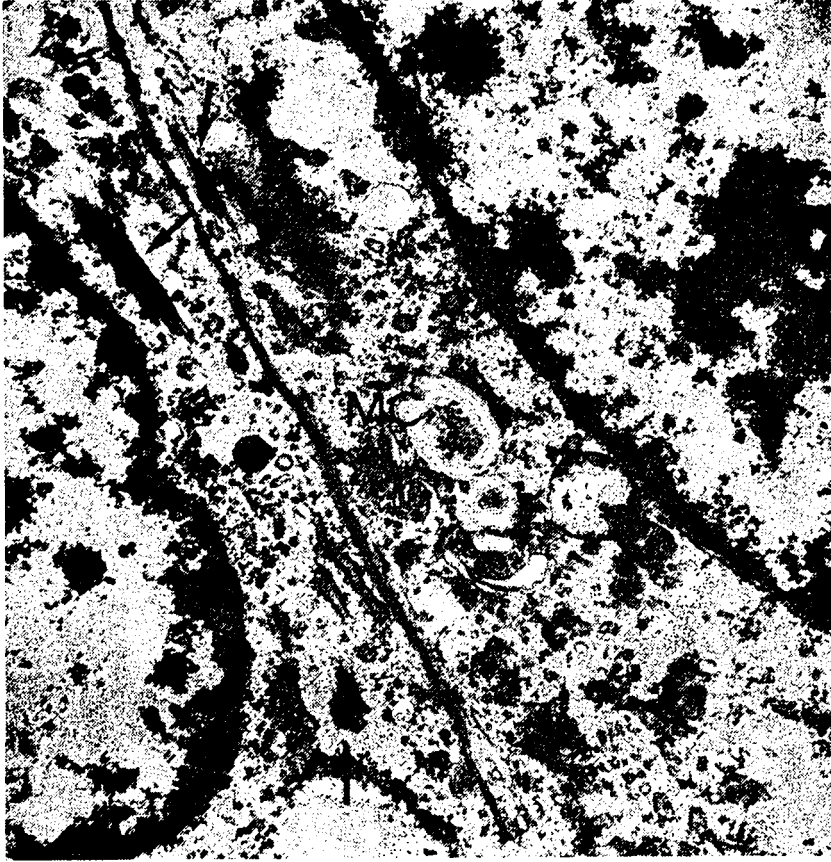
Elektron mikroskopik incelemede, tümör hücrelerinin büyük bir bölümünü tip II pnömonsitlerin oluşturduğu görüldü. Bu hücrelerin ultrastrüktürel karakteristikleri arasında serbest yüzeylerinde mikrovilluslar, apikal sitoplazmalarında multilamellar cisimcikler ve hücreler arasında oldukça iyi gelişmiş bağlayıcı kompleksler belirginlik göstermekteydi. Tip II pnömonsitlerdeki multilamellar cisimciklerin köken aldığı strüktürler olarak tanımlanan multiveziküler cisimciklere yaygın şekilde rastlandı. Perk ve ark.(9), multiveziküler cisimcik-

leri multilamellar cisimciklere yakın şekilde görmüşler, Tustin ve ark. (12) da, keçilerde deneysel olarak oluşturdukları pulmoner adenomatoziste tümör hücrelerinin çoğunda multiveziküler cisimciklerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Tümör hücrelerinde filamentlerin varlığı bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (7, 9). Sunulan bu çalışmada da filamentlerin görülmesi bazı neoplastik hücrelerin minimal düzeyde de olsa epidermoid özellik taşıdığını göstermektedir.

Pulmoner adenomatoziste tümör hücrelerinin büyük oranda tip II pnömonositlerden oluştuğu bilinmektedir (2, 3, 7, 9, 12). Nisbet ve ark. (6), bronşiler proliferasyonların Clara hücrelerinden kö-



Şekil 7. Neoplastik tip II pnömonositteki multilamellar cisimcikler (MC). x 19950
Multilamellar bodies (MC) in a neoplastic type II pneumocyte

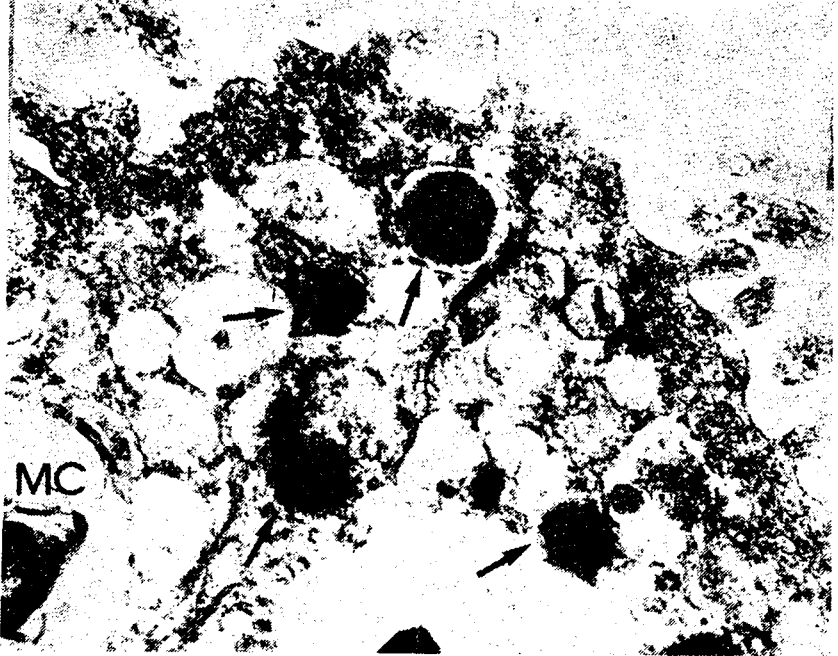


Şekil 8. İki tümör hücresinde multiveziküler cisimcik (MC) ve filamentler (oklar). x 19000
A multivesicular body (MC) and filaments (arrows)

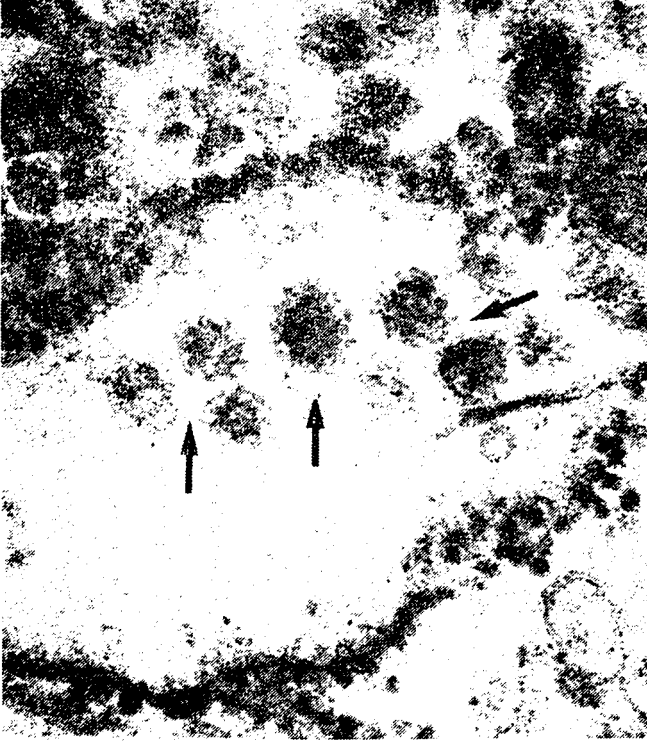
ken aldığı ileri sürmüşlerdir. Rosadio ve ark. (10) da, bir olguda tümörün tümüyle Clara hücrelerinden oluştuğunu bildirmişlerdir. İncelenen olgularda tümör hücreleri büyük çoğunlukla tip II pnömonositlerdi. Bazı olgularda bronşiyoler proliferatif odaklardaki hücrelerin Clara hücresi olarak tanımlanan siliumsuz bronşiyoler epiteller oldukları görüldü. Bu hücrelerde apikal sitoplazmada elektron-dense granüller ve serbest yüzeylerinde de mikrovilluslar yer almaktaydı. Gözlenen ilginç bir bulgu da, bazı tümör hücrelerinin hem tip II pnömonositlerin multilamellar cisimciklerini hem de Clara hücrelerinin sitoplazmik granüllerini kapsamasıydı.



Şekil 9. Tümör hücrelerinde sitoplazmik glikojen birikimi (G). x 4150
Severe distention of the cytoplasm with glycogen (G) in tumor cells

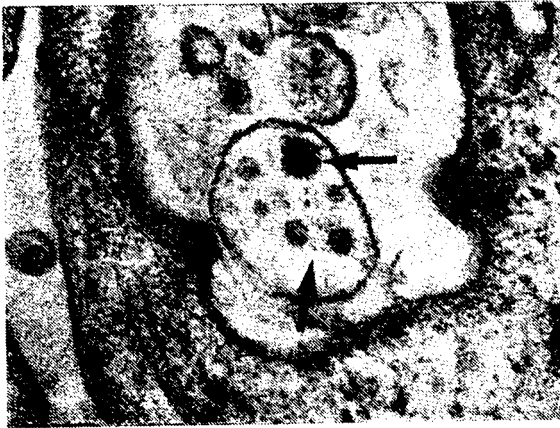


Şekil 10. Bir tümör hücresinde sekretorik granüller (oklar) ve multilamellar cisimcik (MC). x 58800
Secretory granules(arrows) and multilamellar body (MC) in a tumor cell

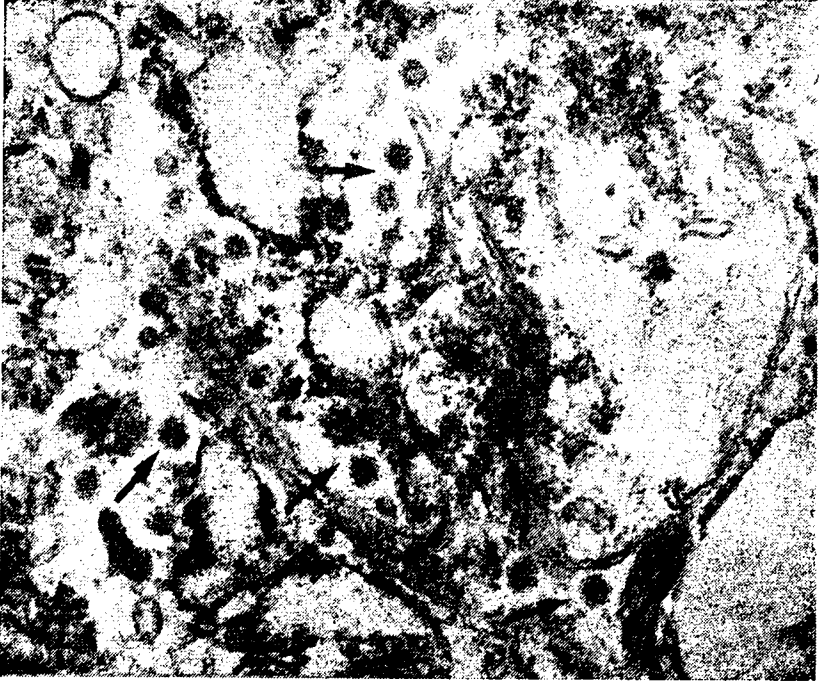


Şekil 11. Bir tip II pnömonositteki endoplazmik retikulum sisternası içinde virus partikülleri (oklar). x 140 000

Clusters of virus particles (arrows) in cisterna of endoplasmic reticulum in a type II pneumonocyte

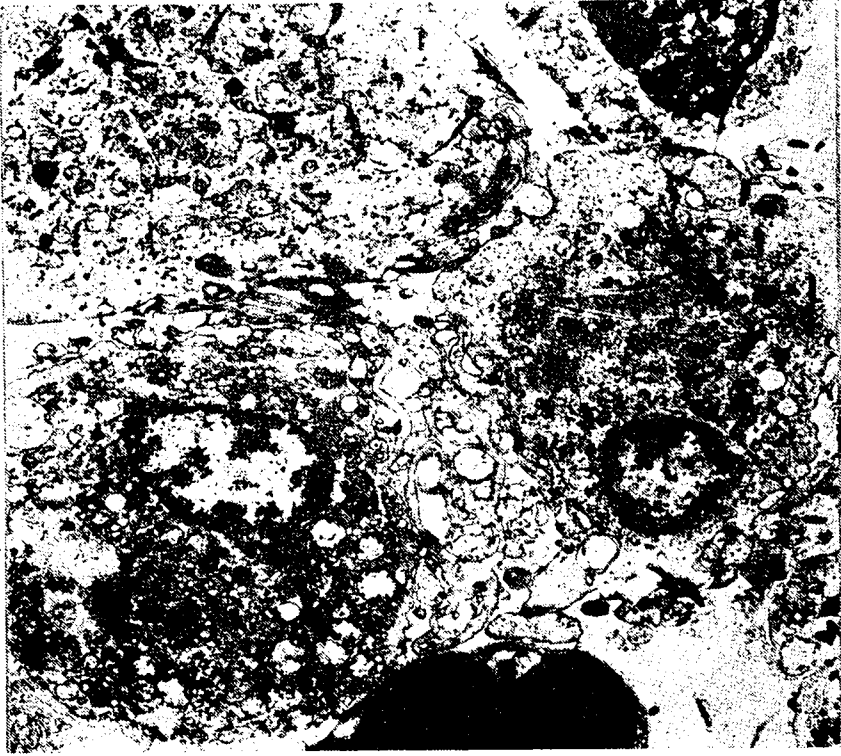


Şekil 12. Bir makrofajda virus partikülleri (oklar). x 56000
Virus particles (arrows) in a macrophage



Şekil 13. Bir Clara hücresinde sitoplazmik virus partikülleri (oklar). x 56000
Cytoplasmic virus particles (arrows) in a Clara cell

Pulmoner adenomatozisin etkeni bir retrovirus'tur(13). Ultrastrüktürel çalışmalardan bazılarında viral partiküllere rastlanmamıştır (2, 6, 10, 12). Perk ve ark. (9), etiyojik önemini bilemedikleri iki tip virus-benzeri partikül tanımlamışlardır. Biri 100 nm kadar olan "küçük", diğeri 250 nm kadar olan "büyük" partiküller incelenen tüm tümörlü kesitlerde görülmüştür. Hod ve ark. (23), erken tümör lezyonlarında virus partikülleri görmemişler, buna karşılık ilerlemiş lezyonlarda epitelial tümör hücrelerinde intrasitoplazmik A-tipi partiküller ve prolifer bağ doku stromasındaki fibroblastlarda C-tipi partiküller saptamışlardır. Verwoerd ve ark. (13), akciğer sıvısında 75-110 nm arasında değişen büyüklükte pleomorfik partiküller görmüşler ve bunların tip B ve D retroviruslarda tanımlananlara benzerliklerini bildirmişlerdir. Payne ve ark. (8), tümör hücrelerinde retrovirus olarak tanımladıkları ve ortalama 74 nm çapında olan intrasitoplazmik viral partiküllere rastlamışlardır. Ayrıca, alveol lumenlerinde ekstrasellüler partiküller görmüşlerdir. Sharp ve ark. (11), 60 nm çapında tip B ve D retrovirus partiküllerine tümör hücrelerinde



Şekil. 14 Alveol lumenini dolduran makrofajlar. x 5200
An alveolus filled with macrophages

luminál kenara yakın kısımlarda rastlamışlardır. Sunulan bu çalışmada çapları 55-95 nm arasında değişen viral partiküller iki olguda gözlenmiştir. Bunlar tip II pnömonosit ve Clara hücresi gibi neoplastik hücreler yanında alveol lumenlerindeki makrofajlarda da görülmüştür.

Tümöral odaklar çevresindeki alveollerde makrofaj toplulukları yaygın görülen bir bulgudur (2, 3,7,11). Payne ve ark.(7), makrofajlardaki artışın büyük olasılıkla tümörlü akciğerdeki artan sürfaktant sekresyonuna bağlı olabileceğini ileri sürerlerken Myer ve ark.(5), tümör hücrelerince salgılanan bir şemotaksik faktöre bağlı olduğunu saptamışlardır. İncelenen 7 olguda da makrofajlar lezyonun önemli bir kısmını oluşturmaktaydı. Ayrıca, makrofajların yer yer multinüklear dev hücrelerine dönüşmesi de belirgindi.

Kaynaklar

1. **Alibaşoğlu, M.** (1969). *Koyunlarda adenomatosis pulmonum üzerinde araştırma*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 16: 337-351.
2. **Cutlip, R.C. and Young, S.** (1982). *Sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte) in the United States*. Amer. J. Vet. Res., 43: 2108-2113.
3. **Hod, I., Herz, A. and Zimmer, A.** (1977). *Pulmonary carcinoma (jaagsiekte) of sheep*. Amer. J. Path., 86: 545-558.
4. **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. 533-536.
5. **Myer, M.S., Verwoerd, D.W. and Garnett, Helen M.** (1987). *Production of a macrophage chemotactic factor by cultured jaagsiekte tumour cells*. Onderstepoort J. Vet. Res., 54; 9-15.
6. **Nisbet, D.I., Mackay, J.M.K., Smith, W. and Gray, E.W.** (1971). *Ultrastructure of sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte)*. J. Path., 103: 157-162.
7. **Payne, Anna-Lise and Verwoerd, D.W.** (1984). *A scanning and transmission electron microscopy study of jaagsiekte lesions*. Onderstepoort J. Vet. Res., 51: 1-13.
8. **Payne, Anna-Lise, Verwoerd, D.W. and Garnett, Helen M.** (1983). *The morphology and morphogenesis of jaagsiekte retrovirus (JSRV)*. Onderstepoort J. Vet. Res., 50: 317-322.
9. **Perk, K., Hod, I. and Nobel, T.A.** (1971). *Pulmonary adenomatosis of sheep (jaagsiekte). I. Ultrastructure of the tumor*. J. Natl. Cancer Inst., 46: 525-537.
10. **Rosadio, R.H., Sharp, J.M., Lairmore, M.D., Dahlberg, J.E. and de Martini, J.C.** (1988). *Lesions and retroviruses associated with naturally occurring ovine pulmonary carcinoma (sheep pulmonary adenomatosis)*. Vet. Pathol., 25: 58-66.
11. **Sharp, J.M., Angus, K.W., Gray, E.W. and Scott, F.M.M.** (1983). *Rapid transmission of sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte) in young lambs*. Arch. Virol., 78: 89-95.
12. **Tustin, R.C., Williamson, Anna-Lise, York, D.F. and Verwoerd, D.W.** (1988). *Experimental transmission of jaagsiekte (ovine pulmonary adenomatosis) to goats*. Onderstepoort J. Vet. Res., 55: 27-32.
13. **Verwoerd, D.W., Williamson, Anna-Lise and de Villiers, Ethel-Michele.** (1980). *Aetiology of jaagsiekte: Transmission by means of subcellular fractions and evidence for the involvement of a retrovirus*. Onderstepoort J. Vet. Res., 47: 275-280.