

THEİLER VİRÜSÜNÜN GDVII SUŞUYLA İNOKÜLE EDİLMİŞ BALB/C SIÇANLARININ MEDÜLLA SPİNALİS ÖN BOYNUZUNDA OLUŞAN LEZYONLARIN MOTOR NÖRON HASTALIĞINDA GÖRÜLENLERLE HİSTOPATOLOJİK AÇIDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Yeşim GÜLŞEN PARMAN*, Gerard SAID**

ÖZET

Son yıllarda yapılan yoğun çalışmalara rağmen Motor Nöron Hastalığı (MNH) etyolojisi halen tam olarak bilinmeyen ölümcül bir hastalıktır. Müdulla spinalis ön boynuzuna yönelik yapılan histopatolojik araştırmalar bu hastalıkta görülen lezyonlarla poliyomiyelitin yol açtığı lezyonlar arasında paralellik kurulmasına neden olmuş ayrıca her iki hastalıkta görülen benzer klinik tablo MNH' a viral bir etkenin yol açmış olabileceği teorisini doğurmuştur. Theiler virüsü sıçan merkezi sisteminde "akut ensefalomyelit" e neden olan bir pikornovirüstür. Bu çalışmada MNH'nın etyolojisiyle ilgili viral teoriyi irdelemek amacıyla sıçanlarda medulla spinalis ön boynuzunun histopatolojik incelenmesine olanak veren bir model oluşturuldu. Theiler virüsüyle inoküle edilen 4 sıçanın motor nöron hücre gövdelerinde oluşan lezyonlar ışık ve elektron mikroskopisiyle incelendi ve MNH'da görülen ön boynuz lezyonlarıyla karşılaştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Motor nöron hastalığı, poliyomiyelit, Theiler virüsü

SUMMARY

Histopathological comparison of ventral horn lesions of BALB/c mice inoculated with the GD VII strain of Theiler virus with the lesions seen in motor neuron disease. The possible etiologic relation of chronic poliovirus infection to motor neuron disease (MND) has received persistent attention. Poliovirus is considered as a possible agent, chiefly because of identical target cells in paralytic poliomyelitis and MND, and because there appears to be a higher incidence of MND in individuals with previous poliovirus infection. In order to explore further the histopathological aspects of MND, we compared the ventral horn lesions of MND with the ones seen in BALB/c mice which are inoculated intracerebrally by the GD VII strain of Theiler's virus. Theiler's virus, a mouse picornavirus, produces a paralytic disease and the predominate histopathological findings is necrosis of motor neurons resembling MND.

Key Words: Motor neuron disease, poliomyelitis, Theiler's virus.

GİRİŞ

Medulla spinalis ön boynuzunu tutan, başlıca motor nöronların yıkımıyla giden bazı dejeneratif hastalıkların etyopatogenezi bilinmemektedir. Bu tür bir hastalık olan motor nöron hastalığı (MNH) ile ilgili son yıllarda umut verici çalışmalar yapılmasına ve yeni tedavi perspektifleri geliştirilmiş olmasına rağmen MNH'nın ortaya çıkışını ve seyirini etkileyen mekanizmalar hakkında net bilgilere halen sahip değiliz (1,6). Buna karşılık

başlıca motor nöron yıkımıyla giden poliyomiyelitin viral bir etkenle ortaya çıktığı bilinmektedir. Ayrıca poliyomiyelit geçiren hastaların bir bölümünün daha sonraları MNH' a yakalanmış olmaları bazı yazarların dikkatini çekmiştir (8,9). MNH'nın merkezi sinir sisteminde sebat eden benzer bir viral etkenden kaynaklanmış olabileceğini öngörenler her iki hastalığın histopatolojik özelliklerini karşılaştırmışlar ve virüs izole etmenin yollarını aramışlardır (2,11). Pikornovirüslerden olan Theiler virüsü sıçanlar için

doğal bir patojendir. İntraserebral olarak inoküle edildiği sıçanlarda özellikle ön boynuz motor nöronlarını etkiler ve nöronal yıkımla birlikte gliozise yol açarak poliyomiyelitin benzeri lezyonların ortaya çıkmasına neden olur (12). Buna özellikle yüksek bir virülansa sahip GDVII suşu neden olur.

Çalışmamızda poliyomiyelit ve MNH'nın arasındaki bu ilişkiden hareketle Theiler virüsüyle inoküle ettiğimiz sıçanlarda görülen histopatolojik özellikler ışık ve elektron mikroskopisiyle incelendi, motor nöron dejeneransının çeşitli etapları MNH'da görülenlerle karşılaştırıldı.

MATERYAL ve METOD

Dört adet BALB/c sıçanı Paris Pasteur Enstitüsünde Theiler virüsünün GDVII suşu ile inoküle edildi. İnokülasyondan 2 gün sonra sıçanların hepsinde flask bir paralizi gözleendi. Hastalığın klinik ve histopatolojik gelişimini izleyebilmek amacıyla inokülasyonun 3.,4.,5., ve 6., gününde, her gün sıçan, sedasyondan sonra, 10 ml. Karnovsky solüsyonuyla perfüze edilerek fikse edildi. Lup al-

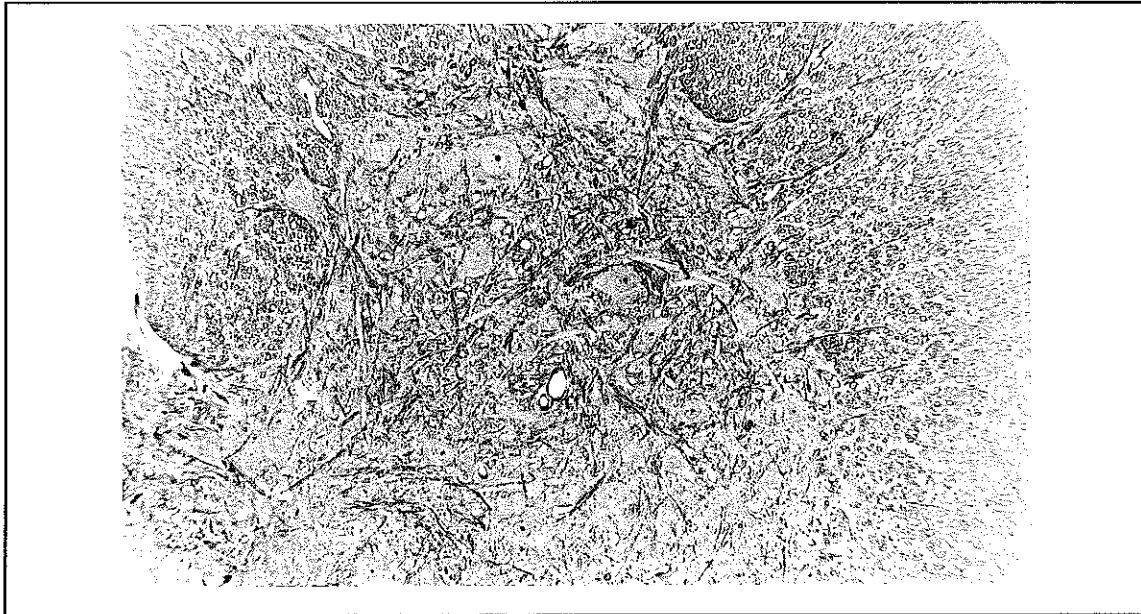
tında medülla oblogatanın alt düzeyinden başlayarak medülla spinalis diseksiyonu yapıldı. Servikal, dorsal, lomber bölgeler belirlenerek, Hematoksilen eosin (H.E.) ve modifiye gomori trikomla (G.M.T) boyanan parafin kesitleri hazırlandı. Yarı ince ve elektron mikroskopisi kesitleri hazırlamak amacıyla geriye kalan materyal osmifikasyondan (osmiyum tetroksit) sonra epona gömüldü. Yarı ince kesitler tiyoninle boyandı, ultra ince kesitler ise üranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandırıldı. Kontrol amacıyla enfekte edilmemiş bir sıçanın medülla spinalisi aynı yöntemlerle hazırlandı.

SONUÇLAR

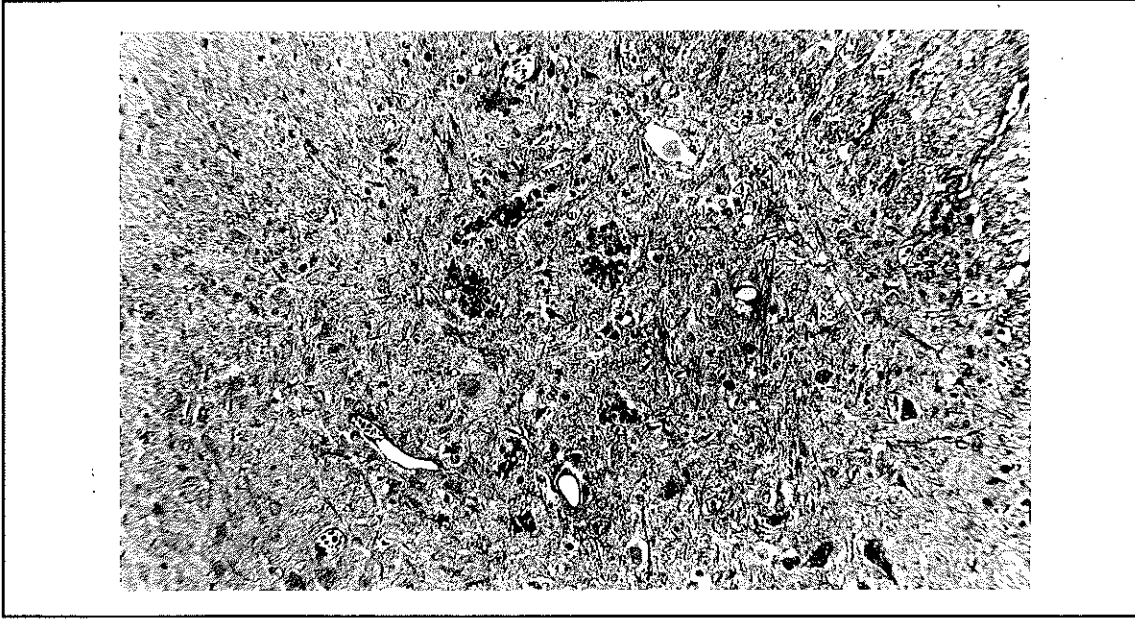
Klinik açıdan hergün izlenen sıçanlarda progressif paralizi gözleendi. İnokülasyondan 6 gün sonra feda edilen sıçan tam plejikti.

Servikal, dorsal, lomber bölgelerden medülla spinalisin ön boynuzundaki histopatolojik özellikleri görmek amacıyla hazırlanan parafin kesitleri ve yarı-ince kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Kesitlerin hepsinde en belirgin özellik büyük çaplı motor-nöronlar-

Resim 1a. Kontrol-Tiyoninle boyanan 1µ kalınlığında yarı-ince kesit (x16). Sıçanda lomber bölgeye ait ön boynuz görünümü. Normal yapıda motor nöronlara



Resim 1b. Theiler virüsüyle inoküle edilmiş sıçana ait ön boynuz örneği. Büyük çaplı motor nöronlarda dejeneresans, nekroz ve perivasküler iltihabi hücre infiltrasyonu.



daki kromatoliz ve nekrozla giden, histiyositler hücrelerin hakim olduğu nöronofajiydi. Ayrıca perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu göze çarpıyordu. Servikal, dorsal, lomber bölgeler arasında histopatolojik açıdan fark gözlenmedi. Lezyonlar 5. ve 6. günde feda edilen sıçanlarda daha belirgindi.

TARTIŞMA

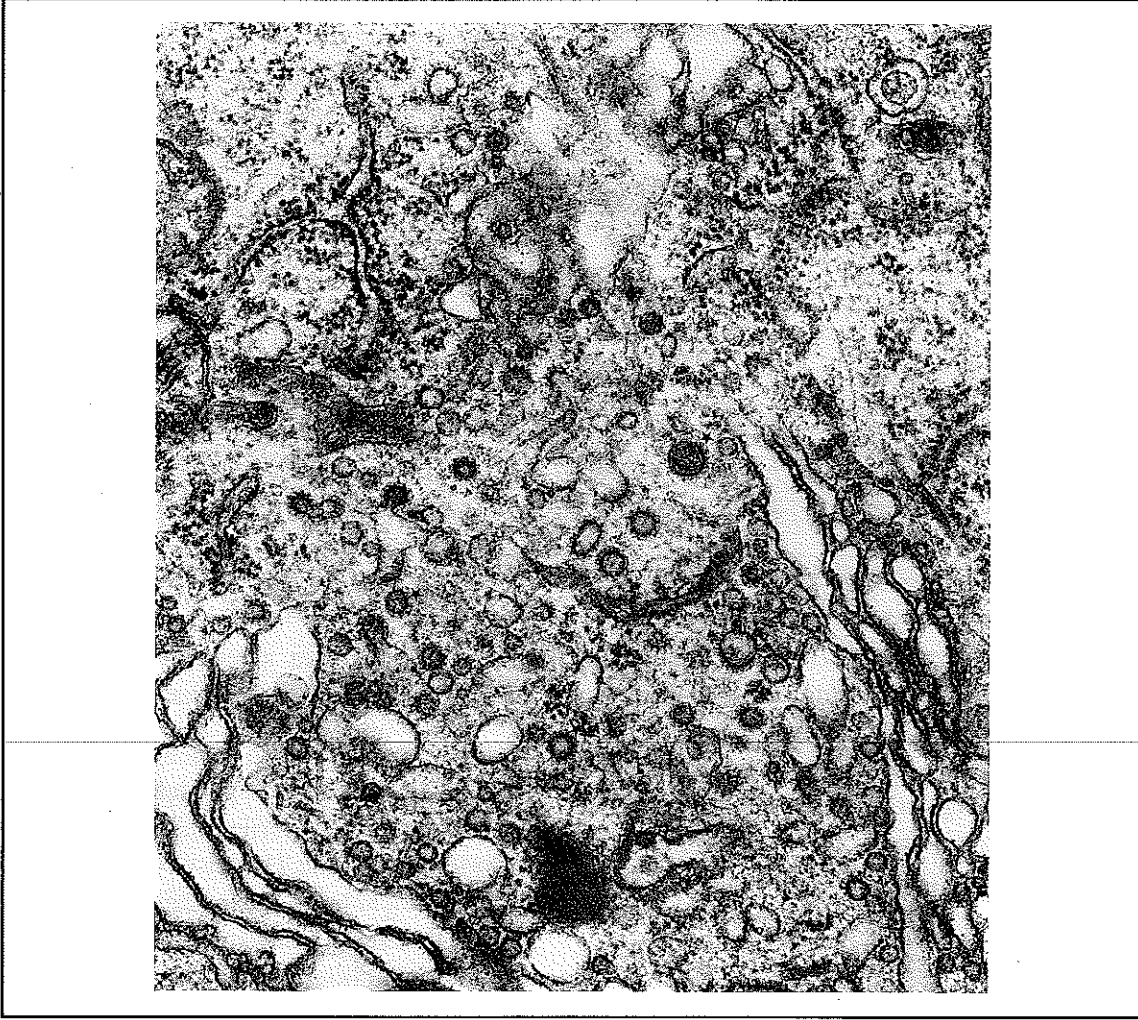
Theiler virüsünün bazı suşlarıyla enfekte edilen sıçanlarda medulla spinalis ön boynuz hücrelerinde destrüksiyonla giden, klinik olarak akut poliyomyelit tablosu olduğu bilinmektedir. Bu enfeksiyonun neden olduğu lezyonların histopatolojik açıdan da MNH'nda görülenlerle benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Paralellik gösteren bu bulgular ön boynuz hücrelerinde azalma, kromatoliz, nekroz, perivasküler iltihabi hücre infiltrasyonu ve ileri dönemde gliyozistir (4,5,7). Fakat MNH' da iltihabi hücre infiltrasyonu poliyoda rastlandığı kadar yoğun değildir. Bu bulgular, incelediğimiz sıçanların medulla spinalis ön boynuz hücrelerinde gerek H.E ve M.G.T ile boyanan parafin kesitlerinde gerekse tiyoninle boyanan yarı-ince kesitler-

de tarafımızdan da saptandı (Resim 1b). Tüm bulgular ön boynuzda lokalizeydi.

Motor nöronların erken dönemdeki dejeneransı incelenirken hücre gövdelerinde saptanan ve Bunina adı verilen inklüzyon cisimciklerinin benzerine Theiler virüsüyle enfekte edilen sıçanlarda da rastlandığı belirtilmiştir (3). Bununla birlikte başka türde inklüzyon cisimciklerinin de görülebileceğinden söz edilmiştir. MNH'da rastlanan önboynuzda ait histopatolojik değişikliklerin elektron mikroskopisi üzerinde çalışan Murayamaya MNH'ndan ölen hastaların medulla spinalisi üzerinde yaptığı bir araştırmada Bunina ve Lewy-body benzeri inklüzyon cisimciklerinin varlığını göstermiştir (10). Bizim incelediğimiz sıçanların hiçbirinde sözü geçen inklüzyon cisimciklerine rastlanmadı. Buna karşılık intra-sitoplazmatik virüs partikülleri dikkati çekti (Resim 2). Bu bulgu, sıçanlar hastalığının akut döneminde feda edildiğinden, merkezi sinir sisteminde sebat eden viral enfeksiyon kanıtı olarak değerlendirilmedi.

Viral bir etkenle ortaya çıkan, motor nöronlarda dejenerasyonla giden hastalıkların yol

Resim 2. Theiler virüsüyle inoküle edilmiş sıçanın ön boynuzuna ait üranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandırılmış elektron mikroskopisi örneğinde *virüs partikülleri (x20K).



açtığı morfolojik değişiklikleri incelemek açısından Theiler virüsü ile enfekte edilen sıçanlar ilginç bir hayvan modeli oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızla birlikte, diğer çalışmalar poliyomiyelitin ve MNH'nın medülla spinaliste birincil olarak etkiledikleri hedef hücrelerin aynı olduğunu göstermiştir. Buna karşılık her poliyomiyelit enfeksiyonundan sonra MNH'ı gelişmesi söz konusu değildi. Viral etkenle karşılaşan kişiye ait immünogenetik özellikler veya çevresel etmenler hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilir. Poliyomiyelit enfeksiyonundan yıllarca sonra ortaya çıkan, mevcut poliyo sekeline dışında 2. motor nöron bulgularıyla seyreden post-poliyo sendromu da muhte-

melen sözü edilen etmenlerin araya girmesiyle oluşmaktadır. Ayrıca son yıllarda MNH'nın etyopatogenezinde rol oynadığı öne sürülen ve buna bağlı olarak yeni tedavi perspektifleri geliştirilen eksitotoksik nörotansmitterlerin viral etkenle "duyarlı" hale gelen hücrelerin ölümüne yol açtığı düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Bensimon G., Lacomblez L., Meininger V.A.: Controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. N Engl J Med.; 330:585 (1994).
2. Brahic M., Smith R.A., Gibbs C.J. et al.: Detection of picornavirus sequences in nervous tissue of ALS and control patients. Ann. Neurol. 18:337 (1985).

3. Hirano A.: Aspects of the ultrastructure of ALS. "Human Motor Neuron Diseases, editör: Rowland L.P., Raven Press, New York 75 (1982).
4. Hughes J.T.: Pathology of ALS. "Human Motor Neuron Diseases, editör: Rowland L.P., Raven Press, New York 61 (1982).
5. Jacoby R.O.: Encephalomyelitis, Theiler's virus, Mouse. "Nervous System, editörler: Jones T.C., Mohr U., Hunt R.D., Springer-Verlag, Berlin 175 (1988).
6. Lacomblez L., Bensimon G., Leigh P.N. et al.: A confirmatory dose-ranging study of riluzole in ALS. ALS/Riluzole Study Group-II. *Neurology* 47:242 (1996).
7. Nartin J.E., Swash M., Schwartz M.S. Annotation: New insights in motor neuron disease. *Neuropathol. App. Neurobiol.* 16:97 (1990).
8. Miller J.R.: Persistent infection by polio-virus: Experimental studies. "Human Motor Neuron Diseases, editör: Rowland L.P., Raven Press, New York 311 (1982).
9. Mulder D.W.: Late progression of poliomyelitis or forme fruste ALS. *Mayo Cli.Proc.* 47: 756 (1972).
10. Murayama S., Hiroshi M., Ihara Y. et al.: Immunocytochemical and ultrastructural studies of lower motor neurons in ALS. *Ann Neurol* 27:137 (1990).
11. Ross R.P., Viola M.V., Wollmann R et al.: Amyotrophic Lateral Sclerosis with antecedent poliomyelitis. *Arch. Neurol* 37:312 (1980).
12. Theiler M.: Spontaneous encephalomyelitis of mice: A new disease. *Science* 80:122 (1934).