

Coenurus cerebralis Şüpheli Koyunlarda Karşılaştırmalı Sitopatolojik ve Histopatolojik Çalışmalar

Ertan ORUÇ¹, Uğur USLU²

¹Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Konya; ²Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Konya

ÖZET: Çalışmada klinik olarak *Coenurus cerebralis* enfeksiyonu şüpheli 20 koyunda beyin-omurilik sıvısı (BOS) yaymaları, beyin dokundurma preparatları ve histopatolojik kesitlerle karşılaştırıldı. BOS yaymalarında eozinofil, nötrofil, lenfosit, fagositik ve epitelyal hücrelerde belirgin artış ile histopatolojik kesitlerde purulent-eozinofilik ya da nekrotik-granülatöz yangı tablosu vardı. Çalışma sonunda, histopatolojik kesitlere benzer dökülme gösteren BOS sitolojisinin, *Coenurus cerebralis* teşhisinde bir ön metot olarak kullanılabilirliği kararına varıldı.

Anahtar Sözcükler: *Coenurus cerebralis*, BOS sitolojisi, histopatoloji

Comparative Cytopathological and Histopathological Studies of Sheep with Suspected *Coenurus cerebralis* Infection

SUMMARY: Cerebrospinal fluid (CSF) smears were compared with brain imprints and histopathological sections of sheep with suspected *Coenurus cerebralis* infection. There was an increase of eosinophils, neutrophils, lymphocytes, phagocytic and epithelial cells in CSF smears. Similarly, purulent eosinophilic or necrotic-granulomatous infections were observed in histopathologic sections. Cytological exfoliation was similar to histopathological details and it was concluded that CSF cytology is useful as a pre-method in diagnosis of *Coenurus cerebralis* infection.

Key Words: *Coenurus cerebralis*, CSF cytology, histopathology

GİRİŞ

Olgunları köpek, tilki ve çakalların ince bağırsaklarında bulunan *Taenia multiceps*'in larval formu olan *Coenurus cerebralis* başta koyun olmak üzere evcil ruminantların merkezi sinir sistemi (MSS)'nde lokalize, saydam bir kese ve çeperinde içeriye doğru invagine olmuş yüzlerce skoleksten oluşmuştur (4). *Coenurus cerebralis*'in patojenik etkisi başlangıçta purulent meningoensefalitis ve daha sonra kistin büyümesiyle beyin dokusunda basınç atrofisi şeklindedir (5, 8). Klinik bulgular lokomotor semptomlardır. Hayvan başını kistin olduğu tarafa eğip, yürürken dönme hareketi yapar. Dengesiz ve irtibatsız hareket sonucu baş düzgün tutulmaz ve sağa sola çarpar. Klinik gözlemlere dayanılarak doğrudan *Coenurus cerebralis* teşhisi koymak, MSS'de benzer semptomlarla lokalize diğer hastalıklarla karışması bakımından zor olup, kesin teşhis nekropside beyindeki kistlerin görülmesiyle mümkündür (4, 5, 8). Basitçe hazırlanmasına rağmen veteriner teşhiste yeterince kullanılmayan sitolojik örneklerin inceleme-

siyle, hasta henüz klinikteyken hastalığın karakteri hakkında bilgi edinilerek, ayrıntılı laboratuvar sonuçlarını beklemeden tedaviye başlanabilmektedir (1, 6). Burada amaç; hastalığın tümöral ya da yangısalının, yangısal ise bakteriyel, mikotik ya da paraziter kökenli mi olduğunun, ya da hastalığın akut mu kronik mi olduğunun kabaca tanımlanabilmesidir.

Çalışma, sinirsel belirti gösteren koyunlarda beyin omurilik sıvısı (BOS) sitolojik bulgularının, beyin dokundurma preparatları ve histopatolojik kesitleriyle karşılaştırılarak klinik-patolojik olarak *Coenurus cerebralis* enfeksiyonu hakkında bir fikir edinilebilmesi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, klinik olarak dönme, başını eğme ya da bir yana yaslama gibi sinirsel belirtiler gösteren 20 baş hastalıklı koyun ile herhangi bir sinirsel belirti göstermeyen 5 adet sağlıklı koyunda gerçekleştirildi. Hasta koyunlardan 6'sı farklı dönemlerde Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne getirilmiş; diğer 14'ü ise yine farklı dönemlerde Kon-et, Konya mezbahasında kesime alınmış farklı yaş, cins ve ırklardaki koyunlardı. Kontrol grubunu ise yine aynı mezbahada kesime alınmış sağlıklı koyunlar oluşturdu.

Geliş tarihi/Submission date: 13Aralık/13 December 2005
Düzeltilme tarihi/Revision date: 12 Ağustos/12 August 2006
Kabul tarihi/Accepted date: 27 Eylül/27 September 2006
Yazışma /Corresponding Author: Uğur Uslu
Tel: (+90) (332) 223 27 32 Fax: (+90) (332) 241 00 63
E-mail: uusu@selcuk.edu.tr

Tablo 1. BOS yayma ve beyin dokundurma preparatlarında gözlenen hücrelerin sayısal değerleri.

Hücre tipi	BOS yaymaları			Beyin dokundurmaları				
	Hastalıklı grup			Kontrol	Hastalıklı grup			Kontrol
	en az	en çok	ort.	ort.	en az	en çok	ort.	ort.
Parçalı çek. hücre	25	57	41	0	16	32	24	1
Nötrofil	6	20	13	0	3	9	6	1
Eozinofil	19	37	28	0	11	25	18	0
Lenfositik hücre	11	43	27	6	7	15	11	2
Epitelyal hücre	12	26	19	7	19	41	30	10
Fagositik hücre	3	11	7	0	6	22	14	0
Glial hücre	4	8	6	2	13	29	21	9

BOS preparatlarının hazırlanması: Çalışmada 12 hayvandan BOS, hayvan henüz hayatta iken atlanto-okspital bölgede, sisterna magnadan büyük ruminantlar için tarif edilen metoda (7) benzer olarak alındı. Diğer 8 hayvanda ise kesim sırasında foramen magnuma enjektörle girilerek, BOS çekildi. Kontrol amacıyla sağlıklı 5 koyundan da aynı metotla BOS elde edildi. Yaklaşık 1-2.5 ml. toplanan sıvılar steril tüplere alınarak, 1000 devirde 3 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvılar ayrı tüplere aktarıldıktan sonra dipteki çökeltiden sıvayla temiz ve kuru rodajlı lamlara (Isotherm, 76X26 mm) aktarılan çökelti, diğer tüpe ayrılan sıvı kısımdan 1-2 damla ile karıştırılarak, hüresel harabiyeti önlemek için hassas hareketlerle lam üzerine yayıldı. Lamalar numaralandırılarak havada kurumaya bırakıldı.

Beyin dokundurma preparatlarının hazırlanması: Her bir kafa usulüne uygun açıldıktan sonra beyinlere ait makroskopik bulgular değerlendirildi. Daha sonra temiz ve kuru rodajlı lamalar (Isotherm, 76X26 mm), lezyonlu kısımlara değiştirilerek dokundurma preparatları hazırlandı ve preparatlar numaralandırılarak havada kurumaya bırakıldı. Hem BOS hem de beyin dokundurma preparatları Papanicolau EA 65 (Bio-Optica, Katalog no: 05-12017) yayma boya seti ile boyandı. Sitolojik preparatlarda, sayısal değerlendirme için 100X büyütmede, farklı 10 mikroskop alanında sayılan hücrelerin sayısal oranı belirlendi.

Histopatolojik preparatların hazırlanması : Histopatolojik incelemeler için de lezyonlu kısımlardan alınan beyin örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formalin solusyonunda tesbit edildi. Rutin histopatolojik işlemlerden sonra hazırlanan parafin bloklardan 5-6 mikron'luk kesitler alınarak Hematoksilin-Eozin (3) ile boyandı. Hem sitolojik hem de histopatolojik preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus, CH2) incelenerek uygun görülenlerden resim çekildi.

BULGULAR

Makroskopik bulgular: Çalışmada 2-6 cm çaplarındaki *coenurus cerebralis* kistlerine; sağ hemisferde 5, sol hemisferde 7, her iki hemisferde 4 (Resim 1) ve serebellumda 4 olguda rastlandı. Kisti çevreleyen parenkimal dokuda gri renkli ve düzensiz nekroz ve zaman zaman kanama odakları görüldü.

BOS ve Beyin smearlarında gözlenen hücre yapıları: BOS yaymaları genelde eritrositten zengin olup, hücreliliği düşüktü. Beyin yaymaları genelde hücreden zengin olup, BOS yaymalarına göre daha az eritrosit içermekteydi. Farklı mikroskop alanlarında toplam 100'er adet sayılan hücrelerin sayısal dağılımı Tablo. 1 de gösterilirken, BOS ve beyin yaymalarında şu tip hücreler gözlenmiştir.

Parçalı çekirdekli hücreler: Yaklaşık 2-3 eritrosit büyüklüğünde olan bu hücreler 2-5 segmentli çekirdeğe sahipti. Poligonallı ve belirgin sitoplazmik membranları olup, sitoplazma bazılarında pembe-kırmızı, bazılarında ise açık mavi ya da renksiz boyanmıştı (Resim 2). BOS yaymalarında 25-57 (ortalama 41), beyin dokundurma preparatlarında ise 16-32 (ortalama 24) adet parçalı çekirdekli hücre sayıldı. Bu hücrelerden sırasıyla BOS'ta ortalama 28'i, beyin dokundurmalarında ise ortalama 18'i pembe-kırmızı sitoplazmaya sahip olup, diğer 13 (BOS'ta) ve 6'sının (beyinde) açık mavi ya da boya almamış sitoplazması vardı. Kontrol grubu incelemelerinde ise parçalı çekirdekli hücrelere rastlanmadı.

Lenfositik hücreler: Bir eritrosit ya da biraz daha büyük olan bu hücreler genelde sitoplazmadan yoksun olup, oldukça koyu boyanmışlardı. Sitoplazması sağlam kalanlarda sitoplazma, mavi boyanarak, ince biçimde çekirdeği kuşatmıştı (Resim 3). Hastalıklı gruptan hazırlanan BOS yaymalarında 11-43 (ortalama 27), beyin dokundurmalarında ise 7-15 (ortalama 11) adet lenfositik hücre sayılırken, kontrol grubunda BOS yaymalarında 3-9 (ortalama 6) adet, beyin dokundurma preparatlarında ise 1-3 (ortalama 2) adet lenfositik hücre sayıldı.

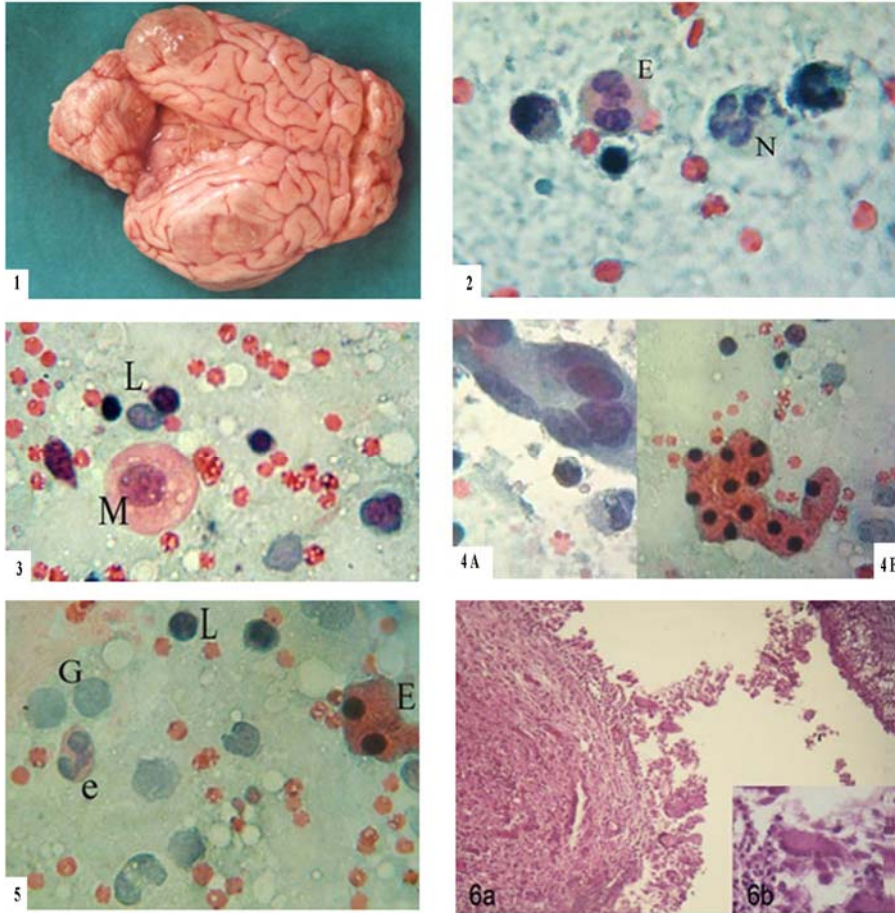
Fagositik hücreler: Oldukça iri (4-10 eritrosit büyüklüğünde) olan bu hücreler genelde farklı şekillerde ve poligonallı olup, hücre membranları belirgin ve daha çok pembe-kırmızı sitoplazmaya hücrelerdi. Bu iri fagositik hücreler genelde intrasitoplazmik boyanmamış vakuoller içeriyordu (Resim 3). Sitoplazma, çekirdek oranı sitoplazma lehine oldukça yüksek olup, sitoplazmik ayrıntı belirgin değildi. BOS smearlarında 3-11 (ortalama 7), beyin imprintlerinde ise 6-22 (ortalama 14) adet fagositik hücre sayılırken kontrol grubunda fagositik hücrelere rastlanmadı.

Epitelyal hücreler: Poligonal şekilli ve 2-6 eritrosit büyüklüğünde olan bu hücreler preparatlarda genelde kümelenmiş olarak dikkat çekti. Sitoplazmik membranları belirgin olan bu hücreler genelde koyu mor çekirdekli olup, 3-10'lu kümeler halinde, ve daha çok beyin dokundurma preparatlarında izlendi (resim 4). BOS yaymalarında 12-26 (ortalama 19), beyin dokundurma preparatlarında ise 19-41 (ortalama 30) adet epitelyal hücre sayılırken kontrol grubunda BOS'ta 4-9 (ortalama 7), Beyin preparatlarında 6-14 (ortalama 10) adet epitelyumyal hücre tesbit edildi.

Glial hücreler: Glial hücreler genelde 3-4 eritrosit büyüklüğünde olup, bazen sitoplazmalarını kaybetmiş, koyu mavi, veziküler çekirdekli bazıları eozinofilik, bazıları ise bazofilik sitoplazmalı hücrelerdi (Resim 5). Tekli olarak dökülmüş bu hücrelerde sitoplazmik membran belirgin olup, bazen de sitoplazmasını kaybetmiş iri, veziküler, hafif soluk mor boyanmış çekirdekler olarak yaymalara yansımıştı. Glial hücreler, BOS yaymalarında 4-8 (ortalama 6), beyin dokundurma preparatla-

rında ise 13-29 (ortalama 21) adet sayılırken kontrol grubunda aynı hücelere BOS'ta 1-2 adet, beyin dokundurmalarında ise 7-10 (ortalama 9) adet tesbit edildi..

Histopatolojik Bulgular: Beynin histopatolojik incelemesinde genelde nekrotik-granülatöz ensefalitis ya da meningoensefalitis tablosu var iken, söz konusu bölgelerde, ortada nekrotik, bazen mineralize, çevrede lenfo-histiyositer infiltrasyon ile çekirdekleri nekrozun aksi tarafında yerleşmiş yabancı cisim dev hücrelerinden oluşan reaksiyon yapısı gözlemlendi (Resim 6). Bölgedeki kapillarlar hiperemik olup genelde perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu vardı. Olayların çoğunda meniksler de yangılanmış olup, meningeal damarlarda hiperemi ve buralarda da eksudatif ve lenfositik birikimler vardı. Daha erken olaylarda henüz dev hücrelerinin şekillenmediği ve kapillar hiperemi, ödem, nötrofil ve eozinofil eksudasyonu ile karakterize purulent-eozinofilik ensefalitis tablosu gözlemlendi.



Şekil 1. Her iki hemisferde yerleşmiş, içleri şeffaf sıvı ile dolu kistler; **2.** BOS yayması. Parçalı çekirdekli hücreler. Eozinofil (E) ve nötrofil (N). Papanicolau yayma boyası. Orijinal büyütme X1000.; **3.** BOS yayması. Fagositik makrofağlar (M) ve lenfosit (L). Papanicolau yayma boyası. Orijinal büyütme X1000; **4.** Epitelyal hücreler. **4A.** BOS smearında, **4B.** Beyin imprintinde. Papanicolau yayma boyası. Orijinal büyütme X1000 ; **5.** BOS yayması. (G) Glial hücre, (E)Epitel hücresi, (L)Lenfosit, (E) Eozinofil. Papanicolau yayma boyası. Orijinal büyütme X1000; **6a.** Beyin. Yabancı cisim reaksiyon dokusu.yabancı cisim dev hücreleri ve lenfo-histiyositer infiltrasyon, H.E. Orijinal büyütme X100. **6b.** Yabancı cisim dev hücreleri. H.E. Orijinal büyütme X400.

TARTIŞMA

Çalışmada *Coenurus cerebralis* tesbit edilen koyunlarda gözlenen klinik, makroskopik ve histopatolojik bulgular önceki kaynaklara (4, 5, 8) uyumlu bulunmuştur. Son zamanlarda BOS yaymaları tümoral (9) ya da yangısal (2) birçok hastalığın teşhisinde bir ön yöntem olarak kullanılmaktadır. Normal BOS yaymalarında belli oranda lenfosit ve yine koyunda BOS yaymalarında 0-5 adet parçalı çekirdekli hücre bulunabilirken, eritrositlerin görülmeyeceği bildirilmektedir (7). Sitopatolojik incelemelerde BOS yayma preparatlarının eritrositten zengin, hücreden daha fakir, beyin dokundurma preparatlarında ise hücreliliğin daha yoğun olduğu tesbit edilmiştir. Çalışmada, BOS yaymalarında oldukça yoğun eritrositle karşılaşılması, nekrotik ve hemorajik değişiklik yapan *Coenurus cerebralis* enfeksiyonu ile birlikte az da olsa BOS alma prosedürüne de bağlanabilir. BOS ve beyin preparatlarının sitolojik incelemelerinde; parçalı çekirdekli hücreler, fagositik hücreler, lenfositik hücreler, epitelyal ve glial hücrelerde kontrol grubuna göre belirgin artış olduğu tesbit edilmiştir. Hem BOS hem de beyin sitolojik preparatlarında gözlenen epitelyal hücrelerin muhtemelen ventriküler yüzeyleri ve BOS sıvısının alındığı bölgedeki sentral kanalı döşeyen ependimal hücreler olabileceği düşünülmüş ve bu hücrelerin bölgedeki yangılanma ve nekroz olayına bağlı olarak daha fazla dökülme gösterdiği tesbit edilmiştir. Parçalı çekirdekli hücreler; boyanma özelliklerine bağlı olarak sitoplazması pembe-kırmızı boyananlar eozinofil, renksiz ya da açık mavi boyananlar nötrofil olarak yorumlanmıştır. Hem BOS hem de beyin yaymalarında eozinofil ve nötrofil gibi yangısal hücrelerin öncelikle ve daha belirgin bulunması sebebiyle sitolojik olarak bu preparatlar purulent-eozinofilik olarak tanımlanabilir. Eozinofillerin çoğunlukta olduğu preparatların yorumlanmasında ise başta paraziter hastalıklardan şüphelenilmesi gerektiği bildirilmektedir (6). Yine söz konusu sitolojik preparatlarda fagositik ve lenfositik hücrelerin de bulunması enfektif tabloyu güçlendirmektedir. Çalışmada makroskopik ve mikroskopik bulgular da değerlendirildiğinde, sitopatolojik verilerin histopatolojik doku ayrıntısını yansıtır dökülme gösterdiği gözlenmiştir. BOS sıvısında yangısal hücrelerin daha yoğun dökülme göstermesi, bu tip hastalıkların teşhisi bakımından BOS'un sitopatolojik incelemesinin faydalı bir yöntem olabileceğini ortaya çıkarmaktadır.

Çalışma sonunda, klinik-makroskopik, sitopatolojik ve histopatolojik değişiklikler bakımından belirgin benzerlikler görülmüş ve BOS sitolojisinin başta yangısal olmak üzere beyin hastalıkları teşhisinde ön fikir verebilecek önemli bir inceleme metodu olduğu kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Cowell RL and Tyler RD**, 1989. Diagnostic cytology of dog and cat. American Veterinary Publications, Inc.5782 Thornwood Drive, California.
2. **Goodchild LM, Dart AJ, Vollins MB, Dart CM, Hodgson JL, Hodgson DR**, 1996. Cryptococcal meningitis in an alpaca. <http://www.ava.com.au/avj/dec96/426.htm>
3. **Luna LG**, 1968 Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd Ed., Mc Graw-Hill Book Company, New York, USA.
4. **Radostits OM, Blood DC, Gay CC**, 1994. Veterinary Medicine, 8th ed., sayfa 492-493. Bailliere Tindall, London.
5. **Sullivan ND**. 1985. The Nervous System. In: Pathology of Domestic Animal. Vol.1, sayfa 311-313. Academic Pres Inc., London.
6. **Teske E**, 2004. Clinical cytology in small animal medicine. 29th World Congress of The World Small Animal Veterinary Association. October 6-9, 2004, Rhodes, Greece.
7. **Turgut K**, 2000. Veteriner Klinik Teşhis. 2. baskı. Bahçıvanlar Basım San., sayfa. 562-576.
8. **Urman HK**, 1983. Evcil Hayvanların Özel Patolojik Anatomisi, Sinir Sistemi. Ankara Üniversitesi, Veteriner fakültesi yayınları: 393.
9. **Zimmerman KL, Bender H, Boon D, Prater MR, Catherine ET, Prater D, Robertson JL, Saunders GK**, 2000. A comparison of the cytologic and histologic features of meningiomas in four dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 29(1): 29-34.