

# مطالعه تجربی آپوتوز در لوزالمعده جوجه‌های SPF متعاقب عفونت با ویروس آنفلوانزای سروتیپ H9N2

یوسف دوستار<sup>۱\*</sup>، داریوش مهاجری<sup>۱</sup>

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: [veidoustar@yahoo.com](mailto:veidoustar@yahoo.com)

(دریافت مقاله: ۸۶/۱۱/۸، پذیرش نهایی: ۸۷/۶/۴)

## چکیده

ویروس آنفلوانزا عامل مرگ سلولی در بافت‌های حیوانات و انسان می‌باشد. مرگ سلولی حاصله از این ویروس می‌تواند به دو صورت نکروز و آپوتوز اتفاق بیفتد. در این تحقیق به ارزیابی نوع مرگ سلولی در بافت لوزالمعده جوجه‌های عفونی شده با ویروس آنفلوانزای طیور سروتیپ H9N2 (A/chicken/ Iran/ 772/2000) به‌طور تجربی پرداخته شده است. در بررسی حاضر، تعداد ۲۰ قطعه جوجه SPF با سن ۳ هفته در دو گروه برابر به‌طور تصادفی توزیع گردید. گروه اول با ۰/۲ میلی‌لیتر با رقت ۱ به ۱۰ و تیتراژ EID<sub>50</sub> ۱۰<sup>۷/۵</sup> ویروس آنفلوانزا و گروه دوم نیز با حجمی برابر، توسط محلول سالین نرمال به‌روش داخل بینی تلقیح گردید. پس از ۷۲ ساعت، از بافت لوزالمعده جوجه‌ها نمونه‌برداری انجام شد و از نمونه‌های پایدار شده در فرمالین بافر ۱۰٪، مقاطع میکروسکوپی با ضخامت ۵ میکرون و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین تهیه گردید. در مطالعات ریزینی بافت لوزالمعده، اختلاف میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک و نکروتیک بین گروه‌های شاهد و تیمار معنی‌دار بود ( $p < 0/005$ ). نتایج این بررسی نشان داد که ویروس آنفلوانزای سروتیپ H9N2 توانایی القاء آپوتوز در سلول‌های آسینار و جزائر آلفا و بتای لوزالمعده طیور را دارد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۷، دوره ۲، شماره ۳، ۱۸۷-۱۸۱.

کلمات کلیدی: ویروس آنفلوانزای طیور، آپوتوزیس، لوزالمعده، جوجه

## مقدمه

خانواده ارتومیکسوویریده بوده و به جنس A تعلق دارند. از سال ۱۹۹۴ میلادی سویه H9N2 ویروس A آنفلوانزا باعث طغیان بیماری در ماکیان با مرگ و میر زیاد در کره و چین شده است و از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۲ میلادی ویروس‌های H9N2 به‌طور گسترده از گوشت و مغز استخوان جوجه‌های وارداتی از چین در مرکز قرنطینه حیوانات یوکوهاما در ژاپن جدا شده است. در مارس ۱۹۹۹ میلادی دو مورد از ویروس آنفلوانزا از

بیماری آنفلوانزا به‌عنوان یک بیماری ویروسی از سال ۱۹۰۱ میلادی شناخته شده است. در سال ۱۹۵۵ میلادی شکل خاصی از ویروس آنفلوانزا به‌عنوان عامل ایجاد کننده بیماری شناخته شد که بعدها به‌علت تلفات زیاد، طاعون مرغی نامیده شد. اهمیت ویروس‌های آنفلوانزا به‌عنوان یک پاتوژن با گستردگی جهانی در انسان، حیوانات خانگی و ماکیان به‌خوبی شناخته شده است. ویروس‌های آنفلوانزای پرندگان جزء اعضای

به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم گردید که یک گروه به عنوان تیمار و گروه دیگر شاهد در نظر گرفته شد. گروه تیمار به روش قطره بینی با ویروس آنفلوآنزای تحت تیپ H9N2 با دز ۰/۲ میلی‌لیتر و رقت ۱ به ۱۰ و تیتراژ EID50<sup>۷/۵</sup> ۱۰ عفونی گردید. گروه شاهد نیز برابر حجم محلول تلقیحی ویروس، با همان روش و به‌طور هم‌زمان سرم نمکی نرمال دریافت نمود. سه روز پس از تلقیح، جوجه‌های مورد آزمایش (گروه تیمار و گروه شاهد) هم‌زمان کالبدگشایی و از بافت لوزالمعده آن‌ها نمونه‌برداری به‌عمل آمد. نمونه‌های مورد نظر در داخل فرمالین بافری ۱۰ درصد جهت تهیه مقاطع آسیب‌شناسی بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی تبریز ارسال گردیدند. نمونه‌های مورد نظر پس از گذراندن مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی با پارافین و قالب‌گیری، با ضخامت‌های ۵ میکرون برش داده شده و با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. سلول‌های آپوتوتیک و نکروتیک در برش‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ نیکون مدل E200 در ۱۰ میدان میکروسکوپی و با بزرگنمایی ۴۰× مورد شمارش قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۳ و آزمون  $(t\text{-test})$  انجام گردید (۱، ۲ و ۴).

### نتایج

در مشاهدات ریزینی بخش آگزوکرین لوزالمعده جوجه‌های تیمار شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2، سلول‌های آپوتوتیک در آسینی‌ها به‌وفور قابل مشاهده بودند و تغییرات شدید حاکی از نکروز و آپوتوز در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های آگزوکرینی مشخص بود (نگاره‌های ۱ و ۲). چروکیده شدن سلول و متراکم و قطعه قطعه شدن کروماتین هسته که از اشکال نمادین آپوتوز سلول‌ها می‌باشد، در سلول‌های آگزوکرینی آسینی‌های لوزالمعده کاملاً مشخص بود (نگاره ۳). روند سیتولیز در یاخته‌های نکروتیک بخش آگزوکرینی و در نهایت از بین رفتن آسینی‌ها در اکثر مناطق نیز

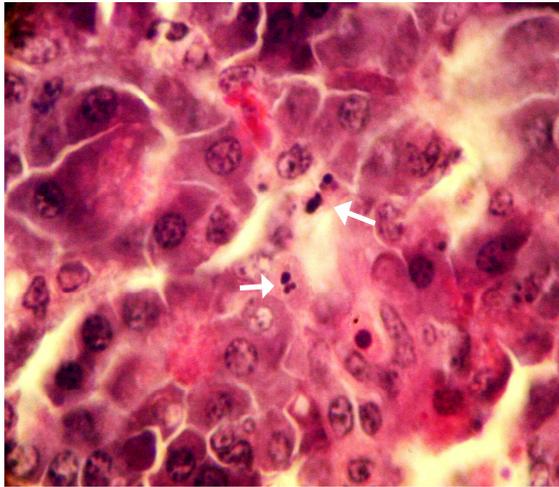
دختران یک تا چهار ساله هنگ کنگی که از بیماری شبیه آنفلوآنزا بهبود یافته بودند، جدا شده است. پنج مورد جداسازی ویروس H9N2 از انسان در آگوست سال ۱۹۹۸ نیز گزارش شده است (۸).

تشدید بیماری‌زایی سویه H9N2 ویروس آنفلوآنزا A جدا شده از جوجه در چین توسط عفونت هم‌زمان باکتریایی نظیر استافیلوکوک طلایی و هموفیلوس پاراگالیناروم به اثبات رسیده است (۱۰). با آگاهی از این‌که چگونه ویروس‌های آنفلوآنزا با سلول‌های میزبان وارد عمل می‌شوند و این‌که چگونه و از چه مکانیسم‌ها و مسیرهایی مرگ سلولی را در سلول‌های میزبان القاء می‌کنند، یافتن راهکار مناسب در برخورد با این بیماری آسانتر شده است. مرگ سلول‌ها به‌صورت نکروز در موارد پاتولوژیک نظیر عفونت‌های ویروسی تخریب‌کننده اهمیت دارد، لکن تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که بسیاری از ویروس‌ها از جمله ویروس آنفلوآنزا از طریق القاء آپوتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده باعث مرگ سلول‌های میزبان می‌گردند (۳، ۵ و ۱۱). ویروس آنفلوآنزا در بافت‌های مختلف موجب آسیب می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات مرگ سلولی متعاقب تلقیح ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2 در بافت لوزالمعده طیور می‌باشد. با توجه به اهمیت بیماری آنفلوآنزای طیور و گسترش روزافزون بیماری در بین جمعیت دامی و انسانی نیاز است تا هر چه بهتر پاتوژن‌های بعضی از سویه‌های ویروسی نظیر سویه H9N2 از نظر آسیب‌های سلولی مورد ارزیابی قرار گیرند. لذا این مطالعه می‌تواند در راستای پاتوژن بیماری آنفلوآنزای طیور بسیار مفید واقع گردد.

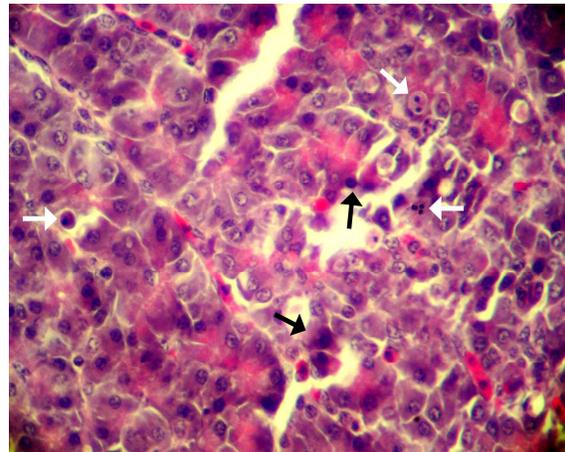
### مواد و روش کار

در این مطالعه ویروس آنفلوآنزای طیور تحت تیپ H9N2 (A/chicken/Iran/772/2000) که با دو تکرار در تخم‌مرغ‌های جنین‌دار کلون شده بود، به جوجه‌های SPF (Valo Lohman, Germany) در سن ۳ هفته‌گی به روش قطره بینی تلقیح گردید. ابتدا جوجه‌های SPF به‌طور تصادفی

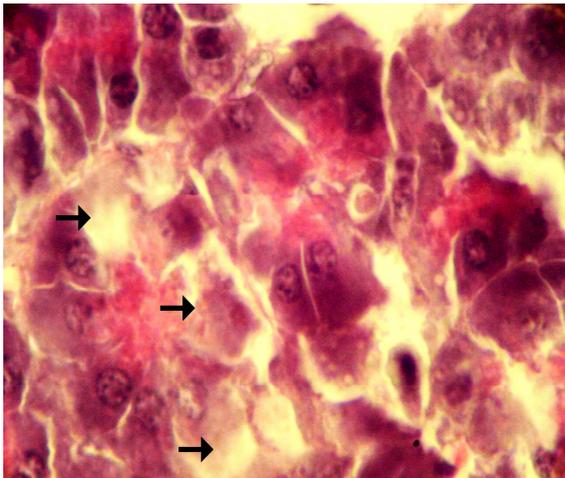
به وضوح قابل مشاهده بود (نگاره ۴). در بخش آندوکرینی لوزالمعده پرخونی جزایر لانگرهانس آلفا و آسیب سلول‌های حاشیه‌ای در مجاورت بخش آگزوکرینی آسیب دیده، در اکثر مناطق دیده می‌شد (نگاره ۵). پرخونی، تخریب و تحلیل جزایر لانگرهانس بتا، متعاقب آسیب سلول‌های آگزوکرینی مجاور، به وضوح قابل مشاهده بود (نگاره ۵).



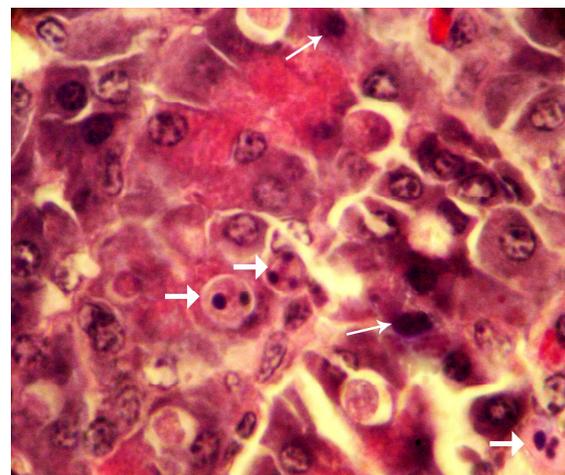
نگاره ۳- نمای دیگر با درشت‌نمایی بیشتر از سلول‌های آپوتوتیک و نکروتیک بخش آگزوکرینی لوزالمعده جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2. متراکم و قطعه قطعه شدن کروماتین همراه با افزایش اتوزینوفیلی سیتوپلاسم (فلش‌ها) که از اشکال نمادین آپوتوز در سلول‌ها می‌باشد، در سلول‌های آگزوکرینی کاملاً مشخص می‌باشد (هماتوکسیلین- اتوزین، بزرگنمایی  $\times 600$ ).



نگاره ۱- نمای ریزبینی از بخش آگزوکرینی لوزالمعده جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2. به تغییرات هسته و سیتوپلاسم سلول‌های آسینی‌ها (فلش‌های تیره) در اثر نکروز توجه فرمائید. سلول‌های آپوتوتیک (فلش‌های روشن) نیز در این قسمت به وفور قابل مشاهده هستند (هماتوکسیلین- اتوزین، بزرگنمایی  $\times 250$ ).



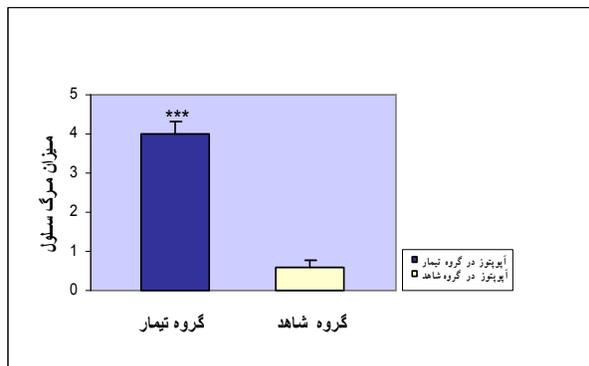
نگاره ۴- نمای ریزبینی از بخش آگزوکرینی لوزالمعده جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2. تجزیه سلول‌های نکروتیک (فلش‌ها) بخش آگزوکرینی و از بین رفتن آسینی‌ها مشخص می‌باشد (هماتوکسیلین- اتوزین، بزرگنمایی  $\times 600$ ).



نگاره ۲- نمای ریزبینی با درشت‌نمایی بیشتر از سلول‌های آپوتوتیک (فلش‌های ضخیم) و نکروتیک (فلش‌های نازک) بخش آگزوکرینی لوزالمعده جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2 (هماتوکسیلین- اتوزین، بزرگنمایی  $\times 600$ ).

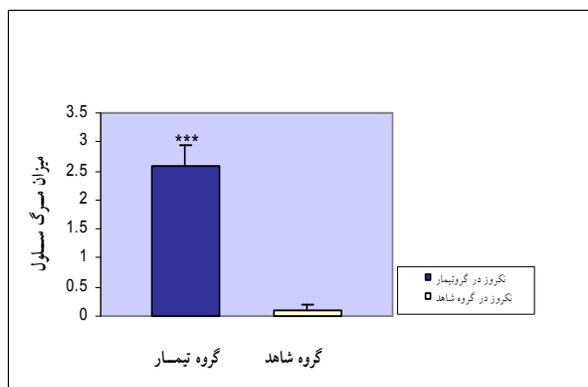
### آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده با آزمون  $T$  ( $t$ -test) نشان داد که میانگین تعداد سلول‌های آپوآپتوتیک و نکروتیک گروه تیمار با گروه شاهد، اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.005$ ) دارد (نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار ۱- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های آپوآپتوتیک در بافت لوزالمعده گروه‌های شاهد و تیمار. داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه شده است.

$P < 0.005$  :\*\*\*

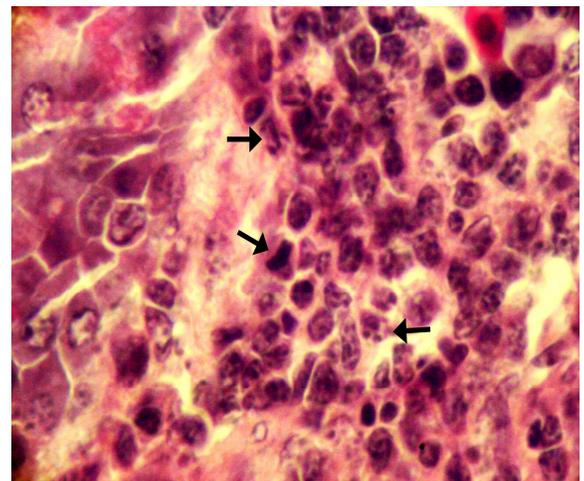


نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های نکروتیک در بافت لوزالمعده گروه‌های شاهد و تیمار. داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه شده است.

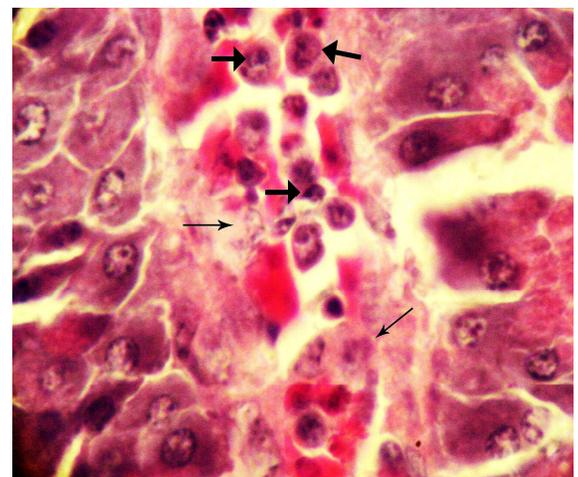
$P < 0.005$  :\*\*\*

### بحث و نتیجه‌گیری

Mehranpour و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطالعه‌ای بر روی تأثیر ویروس H5N1 در بوقلمون‌ها انجام داد و به این نتیجه رسیدند که بیشترین ضایعات در مغز، لوزالمعده و لوزه‌های سکوم رخ داده است (۱۰)، همچنین Kwon



نگاره ۵- نمای ریزبینی از بخش آندوکرینی لوزالمعده (قسمتی از یک جزیره آلفا) در جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2 آسیب در سلول‌های حاشیه‌ای (فلش‌ها) که در مجاورت بخش آگزوکرینی تخریب شده قرار دارند، قابل مشاهده است (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $\times 600$ ).



نگاره ۶- نمای ریزبینی از بخش آندوکرینی لوزالمعده (قسمتی از یک جزیره بتا) در جوجه آلوده شده با ویروس آنفلوآنزای سروتیپ H9N2. پرخونی و تحلیل جزیره لانگرهانس بتا، متعاقب بروز آسیب در سلول‌های آگزوکرینی مجاور، قابل ملاحظه است. به سلول‌های بتا (فلش‌های ضخیم) که دچار نکروز شده‌اند، توجه شود (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $\times 600$ ).

اکسیژن، کاسپازهای ۸ و ۹ و به دنبال آن‌ها کاسپازهای ۳، ۶ و ۷ نیز فعال و مسیر آپوپتوزیس راه‌اندازی می‌گردد (۷، ۱۵ و ۱۶). با توجه به مطالب ارائه شده توجیح تغییرات مرگ سلولی متعاقب عفونت با ویروس آنفلوانزای سروتیپ H9N2 احتمالاً از این مسیر می‌باشد. بیان مکانیسم‌های دقیق ملکولی در مورد عملکرد سروتیپ H9N2 نیاز به مطالعات تکمیلی دارد، اما در مطالعات مقایسه‌ای که Mo و همکاران در سال ۱۹۹۷ با سایر سروتیپ‌های مختلف ویروس آنفلوانزا (H7N7, H4N8, H5N2, H5N9) انجام داده‌اند، ضایعات ایجاد شده توسط سروتیپ‌های H5N2 و H7N7 در حد متوسطی بوده و ۵۲٪ ضایعات در بافت لوزالمعده جوجه‌ها ایجاد شده است که به صورت نکروز انعقادی و واکنش شدن آسین‌ها بوده است (۱۱)، در حالی که در مطالعه ما علاوه بر نکروز سلولی، آپوپتوزیس نیز در سلول‌های آسینی و سلول‌های جزائر آلفا و بتا مشاهده شده است. با این اوصاف می‌توان به این نتیجه رسید که سروتیپ‌های متعدد ویروس آنفلوانزا در مرگ سلولی نقش داشته و سروتیپ H9N2 نیز از این قاعده مستثنی نیست (۹).

نتایج بررسی Ito و همکاران در سال ۲۰۰۲ و Schultz و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داده است که رپلیکاسیون سروتیپ H7N7 در بافت لوزالمعده نسبت به سایر سروتیپ‌های H5N1 و H5N3 بیشتر بوده و ایشان به نقش پروتئین غیرساختاری ویروس آنفلوانزا یا NS1 در القاء آپوپتوزیس اشاره نموده‌اند (۵ و ۱۳).

محققان دریافته‌اند که ویروس آنفلوانزای سویه H9N2 شاید با فعال‌سازی تأخیری TGF- $\beta$  توسط NA باعث فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی می‌گردد، آن‌ها با بیان مکانیسم‌های درون‌زاد آپوپتوزیس متعاقب عفونت ویروسی، ارتباط مشخصی را بین ویروس آنفلوانزا و آپوپتوزیس یافتند که در بیان مسیرهای القاء آپوپتوزیس سلول‌های بافت پانکراس در جوجه‌ها می‌توان به نقش مؤثر این موارد در بیان تغییرات مرگ

همکاران در سال ۲۰۰۵ به تأثیر این سروتیپ ویروس آنفلوانزا در بافت‌های قلب و لوزالمعده اشاره نموده و به آسیب سلولی در بافت لوزالمعده اشاره و نتایج معنی‌داری را در مطالعات خودشان به دست آوردند (۶).

در مطالعه حاضر نیز اختلاف معنی‌داری از نظر آسیب سلولی بافت لوزالمعده وجود داشته است که در واحدهای آسینی و جزائر آلفا و بتا مشاهده گردیده است. در سایر پرندگان نظیر Zebra Finches و House Finches نیز با تلقیح سروتیپ A/chicken/Hong Kong/220/97/H5N1 به شیوه داخل بینی ایجاد واگیری و تلفات بعد از ۱۰ روز با ضایعات بافتی به شکل نکروز منتشر و پانکراتیت چرکی گزارش شده است، که این حالت از نظر نکروز منتشر بافتی با نتایج بررسی حاضر مشابه می‌باشد (۱۲).

آپوپتوز از دیگر یافته‌ها در مطالعه حاضر می‌باشد که شاید با مکانیسم‌های متعددی همراه بوده است. Kunio و همکاران (۲۰۰۳)، در مطالعه خود به نقش القاگر هم‌گلویتین ویروس آنفلوانزا اشاره نموده و الحاق این عامل ویروسی به سیالوگلیکوپروتئین سطح سلولی و بیان سیتوکین‌های آماسی نظیر TNF- $\alpha$ ، IL-6، IL-1 $\beta$  (Tumor Necrotizing Factor  $\alpha$ )، INF- $\beta$ ، INF- $\gamma$  و GM (Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor) را از عوامل مؤثر در القاء آپوپتوز دانسته‌اند (۱۶)، اما امروزه مهمترین مکانیسم پذیرفته شده، نقش عامل نورآمینیداز با واسطه TGF- $\beta$  (Trasforming Growth Factor- $\beta$ ) می‌باشد. رادیکال‌های آزاد حاصله از استرس‌های اکسیداتیو نیز احتمالاً در بروز مرگ سلولی لوزالمعده مؤثر بوده است، زیرا در عفونت‌های ویروس آنفلوانزا میزان بیان mRNA وابسته به GST- $\beta$  (Glutathione S-Transferase- $\beta$ ) و MN-SOD (Mn-Superoxide Dismotase) کاهش یافته و بنابراین با افزایش استرس‌های اکسیداتیو سلولی و رادیکال‌های آزاد

سلولی و اختلاف معنی دار نتایج به دست آمده اشاره نمود (۹)، (۱۴ و ۱۷)، در مجموع بایستی اذعان داشت که هر دو الگوی مرگ سلولی (نکروز و آپوپتوزیس) متعاقب عفونت با ویروس آنفلوانزا در بافت لوزالمعده جوجه‌ها قابل رؤیت بوده و بایستی در مورد سروتیپ H9N2 برای روشن تر شدن مکانیسم‌های مرگ سلولی مطالعات ملکولی بیشتری انجام گردد.

## تشکر و قدردانی

با تشکر از همکاران حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز.

## فهرست منابع

۱. دوستار، ی. (۱۳۸۳): مطالعه آزمایشی آپوپتوزیس القاء شده توسط ویروس عامل بیماری بورس عفونی جوجه‌ها با استفاده از متد تشخیصی TUNEL و میکروسکوپ الکترونی. پایان‌نامه جهت دریافت دکترای تخصصی دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، صفحات: ۱۸۴-۱۸۰.
۲. حبل‌الورید، م، سهرابی حقدوست، ا، پوربخش، س.ا. و غلامی، م.ر. (۱۳۸۲): مطالعه هیستوپاتولوژیک ضایعات ناشی از تزریق داخل وریدی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> ویروس آنفلوانزای تیپ A در جوجه، مجله علمی-پژوهشی انیستیتو تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی، شماره ۵۵، صفحات: ۵۱-۴۱.
3. Barber, G.N. (2001): Host defense viruses and apoptosis. *Cell Death Differ.*, 8: 113-26.
4. Frankfurt, O.S. and Krishan, A. (2001): Identification of apoptotic cells by formaldehyde-induced DNA denaturation in condensed chromatin. *Histochem Cytochem.*, 49: 369-78.
5. Ito, T., Kobayashi, Y., Morita, T., Horimoto, G. and Kawaoka, Y. (2002): Virulent influenza A viruses induces apoptosis in chickens. *Virus Res.*, 84: 27-35.
6. Kwon, Y.K., Joh, S.J. and Kim, M.C. (200): Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the commercial domestic ducks of South Korea. *Avian Pathol.*, 34(5): 367-370.
7. Kunio, O., Manabu, N., Bo, Y., Toshio, B. and Toshio, Y. (2003): Apoptosis induced by influenza virus-hemagglutinin stimulation may be related to fluctuations of cellular oxidative condition. *Biol. Pharma. Bull.*, 26: 141-147.
8. Liu, J., et al. (2003): H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> influenza viruses prevalent in poultry in china is phylogenetically distinct from A/quail/ Hong kong/G1/97 presumed to be the donor of the internal protein genes of the H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> Hong Kong/ 97 virus. *Avian Pathology*, 32: 552-560.
9. Morris, J., Nightingale, S., Harry, S. and Clive, S. (2005): Influenza, A. Virus induced apoptosis is a multifactorial process: Explanting reverse genetics to elucidate the role of influenza A virus proteins in virus-induced apoptosis. *Virology*, 335: 198-211.
10. Mehranpour, M.J., Dadras, H., Khodakaram-Tafti, A., Rahimian, A. and Toffan, A. (2007): Pathological finding of highly pathogenic avian influenza virus A/Duck/Vietnam/12/2005(H5N1) in turkey. *International Journal of Poultry Science*, 9: 679-683.
11. Mo, O.I., Brugh, M., Fletcher, J., Rowland, G.N. and Swayne, H. (1997): Comparative pathology of chickens experimentally inoculated with avian influenza virus of low and high pathogenicity. *Avian Disease*, 41:125-136.
12. Perkins, L.E.L. and Swayne, D. (2003): Varied pathogenicity of a hong kong-origin H5N1 avian influenza virus in four passé ring species and budgerigars. *Vet. Pathol.*, 40: 14-24.
13. Schultz, C., Stacey, D.S., Neumann, N., Kawaoka, G. and Shaw, H. (2002): Influenza Virus NS1 protein Induces Apoptosis in cultured cells. *Virginia*, 75: 17-22.
14. Schultz, C., Koci, M., Thompson, E. and Tumpey, T.M. (2003): Examining the cellular pathways involved in influenza virus induced apoptosis. *Avian Diseases*, 968-71.
15. Schultz, R., Harrington, J. and William, J.R. (2003): Apoptosis: Programmed cell death at a molecular level. *Semin. Arthritis Rheum.*, 32:345-369.

16. Suarez, D.L. and Schultz-Cherry, S. (2000): Immunology of avian influenza Virus. A review of avian influenza virus, 24: 269-283.
17. Zambon, M.C. and Meduiro, R. (2001): Pathogenesis of influenza A and B in humans. Rev. Med. Viro., 11: 227-41.

## **Experimental study of apoptosis in pancreas of SPF chickens following infection by H9N2 serotype of influenza virus**

**Doustar, Y.<sup>1\*</sup>, Mohajeri, D.<sup>1</sup>**

1-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

\*Corresponding author's email: [vetdoustar@yahoo.com](mailto:vetdoustar@yahoo.com)

(Received: 29.1.2008, Accepted: 27.8.2008)

---

### **Abstract**

Influenza virus is the cause of cell death in animal and human tissues. Cell death can take place in the form of necrosis or apoptosis. In this study, the type of cell death in the pancreatic tissue of chickens infected by H9N2 serotype of influenza virus (A/chicken/Iran/772/2000) is experimentally investigated. In the present study, 20 SPF chickens with the age of 3- weeks were randomly allocated to two equal groups. The first group was infected with 0.2 ml of 1:10 dilution and  $10^{7.5}$  EID<sub>50</sub> titer of the virus and the second group with equal volume of normal saline solution intranasally. After 72 hours, specimens were collected from the pancreatic tissue and 5 µm thick microscopic sections were prepared from specimens fixed in 10% buffered formalin and stained with hematoxylin and eosin. Histopathological examination of the pancreatic tissue revealed that there was significant difference in the mean number of apoptotic and necrotic cells between the control and treatment groups ( $p < 0.005$ ). The results of this study indicated that the H9N2 serotype of influenza virus has the potential to induce apoptosis in acinar, alpha and beta islet cells of pancreas.

**Keywords:** Avian Influenza virus, apoptosis, pancreas, chicken