

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
VPT-DR-2010-0001**

**KÖPEK MEME TÜMÖRLERİNİN TANISINDA
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
İNCELEMELER**

Ahmet AYDOĞAN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nursal METİN**

AYDIN-2010

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Patoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Ahmet AYDOĞAN tarafından hazırlanan **“Köpek Meme Tümörlerinin Tanısında Histopatolojik ve Immunohistokimyasal İncelemeler”** başlıklı tez, 22/04/2010 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

- 1- Prof. Dr. Nursal METİN
- 2- Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ
- 3- Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN
- 4- Prof. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU
- 5- Doç. Dr. Nihat TOPLU

Üniversitesi :

- ADÜ-Veteriner Fakültesi
- Fırat Üniversitesi Vet. Fak.
- ADÜ-Veteriner Fakültesi
- ADÜ Veteriner Fakültesi
- ADÜ Veteriner Fakültesi

İmzası:



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun 20/07/2010 Sayılı kararıyla 30/04/2010 tarihinde onaylanmıştır.


Doç. Dr. Muharrem BALKAYA
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Son yıllarda, ülkemizde ve Ege Bölgesinde pet hayvan yetiştiriciliği önemli boyutlara ulaşmış, altı yaş ve üzeri dişi köpeklerde meme bezi tümörü insidensinde artışlar dikkat çekici olmuştur. Buna paralel olarak, söz konusu hayvanlara ait, fakültemiz Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı ile çevre illerdeki veteriner kliniklerinden laboratuvarımıza daha fazla oranda meme bezi biyopsi materyali gönderilmektedir.

Köpek meme bezi tümörlerinin, histopatolojik yöntemlerle tanısında, farklı kriterler göz önünde bulundurularak değişik sınıflandırmalar yapılmıştır. Bu sınıflandırmalardan en yaygın kullanılanı, WHO-AFIP (World Health Organization–Armed Forces Institute of Pathology) tarafından yapılan sınıflandırmadır. Çalışmamızda da histopatolojik tanı, bu sınıflandırma esas alınarak yapılmıştır.

Histopatolojik yöntemle, tanıda, tümörün köken aldığı dokunun ortaya konulmasında zaman zaman güçlüklerle karşılaşmaktadır. Örneğin, histopatolojik olarak tubulopapillar karsinom tanısı konan bir tümörde, immunohistokimyasal boyamalarla miyoepitel hücre proliferasyonu da gözlenmekte ve tanı kompleks karsinom olarak değişebilmektedir. Nitekim çalışmamızda da, benzeri değişiklikler söz konusu olmuştur. Bu nedenle, insan hekimliğinde, tümör tanısında çok yaygın olarak kullanılan immunohistokimyasal teknik, güvenilir bir tanı için veteriner hekimliğinin de vazgeçilmez bir gereksinimi haline gelmiştir.

İmunohistokimyasal teknikte sonuçlar, ekspresyon, immun pozitif boyanma, pozitif boyanma, pozitif reaksiyon gibi değişik terimler kullanılarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızın sonuçlarının değerlendirilmesinde, “ortaya koyma, dışarı çıkarma” anlamında olan ekspresyon teriminin kullanılması uygun görülmüştür.

“Köpek meme tümörlerinin tanısında histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler” isimli bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY.....	I
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	V
ÇİZELGELER.....	VI
RESİMLER.....	VII
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Köpeklerde meme bezi morfolojisi	2
1.2. Köpek meme bezi tümörleri.....	3
1.3. Köpek meme bezi tümörlerinde etiyoloji.....	4
1.4. Köpek meme bezi tümörlerinde tanı ve prognoz.....	5
1.5. Köpek meme bezi tümörlerinde sınıflandırma.....	7
1.5.1. Malign tümörler.....	8
1.5.1.1. Non infiltratif (in situ) karsinom.....	8
1.5.1.2. Kompleks karsinom.....	8
1.5.1.3. Basit-Yalın karsinom.....	9
1.5.1.3.1.Tubulopapillar karsinom.....	9
1.5.1.3.2.Solid karsinom.....	10
1.5.1.3.3.Anaplastik karsinom.....	11
1.5.1.4.Özel tip karsinomlar.....	11
1.5.1.4.1.İğ hücreli karsinom.....	11
1.5.1.4.2.Yassı hücreli karsinom.....	11
1.5.1.4.3.Müsinöz karsinom.....	12
1.5.1.4.4.Lipid rich karsinom.....	12
1.5.1.5.Sarkomlar.....	13
1.5.1.5.1.Fibrosarkom.....	13
1.5.1.5.2.Osteosarkom.....	13
1.5.1.6.Karsinosarkom.....	14
1.5.2.Benign tümörler.....	14
1.5.2.1.Basit- Yalın adenom.....	14
1.5.2.2.Bazaloid adenom.....	15
1.5.2.3.Kompleks adenom.....	15
1.5.2.4.Fibroadenom.....	16
1.5.2.5.Benign miks tümör.....	16
1.5.2.6.Duktal papillom.....	16
1.6. Meme tümörlerinin immunohistokimyasal tanısında kullanılan bazı önemli markırlar.....	17
1.6.1.Kalponin.....	17
1.6.2.Sitokeratin AE1-AE3.....	17
1.6.3.Vimentin	18
1.6.4.Düz kas aktin.....	18
1.7. Çalışmanın amacı.....	18
2.GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
2.1.Hayvan ve doku.....	19
2.2.Histopatolojik inceleme.....	19
2.3.İmmunohistokimyasal inceleme.....	20

3.BULGULAR.....	23
3.1. İn situ karsinom.....	23
3.1.1.Histopatolojik bulgular.....	23
3.1.2.İmmunohistokimyasal bulgular.....	24
3.2.Kompleks karsinom.....	24
3.2.1.Histopatolojik bulgular.....	24
3.2.2. İmmunohistokimyasal bulgular.....	24
3.3.Tubulopapillar karsinom.....	25
3.3.1.Histopatolojik bulgular.....	25
3.3.2. İmmunohistokimyasal bulgular.....	26
3.4.Solid karsinom.....	26
3.4.1.Histopatolojik bulgular.....	26
3.4.2. İmmunohistokimyasal bulgular.....	26
3.5.İğ hücreli karsinom.....	27
3.5.1.Histopatolojik bulgular.....	27
3.5.2. İmmunohistokimyasal bulgular.....	27
3.6.Karsinosarkom.....	27
3.6.1.Histopatolojik bulgular.....	27
3.6.2. İmmunohistokimyasal bulgular.....	28
4.TARTIŞMA.....	47
5.SONUÇ.....	55
ÖZET.....	56
SUMMARY.....	57
KAYNAKLAR.....	58
TEŞEKKÜR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	70

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
°C	Santigrad derece
ml	Mililitre
ABC	Avidin-biotin peroksidaz kompleks
AFIP	Armed Forces Institute of Pathology
Ark	Arkadaşları
DAB	3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride
HE	Hematoksilen ve eozin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
kDa	Kilodalton
PAS	Periodic acid schiff
PBS	Fosfat tamponlu solüsyonu (Phosphate buffer saline)
pH	Asit ve alkali yoğunluğunun göstergesi
W	Watt
WHO	World Health Organization

ÇİZELGELER

Çizelge no	Açıklama	Sayfa
Çizelge 1.	Gönderilen meme bezi tümörlerinin ait oldukları hayvanlara ilişkin ırk, yaş ve tümörlerin meme loblarına dağılımı	21
Çizelge 2.	Kullanılan markırlar, bu markırların boyadığı dokular, sulandırma oranları ve hücrel lokalizasyonları	22
Çizelge 3.	Histopatolojik bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı (%)	29
Çizelge 4.	İmmunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı (%)	29
Çizelge 5.	İmmunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve tanı	30
Çizelge 6.	İncelenen meme bezi tümörlerinde immunohistokimyasal ekspresyon yoğunluğu	31

RESİMLER

Resim no	Açıklama	Sayfa
Resim 1.	İn situ karsinom; tubuler yapılar oluşturan epitel hücre proliferasyonları (oklar); olgu no:26, HE. Bar=50 µm	32
Resim 2.	İn situ karsinom; tubuler yapılar oluşturan epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu; olgu no: 15, ABC metot, Bar=20 µm.	32
Resim 3.	Kompleks karsinom; tubuler yapılar oluşturan atipik epitel hücreleri (ok başları) ve mononükleer hücre infiltrasyonu (ok); olgu no:21, HE. Bar=20 µm.	33
Resim 4.	Kompleks karsinom; tubuler yapılar oluşturan atipik epitel hücreleri (ok başı), intertubuler alanda geniş, poligonal ve saydam sitoplazmalı hücreler (kalın ok) ile atipik iğ hücreleri (ince ok); olgu no:16, HE. Bar=20 µm.	33
Resim 5.	Kompleks karsinom; stromada embriyonal bağ doku artışı (EB); olgu no: 17, HE. Bar=50 µm.	34
Resim 6.	Kompleks karsinom; lümen epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 24, ABC metot, Bar=20 µm.	34
Resim 7.	Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerinde (iğ hücreleri) kalponin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 24, ABC metot, Bar=20 µm.	35
Resim 8.	Kompleks karsinom; geniş, poligonal ve saydam sitoplazmalı hipertrofik miyoepitel hücrelerinde kalponin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 8, ABC metot, Bar=20 µm.	35
Resim 9.	Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerde düz kas aktin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 19, ABC metot, Bar=20 µm.	36
Resim 10.	Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerde vimentin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 9, ABC metot, Bar=20 µm.	36
Resim 11.	Tubulopapillar karsinom; atipik epitel hücrelerinden oluşan tubuler yapılar (oklar); olgu no: 37, HE. Bar=50 µm.	37
Resim 12.	Tubulopapillar karsinom; tubul lümenine doğru papillar uzantılar (oklar); olgu no: 33, HE. Bar=20 µm.	37
Resim 13.	Tubulopapillar karsinom; tubulus (ok başları) ve papillar uzantıların (oklar) epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu; olgu no: 27, ABC metot, Bar=50 µm.	38
Resim 14.	Tubulopapillar karsinom; tubulus epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 27, ABC metot, Bar=20 µm.	38
Resim 15.	Tubulopapillar karsinom; tubulusların etrafını çeviren normal miyoepitel hücre tabakasında kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 32, ABC metot, Bar=20 µm.	39

Resim 16.	Solid karsinom; solid epitel hücre proliferasyonları; olgu no: 12, HE. Bar=50 µm.	39
Resim 17.	Solid karsinom; epitel hücre proliferasyonları (E) ve stromada geniş koagülasyon nekrozu (N); olgu no: 12, HE. Bar=50 µm.	40
Resim 18.	Solid karsinom; epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu; olgu no: 12, ABC metot, Bar=20 µm.	40
Resim 19.	İğ hücreli karsinom; intertubuler alanda atipik iğ hücre proliferasyonları (oklar); olgu no: 39, HE. Bar=20 µm.	41
Resim 20.	İğ hücreli karsinom; intertubuler alanda iğ hücrelerinde kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 39, ABC metot, Bar=20 µm.	41
Resim 21.	Karsinosarkom; solid epitel hücre proliferasyonları (K); hyalinize kondroid matriks ve kondrositler (S); artefakt (ok); olgu no: 13, HE. Bar=50 µm.	42
Resim 22.	Karsinosarkom; osteoid üretimiyle karakterize kemik yapılar; olgu no:02, HE. Bar=50 µm.	42
Resim 23.	Karsinosarkom; kondroid matriks ve lakunalarda yer alan kondrositler (sarkomatöz alan); olgu no: 31, HE. Bar=50 µm.	43
Resim 24.	Karsinosarkom; tubulopapillar (oklar) ve kıkırdak (K) yapıların iç içe geçtiği alanlar; olgu no: 02, HE. Bar=50 µm.	43
Resim 25.	Karsinosarkom; sarkomatöz alanlarda osteoklast benzeri çok çekirdekli dev hücreler (oklar); olgu no: 28, HE. Bar=20 µm.	44
Resim 26.	Karsinosarkom; karsinomatöz alanda epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 18, ABC metot, Bar=20 µm.	44
Resim 27.	Karsinosarkom; karsinomatöz alanda epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 22, ABC metot, Bar=20 µm.	45
Resim 28.	Karsinosarkom; karsinomatöz alanda tümör yapısına katılan miyoepitel hücrelerde kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.	45
Resim 29.	Karsinosarkom; karsinomatöz alanda tümör yapısına katılan miyoepitel hücrelerde düz kas aktin ekspresyonu (ok başları), olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.	46
Resim 30.	Karsinosarkom; sarkomatöz alanda kıkırdak dokuda vimentin ekspresyonu (oklar); olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.	46

1. GİRİŞ

Toplumlarda hayvan sevgisinin artması, evlerde iyi bakım ve besleme koşulları ile ilgili olarak, uzun yıllar yaşatılabilen köpeklerde, yaşla birlikte tümörlerin yüksek oranda görülmesi dikkat çekici olmuştur (Las Mulas ve Reymundo 2008). Bunun yanı sıra, son yıllarda, Türkiye’de dişi köpeklerde meme bezi tümörlerinin insidensinin oldukça artış gösterdiği de bildirilmiştir (Vural ve Aydın 2001).

Köpeklerde meme bezi tümörlerinin, duktusları ve asinusları döşeyen epitel hücrelerinden, miyoepitel hücrelerden ya da bunları çevreleyen bağ dokudan köken aldıkları belirtilmiştir. Veteriner hekimliğinde, meme bezi tümörlerinin tanısında zaman zaman güçlüklerle karşılaşmakta ve bu güçlüklerin en başında tümörün köken aldığı dokunun histopatolojik yöntemle ortaya konulamaması gelmektedir. Bu nedenle, güvenilir bir tanı için immunohistokimyasal tekniklerin de kullanılmasının gerektiği vurgulanmıştır (Karelina ve Golubeva 1983, Milli ve ark 2000, Monteros ve ark 2002, Brunetti ve ark 2003b, Sassi ve ark 2008).

İmmunohistokimyasal teknikler, tümörün köken aldığı dokuyu belirleyerek objektif tanıya olanak sağlarlar. Bu tekniklerde kullanılan monoklonal ve poliklonal markırlar insan kökenlidir. Deneysel çalışmalarda, insan ve köpek dokularında eşdeğer immunreaksiyonların meydana geldiği gösterilmiş ve insanlarda kullanılan bu markırların köpeklerde de güvenilir bir şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir (Hellmén ve Lindgren 1989).

1.1. Köpeklerde meme bezi morfolojisi

Meme bezleri, birleşik tubulo-alveoler yapıda, ter bezlerinden modifiye olmuş, süt salgılayan, epiteliyal glandular doku (lobuli glandulae mammae) ve konnektif dokudan oluşan deri bezleridir (Evans 1993, Tanyolaç 1999, Aughey ve Frye 2001). Sulkus intermammarius'un her iki yanında, ventral torakal bölgeden inguinal bölgeye kadar simetrik bir sıra halinde yer alırlar (Evans 1993). Dişi köpekler, her bir tarafta beş sıra meme bezi kompleksine sahiptir. Bunlar; kranyal ve kaudal torakal meme bezi kompleksi; kranyal ve kaudal abdominal meme bezi kompleksi ile inguinal meme bezi kompleksidir (Evans 1993, Tanyolaç 1999, Budras ve ark 2009). Kan, lenf dolaşımı ve sinirsel innervasyonuna göre, kranyal abdominal meme bezi ve iki torakal meme bezi kompleksini kapsayan kranyal bir bölge; kaudal abdominal meme bezi ile inguinal meme bezini kapsayan kaudal bir bölge vardır (Evans 1993, Budras ve ark 2009). Kranyal bölgenin lenfatik drenajı aksillar lenf düğümü ile; kaudal bölgenin lenfatik drenajı ise süperfisyal inguinal lenf düğümü ile gerçekleştirilir (Evans 1993, Patsikas ve ark 2006). Ana ven, kranyal ve kaudal süperfisyal epigastrik vendir. Torasik meme bezleri interkostal ve lateral torasik arterler tarafından; abdominal ve inguinal meme bezleri ise epigastrik arterin dalları tarafından beslenir (Evans 1993).

Her bir meme bezi musküler fibroelastik bir kapsülle çevrilidir, bu kapsül bezin içine uzantılar verir ve bezi birleşik bezlerin çoğunda olduğu gibi lob ile lobüllere ayırır (Aughey ve Frye 2001). Alveoler yapı korpus glandule için, tubuler yapı da akıtıcı kanallar için geçerlidir (Tanyolaç 1999, Aughey ve Frye 2001). Duktusların terminal bölümleri sekretorik sakkuluslar (alveoller) olarak genişler. Miyoepitel hücreler ise sekretorik hücrelerle bazal membran arasında bulunurlar (Aughey ve Frye 2001, Hellmen 2005). Her lob fibroadipöz doku içinde dallanan laktiferöz kanallar içerir. Her laktiferöz kanal prizmatik ya da kübik epitelle ve bunların çevresinde devamlılık göstermeyen miyoepitel hücre tabakası ile kaplıdır (Aughey ve Frye 2001, Kierszenbaum 2006).

Laktasyonda olmayan dişi köpekte glandular ve adipöz doku çok az gelişmiştir. Sekretorik doku, sadece gebelik, yalancı gebelik ve laktasyon dönemlerinde önemli derecede artış gösterir. Gebelik sırasında, östrojen, progesteron ve büyüme faktörlerinin varlığında prolaktin ve plasental laktojen süt kanallarının ve dallara ayrılmış kanalların sonlarında yer alan, salgı yapan alveollerin gelişimini uyarır. Laktasyon sırasında,

laktiferöz kanal sistemi ve lobüler alveoler doku tam gelişmiştir ve fonksiyoneldir (Evans 1993, Kierszenbaum 2006). Gebelikle birlikte, tomurcuklanma, dallanma ve lümen şekillenmesi artar. Bu durum, yükselen kan östrojen seviyesi ile uyarılır. Gebeliğin ikinci yarısında meme bezi kanallarının sonlarında alveollerin gelişmesi ise progesteronun etkisiyle meydana gelir. Yaklaşık otuz gün süren laktasyon periyodunda, süt sekresyonu alveoller tarafından temin edilir. Laktasyon periyodundan sonra, kanal sisteminin büyük bir bölümü ile bez alveolleri gerileyerek küçülürler (Evans 1993, Budras ve ark 2009).

1.2. Köpek meme bezi tümörleri

Köpeklerde meme bezi tümörleri, dişi köpeklerde deri tümörlerinden sonra en sık görülen tümörlerdir (Moulton 1990, Dore ve ark 2003, Hellmen 2005). Çoğunlukla dişi köpeklerde görülür, erkeklerde çok ender olarak bildirilmiştir (Misdorp 2002, Saba ve ark 2007). Dişi köpeklerde görülen tüm tümörlerin yaklaşık % 52'sini meme bezi tümörleri oluştururken, erkek köpeklerde bu oran sadece % 1'dir. Dişi köpeklerde meme bezi karsinomları meme bezinin malign tümörleri içinde en yaygın rastlananlarıdır ve yıllık insidens oranı yaklaşık 198/100000'dir (Misdorp 2002, Argyle ve ark 2008). İncelenen tüm meme bezi tümörleri içerisinde malign olanların oranı % 50'dir (Argyle ve ark 2008). İnsanlar ve köpeklerde, yaşa bağlı olarak meme bezi tümörlerinde insidens, dişi köpeklerde kadınlara göre 3 kez daha fazladır (D'arville ve ark 1980). Köpeklerde meme bezi tümörleri en çok Poodle, English Spaniel, English Setter, English Cocker, Dachshunds, Fox Terriers, Boston Terriers, Cocker Spaniels, Pointers gibi köpek ırklarında ortaya çıkar. Meme bezi tümörleri açısından Boxer, Chihuahua, Labrador Retrievers gibi köpek ırkları ise düşük risk grubundaki köpek ırklarıdır (Zatloukal ve ark 2005, Argyle ve ark 2008). İki yaşından küçük köpeklerde meme bezi tümörleri ender görülmesine rağmen, insidens 6-7 yaşlarından itibaren artış gösterir (Hashimoto ve ark 2002, Zatloukal ve ark 2005). Meme bezi tümörlerinin ortalama görülme yaşı ise 10-11 dir (Argyle ve ark 2008). Bir çalışmada, köpeklerde meme bezi tümörlerinin görülme yaşı ortalama 9.75 olarak (Ünal ve ark 1994); başka bir çalışmada memede displazi, hiperplazi gibi lezyonlar için 8 yaş, benign tümörler için 10 yaş, malign tümörler için de 13 yaş en riskli yaşlar olarak (Zatloukal ve ark 2005);

başka bir çalışmada da 8-10 yaş aralığı en riskli yaşlar olarak bildirilmiştir (Egenvall ve ark 2005).

Türkiye’de, 1973-1998 yılları arasında Ankara Bölgesi’nde incelenen 236 köpek meme bezi tümörünün % 71 ’nin malign, % 29 ’nun ise benign yapıda olduğu saptanmıştır (Vural ve Aydın 2001). Bursa yöresinde 1988-1996 yılları arasında 89 köpekte tespit edilen tümörlerin % 47,2’nin dişi genital sistem ve memede görüldüğü bildirilmiştir (Sönmez ve Özmen 1996). İstanbul Bölgesi’nde ise 1995-2000 yılları arasında 182 adet köpekte tespit edilen tümörlerin % 40,1’nin dişi genital sistemde görüldüğü, dişi genital sistem içerisinde de en çok tümör oluşumuna % 71,23 ile memede rastlandığı kaydedilmiştir (Gülçubuk ve Gürel 2003).

1.3. Köpek meme bezi tümörlerinde etiyoloji

Köpeklerde meme bezi tümörlerinin meydana geliş nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, hormonal düzensizliklerin en önemli neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ayrıca, insanlarda olduğu gibi köpeklerde de obezite ve genetik faktörler, meme bezi tümörlerinin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Osipov ve ark 1972, Misdorp 2002, German 2006).

Gerek steroid hormonlar ve gerekse prolaktin düzensizliklerinin köpeklerde meme karsinogenezisiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Queiroga ve ark 2005). Ayrıca, bir çalışmada, büyüme hormonunun, benign ve malign meme bezi tümörlerinde yüksek düzeyde bulunduğu bildirilmiştir (Mol ve ark 1995). Köpeklerde normal ve neoplastik meme dokusunun gelişimi steroid ve peptid hormonlar ya da büyüme faktörleri tarafından stimüle edilir (Hellmen 2005). Nitekim pek çok çalışmada, östrojen, progesteron, prolaktin ve epidermal büyüme faktörlerine ait reseptörlere normal ve neoplastik meme bezlerinde rastlanmıştır. Benign ve malign meme bezi tümörlerinde östrojen, progesteron ve prolaktin pozitifliği % 40-60 arasında bildirilmiştir (Illera ve ark 2006, Thuroczy ve ark 2007). Östrojen ve progesteron reseptörleri benign olanlarda % 70’in üstünde, malign olanlarda ise % 50’nin üstünde bulunmuştur (Argyle ve ark 2008). Ancak farklı bir çalışmada, östrojen reseptör β ekspresyonu malign tümörlerin kompleks ve miks histolojik alt

tiplerinde basit alt tiplere göre daha yüksek oranda bulunmuştur (Las Mulas ve ark 2004a). Bölgesel ve uzak organ metastazlarında ise steroid reseptörler ile büyüme faktörü negatif olarak saptanmıştır. Andifferensiyel meme bezi karsinomlarında reseptör miktarı iyi differensiyel meme bezi tümörlerine göre daha azdır (Misdorp 2002). Hormonal düzensizliklerin meme bezi tümörü oluşumuna etkilerinden dolayı dişi köpeklerde, erken ovarektomi (2,5 yaşından önce) meme bezi tümörlerine karşı koruyucu bir önlem olarak önerilmektedir (Sonnenschein ve ark 1991, Argyle ve ark 2008).

1.4. Köpek meme bezi tümörlerinde tanı ve prognoz

Meme bezi tümörlerinin hızlı gelişmesi, tümörün boyutu, ülserasyon gibi bazı klinik bulgular kötü huyluluğun belirtileri olmasına rağmen, özellikle köpeklerde sadece bu bulgulara bakarak benign ve malign meme bezi tümörlerinin ayrımını yapmak neredeyse olanaksızdır. Meme bezi hiperplazileri, displazileri, adenomları (benign neoplazileri) ve iyi differensiyel karsinomları çok değişken morfolojik özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, köpeklerde benign ve malign meme bezi tümörleri arasında ayrım yapmakta zaman zaman güçlüklerle de karşılaşılmaktadır (Allen ve ark 1986, Perez Alenza ve ark 1997). Son zamanlarda insan hekimliğinde yaygın şekilde kullanılan, tümörlerin tanısı, prognozu ve sınıflandırılmasında diğer tekniklerden daha güvenli olarak kabul edilen immunohistokimyasal teknikler veteriner hekimliğinde de kullanılmaya başlanmıştır (Mottolise ve ark 1994, Nieto ve ark 2000, Restucci ve ark 2002, Brunetti ve ark 2003b, Las Mulas ve ark 2005, Sassi ve ark 2008).

Rutin muayenelerde tümörün diagnozu histopatolojik yöntemle belirlenir. Bu belirlemede, malignitenin sitolojik kriterleri, anizositozis, nükleus/sitoplazma oranının nükleus lehine artması, nükleolusların sayısı, büyüklük ve şekillerindeki farklılıklar, kromatin granüllerinin büyüklüklerinde farklılıklar, irregular kromatin biçimleri, hücrelerde nükleer ve sitoplazmik membranlarda bozulma ve dev çekirdekli hücre formlarıdır. Bunlara ilaveten, mitotik aktivite ve sellülaritenin derecesi de malignite için önemli kriterlerdir (Dutra ve ark 2004, Dutra ve ark 2008).

Malign meme bezi tümörlerinde sıklıkla bitişik doku ve damar invazyonları görülür. Özellikle bazal membranlarda meydana gelen bozulmalar ya da bazal membranın tamamen yıkımı, köpeklerde meme bezi tümörlerinde malignite için önemli bir kriterdir (Benazzi ve ark 1993). Yumuşak dokular ve deriye infiltrasyon ile tümör hücrelerinin damarlara invazyonları, malign meme bezi tümörlerinin davranışları açısından en önemli kriterler olarak değerlendirilirler. Malign tümörlerde benign tümörlere göre sıklıkla nekrozlara rastlanır (Misdorp 2002, Yamagami ve ark 1996).

Eksizyonel biyopsi örneklerinde, prognoz açısından tümörün sınırları iyi değerlendirilmelidir. Primer tümör ne kadar büyük ve geniş yayılım gösteriyorsa prognoz o kadar kötüdür (Karayannopoulou ve ark 2005). Özellikle meme bezi tümörlerinde, tümör çevresinden başlayan ve median hattı geçen ödemin, uydu nodüllerin ve sert ışınal kordon tarzındaki kitlelerin varlığı kötü prognozun işaretleridir ve prognoz genellikle, ilk mastektomiden sonra hastanın yaşamasının yüzdesi olarak ifade edilir. Köpeklerde değişik çalışmalarda 2 yıl hayatta kalma oranının % 25-40 arasında değiştiği bildirilmiştir (Chang ve ark 2005, Karayannopoulou ve ark 2005).

Meme bezi kanserlerinde uygulanan mastektomiden sonra hastanın asıl ölüm nedeninin metastazlar olduğu belirlenmiş ve en çok torasik bölge ile akciğer metastazlarına rastlandığı bildirilmiştir (Tiemessen 1989, Simon ve ark 2006). Kranyal meme loblarının ilk metastazları aksillar; kaudal meme loblarının ilk metastazları ise inguinal lenf düğümlerinde görülür (Erer ve Kıran 2005, Patsikas ve ark 2006). Bir çalışmada, 672 adet dişi köpekte rastlanan malign meme bezi tümörleri içinde, metastaz oranları bakımından yassı hücreli karsinom % 20 ile en düşük; karsinosarkom ise % 100 ile en yüksek orana sahip tümörler olarak belirlenmiştir. Adenokarsinomlarda ise metastaz oranının % 35 olarak saptandığı bildirilmiştir (Benjamin ve ark 1999). Başka bir çalışmada ise memede solid karsinom, yassı hücreli karsinom, iğ hücreli karsinom, malign mikst tümör ve sarkomlarda diğer tümör tiplerine göre daha sıklıkla metastazların meydana geldiği bildirilmiştir (Perez Alenza ve ark 1997). Köpek meme bezi tümörlerinde lokal ve uzak organ metastazlarının erken tanı ve buna bağlı olarak etkili bir tedaviyle önlenebileceği belirtilmiştir (Novosad 2003).

1.5. Köpek meme bezi tümörlerinde sınıflandırma

Köpek meme bezi tümörlerinde farklı sınıflandırmalar yapılmakla birlikte, WHO-AFIP (World Health Organization–Armed Forces Institute of Pathology) tarafından kullanılan sınıflandırma tercih edilmiştir. Bu sınıflandırmaya göre köpek meme bezi tümörleri:

1.5.1- Malign Tümörler

1.5.1.1- Non infiltratif (in situ) karsinom (Non infiltrative (in situ) Carcinoma)

1.5.1.2- Kompleks Karsinom (Complex Carcinoma)

1.5.1.3- Basit-Yalın Karsinom (Simple Carcinoma)

1.5.1.3.1- Tubulopapillar Karsinom (Tubulopapillary Carcinoma)

1.5.1.3.2- Solid Karsinom (Solid Carcinoma)

1.5.1.3.3- Anaplastik Karsinom (Anaplastic Carcinoma)

1.5.1.4- Özel Tip Karsinomlar

1.5.1.4.1- İğ Hücreli Karsinom (Spindle Cell Carcinoma)

1.5.1.4.2- Yassı Hücreli Karsinom (Squamous Cell Carcinoma)

1.5.1.4.3- Müsinöz Karsinom (Mucinous Carcinoma)

1.5.1.4.4- Lipid-rich Karsinom (Lipid-rich Carcinoma)

1.5.1.5- Sarkomlar

1.5.1.5.1- Fibrosarkom (Fibrosarcoma)

1.5.1.5.2- Osteosarkom (Osteosarcoma)

1.5.1.5.3- Diğer Sarkomlar

1.5.1.6- Karsinosarkom (Carcinosarcoma)

1.5.1.7- Benign tümörlerin karsinom ve sarkomları

1.5.2- Benign Tümörler

1.5.2.1- Basit-Yalın Adenom (Simple Adenoma)

1.5.2.2- Bazaloid Adenom (Basaloid Adenoma)

1.5.2.3- Kompleks Adenom (Complex Adenoma)

1.5.2.4-Fibroadenom (Fibroadenoma)

1.5.2.4.1- Hücreden fakir fibroadenom (low-cellularity fibroadenoma)

1.5.2.4.2- Hücreden zengin fibroadenom (high-cellularity fibroadenoma)

1.5.2.5- Benign miks tümör (Benign Mixed Tumour)

1.5.2.6- Duktal papillom (Ductal Papilloma) şeklinde sınıflandırılırlar (Misdorp 2002).

Bu sınıflandırmada yer almayan inflamatuvar karsinom ayrı bir meme bezi tümörü tipi değildir. Önemli derecede yangısal reaksiyonların bulunduğu, oldukça agresif meme tümörlerini ifade etmede kullanılan genel bir isimlendirmedir (Misdorp 2002, Pena ve ark 2003a, Pena ve ark 2003b, Millanta ve ark 2010).

1.5.1. Malign Tümörler

1.5.1.1. Non infiltratif (in situ) karsinom

Lezyonlar makroskopik olarak genellikle görülmezler ve sıklıkla multisentrik bir yerleşim gösterirler. Memenin fibrokistik hastalığının bir bölümü olarak ya da diğer meme bezi tümörlerinin yakınında ortaya çıkabilirler (Misdorp 2002). Basit ve kompleks tipleri görülebilir. Tümör hücrelerinin bazal membran invazyonu yoktur ve bazal membran bütünlüğünü korur (Silver ve Tavassoli 1998, Lukas ve ark 2000). Uzak organ metastazları görülmez. Kribriform (kalbur benzeri), solid ve komedo karsinomlar olmak üzere üç alt tipi vardır (Silver ve Tavassoli 1998). Genellikle aynı tümörde bu alt tiplerin birden fazlası bulunabilir (Benjamin ve ark 1999, Gama ve ark 2003).

1.5.1.2. Kompleks Karsinom

Köpeklerde oldukça sık görülen, genellikle lobüler yapıda bir tümördür. Hem epitel hem de mioepitel komponentler içerirler (Martins ve ark 2002, Monteros ve ark 2002). Epitel hücreleri tubulopapillar ya da solid yapılar oluştururlar. Duktus lümenlerinde atipik epitel hücreleri görülebilir. Mioepitel benzeri içi şeklinde hücreler sıklıkla yıldız şeklinde ya da retiküler olarak dizilirler. Bazı olgularda, santral nekrozlar ve mitotik figürler bulunabilir (Polton 2009, Rezaie ve ark 2009). İntersellüler mukoid substanslar gözlenebilir ve bunların karsinosarkomlarda oluşan genç kıkırdak dokudan ayırd edilmeleri gerekir. Bu ayırımda, kartilagineus matriks lakunaları içinde kondrositlerin görülmesi esas

alınır. Kompleks karsinomlar, özellikle benzer benign lezyonlardan; tümörün epitel komponentlerinin atipisi, infiltratif gelişme, yüksek mitotik aktivite, yüksek oranda sellülarite ve nekrozların varlığı ile ayrılırlar. Özellikle iyi differensiyasyonlu kompleks karsinomlar ile kompleks adenomların ayırımı oldukça önemlidir. Bu ayırımında yukarıda sayılan kriterlere bir de kapsülün olmayışı eklenmelidir. Ekspansif gelişme kompleks karsinomlarda oldukça yaygındır. Lenfatiklerle yayılma enderdir ve yaklaşık % 10 civarındadır (Monteros ve ark 2002, Seixas ve ark 2008, Polton 2009, Rezaie ve ark 2009).

Kompleks tümörlerde bulunan iğ şeklindeki hücreler hemen daima miyoepitel orijinlidirler. Bir çalışmada, kalponinle ekspresyon gösteren 4 farklı miyoepitel hücre tipi ayırt edilmiştir. Bunlar, hipertrofik, fusiform (iğ), yıldız ve yuvarlak şekilli miyoepitel hücreleridir (Monteros ve ark 2002). İmmunohistokimyasal olarak, normal ve neoplastik miyoepitel kompleksler sitoskeletal bir immunofenotipe sahiptirler ve düz kas aktin ile kalponin miyoepitel markırları olarak kullanılırlar. Kompleks ve miks meme bezi tümörlerinde kalponin ile düz kas aktinin, iğ şeklindeki hücrelerin önemli bir kısmını eksprese etmesi nedeniyle, miyoepitel hücrelerin ana histogenetik role sahip oldukları kimi araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (Milli ve ark 2000, Misdorp 2002, Monteros ve ark 2002).

1.5.1.3. Basit-Yalın Karsinom

Bu tümörler tek tip hücreden oluşan ve yaygın olarak görülen tümörlerdir. Miyoepitel proliferasyonu bulunmaz, stroma miktarında önemli derecede değişiklikler dikkati çeker. Şiddetli bir biçimde çevre dokulara ve damarlara infiltre olma eğilimi gösterirler (Benjamin ve ark 1999, Martins ve ark 2002, Polton 2009). Lenfojen ve hematojen yayılıma sıklıkla rastlanır. Genellikle tümör çevresinde lenfositler dikkati çeker. Basit karsinomlar malignitenin artışına göre tubulopapillar karsinom, solid karsinom ve anaplastik karsinom olarak ayrılırlar (Misdorp 2002, Rezaie ve ark 2009).

1.5.1.3.1. Tubulopapillar Karsinom

Meme bezi duktuslarından köken alan bu tümör, papillar uzantılar olsun ya da olmasın, tubulus formasyonları ile karakterizedir (Hampe ve Misdorp 1974, Misdorp ve

Weijer 1980, Matsuda ve ark 2008, Polton 2009, Rezaie ve ark 2009). Lümen çapları yer yer farklılık gösteren tubuluslar tek ya da çok katlı, kübik, kolumnar, silindirik ya da düzensiz şekilli lümen epitel hücreleri ile döşenmişlerdir. Bazen de kanal lümenlerinin bu hücreler tarafından doldurulduğu gözlenebilir (Ünal ve ark 1994, Taniyama ve ark 2000, Gama ve ark 2003). Bazı olgularda, tümör kollajen ipliklerden zengin, çok miktarda bağ doku içerebilir (Ünal ve ark 1994, Taniyama ve ark 2000). Tubulopapillar karsinomda, malignitenin en önemli mikroskopik bulguları, stroma ve lenfatik invazyonudur (Jones ve ark 1997, Benjamin ve ark 1999). Bazı olgularda tubuluslarda dilatasyon dikkati çeker ve bunlar tubuler kistik adenokarsinom olarak tanımlanırlar. Papillar tip karsinomlar, intralobüler meme duktus epitellerinden köken alırlar. Bu tip tümörlerde, asiner ve tubuler elementler içeren, lümene doğru çok sayıda papillar uzantılar bulunur. Neoplastik tubulusları örten silindirik ya da kübik şekilli hücrelerin papiller uzantılar şeklinde üredikleri ve birbirleriyle birleşerek lümenleri kısmen ya da tamamen doldurdukları görülür. Papillalar genellikle az bir stroma içerirler (Ünal ve ark 1994, Jones ve ark 1997). Tümör hücrelerinin oldukça anaplastik ve pleomorfik olmalarıyla papiller adenomlardan ayrılırlar (Jones ve ark 1997).

Yapılan bir çalışmada, hem papiller karsinom hem de papillar kistik karsinomda, epitel hücreleri sitokeratin peptid 18 ve pan sitokeratin markırları ile zayıftan kuvvetli dereceye değişen ekspresyon göstermiştir (Milli ve ark 2000).

1.5.1.3.2. Solid Karsinom

Bu tip karsinomlar köpeklerde oldukça yaygındır. Atipik kübik ve kolumnar epitel hücrelerinin tubulus ya da lümen oluşturmadan, solid yapılar şeklinde proliferasyonu ile karakterizedir (Taniyama ve ark 2000, Gama ve ark 2003, Polton 2009, Rezaie ve ark 2009). Tümör hücreleri genellikle uniformdur. Kimi solid karsinomlar, olasılıkla miyoepitel kökenli olanlar, vakuollü sitoplazma ve saydam çekirdekli (clear cell) hücrelerden oluşabilirler. Stroma miktarı az ya da orta derecededir (Jones ve ark 1997). Mitotik figürlere sıklıkla rastlanabilir (Toniti ve ark 2009). Bu tümörde epitel hücrelerini sitokeratin eksprese eder (Vos ve ark 1993).

1.5.1.3.3. Anaplastik Karsinom

Oldukça geniş ve son derece pleomorfik epitel hücreleri ya tek tek ya da küçük demetler halinde bulunurlar. Bu hücreler kromatinden zengin, tuhaf şekillerde nukleus ve nukleoluslara sahiptirler. Bazı hücreler çok çekirdekli olabilir ve mitotik figürler sıklıkla bulunabilir (Milli ve ark 2000, Misdorp 2002, Polton 2009). Tümör ile stromasında nötrofiller ve eozinofillere rastlanabilir. Kollajen stroma boldur. İmmunohistokimyasal olarak, anaplastik karsinomda epitel hücrelerini sıklıkla sitokeratin ekprese eder (Misdorp 2002).

1.5.1.4. Özel Tip Karsinomlar

1.5.1.4.1. İğ Hücreli Karsinom

Köpek meme bezlerinde oldukça ender rastlanır. Mikroskobik olarak, iğ (spindle) şeklindeki hücrelerin genellikle solid ve epitel benzeri dizilmeleri ile karakterizedir (Maemura ve ark 1997, Gama ve ark 2003). Bu hücreler topluca retikulum iplikleriyle sarılmışlardır. Bu tip tümörler fibrosarkomlarla karışabilir. Ancak fibrosarkomlarda her bir tümör hücresi retikulum iplikleriyle sarılmıştır (Misdorp 2002). İğ hücreli karsinom'lar yeni bir miyoepitel hücre markırı olan p63 ile güçlü bir nükleer ekspresyon gösterirler (Jones ve ark 1997, Gama ve ark 2003). Sitokeratin 14 ve AE1-AE3'ün bu tümör için zayıf ekspresyon göstermesinden dolayı güvenilir bir markır olmadığı belirtilmiştir (Gama ve ark 2003). Değişik çalışmalarda, iğ hücreli karsinomun bulunduğu olgularda, immunohistokimyasal olarak iğ şeklindeki hücrelerin büyük bir çoğunluğunun düz kas aktin ve vimentin ile kuvvetli ekspresyonu bildirilmiştir (Maemura ve ark 1997, Milli ve ark 2000, Gama ve ark 2003).

1.5.1.4.2. Yassı Hücreli Karsinom

Köpek meme bezlerinde çok yaygın rastlanmayan bir tümör tipidir. Deride ve vücudun diğer kısımlarında görülen yassı hücreli karsinoma benzerlikler gösterir (Sassi ve ark 2008). Klasik olarak tümör, konsantrik hücre üremeleriyle birlikte solid

tabakalardan oluşur. Periferde bazal hücreler hakimdir. Merkezde ise inci benzeri lamellar keratinizasyon dikkati çeker ve bu bölgede nekrotik tümör hücreleri de ayırt edilebilir (Pandit ve ark 1987, Li ve ark 2003, Erer ve Kıran 2005). Ayrıca, immunohistokimyasal olarak yassı hücreli karsinomların, memede p63, pansitokeratin ve sitokeratin 14 ile ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir (Gama ve ark 2003, Sassi ve ark 2008).

1.5.1.4.3. Müsinöz Karsinom

Köpeklerde ender olarak rastlanır. Tümör hücreleri vakuollü sitoplazmaya sahiptirler (Cassali ve ark 1999). Tümör, fazla miktarda intrasellüler ve ekstrasellüler müsinöz materyal içerir (Brunetti ve ark 2003a). Bu materyal, alcian blue boyası ve PAS (periodic acid schiff) boyama teknikleriyle pozitif boyanır. Müsinöz materyalden kondroid benzeri intersellüler materyale geçişler görülebilir. Bu tümördeki müsinin, epitel hücreleri ya da miyoepitel hücreler tarafından üretilip üretilmediği tam olarak bilinmemektedir (Misdorp 2002).

1.5.1.4.4. Lipid-rich Karsinom

Köpeklerde oldukça ender rastlanan bir tümör tipidir (Misdorp 2002, Monteros ve ark 2003). Makroskopik olarak, memede değişik büyüklüklerde, iyi sınırlanmış, tek ya da birden çok, yuvarlak, lobüler kitleler seçilebilir. Kesit yüzünde, içi sarı bir sıvı ile dolu, birden çok kistik alanlar içeren lobüler yapılar dikkati çeker. Aynı zamanda bunlara nekrotik ve hemorajik alanlar eşlik edebilir. Mikroskopik olarak, orta derecede bir pleomorfizm gösteren tümör hücreleri solid odaklar halinde dizilmişlerdir ve sitoplazmalarında geniş lipid vakuolleri ile hücre periferine itilmiş, yuvarlak ya da yassı bir nükleus içerirler (Monteros ve ark 2003, Pena ve ark 2003a). Tümör hücreleri arasında serpilmiş bir şekilde, az sayıda, multinükleer, vakuollü hücreler de görülebilir. Mitotik figürlere ender olarak rastlanır. Sitoplazmalarında vakuol bulunan hücreler nötral lipid içerdiklerinden dolayı Sudan IV boyası ile pozitif boyanırlar, ancak alcian blue ve PAS boyalarıyla boyanmazlar (Monteros ve ark 2003, Pena ve ark 2003a, Perez-Martinez ve ark 2005). İmmunohistokimyasal olarak tümör hücrelerini, sitokeratinler eksprese ederler (Monteros ve ark 2003).

1.5.1.5. Sarkomlar

Köpeklerde meme bezi sarkomları, tüm meme bezi tümörlerinin yaklaşık % 10-15'i kadardır. Genellikle sınırları belirgin, sert kıvamda ve geniş bir alanı kaplarlar. En sık fibrosarkomlar ile osteosarkomlara; ender olarak da kondrosarkomlara rastlanır (Misdorp 2002, Serin ve Aydoğan 2009). Meme sarkomları, nüks etmeye eğilimlidirler. Özellikle osteosarkomlar, bölgesel lenf nodülleri ile akciğerlere metastaz yapmaları nedeniyle prognozu kötü olarak değerlendirilen tümörlerdir (Langenbach ve ark 1998).

1.5.1.5.1. Fibrosarkom

Fibrosarkomlar, iğ biçimindeki fibrositler ile retikulum iplikleri ve kollajen matriksten oluşmuştur. Köpeklerde retikulum iplikleri paralel tarzda yığınlar oluştururlar ya da gelişmiş güzel bir dağılım gösterirler. Bazı olgularda proliferen kan damarları çevresinde konsantrik dizilmiş retikulum ipliklerine ve fibrositlere rastlanabilir. Kimi olgularda, matriksde ödem ve mukoid materyal bulunabilir (Misdorp 2002). Fibrosarkomlar pleomorfizm derecesi açısından farklılıklar gösterirler ve genellikle mitotik figür sayısı yüksektir (Orr 1984). İmmunohistokimyasal olarak da, vimentin tümör hücrelerini kuvvetli derecede ekspres eder (Milli ve ark 2000).

1.5.1.5.2. Osteosarkom

Neoplastik hücreler tarafından osteoid üretimi ile karakterize, atipik osteoblastlardan oluşan sarkomlardır (Tateyama ve ark 2001, Akiyoshi ve ark 2004, Wensman ve ark 2010). Köpeklerde meme bezinde görülen osteosarkomlar ile diğer yumuşak doku ve kemiklerde oluşan osteosarkomlar arasında belirgin bir histolojik farklılık bulunmamaktadır (Langenbach ve ark 1998). Bu tümörler, ya indirekt kemik formasyonundan differensiyel olurlar ya da kondrosarkomlarda olduğu gibi ara bir kıkırdak evreden geçerek oluşurlar. Kistik nekrotik alanlar ve hemorajik odaklar yaygındır. Neoplastik hücreler pleomorfiktir ve çoğunlukla polihedral bir yapıya sahiptir. Çoğu tümörde mitotik figürler belirgin olup, osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücrelerine de neoplastik kemik dokusu yakınlarında rastlanır (Misdorp 2002, Bahrami ve

ark 2007, Wensman ve ark 2010). İmmunohistokimyasal olarak, vimentin tümör hücrelerini eksprese eder (Milli ve ark 2000, Gama ve ark 2003, Wensman ve ark 2010).

1.5.1.6. Karsinosarkom

Köpeklerde oldukça ender görülen tümörlerdir. Makroskopik olarak kıvamları sert ve sınırları belirgindir. Mikroskopik olarak epitel (lümen epitel hücreleri, miyoepitel hücreler) komponentlerden meydana gelen karsinomatöz alan ve mezenşimal komponentlerden meydana gelen sarkomatöz alandan oluşurlar (Haga ve ark 2001, Gama ve ark 2003, Queiroga ve ark 2007). Karsinomatöz ve sarkomatöz komponentlerin tüm tipleri bir arada görülebilir. Tümörlerin önemli bir kısmı iğ şeklindeki hücrelerden oluşmuştur ve bu da miyoepitel ya da bağ doku kökenli olduklarının bir göstergesi olarak değerlendirilir. Olguların % 30'nda, intermediyer musinöz devre şeklinde, karsinomatöz ve kondrosarkomatöz alanlar arasında geçişler görülür. İmmunohistokimyasal olarak sarkomatöz komponentlerin vimentin ile güçlü bir şekilde ekspresyon gösterdiği; karsinomatöz bölgeleri ise p63, sitokeratin 14 ve düz kas aktinin eksprese ettiği bildirilmiştir (Gama ve ark 2003).

1.5.2. Benign Tümörler

Köpeklerde benign meme bezi tümörlerine oldukça yaygın rastlanır ve benign meme bezi tümörlerinin malign meme bezi tümörlerine oranı 70/30'dur (Misdorp 2002). Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 236 adet köpeğe ait meme bezi tümörünün 168'nin malign, 68'nin ise benign yapıda olduğu bildirilmiştir (Vural ve Aydın 2001).

1.5.2.1. Basit-Yalın Adenom

Köpeklerde oldukça ender görülür. Gerçek adenom basit tipte olur ve sekretorik epitel hücrelerinden köken alır. Makroskopik olarak sınırları belirgin ve kistik yapılar içerebilir.

Mikroskopik olarak, iyi differansiye olmuş silindirik lümen epitel hücrelerinin proliferasyonu dikkati çeker. Tümör hücreleri değişik büyüklüklerde, birbirine yakın asinüs paketleri halinde ya da dallanmış tubulus yapıları oluştururlar (Tateyama ve ark 2001, Misdorp 2002, Gama ve ark 2003).

1.5.2.2. Bazaloid Adenom

Bu tümörler ilk defa progesterinlerle ilgili çalışmalarda kullanılan tazılarda bildirilmiştir (Misdorp 2002). Makroskopik olarak, genellikle iyi sınırlıdır, tek ya da çok sayıda, küçük, birbirinden ayrı nodüller halinde bulunurlar. Sert kıvamlı olan bu nodüllerin kesit yüzleri griden sarıya kadar değişen renktedir (Mulas ve ark 2002). Bu nodüller mikroskopik olarak fibröz bir stroma ile çevrelenmiş, yuvarlak ya da dikdörtgen, birbirine benzeyen, bazaloid epitel hücrelerinden ibarettir. Bu uniform epitel hücreleri şeritler ya da demetler halinde yerleşim gösterirler. Bazı nodüllerde keratin tabakaları bulunabilir. Periferik hücreler ince bazal membran boyunca çit şeklinde dizilmişlerdir ve bu basit-yalın adenomdan ayırmada karakteristik bir bulgudur (Mulas ve ark 2002, Gama ve ark 2003). İmmunohistokimyasal olarak bazaloid adenomun tüm hücrelerinin sitokeratin 5 ve 8 ile; büyük bir çoğunluğunun da sitokeratin 14 ile (Mulas ve ark 2002); periferik bazal epitel hücrelerinin ise p63 ile kuvvetli ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir (Gama ve ark 2003).

1.5.2.3. Kompleks Adenom

Köpeklerde oldukça yaygın görülür. Belirgin bir kapsülleri vardır. Kompleks adenomlar, fazla miktarda sekresyon yapan lümen epitel hücreleri ile mioepitel hücrelere benzer hücrelerin, müsinöz bir stromada, miks proliferasyonlarıyla karakterize bir tümördür. Hücrelerde atipik özelliklere ve mitotik figürlere oldukça ender rastlanır, nekroza ise hiç rastlanmaz (Tateyama ve ark 2001, Gama ve ark 2003).

1.5.2.4. Fibroadenom

Köpeklerde yaygın olarak rastlanan bir tümör tipidir. Bu tümörlere, lümen epitel hücreleri, fibroblastik stroma hücreleri ile bazı olgularda da miyoepitel hücreleri katılır (Gama ve ark 2003). Stroma yoğun bir sellüerite gösterir ve mitotik figürlere sık rastlanır. Periduktal ve intraduktal alt tipleri mevcuttur (Misdorp 2002).

1.5.2.5. Benign miks tümör

Bu kompleks tümörler, köpeklerde oldukça yaygın rastlanan bir tümör tipidir. Glandular yapılar (epitel ve miyoepitel) ile mezenşimal yapıların (kıkırdak ve kemik) benign proliferasyonu ile karakterizedir (Moulton 1990, Gama ve ark 2003). Epitel komponentler genellikle tubuler yapılar oluştururlar. Fusiform miyoepitel hücreleri solgun, eozinofilik bir matriks içinde yer alırken, yıldız benzeri miyoepitel hücreler ile yuvarlak şekilli miyoepitel hücreler bazofilik bir matrikste bulunurlar. Daha sonra da genç kıkırdak dokunun bulunduğu alanlar dikkati çeker ve bunlara yakın bölgelerde de olgun kıkırdak dokusu sıklıkla bulunabilir (Monteros ve ark 2002). Benign miks tümör, farklı mezenşimal komponentlerin (kıkırdak, kemik ve yağ dokusunun) bir arada bulunması ile fibroadenom ve kompleks adenomdan ayrılır (Benjamin ve ark 1999).

1.5.2.6. Duktal papillom

Köpeklerde ender olarak rastlanan bir tümördür. Bu tümörler epitel ve inaktif miyoepitel hücreler tarafından çevrelenmiş ve vaskülarize bir bağ doku tarafından desteklenen, genişlemiş duktuslarda papillomatöz oluşumlarla karakterizedir (Gama ve ark 2003). Bu tümörde 2 farklı hücre tipi bulunmaktadır. Bunlar; geniş, saydam sitoplazmalı poligonal hücreler (hipertrofik miyoepitel hücreler) ile epitel hücreleridir (Monteros ve ark 2002).

1.6. Meme tümörlerinin immunohistokimyasal tanısında kullanılan bazı önemli markırlar

Köpeklerde meme bezi tümörü görülme sıklığında meydana gelen artış, yeni çalışmaları gerektirmiştir. Meme bezi tümörlerinde, güvenilir tanı amacıyla, tümörün köken aldığı dokunun ortaya konulmasında (epitel, mioepitel, mezenşimal) histokimyasal teknikler tek başına yeterli olmamakta, immunohistokimyasal tekniklerin ve bu tekniklerde kullanılan bazı spesifik markırlarında kullanılmasını zorunlu kılmaktadır (Karelina ve Golubeva 1983, Vos ve ark 1993, Milli ve ark 2000, Nieto ve ark 2000, Monteros ve ark 2002, Toniti ve ark 2009). Çalışmada, kullanılan markırlarla ilgili genel bilgiler aşağıda verilmiştir.

1.6.1. Kalponin

Kalponin bir kalmodulin olup, düz kas kontraksiyonunun modülasyonu ve regülasyonu ile ilişkili, ince filamentli bir proteindir. Bu protein aktin, kalmodulin, troponin C ve tropomiyozine bağlanabilme yeteneğine sahiptir (Namba ve ark 2000). Düz kas ve önemli miktarda düz kas içeren dokuları eksprese eder. Kalponin ekspresyonu ayrıca benign ve malign meme bezi lezyonlarındaki mioepitel hücrelerde de demonstre edilmiştir (Lazard ve ark 1993, Las Mulas ve ark 2004b).

1.6.2. Sitokeratin AE1/AE3

Sitokeratinler, suda eriyebilir, moleküler ağırlıkları 40-70 kDa arasında olan, epitel hücrelerinin hücre iskeletini oluşturan proteinlerdir. En az 19 farklı sitokeratin identifiye edilmiştir ve bunlar kendi aralarında A ve B olmak üzere iki alt aileye ayrılırlar. Sitokeratin Klon AE1/AE3, iki adet monoklonal antikor kokteylidir ve insan kallus keratinleri ile immunize edilen farelerden elde edilirler. Klon AE1, alt aile A antijenik determinantlarını içeren sitokeratinlerle; Klon AE3 ise alt aile B antijenik determinantlarını içeren sitokeratinlerle ekspresyona girer. Bu antikor normal epitel, lümen epiteli ve tümörlerde epitel proliferasyonlarını eksprese eder (Eichner ve ark 1984, Czernobilsky ve ark 1985).

1.6.3. Vimentin

Vimentin, 57 kDa molekül ağırlığında bir proteindir. Mezenşimal dokuları (fibrosit, liposit, düz kas hücreleri, vasküler endotel hücreleri, astrositler, Schwann hücreleri, makrofajlar, ter, tükrük ve meme bezlerinde bulunan miyoepitel hücreleri) eksprese eder (Azumi ve Battifora 1987, Richard ve ark 1990).

1.6.4. Düz Kas Aktin

Düz kas aktin, düz kas hücreleriyle, miyoepitellerle ve perisitlerle reaksiyona girer (Skalli ve ark 1989, Bektaş ve ark 2007). Meme bezi miyoepitel hücrelerinin identifikasyonunda sıklıkla kullanılan düz kas aktinin varlığı ya da yokluğu, in situ ve invaziv karsinomların ayırımında güvenilir bir kriterdir (Prasad ve ark 1999).

1.7. Çalışmanın amacı

Bu çalışma, köpeklerde meme bezi tümörlerinin tanısında, histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak, daha güvenilir tanının yapılması amacıyla yönelik olarak planlanmıştır. Çalışmada, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı ile özel veteriner kliniklerinden gönderilen meme bezi tümörlerinin, histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak tanıları yapılacak ve WHO-AFIP (World Health Organization–Armed Forces Institute of Pathology) tarafından kullanılan sınıflandırma sistemi ile sınıflandırılması gerçekleştirilecektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan ve Doku

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda 2003-2010 tarihleri arasında mastektomi operasyonu ile ekstirpe edilen ve Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen meme bezi biyopsi materyalleri ile İzmir, Aydın ve Muğla illerindeki özel veteriner kliniklerinden % 10'luk formalin solüsyonu içinde gönderilen meme bezi biyopsi materyalleri (toplam 43 adet) çalışma materyalini oluşturdu. Mikroskopik muayenede her olgudaki normal meme bezi bölgeleri ise internal kontrol grubu olarak değerlendirildi. Bu örneklerin ait oldukları hayvanlara ilişkin yaş, ırk ile tümörlerin meme loblarına dağılımı Çizelge 1'de verilmiştir.

2.2. Histopatolojik İnceleme

Alınan doku örnekleri 12-24 saat % 10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Trimleme işleminin ardından 6-8 saat süre ile akan çeşme suyu ile yıkandı, doku takip cihazında (Leica TP1020) bilinen yöntemlerle, alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan 5-7 µm kalınlığında normal ve Poly-L-lysin'li (Sigma-Aldrich) lamlara kesitler alındı (mikrotom, Leica RM 2135). Normal lamlara alınan kesitler, hematoxilen ve eozin (HE) ile boyandı (Luna 1968). Poly-L-lysin'li lamlara alınan kesitler ise immunohistokimyasal incelemeler için kullanıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi ve mikroskopik dijital fotoğraflar (Olympus C-5050) çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

2.3. İmmunohistokimyasal İnceleme

Avidin-Biotin Peroksidaz Kompleks (ABC) metot [avidin-biotin peroxidase complex, Invitrogen Histostain Plus Detection Kit, USA] ilgili firmanın önerdiği şekilde dokulara uygulandı. Testin her aşaması nemli kamarada gerçekleştirildi ve normal keçi serumu damlatma aşaması hariç takipler arasında kesitler 3x5 dakika süreyle fosfat tamponlu solüsyonu (PBS, pH 7,2) ile yıkandı. Parafin kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek deparafinize ve rehidre edildi. Lamlar absolut metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 30 dakika süreyle inkübe edilerek dokuların endojen peroksidaz aktivitesi engellendi. Antijenik yapıların açığa çıkarılması amacıyla, kesitler sitrat buffer solüsyonunda (pH: 6.0) 600 W'lık güçte mikrodalga fırında 10 dakika süreyle kaynatıldı. Soğutulan kesitler, spesifik olmayan antijenik bağlanmaları engellemek için, ticari % 10'luk normal keçi serumunda, oda ısısında 10 dakika süreyle inkübe edildi. Sonraki adımda, lamlar vimentin, düz kas aktin, kalponin, sitokeratin primer antikoları ile kaplandı ve +4°C'de bir gece süreyle inkübe edildi. Bunu takiben dokular, kullanıma hazır biyotinlenmiş sekonder antikor ile kaplandı ve oda ısısında 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra, kesitler horseradish streptavidin peroksidaz konjugatı ile oda ısısında 15 dakika süreyle inkübe edildi ve 15 dakika DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, DAKO)-H₂O₂ substratı uygulandıktan sonra işlem sonlandırıldı. Harris hematoksilen ile karşıt boyama yapıldıktan sonra dokular alkol serilerinde dehidre edildi. Ksilolde şeffaflandırılan kesitler yapıştırıcı (Entellan-Merck) ile kapatıldı. Tüm kesitlerin aynı şartlarda ve prosedürde boyanmasından sonra, sonuçlar ve dokulardaki ekspresyon yoğunlukları ışık mikroskopunda semikantitatif olarak değerlendirildi. Bulgular, neoplastik hücrelerde sitoplazmik ekspresyona bağlı olarak; ekspresyon yok (-); % 1-25 zayıf ekspresyon (+); % 26-50 orta derecede ekspresyon (++); % 51 ve üzeri kuvvetli ekspresyon (+++) şeklinde gruplandırıldı.

Kullanılan markırlar, bu markırların boyadığı dokular, sulandırma oranları ve hücresel lokalizasyonları Çizelge 2 'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Gönderilen meme bezi tümörlerinin ait oldukları hayvanlara ilişkin ırk, yaş ve tümörlerin meme loblarına dağılımı

Olgu	İrk	Yaş	Tümörlerin meme loblarına dağılımı
1	Terrier	11	Bilgi kaydı yok
2	Cocker	8	Bilgi kaydı yok
3	Bilgi kaydı yok	Bilgi kaydı yok	Bilgi kaydı yok
4	Kırma	13	Sol kaudal abdominal
5	Cocker	8	Sağ kranyal abdominal
6	Kırma	Bilgi kaydı yok	Bilgi kaydı yok
7	Terrier	12	Sol inguinal
8	Kırma	10	Sağ inguinal
9	Kırma	10	Bilgi kaydı yok
10	Terrier	12	Sağ inguinal
11	Kırma	10	Sol inguinal
12	Bilgi kaydı yok	14	Bilgi kaydı yok
13	Terrier	8	Bilgi kaydı yok
14	Terrier	12	Sol kranyal abdominal
15	Pointer	8	Sol kaudal abdominal
16	Cocker	10	Sağ meme lobları
17	Alman Çoban	9	Bilgi kaydı yok
18	Terrier	14	Bilgi kaydı yok
19	Cocker	10	Bilgi kaydı yok
20	Terrier	7	Sol inguinal
21	Doberman	8	Sağ inguinal
22	Bolognese Terrier	10	Sağ kranyal abdominal
23	Terrier	13	Sağ inguinal
24	Terrier	14	Sol inguinal
25	Terrier	12	Bilgi kaydı yok
26	Terrier	6	Bilgi kaydı yok
27	Terrier	9	Sağ inguinal
28	Bokser	8	Sol kranyal abdominal
29	Pincher	11	Sağ inguinal
30	Terrier	11	Sol inguinal
31	Pincher	4	Sol kranyal torakal
32	Çoban	11	Sağ meme lobları
33	Medium Poodle	12	Sol meme lobları
34	Av	10	Sol inguinal
35	Spiss	11	Sol inguinal
36	Terrier	13	Sol kaudal abdominal
37	Terrier	13	Sağ abdominal ve inguinal loblar
38	Terrier	13	Sol meme lobları
39	Golden Retriever	9	Sol abdominal meme lobları
40	Cocker	10	Sağ abdominal ve inguinal meme lobları
41	Bilgi kaydı yok	7	Sağ inguinal
42	Bilgi kaydı yok	Bilgi kaydı yok	Bilgi kaydı yok
43	Golden Retriever	11	Sağ meme lobları

Çizelge 2. Kullanılan markırlar, bu markırların boyadığı dokular, sulandırma oranları ve hücrel lokalizasyonları

Antikor	Boyadığı Doku	Sulandırma oranları (PBS'de)	Hücrel lokalizasyon
Mouse monoclonal alpha smooth muscle actin (Abcam / ab-18147)	Düz kas, miyoepitel	0.5-1 µg/ml	Sitoplazmik
Rabbit monoclonal Calponin (Abcam / ab46794)	Düz kas, miyoepitel	1/100-1/250	Sitoplazmik
Mouse monoclonal Vimentin (Abcam / ab8069)	Mezenşimal dokular	1/50-1/100	Sitoplazmik
Mouse monoclonal anti-human Cytokeratin (Dako / Clones AE1-AE3)	Epitel	1/50	Sitoplazmik

3. BULGULAR

Meme bezlerinde internal kontrol olarak kullanılan normal bölgelerin hepsi, vimentin, düz kas aktin, kalponin ve sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli ekspresyon gösterdi. Histopatolojik bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı Çizelge 3’de; immunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı ise Çizelge 4’de sunulmuştur.

3.1. İn situ Karsinom

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, üç olgu in situ karsinom olarak değerlendirildi.

3.1.1. Histopatolojik Bulgular

Birbirinden ince bir bağ doku ile oldukça iyi ayrılmış belirgin tubuler yapıların varlığı ilk dikkati çeken bulguydu. Tubuler yapıları oluşturan epitel hücrelerinin bazal membranın bütünlüğünü bozmadan proliferere oldukları gözlemlendi (Resim 1). Epitel hücrelerinde orta derecede bir pleomorfizm ve hipokromazi dikkati çekti. Ayrıca, tümör alanlarında yer yer mononükleer hücre infiltrasyonlarına da rastlandı.

3.1.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Epitel hücrelerinin proliferere olduğu alanlarda, bu hücreler sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli (Resim 2) ekspresyon gösterdi. Kalponin ve düz kas aktin ile herhangi bir ekspresyon görülmedi. Tubulusların etrafını çeviren normal miyoepitel hücrelerinde ise kalponinle kuvvetli, düz kas aktin ve vimentin ile orta derecede ekspresyon belirgindi.

3.2. Kompleks Karsinom

Histopatolojik olarak 15 olgu kompleks karsinom olarak değerlendirildi. Buna karşın, immunohistokimyasal bulgulara göre 12 olgunun kompleks karsinom olduğu sonucuna varıldı.

3.2.1. Histopatolojik Bulgular

Epitel hücrelerinin genellikle tubuler (14 olgu) ve solid (bir olgu) yapılar oluşturdukları, stroma ve intertubuler alanlarda ise yoğun bir şekilde atipik iç hücre proliferasyonları gözlemlendi (Resim 3). Beş olguda, intertubuler alanlarda iç şeklindeki hücelere ek olarak, geniş, poligonal ve saydam sitoplazmalı hücrelerin varlığı dikkati çekti (olgu no. 1, 5, 8, 9, 16) (Resim 4). Tubulusları oluşturan lümen epitel hücrelerinde anizositozis, hiperkromazi ve hipokromazi oldukça belirgindi. Bazı olgularda yüksek mitotik aktivite belirlendi. Stroma ve intertubuler alanlarda, belirgin bir koagülasyon nekrozu ile plazma hücresi ve lenfositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları, bir olguda da (olgu no. 24) makrofaj ve nötrofil lökosit infiltrasyonları belirgindi. Altı olguda (olgu no. 8, 13, 17, 19, 40, 42) yer yer intersellüler mukoid maddenin veya embriyonal bağ dokunun oldukça arttığı alanlar göze çarptı (Resim 5).

3.2.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Lümen epitel hücreleri sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli ekspresyon gösterdi (Resim 6). Tümör yapısına katılan ve intertubuler alanlar ile stromada bulunan iç şeklindeki

miyoepitel hücreler, kalponinle iki olguda (olgu no 30, 36) orta derecede, diğer 10 olguda kuvvetli ekspresyon gösterdi (Resim 7). Buna ilaveten, beş olguda (olgu no 1, 5, 8, 9, 16) poligonal şekilli hipertrofik miyoepitel hücrelerde kalponinle kuvvetli ekspresyon dikkati çekti (Resim 8). İğ şeklindeki miyoepitel hücrelerde, bir olguda (olgu no. 19) düz kas aktin ile kuvvetli; diğer 11 olguda ise orta derecede ekspresyon görüldü (Resim 9). Kompleks karsinom olgularının hepsinde, iğ şeklindeki miyoepitel hücrelerde vimentin ile orta derecede ekspresyon belirlendi (Resim 10).

3.3. Tubulopapillar karsinom

Histopatolojik olarak dokuz olgu tubulopapillar karsinom olarak değerlendirildi. Buna karşın, immunohistokimyasal bulgulara göre 12 olgunun tubulopapillar karsinom olduğu sonucuna varıldı.

3.3.1. Histopatolojik Bulgular

Meme bezi duktuslarından köken alan epitel hücrelerinin genellikle değişik çapta lümenler içeren tubuler yapılar oluşturdukları göze çarptı (Resim 11). Bazı olgularda bu tubulusların lümenlerine doğru, atipik lümen epiteli içeren, geniş tabanlı ya da saplı papillar uzantıların varlığı görüldü (Resim 12). Bazı alanlarda değişik büyüklükte tubuluslar ve yer yer kistik genişlemeler de belirlendi. Tubulusları döşeyen tek ya da çok katlı kübik ya da silindirik lümen epitel hücrelerinde anaplazi belirgindi. Bu hücreler farklı büyüklükte, yuvarlaktan silindiriğe kadar değişen şekillerdeydi. Nükleusları genelde farklı şekil ve büyüklükte, hipokromatik ya da hiperkromatik olduğu gibi yer yer de çift çekirdekçik içermekteydi. Bazı olgularda şeffaf görünümlü nükleuslara da rastlandı. Tümörden tümöre farklılık göstermekle birlikte mitotik aktivite genelde yüksekti. Bazı genişlemiş tubulus lümenleri, dökülmüş atipik lümen epitel hücreleri ve nekrotik hücrelerle tamamen doluydu. Olguların genelinde bağ dokudan zengin geniş bir stroma bulunmakla beraber papillar uzantılarda bu stroma daha azdı. Stroma ve intertubuler alanlarda tümöre eşlik eden belirgin bir nötrofil lökosit ve mononükleer hücre infiltrasyonu vardı. Olguların

hepsinde stromada geniş koagülasyon nekroz alanları dikkati çekti. Stroma ve intertubuler alanlarda iğ şeklinde hücre proliferasyonlarına rastlanmadı.

3.3.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Tümör yapısına katılan tubulus epitel hücreleri sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli ekspresyon gösterdi (Resim 13, 14). Tubulopapillar karsinom olgularının tamamında kalponinle ekspresyon görülmezken, bir olguda (olgu no. 33) intertubuler alanda düz kas aktin ile zayıf ekspresyon görüldü. Aynı zamanda, tubulusların etrafını çeviren normal miyoepitel hücre tabakası, kalponinle kuvvetli (Resim 15), düz kas aktin ve vimentin ile orta derecede ya da zayıf ekspresyon gösterdi.

3.4. Solid Karsinom

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, bir olgu solid karsinom olarak değerlendirildi.

3.4.1. Histopatolojik Bulgular

Epitel hücrelerinin lümen oluşturmaksızın solid proliferasyonları dikkati çekti (Resim 16). Tümörü meydana getiren hücrelerde pleomorfizm oldukça belirgindi. Hiperkromatik olan bu hücreler değişik büyüklüklerde nükleus ve yer yer de çift nükleolus içermekteydiler. Ayrıca stromada, yer yer lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları ile çok geniş koagülasyon nekroz alanları (Resim 17) görüldü.

3.4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Solid yapıda epitel proliferasyonlarının bulunduğu alanlarda, sitokeratin AE1-AE3 bu hücreleri kuvvetli derecede eksprese etti (Resim 18). Ayrıca stromada vimentin ile zayıf

ekspresyon gösteren bağ doku hücreleri belirlendi. Kalponin ve düz kas aktin ile herhangi bir ekspresyon dikkati çekmedi.

3.5. İđ Hücreli karsinom

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, bir olgu iđ hücreli karsinom olarak değerlendirildi.

3.5.1. Histopatolojik Bulgular

İntertubuler alanlarda iđ şeklindeki hücrelerin solid yapılar halinde proliferasyonları dikkati çekti (Resim 19). Bu hücrelerde nükleer atipi ve hiperkromazi belirgindi.

3.5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Tümöre katılan iđ şeklindeki hücreler kalponin (Resim 20) ve vimentin ile orta; düz kas aktin ile zayıf ekspresyon gösterirken, sitokeratin AE1-AE3'ün bu hücreleri eksprese etmediği dikkati çekti.

3.6. Karsinosarkom

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, 14 olgu karsinosarkom olarak değerlendirildi.

3.6.1. Histopatolojik Bulgular

Meme duktuslarından köken alan epitel hücrelerinin tubuler veya solid yapıdaki proliferasyonları (karsinomatöz alan) ve osteoid üretimiyle karakterize kemik yapılar ile

adacıklar halinde hyalinize kondroid matriks ve kartilagineus lakunalarda yer alan kondrositler (sarkomatöz alan) bir arada görüldü (Resim 21, 22, 23). Altı olguda (olgu no. 6, 14, 18, 29, 38, 43) karsinomatöz alanlarda, iç şeklinde hücrelerin atipik proliferasyonları da dikkati çekti. Yer yer tubulopapillar proliferasyonlarla kıkırdak yapıların iç içe geçtiği de göze çarptı (Resim 24). Karsinomatöz alanlarda tubuler yapıları oluşturan lümen epitelleri, değişik büyüklükte, yuvarlaktan silindiriğe kadar değişen şekillerde, hiperkromazi veya hipokromazi gösteren pleomorfik hücrelerdi. Bazı olgularda tubulusların lümenlerinin dökülmüş atipik epitel hücreleri ve yangısal hücrelerle tamamen dolu olduğu görüldü. Bir olguda (olgu no.28), sarkomatöz alanlarda osteoklast benzeri çok çekirdekli dev hücrelere rastlandı (Resim 25), bir olguda (olgu no. 40) ise karsinomatöz alan oldukça sellülerdi. Mitotik aktivite olguların genelinde yüksekti. Bazı olgularda, stromada, mononükleer hücre infiltrasyonlarıyla birlikte hemosiderin yüklü makrofajların varlığı gözlemlendi.

3.6.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Karsinomatöz alanlarda, sitokeratin AE1-AE3 lümen epitellerini kuvvetli derecede eksprese etti (Resim 26, 27). Miyoepitel hücrelerinin tümör yapısına katıldığı altı olguda (olgu no. 6, 14, 18, 29, 38, 43) bu hücrelerde kalponin ile kuvvetli (Resim 28); düz kas aktin (Resim 29) ve vimentin ile orta derecede kuvvetli ekspresyon dikkati çekti. Sarkomatöz alanlarda ise kıkırdak dokuda vimentin ile kuvvetli bir ekspresyon görüldü (Resim 30).

Hem histopatolojik hem de immunohistokimyasal bulgular birlikte göz önüne alındığında; histopatolojik olarak karsinosarkom tanısı konan üç olgu (olgu no. 1, 4, 8) kompleks karsinom olarak; kompleks karsinom tanısı konan bir olgu (olgu no. 13) karsinosarkom olarak; tubulopapillar karsinom tanısı konan iki olgu (olgu no. 21, 36) kompleks karsinom, iki olgu (olgu no. 22, 43) ise karsinosarkom olarak; kompleks karsinom tanısı konan yedi olgu (olgu no. 23, 25, 32, 35, 37, 41, 42) tubulopapillar karsinom olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3. Histopatolojik bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı (%)

Histopatolojik Bulgulara Göre Tumor Tipi	Olgu Sayısı	Yüzde Oran (%)
İn Situ Karsinom	3	% 6,9
Kompleks Karsinom	15	% 34,8
Tubulopapillar Karsinom	9	% 20,9
Solid Karsinom	1	% 2,3
İğ Hücreli Karsinom	1	% 2,3
Karsinosarkom	14	% 32,5

Çizelge 4. İmmunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve olgu sayısı (%)

İmmunohistokimyasal Bulgulara Göre Tumor Tipi	Olgu Sayısı	Yüzde Oran (%)
İn situ karsinom	3	% 6,9
Kompleks karsinom	12	% 27,9
Tubulopapillar karsinom	12	% 27,9
Solid karsinom	1	% 2,3
İğ hücreli karsinom	1	% 2,3
Karsinosarkom	14	% 32,5

İncelenen meme bezi tümörlerinde, immunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve tanıya ilişkin bilgiler Çizelge 5’de sunulmuştur.

İncelenen meme bezi tümörlerinde, immunohistokimyasal ekspresyon yoğunluğu ise Çizelge 6’ da sunulmuştur.

Çizelge 5. İmmunohistokimyasal bulgular esas alınarak yapılan sınıflandırma ve tanı

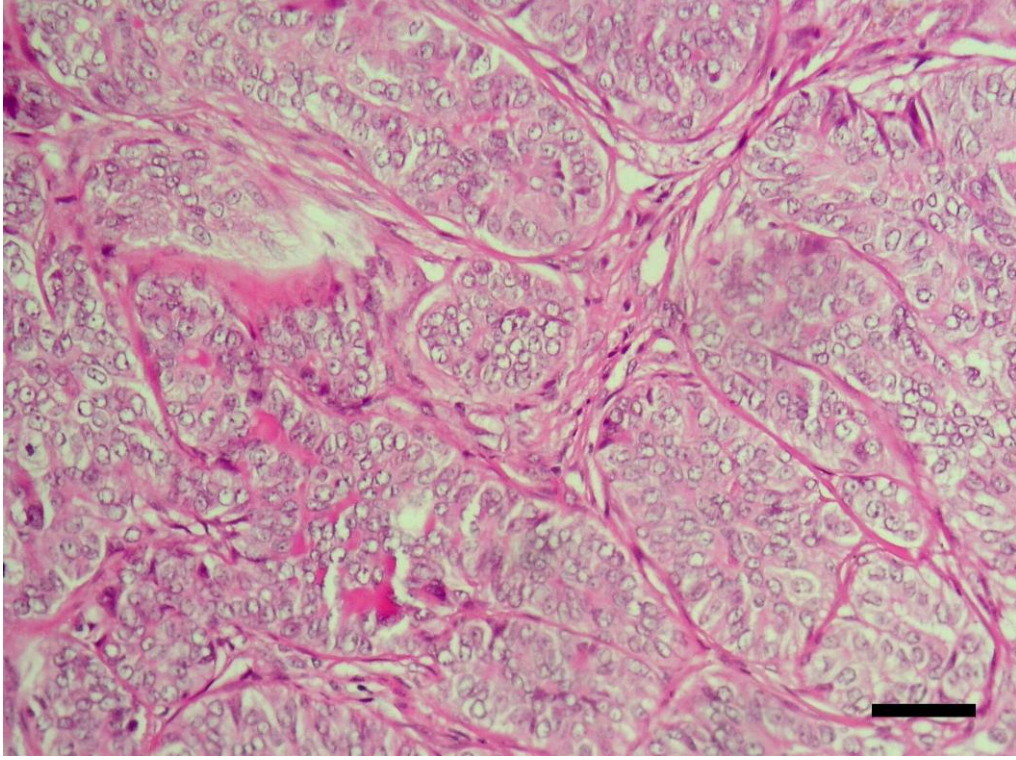
Olgu no	Histopatolojik tanı	İmmunohistokimyasal ekspresyon karakteristiği	Tanı
1	Karsinosarkom	V (++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Kompleks karsinom
2	Karsinosarkom	V (++) DKA (+) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
3	Tubulopapillar karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
4	Karsinosarkom	V (+++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Kompleks karsinom
5	Kompleks karsinom	V (+) DKA (++) KALP (+++) SK (+++)	Kompleks karsinom
6	Karsinosarkom	V (+) DKA (-) KALP (++) SK (+++)	Karsinosarkom
7	Tubulopapillar karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
8	Karsinosarkom	V (++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Kompleks karsinom
9	Kompleks karsinom	V (+++) DKA (++) KALP (+++) SK (+++)	Kompleks karsinom
10	İn situ karsinom	V (-) DKA (+) KALP (-) SK (+++)	İn situ karsinom
11	Karsinosarkom	V (+++) DKA (++) KALP (+++) SK (+++)	Karsinosarkom
12	Solid karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Solid karsinom
13	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
14	Karsinosarkom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+)	Karsinosarkom
15	İn situ karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	İn situ karsinom
16	Kompleks karsinom	V (++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Kompleks karsinom
17	Kompleks karsinom	V (++) DKA (++) KALP (+++) SK (+)	Kompleks karsinom
18	Karsinosarkom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
19	Kompleks karsinom	V (+) DKA (+++) KALP (+++) SK (+++)	Kompleks karsinom
20	Tubulopapillar karsinom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
21	Tubulopapillar karsinom	V (++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Kompleks karsinom
22	Tubulopapillar karsinom	V (+) DKA (+) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
23	Kompleks karsinom	V (+) DKA (+) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
24	Kompleks karsinom	V (+++) DKA (++) KALP (+++) SK (+++)	Kompleks karsinom
25	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
26	İn situ karsinom	V (++) DKA (+) KALP (-) SK (+++)	İn situ karsinom
27	Tubulopapillar karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
28	Karsinosarkom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+)	Karsinosarkom
29	Karsinosarkom	V (++) DKA (++) KALP (+) SK (++)	Karsinosarkom
30	Kompleks karsinom	V (+) DKA (++) KALP (++) SK (++)	Kompleks karsinom
31	Karsinosarkom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
32	Kompleks karsinom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
33	Tubulopapillar karsinom	V (+) DKA (+) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
34	Karsinosarkom	V (++) DKA (-) KALP (-) SK (++)	Karsinosarkom
35	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
36	Tubulopapillar karsinom	V (++) DKA (+) KALP (++) SK (+)	Kompleks karsinom
37	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
38	Karsinosarkom	V (++) DKA (++) KALP (++) SK (++)	Karsinosarkom
39	İğ hücreli karsinom	V (++) DKA (+) KALP (++) SK (-)	İğ hücreli karsinom
40	Karsinosarkom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Karsinosarkom
41	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (+++)	Tubulopapillar karsinom
42	Kompleks karsinom	V (+) DKA (-) KALP (-) SK (++)	Tubulopapillar karsinom
43	Tubulopapillar karsinom	V (+++) DKA (++) KALP (+++) SK (++)	Karsinosarkom

V: Vimentin DKA: Düz kas aktin KALP: Kalponin SK: Sitokeratin
 (-): Ekspresyon yok (+): Zayıf ekspresyon (++) : Orta derecede ekspresyon (+++) : Kuvvetli ekspresyon

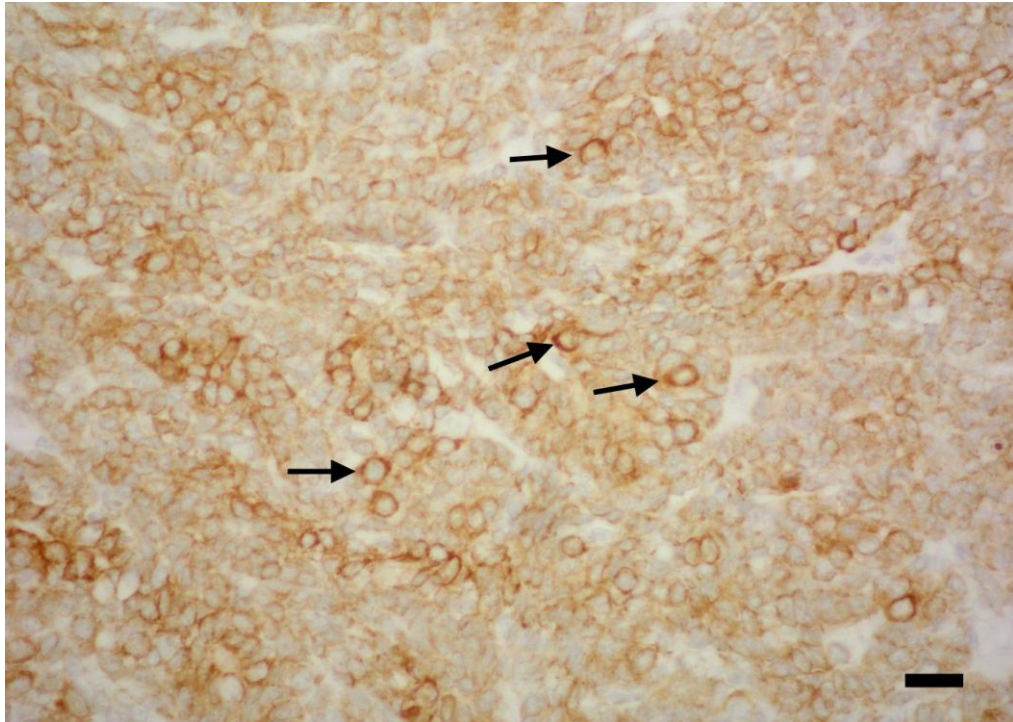
Çizelge 6. İncelenen meme bezi tümörlerinde immunohistokimyasal ekspresyon yoğunluğu

Olgu no	Vimentin	Düz Kas Aktin	Kalponin	Sitokeratin AE1-AE3
1	++	++	+++	++
2	++	+	-	+++
3	+	-	-	++
4	+++	++	+++	++
5	+	++	+++	+++
6	+	-	++	+++
7	+	-	-	++
8	++	++	+++	++
9	+++	++	+++	+++
10	-	+	-	+++
11	+++	++	+++	+++
12	+	-	-	+++
13	+	-	-	+++
14	++	-	-	+
15	+	-	-	+++
16	++	++	+++	++
17	++	++	+++	+
18	++	-	-	+++
19	+	+++	+++	+++
20	++	-	-	+++
21	++	++	+++	++
22	+	+	-	+++
23	+	+	-	++
24	+++	++	+++	+++
25	+	-	-	++
26	++	+	-	+++
27	+	-	-	+++
28	++	-	-	+
29	++	++	+	++
30	+	++	++	++
31	++	-	-	+++
32	++	-	-	+++
33	+	+	-	++
34	++	-	-	++
35	+	-	-	+++
36	++	+	++	+
37	+	-	-	+++
38	++	++	++	++
39	++	+	++	-
40	+	-	-	+++
41	+	-	-	+++
42	+	-	-	++
43	+++	++	+++	++

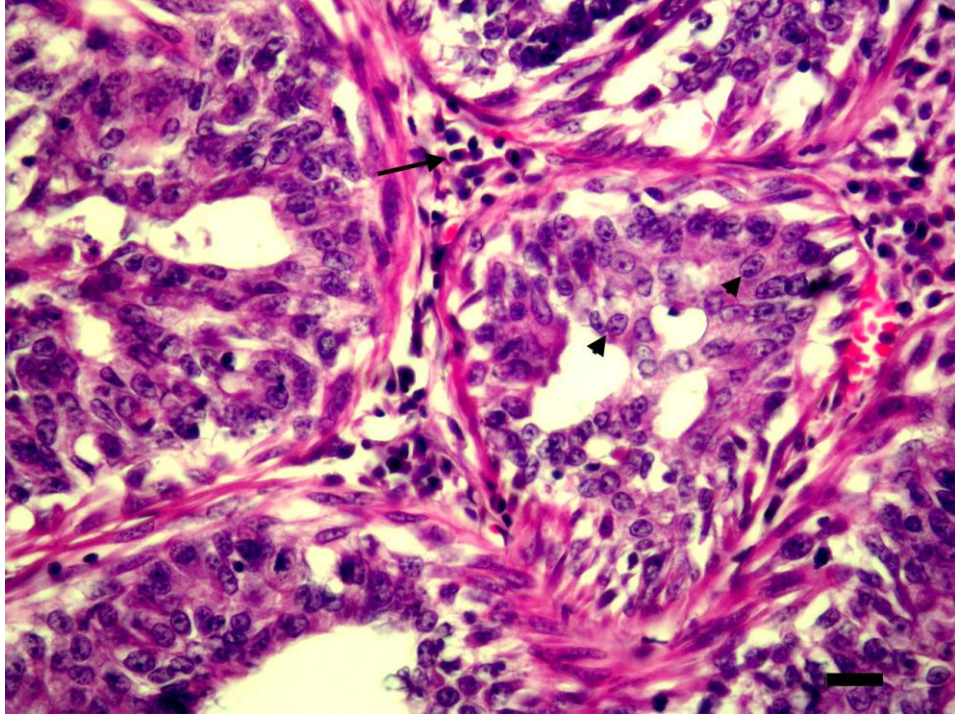
(-): Ekspresyon yok (+): Zayıf ekspresyon (++) : Orta derecede ekspresyon (+++): Kuvvetli ekspresyon



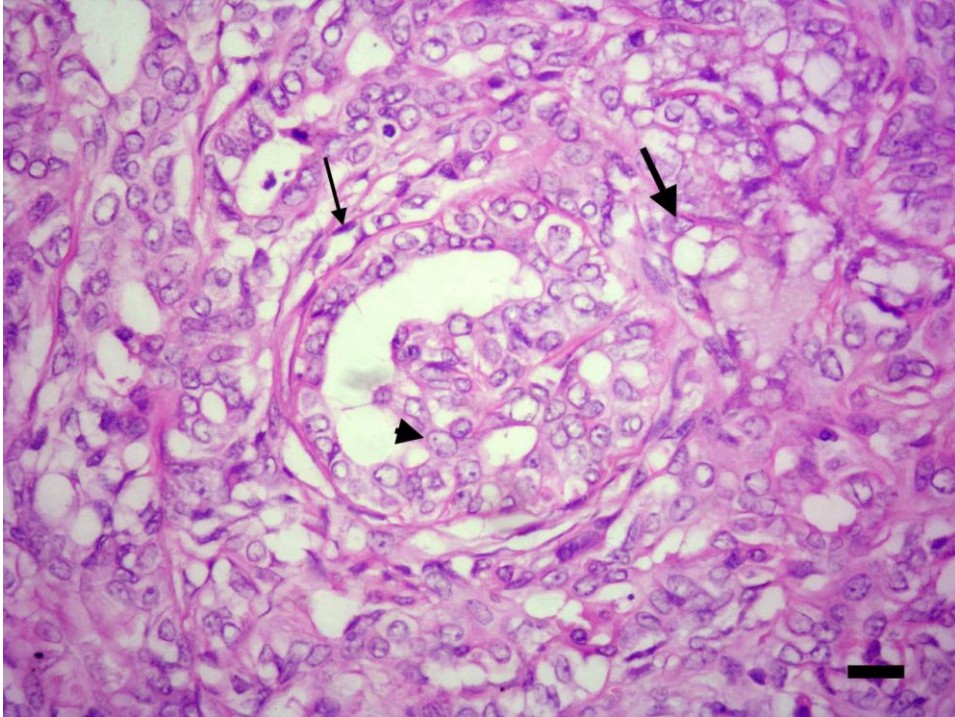
Resim 1. İn situ karsinom; tubuler yapılar oluşturan epitel hücre proliferasyonları (oklar); olgu no:26, HE. Bar=50 μ m.



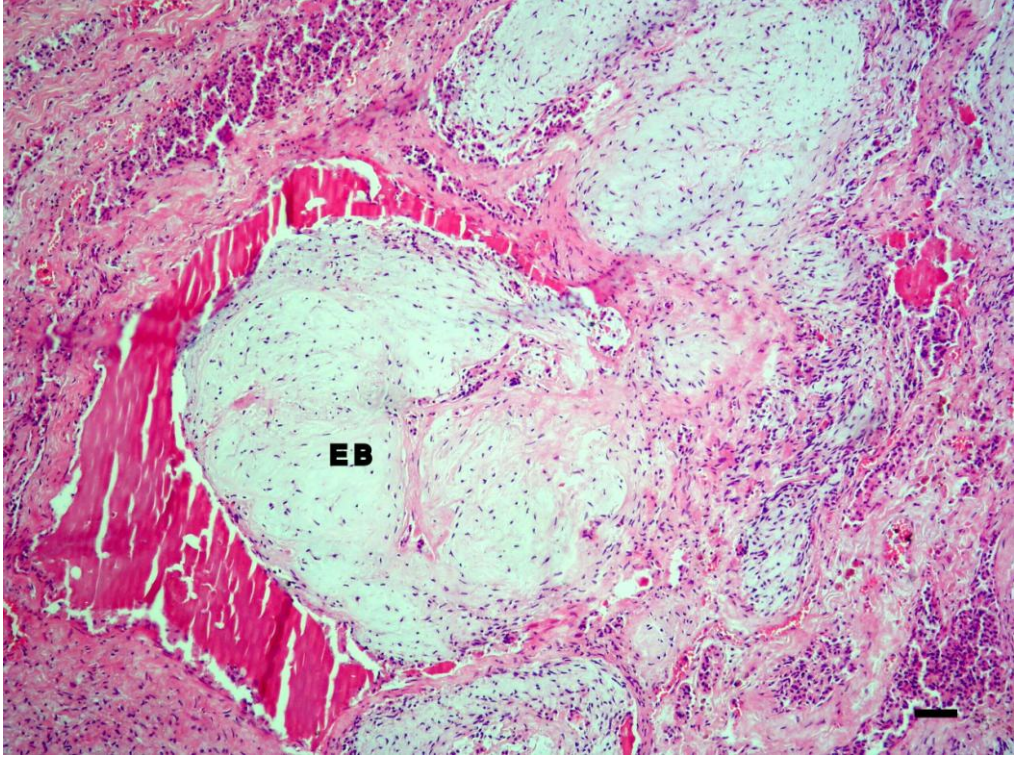
Resim 2. İn situ karsinom; tubuler yapılar oluşturan epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 15, ABC metot, Bar=20 μ m.



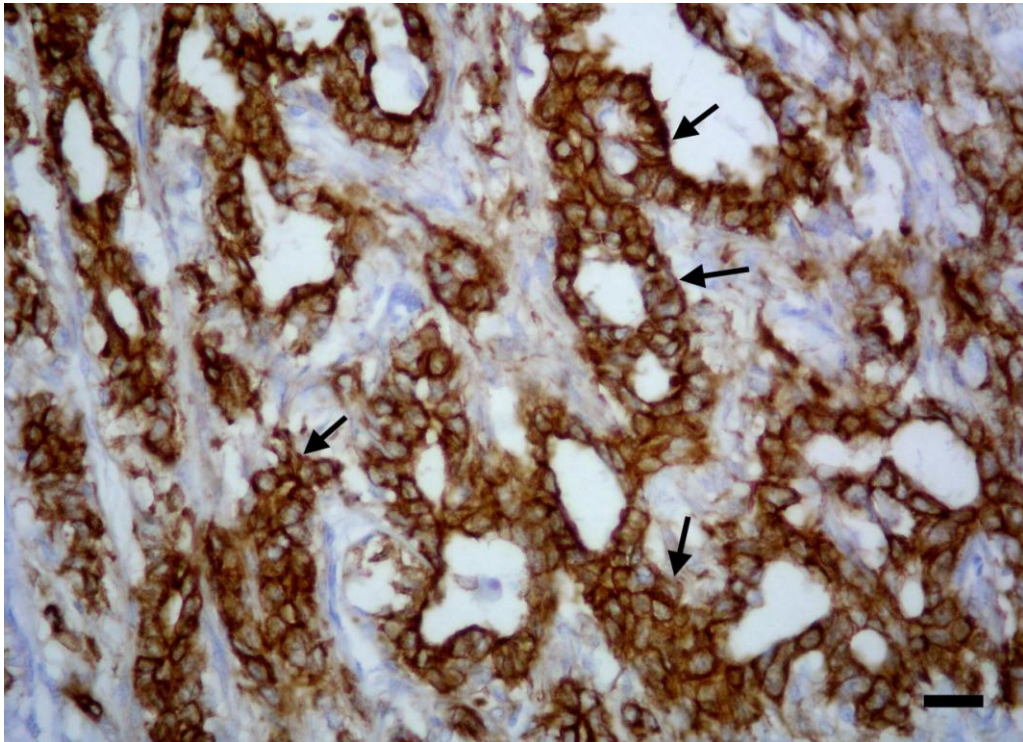
Resim 3. Kompleks karsinom; tubuler yapılar oluşturan atipik epitel hücreleri (ok başları), ve mononükleer hücre infiltrasyonu (ok); olgu no:21, HE. Bar=20 μ m.



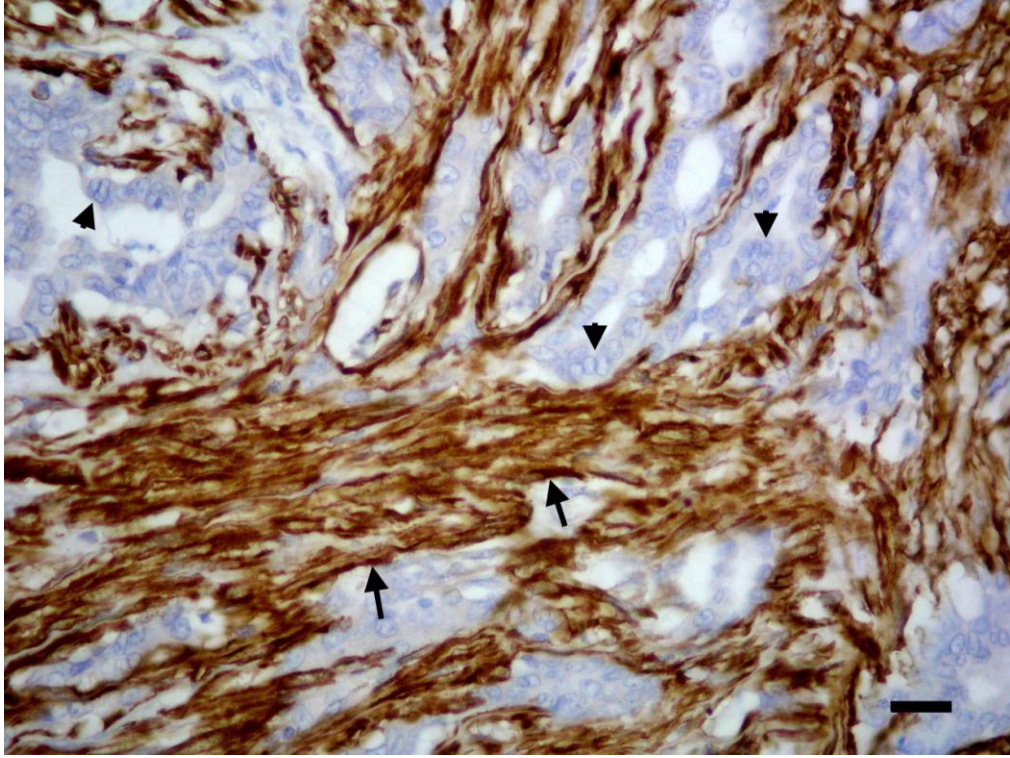
Resim 4. Kompleks karsinom; tubuler yapılar oluşturan atipik epitel hücreleri (ok başı), intertubuler alanda geniş, poligonal ve saydam sitoplazmalı hücreler (kalın ok) ile atipik iç hücreleri (ince ok); olgu no:16, HE. Bar=20 μ m.



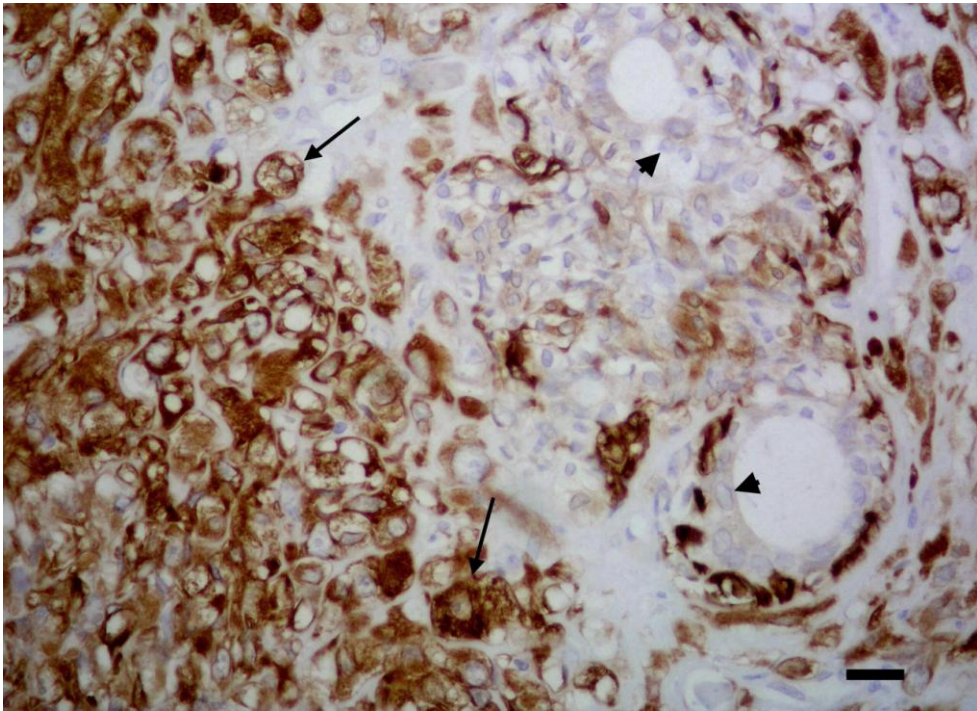
Resim 5. Kompleks karsinom; stromada embriyonal bağ doku artışı (EB); olgu no: 17, HE.
Bar=50 μ m.



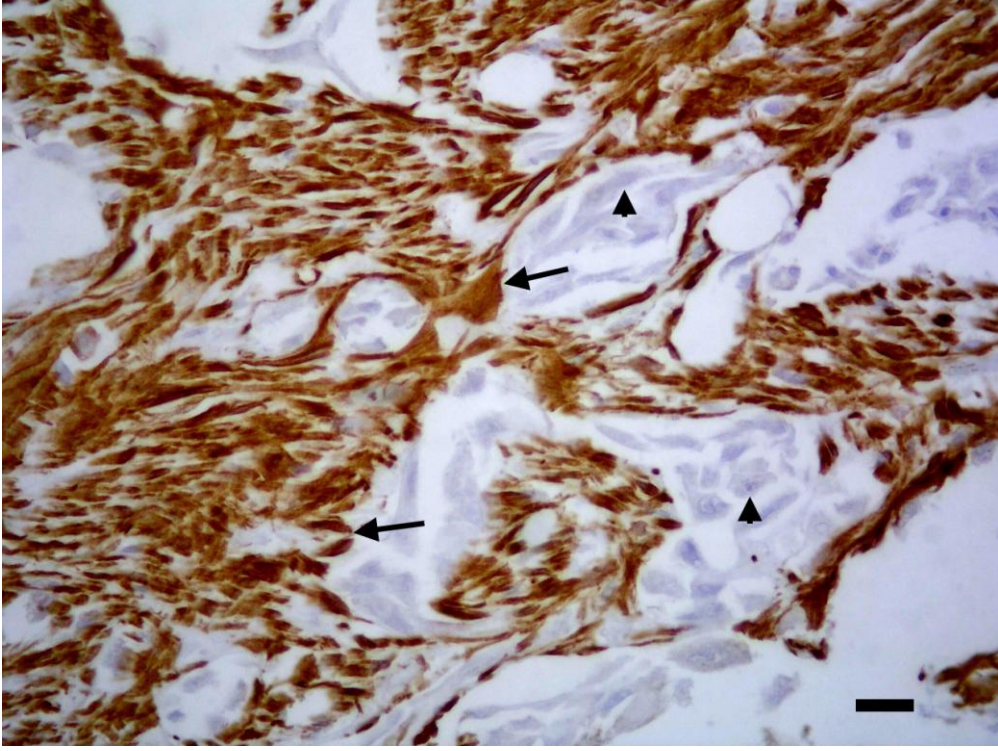
Resim 6. Kompleks karsinom; lümen epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 24, ABC metot, Bar=20 μ m.



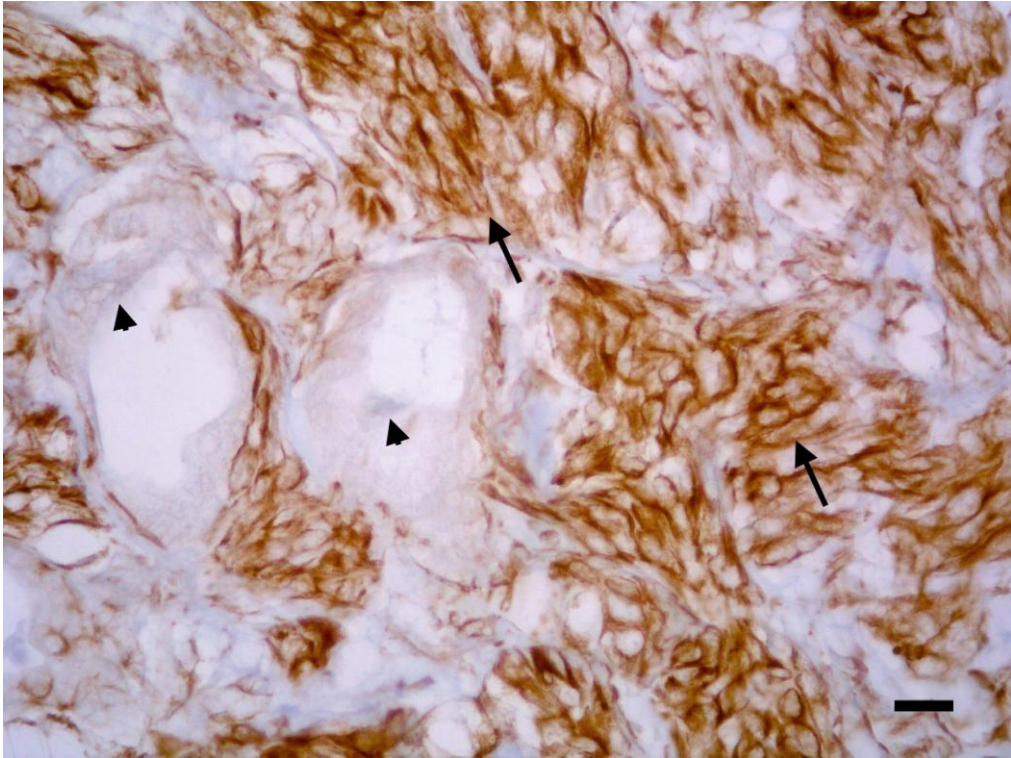
Resim 7. Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerinde (iğ hücreleri) kalponin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 24, ABC metot, Bar=20 μ m.



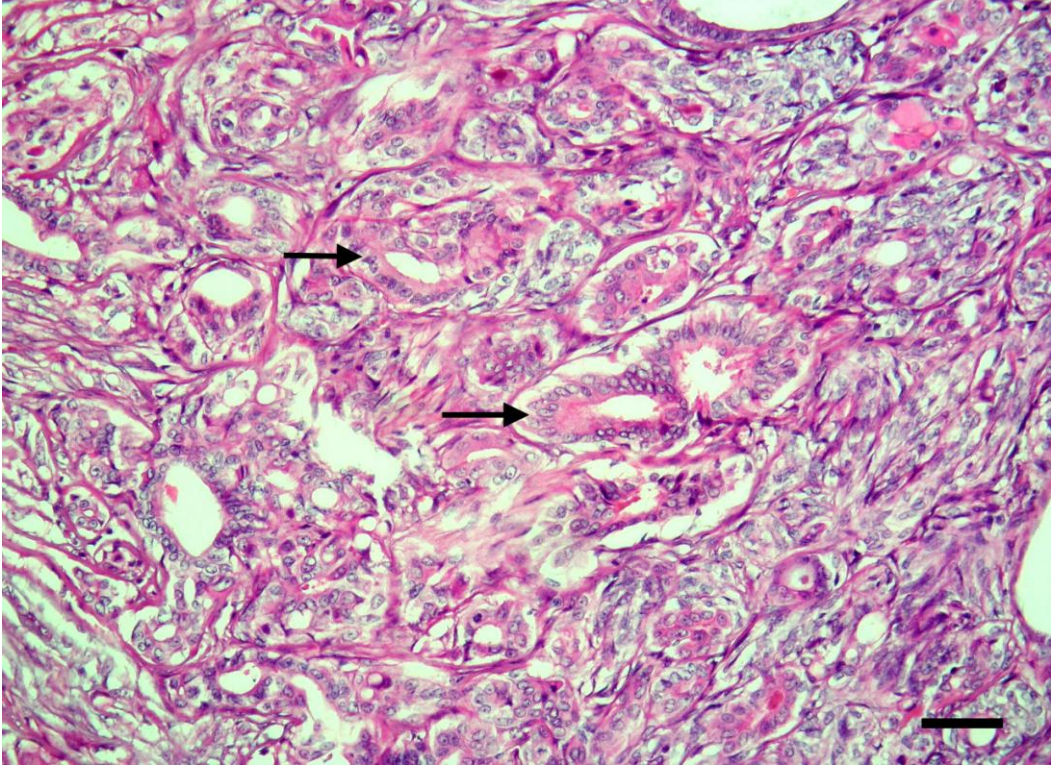
Resim 8. Kompleks karsinom; geniş ve poligonal hipertrofik miyoepitel hücrelerinde kalponin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 8, ABC metot, Bar=20 μ m.



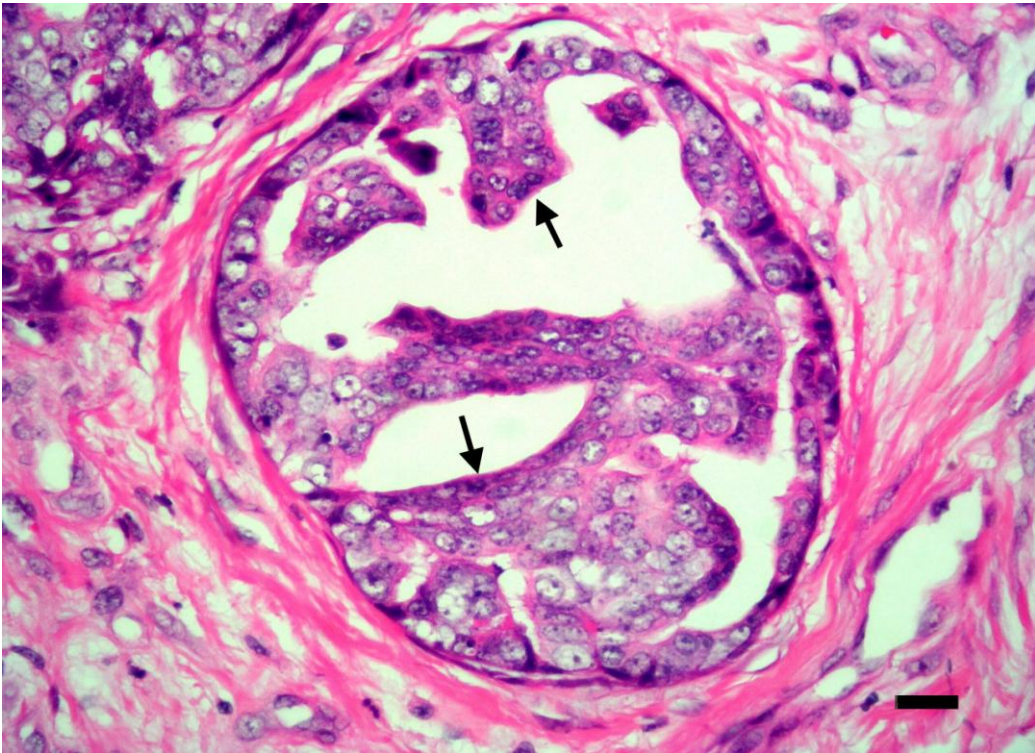
Resim 9. Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerde düz kas aktin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 19, ABC metot, Bar=20 μ m.



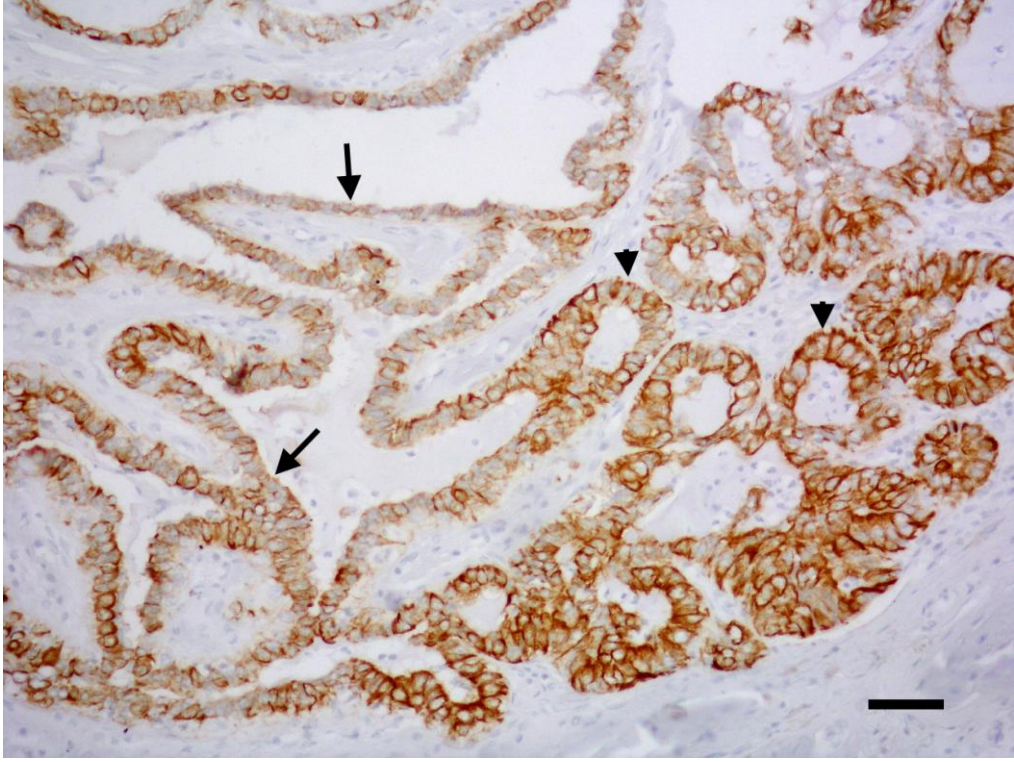
Resim 10. Kompleks karsinom; miyoepitel hücrelerde vimentin ekspresyonu (oklar) ve lümen epitel hücreleri (ok başları); olgu no: 9, ABC metot, Bar=20 μ m.



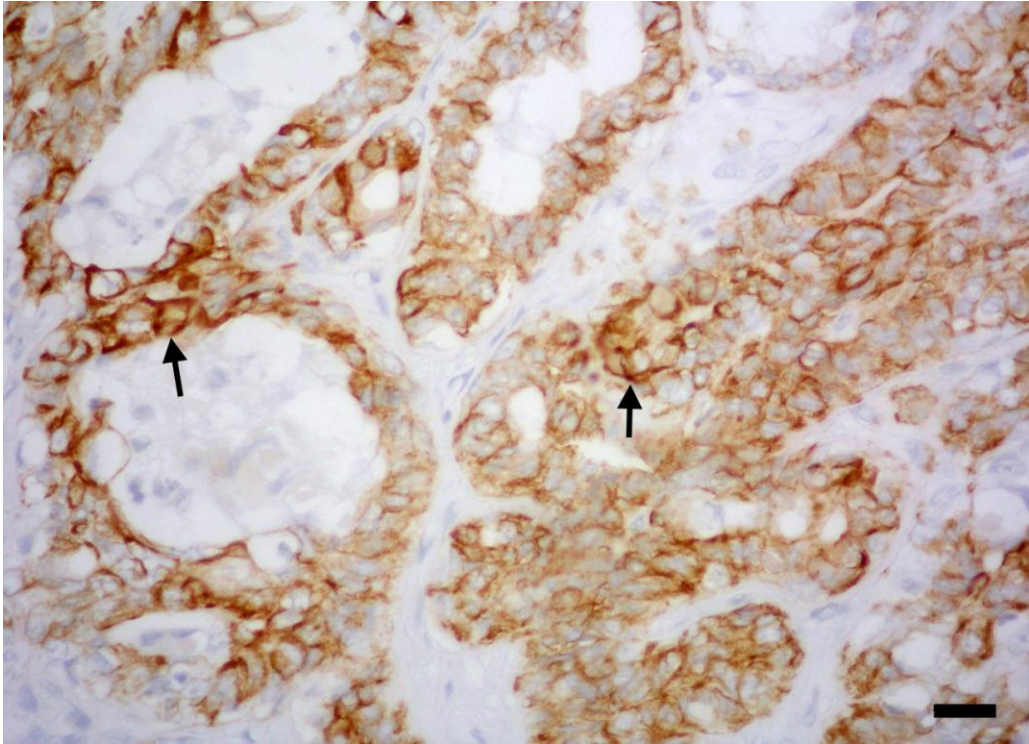
Resim 11. Tubulopapillar karsinom; atipik epitel hücrelerinden oluşan tubuler yapılar (oklar); olgu no: 37, HE. Bar=50 μ m.



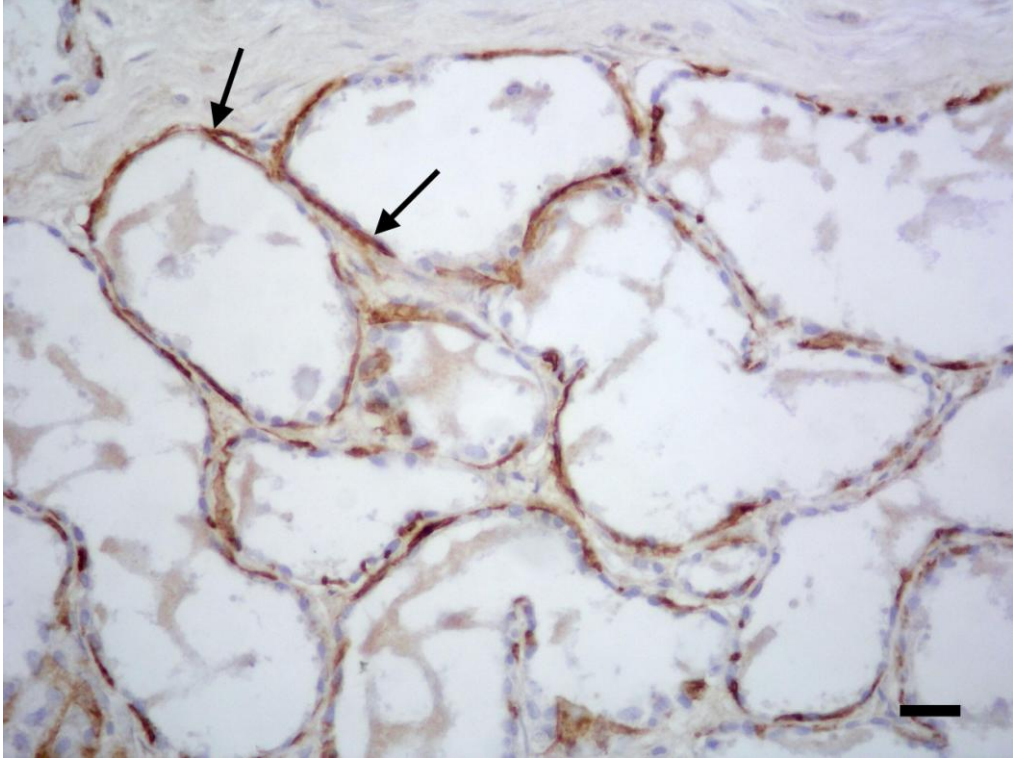
Resim 12. Tubulopapillar karsinom; tubulus lümenine doğru papillar uzantılar (oklar); olgu no: 33, HE. Bar=20 μ m.



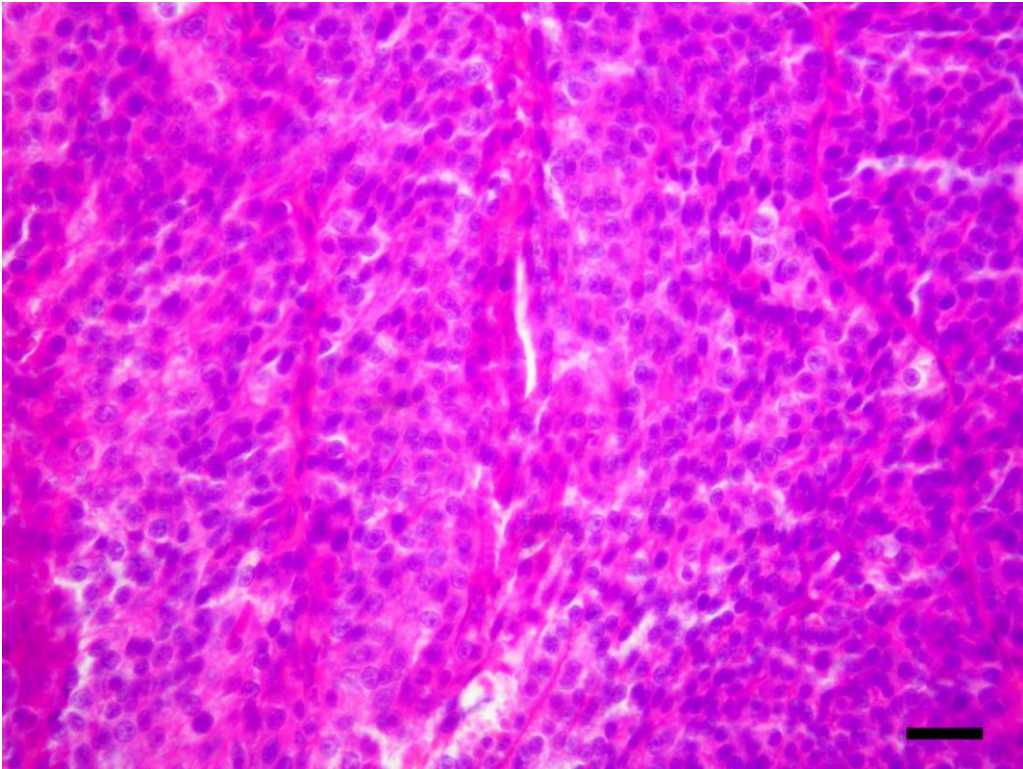
Resim 13. Tubulopapillar karsinom; tubulus (ok başları) ve papillar uzantıların (oklar) epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu; olgu no: 27, ABC metot, Bar=50 μ m.



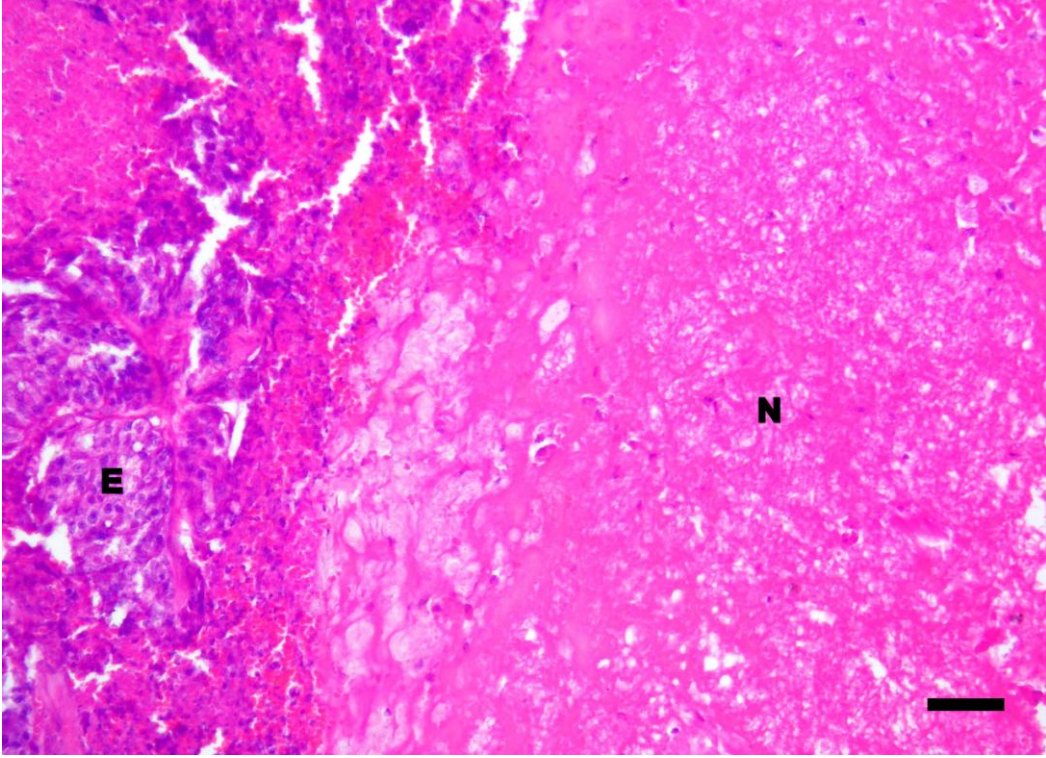
Resim 14. Tubulopapillar karsinom; tubulus epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 27, ABC metot, Bar=20 μ m.



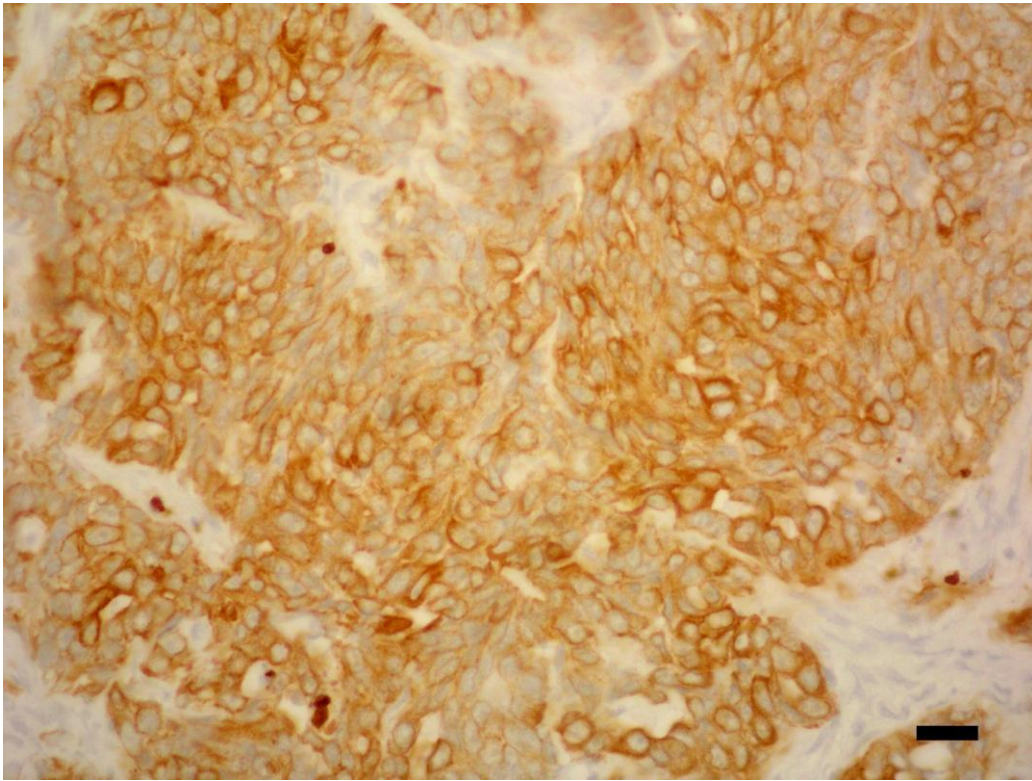
Resim 15. Tubulopapillar karsinom; tubulusların etrafını çeviren normal miyoepitel hücre tabakasında kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 32, ABC metot, Bar=20 μ m.



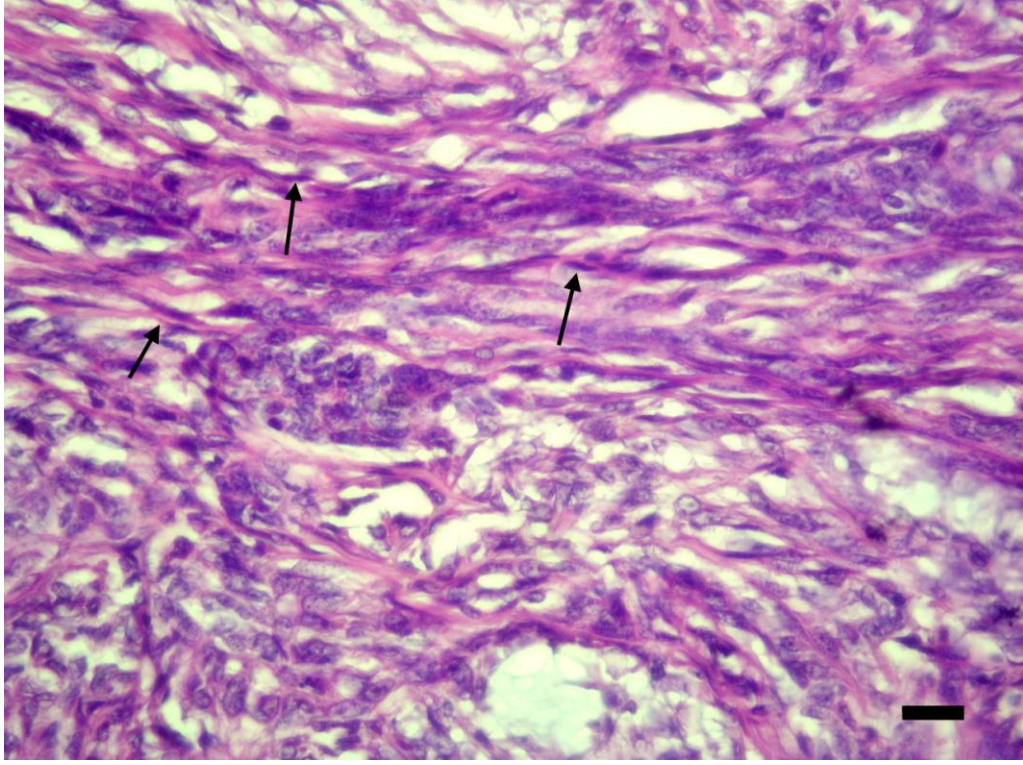
Resim 16. Solid karsinom; solid epitel hücre proliferasyonları; olgu no: 12, HE. Bar=50 μ m.



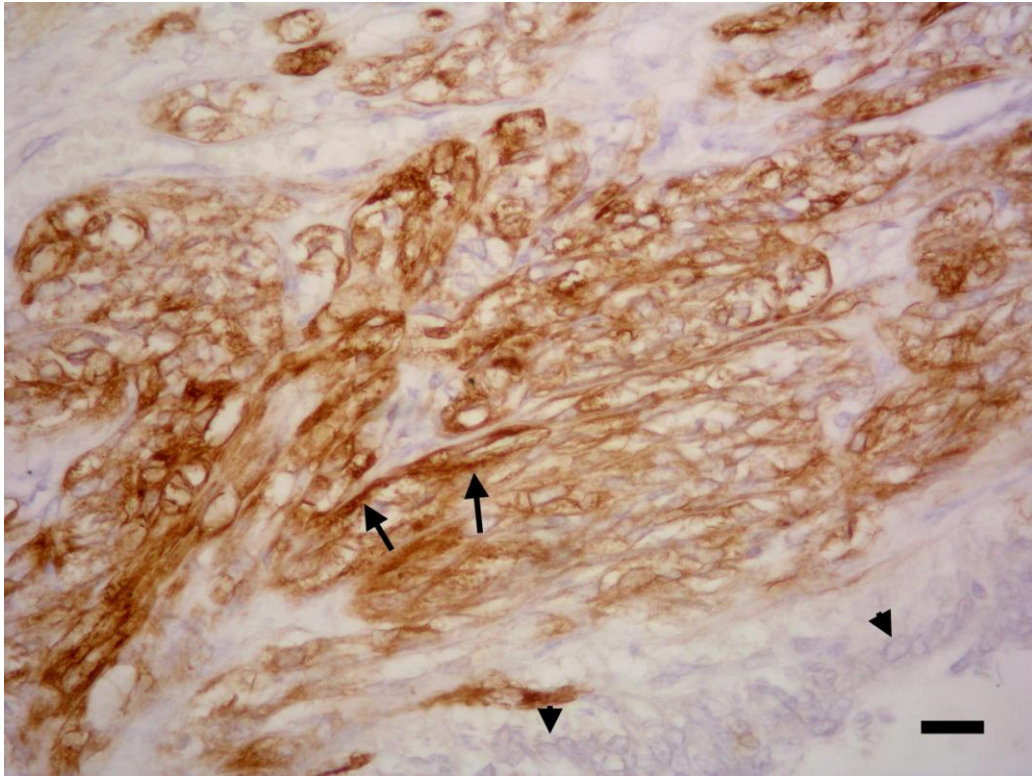
Resim 17. Solid karsinom; epitel hücre proliferasyonları (E) ve stromada geniş koagülasyon nekrozu (N); olgu no: 12, HE. Bar=50 μ m.



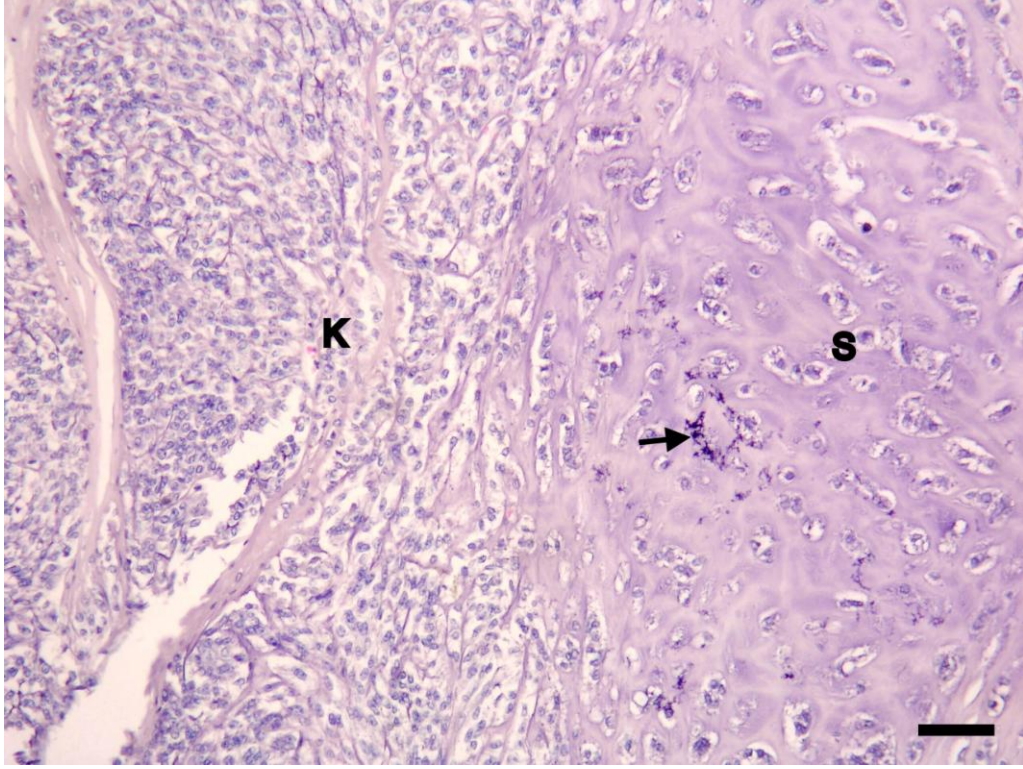
Resim 18. Solid karsinom; epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu; olgu no: 12, ABC metot, Bar=20 μ m.



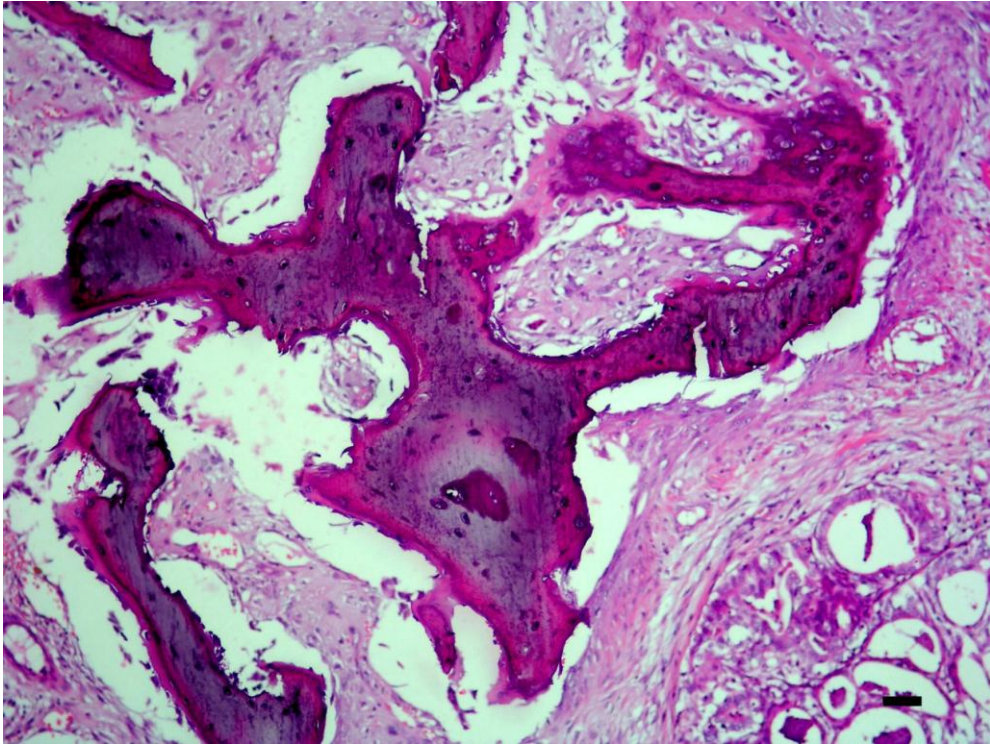
Resim 19. İğ hücreli karsinom; intertubuler alanda atipik iğ hücre proliferasyonları (oklar); olgu no: 39, HE. Bar=20 µm.



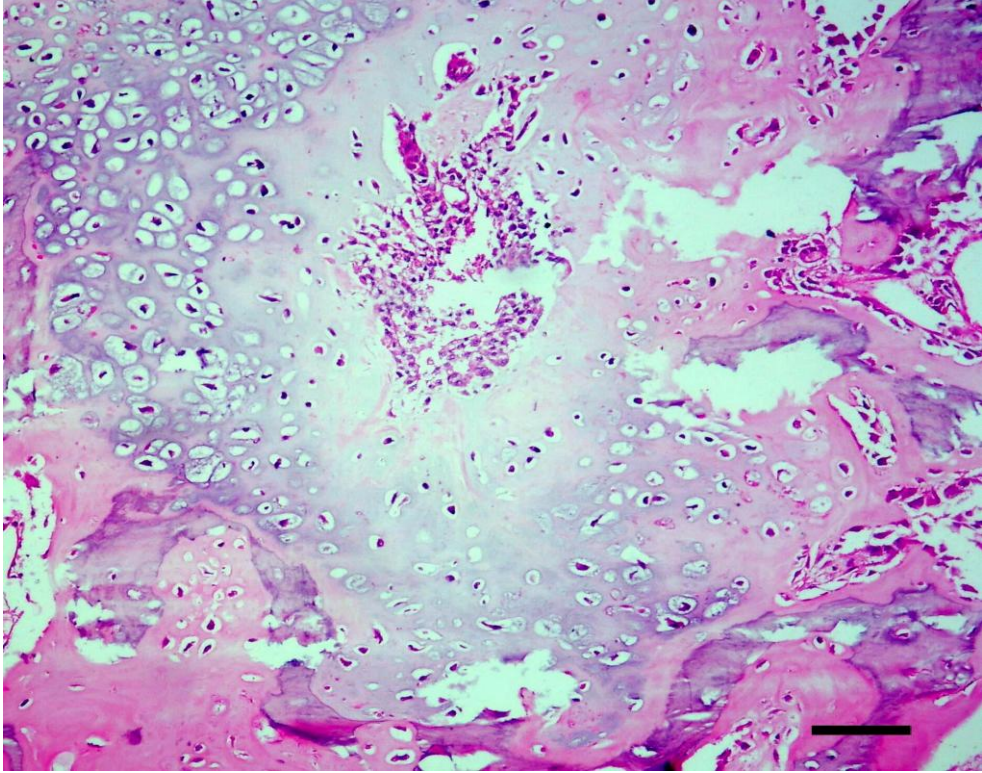
Resim 20. İğ hücreli karsinom; intertubuler alanda iğ hücrelerinde kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 39, ABC metot, Bar=20 µm.



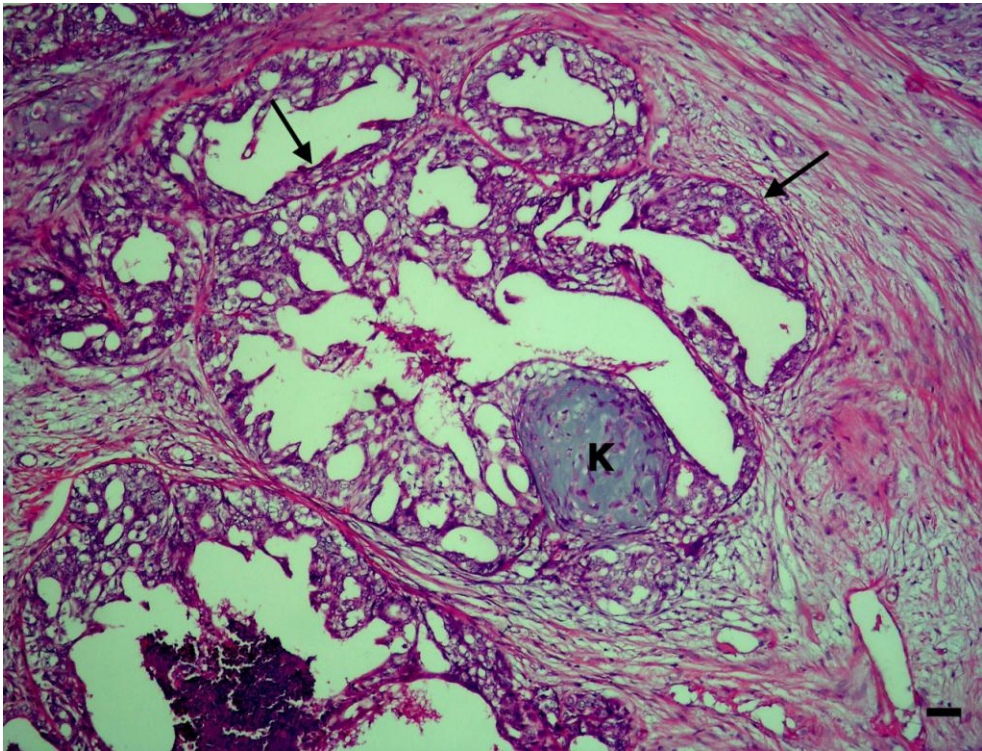
Resim 21. Karsinosarkom; solid epitel hücre proliferasyonları (K); hyalinize kondroid matris ve kondrositler (S); artifakt (ok); olgu no: 13, HE. Bar=50 µm.



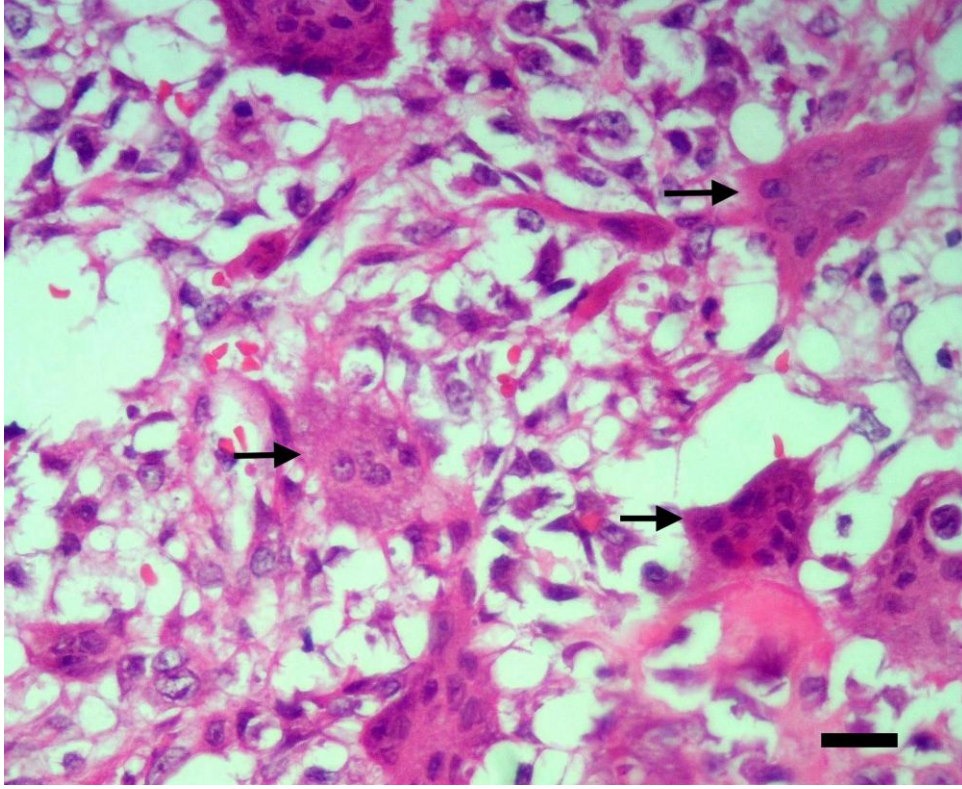
Resim 22. Karsinosarkom; osteoid üretimiyle karakterize kemik yapılar; olgu no:02, HE. Bar=50 µm.



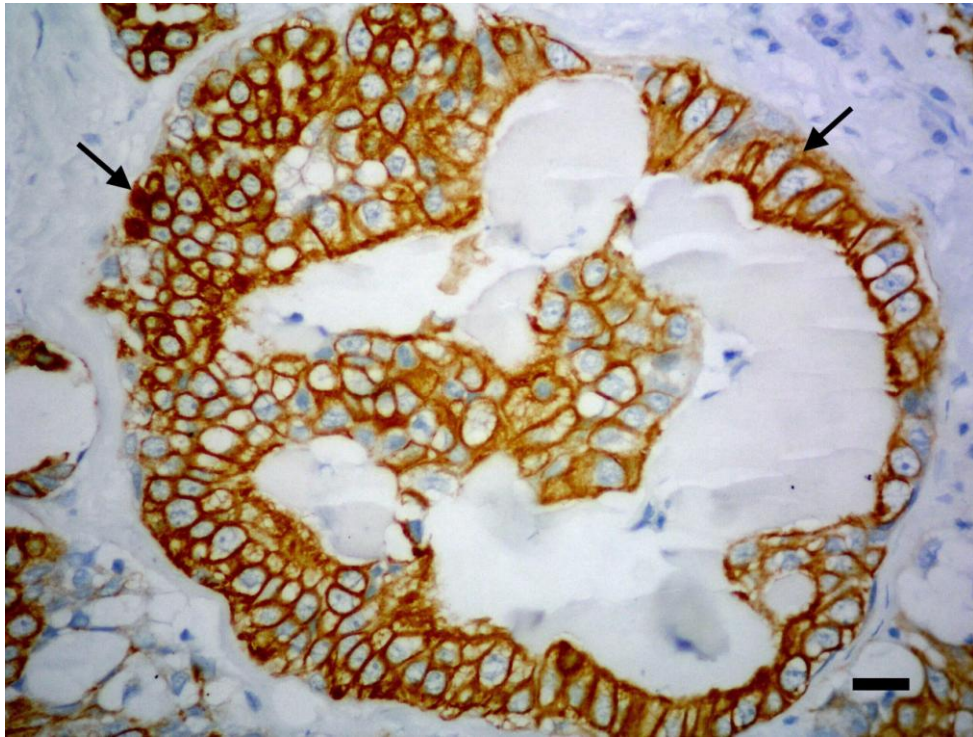
Resim 23. Karsinosarkom; kondroid matriks ve lakunalarda yer alan kondrositler (sarkomatöz alan); olgu no: 31, HE. Bar=50 µm.



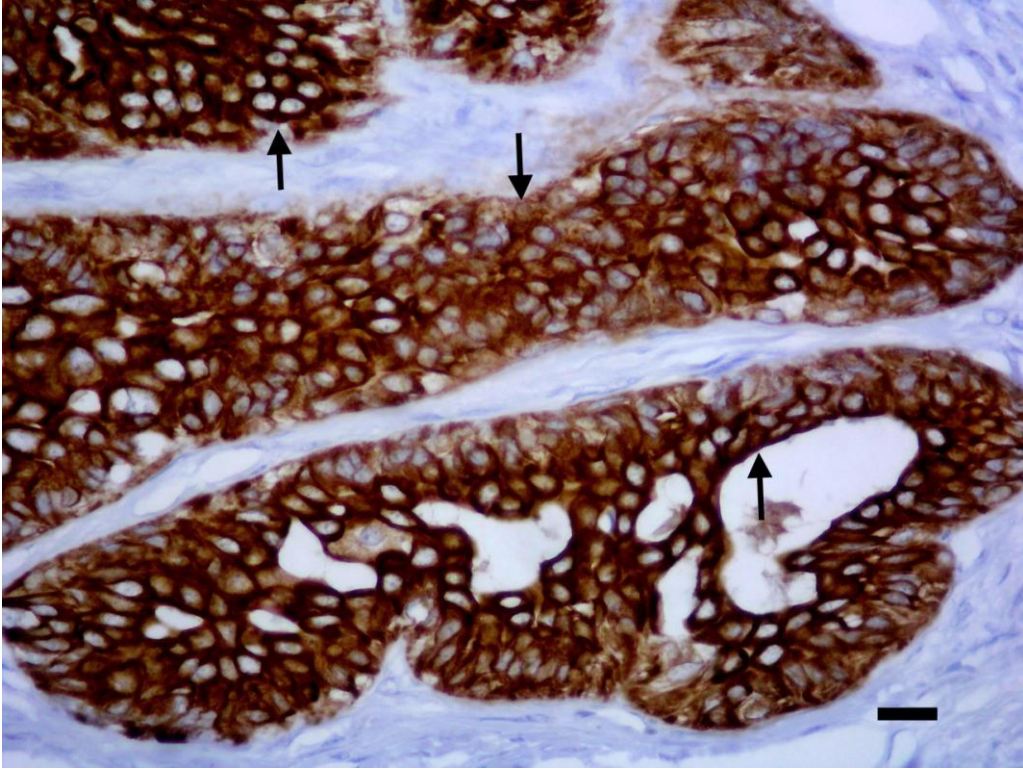
Resim 24. Karsinosarkom; tubulopapillar (oklar) ve kıkırdak (K) yapıların iç içe geçtiği alanlar; olgu no: 02, HE. Bar=50 µm.



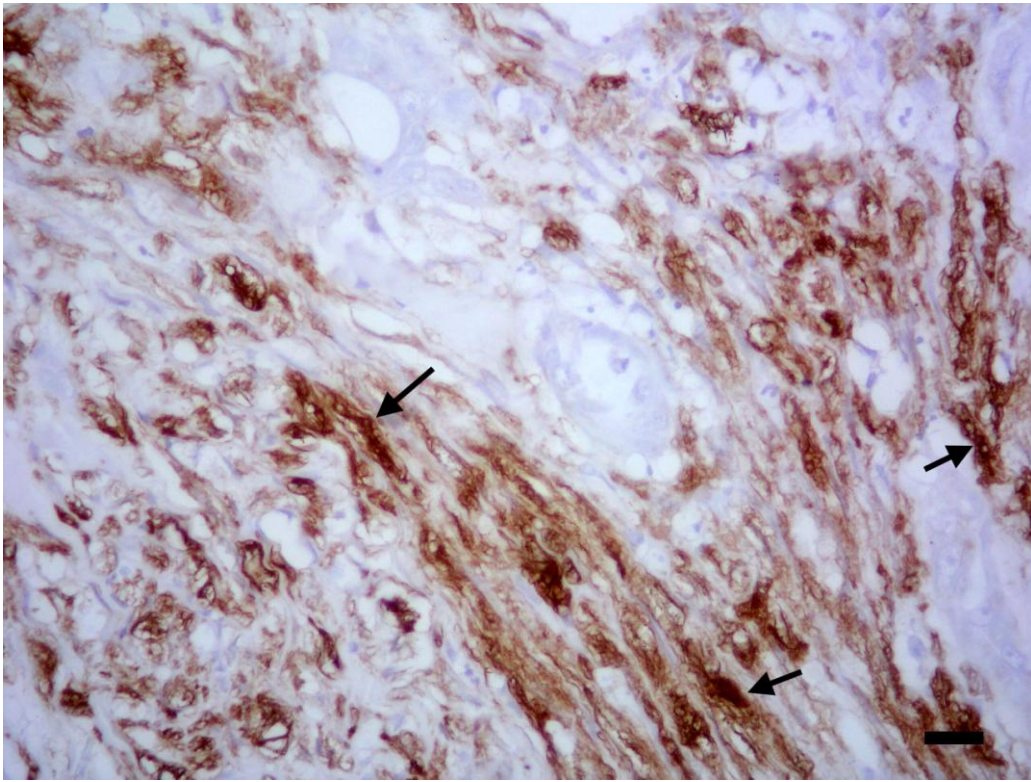
Resim 25. Karsinosarkom; sarkomatöz alanlarda osteoklast benzeri çok çekirdekli dev hücreler (oklar); olgu no: 28, HE. Bar=20 μ m.



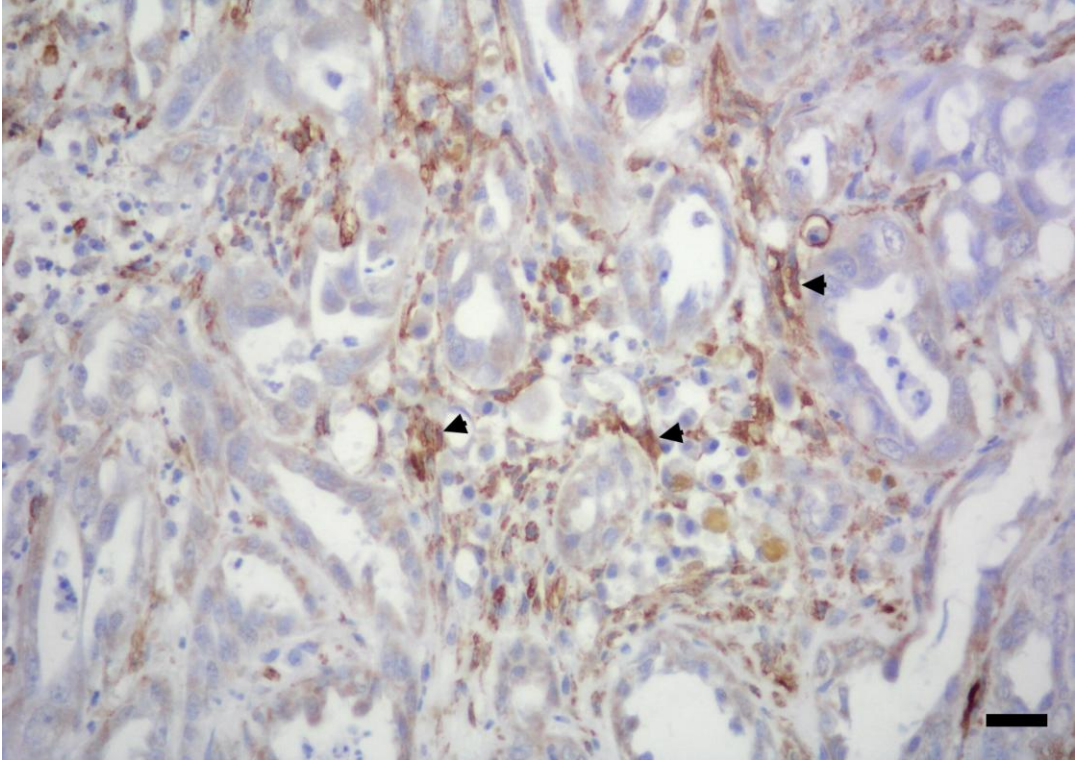
Resim 26. Karsinosarkom; karsinomatöz alanda epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 18, ABC metot, Bar=20 μ m.



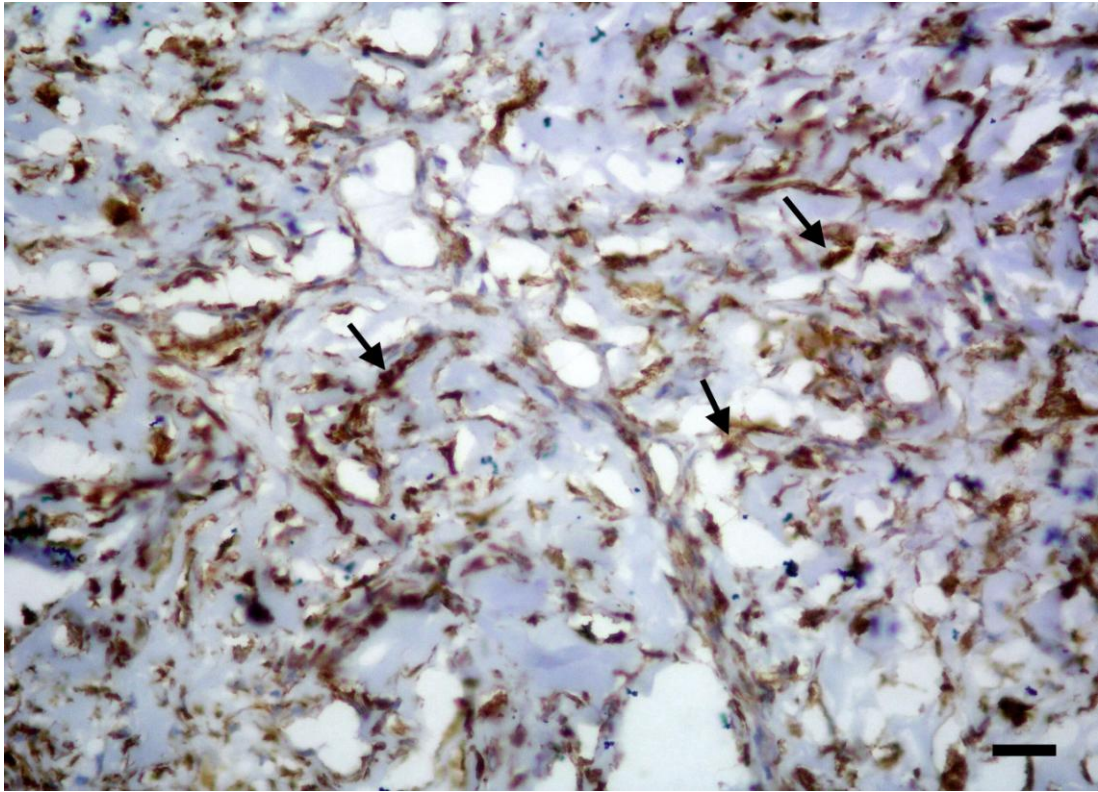
Resim 27. Karsinosarkom; karsinomatöz alanda epitel hücrelerinde sitokeratin AE1-AE3 ekspresyonu (oklar); olgu no: 22, ABC metot, Bar=20 µm.



Resim 28. Karsinosarkom; karsinomatöz alanda tümör yapısına katılan miyoepitel hücrelerde kalponin ekspresyonu (oklar); olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.



Resim 29. Karsinosarkom; karsinomatöz alanda tümör yapısına katılan miyoepitel hücrelerde düz kas aktin ekspresyonu (ok başları), olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.



Resim 30. Karsinosarkom; sarkomatöz alanda kıkırdak dokuda vimentin ekspresyonu (oklar); olgu no: 43, ABC metot, Bar=20 µm.

4. TARTIŞMA

Günümüzde, köpeklerde tümör insidensinin artması; insanlarda hayvan sevgisinin gelişmesi, köpeklerin evlerde bakım ve beslenme şartlarının iyileştirilmesine paralel şekilde yaşam sürelerinin uzaması; hayvan sahiplerinde duyarlılığın artması ve kliniklere bu tip olguların daha sık gelmesiyle ilişkilidir (Vural ve Aydın 2001). Veteriner hekimliğinde meme bezi tümörlerinin tanısı genellikle histopatolojik bulgulara dayanılarak yapılmaktadır. Histopatolojik tanı, özellikle cerrahi müdahaleden sonra, tümörün davranışı ve prognozu ile postoperatif kemoterapi planının belirlenmesini sağlayarak hayvanın yaşama süresinin uzatılmasında önemli bir rol oynar (Karayannopoulou ve ark 2001). Ayrıca, lezyonun tanımlanması, çevre dokulara infiltrasyonun varlığı, pleomorfizm, nekroz, yangı, mitotik indeks ve diferensiyasyon derecesi gibi histomorfolojik ayrıntıları kapsamına alır (Yamagami ve ark 1996). İnsan hekimliğinde tümör tanısında çok yaygın ve etkili olarak kullanılan immunohistokimyasal teknikler ise veteriner patolojide henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. Meme tümörlerinde tanının doğru olarak yapılabilmesi için, tümörün köken aldığı dokunun tam olarak ortaya konması gerektiğinden, tek başına histopatolojik tekniklerin kullanılması yetersiz kalabilmektedir. Örneğin, köpeklerde, özellikle meme bezlerinde meydana gelen kompleks tümörlerin histogenezinde rol oynayan mioepitel hücrelerin ortaya konulması, tanıda oldukça önemlidir (Misdorp 2002). Bu nedenlerle immunohistokimyasal tekniklerin tanıda kullanılmasının, vazgeçilmez bir gereksinim olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır.

Türkiye’de, 1973-1998 yılları arasında Ankara Bölgesi’nde incelenen köpek meme bezi tümörlerinin %71’in malign, % 29’un ise benign yapıda olduğu bildirilmiştir (Vural ve Aydın 2001). Retrospektif bir çalışmada, incelenen 155 köpekte meme bezi tümörü şüpheli kitlelerin %78,3’ü malign, %12,27’i benign, %8,02’i hiperplazi ve displazi olarak

değerlendirilmiş, %1,41'i ise sınıflandırılmamıştır (Sontaş ve ark 2009). Diğer bir retrospektif çalışmada incelenen 578 meme bezi tümörünün % 92,9'nun malign karakterde olduğu saptanmıştır (Itoh ve ark 2005). Başka bir çalışmada, 99 köpeğe ait meme bezi tümörü incelenmiş, bu tümörlerin % 73,8'nin malign, % 26,2'nin ise benign yapıda olduğu belirlenmiştir (Stratmann ve ark 2008). Değişik çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, genellikle meme bezi tümörlerinin % 55'den fazlasının malign yapıda olduğu konusunda görüş birliği hakimdir (Taniyama ve ark 2000, Pena ve ark 2003a, İlhan ve ark 2008, Stratmann ve ark 2008). Sunulan çalışmada ise bu oran daha yüksek düzeyde bulunmuş olup, tanısı konan 43 meme bezi tümörünün hemen hepsinin malign yapıda olduğu belirlenmiştir. Bu durum, benign tümör olgularının kliniklere yansıtılmamasına ya da tümörün malign karakter kazandığı geç dönemlerde hayvan sahipleri tarafından veteriner kliniklerine getirilmesi ve bu tümörlere geç müdahale edilmesi gibi nedenlere yorumlanabilir.

Kimi araştırmacılar tarafından, malign meme tümörlerini oluşturan karsinom ve sarkomların oranları ayrı ayrı belirtilmiş ve karsinomların daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (Milli ve ark 2000, Itoh ve ark 2005, Stratmann ve ark 2008, Sontaş ve ark 2009). Doksan dokuz köpekte görülen malign tümörlerin incelendiği bir çalışmada, karsinom % 48,5, miks tümör % 20,2, sarkom % 5,1 oranında saptanmış (Stratmann ve ark 2008); başka bir çalışmada ise incelenen 537 malign meme tümöründen % 98,28'nin karsinom, % 1,66'nın ise sarkom olduğu belirtilmiştir (Itoh ve ark 2005). Genel olarak köpeklerde meme sarkomları, tüm meme bezi tümörlerinin yaklaşık % 10-15'i kadardır (Misdorp 2002). Sunulan çalışmada, incelenen meme bezi tümörlerinde sarkomlar gözlenmemiş, karsinomlar % 67,5, karsinosarkomlar ise % 32,5 oranında saptanmıştır. Bu oranların belirlenmesinde kullanılan sınıflandırmanın da önemi göz ardı edilmemelidir. Zira, karsinosarkom olarak tanımladığımız olguların kimi çalışmalarda miks tümör olarak değerlendirildiği dikkati çekmiştir (Stratmann ve ark 2008, Sontaş ve ark 2009). Nitekim bir çalışmada, WHO tarafından yapılan sınıflandırmada yer almamasına rağmen, bazı olgular malign miks tümör olarak tanımlanmıştır (Sontaş ve ark 2009).

Köpeklerde meme bezi tümörlerinin ırklara göre dağılımında farklılıklar söz konusudur. En çok Poodle, English Spaniel, English Setter, English Cocker, Dachshunds, Fox Terriers, Boston Terriers, Cocker Spaniels, Pointers ırklarında gözlenir. Boxer, Beagle, Chihuahua, Labrador Retrievers ırkları ise düşük risk grubundaki ırklardır

(Moulton 1990, Zatloukal ve ark 2005, Argyle ve ark 2008). Meme bezi tümörünün görüldüğü ve 214 olgunun incelendiği bir çalışmada, Poodle, English Cocker, English Spaniel ve Dachshund ırkı köpeklerin istatistiksel olarak meme bezi tümörleri açısından oldukça duyarlı ırklar olduğu bildirilmiştir (Zatloukal ve ark 2005). Özellikle saf kan köpek ırklarının kırmalara göre meme bezi tümörlerine daha duyarlı oldukları saptanmıştır (Moulton 1990). Mevcut çalışmada, Çizelge 1'in de incelenmesinden anlaşılacağı gibi, olguların % 41,02'si Terrier, % 12,8'i Cocker, % 12,8'i kırma, % 5,12'si Golden Retriever ve geri kalan yüzde dilimini ise diğer ırklar oluşturmuştur. Terrier ırkı köpeklerin yüzde diliminin yüksek çıkmasının, ırk duyarlılığı bir yana, Aydın ili ve çevresinde evlerde beslenen köpeklerin daha çok Terrier ırkı olmasından kaynaklandığını düşündürmüştür.

Köpeklerde meme bezi tümörlerinin iki yaşından küçüklerde ender görüldüğü, insidensinin 6-7 yaşlarından itibaren artış gösterdiği, yaş ortalamasının ise 10-11 olduğu bildirilmiştir (Zatloukal ve ark 2005, Argyle ve ark 2008, Sontaş ve ark 2009). Yapılan çalışmalarda, köpeklerde meme bezi tümörlerinin yaş ortalaması 9,75 olarak; memede displazi, hiperplazi gibi lezyonlar için 8 yaş, benign tümörler için 10 yaş, malign tümörler için de 13 yaş en riskli yaşlar olarak belirtilmiştir (Ünal ve ark 1994, Zatloukal ve ark 2005). Çizelge 1'in de incelenmesinden anlaşılacağı gibi, çalışmada, yaş ortalaması 10,3 olarak belirlenmiştir; üçünün yaşları belirlenememiştir; yaşları bilinenlerin en küçüğünün 4 yaşlı, en büyüğünün ise 14 yaşlı olduğu gözlenmiştir.

Meme bezi tümörlerinin anatomik olarak kranyal ve kaudal meme bezlerindeki dağılımı da farklılık gösterir. Yapılan retrospektif bir çalışmada incelenen 86 meme bezi tümörünün % 40,7'sinin inguinal meme bezinde, % 31,4'ünün kranyal ve kaudal abdominal meme bezlerinde, % 11,6'sının ise kranyal ve kaudal torakal meme bezlerinde olduğu bildirilmiştir (Vural ve Aydın 2001). Diğer bir çalışmada ise incelenen 99 meme bezi tümörünün % 17,2'sinin torakal meme bezlerinde; % 47,5'inin abdominal meme bezlerinde; % 35,3'ünün ise inguinal meme bezlerinde meydana geldiği ifade edilmiştir (Stratmann ve ark 2008). Çizelge 1'in de incelenmesinden anlaşılacağı gibi, çalışmamızda, lokalizasyonu saptanan 30 olgunun % 46,6'sı inguinal; % 26,6'sı abdominal; %10'u sağ torakal, abdominal ve inguinal (ektirpasyon); % 6,6'sı sol torakal, abdominal ve inguinal (ektirpasyon); % 6,6'sı sağ abdominal ve inguinal; % 3,3'ün ise torakal meme bezlerine lokalize oldukları belirlenmiştir. Geriye kalan 13 olgunun ise meme bezi lokalizasyonu belirlenememiştir. Çalışmamızda, tümörlerin en çok inguinal ve en az torakal meme

bezlerine lokalize olduğu görüldü. Ancak, meme tümörlerinin hangi meme bezinde daha çok lokalize olduklarıyla ilgili değişik çalışmalarda bir fikir birliği bulunmamaktadır (Vural ve Aydın 2001, Stratmann ve ark 2008).

Köpek meme bezi tümörlerinde malignitenin sitolojik kriterleri olarak, anizositozis, nükleus/sitoplazma oranının nükleus lehine artması, dev çekirdekli hücre formlarının varlığı, nükleolusların sayısı, büyüklük ve şekillerindeki farklılıklar, mitotik aktivite gibi kriterler ön görülmüştür (Dutra ve ark 2004, Dutra ve ark 2008). Bu çalışmada, incelenen tüm olgularda, histopatolojik olarak tümör hücrelerinde, anizositozis, nükleus/sitoplazma oranının nükleus lehine artması, nükleolusların sayısı, büyüklük ve şekillerindeki farklılıklar ile mitotik aktivitede artış belirgin bir şekilde gözlenmiştir. Dev çekirdekli hücre formlarına ise yaygın olarak rastlanmamıştır. Bunların yanı sıra, hiperkromazi, hipokromazi ve saydam çekirdekli hücrelerin varlığı da dikkati çekmiştir. Ayrıca, histopatolojik olarak, malign ve benign tümörlerin ayırımında, hücresel atipinin yanı sıra yangısal hücre infiltrasyonları ve nekrozun da varlığının önemli kriterler olduğu bildirilmiştir (Yamagami ve ark 1996, Misdorp 2002, Monteros ve ark 2002). Benzeri olarak, tüm olgularımızda geniş nekroz alanlarına ilaveten 16 olguda da yangısal hücre infiltrasyonlarının varlığı dikkati çekmiştir.

Köpeklerde meme bezi tümörlerinde, tanı amacıyla, yalnızca histopatolojik yöntemlerin kullanılması yetersiz kalmakta, doğru tanı yapılabilmesi için tümörün köken aldığı epitel ya da mezenşimal dokunun ortaya konulması gerekmektedir. Bu amaçla, immunohistokimyasal tekniklerde bazı spesifik markırlar kullanılmaktadır (Nieto ve ark 2000, Restucci ve ark 2002, Las Mulas ve ark 2004b, Sassi ve ark 2008). Özellikle miyoepitel hücrelerin varlığının ortaya konulmasında değişik çalışmalarda kalponin, düz kas aktin ve vimentin kullanılmıştır (Destexhe ve ark 1993, Vos ve ark 1993, Milli ve ark 2000, Monteros ve ark 2002, Gama ve ark 2003). Sunulan çalışmada, miyoepitel hücrelerin ortaya konulmasında kalponin, düz kas aktin ve vimentin; epitel hücrelerinin ortaya konulmasında sitokeratin AE1-AE3; tüm mezenşimal dokuların ortaya konulmasında ise vimentin primer markır olarak kullanılmış ve bunlara ilişkin ekspresyonlar görülmüştür. Nitekim, bu çalışmada, sadece histopatolojik bulgular ile histopatolojik-immunohistokimyasal bulguların birlikte değerlendirilmesi arasında farklılıklar ortaya çıkmıştır. Çizelge 5'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, hem histopatolojik hem de immunohistokimyasal bulgular birlikte göz önüne alındığında; histopatolojik olarak

karsinosarkom tanısı konan üç olgu kompleks karsinom olarak; kompleks karsinom tanısı konan bir olgu karsinosarkom olarak; tubulopapillar karsinom tanısı konan iki olgu kompleks karsinom, iki olgu ise karsinosarkom olarak; kompleks karsinom tanısı konan yedi olgu tubulopapillar karsinom olarak değerlendirilmiştir. Tanıda meydana gelen bu farklılıklar, histopatolojik tekniklerin yanında immunohistokimyasal tekniklerin de kullanılmasının zorunlu olduğunu göstermiştir.

Birbirinden oldukça iyi ayrılmış tubuluslar ve bu tubulusları oluşturan epitel hücrelerinin bazal membranın bütünlüğünü bozmadan proliferen oldukları üç olgu in situ karsinom olarak değerlendirilmiştir. İn situ karsinom, tümör hücrelerinin bazal membran invazyonunun görülmediği ve bazal membranın bütünlüğünü koruduğu tümörlerdir, basit ve kompleks tipleri görülebilir (Silver ve Tavassoli 1998, Lukas ve ark 2000). İmmunohistokimyasal olarak, epitel hücrelerinin proliferen olduğu tümör alanlarında, bu hücreler sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli; vimentin ile zayıf ekspresyon göstermiştir. Kalponin ve düz kas aktin ile herhangi bir ekspresyon görülmemiştir. Bu olgularda, tümöre katılan hücrelerin miyoepitel markırları ile ekspresyon göstermemesi nedeniyle, bunlar basit tipte in situ karsinom olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, immunohistokimyasal olarak, 12 olguda, tümöre katılan epitel ve miyoepitel komponentlerin varlığı ortaya konulmuş ve bu olgular kompleks karsinom olarak değerlendirilmiştir. Kompleks karsinomlar, epitel ve miyoepitel komponentler içeren, lümen epitel hücrelerinin hem tubulopapillar, hem de solid yapılar oluşturabildiği ve nekrozların görülebildiği bir tümördür (Martins ve ark 2002, Monteros ve ark 2002, Dore ve ark 2003, Seixas ve ark 2008). Kompleks karsinom olgularımızda, geniş nekroz alanları dikkati çekmiş, 11 olguda lümen epitel hücrelerinin tubuler, bir olguda ise solid yapıda oldukları gözlenmiştir. Stroma ve intertubuler alanlarda iç hücreler ve beş olguda da bu hücrelere ek olarak poligonal, geniş ve saydam sitoplazmalı hücre proliferasyonları da görülmüştür. Bir çalışmada, kalponinle ekspresyon gösteren dört farklı miyoepitel hücre tipi tanımlanmış ve bunlar, hipertrofik (poligonal, geniş ve saydam sitoplazmalı), fusiform (iğ), yıldız ve yuvarlak miyoepitel hücreleri olarak isimlendirilmiştir (Monteros ve ark 2002). Sunulan çalışmada da, stroma ve intertubuler alanlarda kalponin ile değişen derecelerde ekspresyon gösteren poligonal ve iğ şeklinde hücreler gözlenmiş, bu hücreler iğ şeklinde ve hipertrofik miyoepitel hücreler olarak değerlendirilmiştir. Farklı çalışmalarda, miyoepitel hücrelerinin düz kas aktin ile ekspresyon gösterdiği (Destexhe ve

ark 1993) ve vimentin ekspresyonunun düz kas aktine göre daha zayıf olduğu belirtilmiştir (Milli ve ark 2000). Sunulan çalışmanın kompleks karsinom olarak tanımlanan olgularında da vimentin ve düz kas aktin, miyoepitel hücrelerini orta derecede eksprese etmiştir.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, 12 olguya, sadece epitel komponentlerin varlığından dolayı basit-yalın karsinom (tubulopapillar) tanısı konmuştur. Tubulopapillar karsinom, meme bezi duktuslarından köken alan epitel hücrelerinin tubuler yapılar oluşturdukları, bazı olgularda tubulusların lümenlerine doğru geniş tabanlı ya da saplı papillar uzantıların görüldüğü, stroması kollajen ipliklerden zengin, çok miktarda bağ doku içeren tümörlerdir (Ünal ve ark 1994, Taniyama ve ark 2000, Martins ve ark 2002, Gama ve ark 2003, Patsikas ve ark 2006). Tubulopapillar karsinom olarak tanımlanan olgularımızda, atipik lümen epitel hücrelerinin tubulopapillar yapılar oluşturarak proliferasyon gösterdikleri görülmüştür. İğ şeklinde hücre proliferasyonlarına ise rastlanmamıştır. Bu olguların genelinde, bağ dokudan zengin, geniş bir stroma bulunduğu gözlenmiştir. Tubulopapillar karsinom olgularında, lümen epitel hücrelerinin sitokeratinler ile eksprese edildiği (Milli ve ark 2000), bir çalışmada da sitokeratin AE1-AE3 ile % 50'nin üzerinde ekspresyon gösterdiği belirtilmiştir (Gama ve ark 2003). Sunulan çalışma olgularında, tümör yapısına katılan tubulusların lümen epitel hücreleri, sitokeratin AE1-AE3 ile kuvvetli ekspresyon göstermiştir. Ayrıca, tümör yapısında kalponinle ekspresyon gözlenmemiş ve miyoepitel hücrelerinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak bir olguda düz kas aktin ile zayıf ekspresyon görülmüş ve bu ekspresyonun normal miyoepitel hücrelerine ilgili olduğu yorumlanmıştır.

Sunulan çalışmada, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, miyoepitel hücre varlığının ortaya konulamaması ve pleomorfik epitel hücrelerinin solid yapıda bulunmaları nedeniyle bir olgu basit-yalın karsinom (solid) olarak değerlendirilmiştir. Solid karsinom, atipik epitel hücrelerinin tubulus ya da lümen oluşturmadan, solid yapılar şeklinde proliferasyonu ile karakterizedir (Ünal ve ark 1994, Milli ve ark 2000, Taniyama ve ark 2000, Polton 2009). Tanımlanan olgumuzda, oldukça pleomorfik epitel hücrelerinin solid proliferasyonları dikkati çekmiştir. İmmunohistokimyasal olarak da solid yapıda epitel hücre proliferasyonlarının bulunduğu alanlarda, sitokeratin AE1-AE3 bu hücreleri kuvvetli derecede eksprese etmiştir. Vimentin ile zayıf ekspresyon gösteren hücrelerin stromal bağ doku hücreleri olabileceği şeklinde değerlendirilmiş; kalponin ve düz kas aktin ile herhangi bir ekspresyon dikkati çekmemiştir.

Çalışmada, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak bir olgu iğ hücreli karsinom olarak değerlendirilmiştir. Köpek meme bezi tümörleri arasında ender olarak görülen iğ hücreli karsinomlar, histopatolojik olarak, iğ şeklinde hücrelerin solid ya da epitel benzeri dizilimleri ile karakterizedir (Maemura ve ark 1997, Milli ve ark 2000, Gama ve ark 2003). İmmunohistokimyasal olarak, bu tümörlerin, sitokeratin 14 ve AE1-AE3 ile zayıf ekspresyon oluşturduğu ve söz konusu markırların bu tümör için güvenilir olmadıkları bildirilmiştir (Gama ve ark 2003). Ayrıca, değişik çalışmalarda, iğ şeklindeki hücrelerin, düz kas aktin ve vimentin ile kuvvetli ekspresyon gösterdikleri ifade edilmiştir (Maemura ve ark 1997, Milli ve ark 2000, Gama ve ark 2003). İğ hücreli, karsinom olgumuzda, literatürlere uygun bir şekilde, iğ şeklindeki hücrelerin solid yapılar halinde proliferere oldukları dikkati çekmiştir. İmmunohistokimyasal olarak da, tümöre katılan hücrelerin kalponin ve vimentin ile orta; düz kas aktin ile zayıf ekspresyon gösterdiği; sitokeratin AE1-AE3'ün ise bu hücreleri eksprese etmediği belirlenmiştir. Tümörde iğ şeklindeki hücrelerin kalponin, düz kas aktin ve vimentin ile ekspresyon göstermesi, sitokeratin AE1-AE3 ile ekspresyon göstermemesi, miyoepitel kökenli olabileceğini düşündürmüştür.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak, 14 olguda malign epitel ve mezenşimal komponentlerin varlığı dikkati çekmiş ve bu tümörler karsinosarkom olarak değerlendirilmiştir. Karsinosarkomlar, hem epitel (lümen epitel hücreleri, miyoepitel hücreler), hem de mezenşimal malign komponentlerden meydana gelen tümörlerdir (Gama ve ark 2003, Queiroga ve ark 2007). Sarkomatöz alanı oluşturan kıkırdak ve kemik yapılar, konnektif dokudan ya da miyoepitel hücrelerden metaplazi yoluyla gelişebilir (Toth ve ark 1979, Monteros ve ark 2002). Karsinosarkom olgularımızda, sarkomatöz alanlarda, osteoid üretimiyle karakterize kemik yapılar ve kartilagineus lakunalarda yer alan kondrositler bir arada görülmüştür. Karsinomatöz alanlarda da epitel hücrelerinin tubuler yapıdaki atipik proliferasyonları gözlenmiştir. Altı olguda ise karsinomatöz alanlarda, iğ şeklinde hücrelerin atipik proliferasyonlarının da tümör yapısına katıldığı belirlenmiştir. Bu hücreler kalponin ile kuvvetli, düz kas aktin ve vimentin ile orta derecede ekspresyon göstermiş ve bunların miyoepitel hücreler olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, gözlenen kıkırdak ve kemik yapılarının miyoepitel hücrelerden metaplazi yoluyla geliştiği olasılığını güçlendirmiştir. Ayrıca, karsinomatöz alanlarda, epitel hücrelerinin sitokeratinler ile ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir (Gama ve ark 2003). Bütün karsinosarkom

olgularımızda, karsinomatöz alanlarda, sitokeratin AE1-AE3, lümen epitellerini kuvvetli derecede eksprese etmiştir. Karsinosakom tanısı konan 14 olgunun sekizinde ise kalponin ve düz kas aktin ile ekspresyon gözlenmemiş ve böylece miyoepitel hücrelerin bu olgularda tümörün yapısına katılmadığı sonucuna varılmıştır.

Genel olarak sarkomatöz komponentler, mezenşimal doku markırı olan vimentin ile ekspresyon gösterir (Hellmen ve Lindgren 1989, Destexhe ve ark 1993, Milli ve ark 2000, Wensman ve ark 2010). Bir çalışmada, karsinosarkomların sarkomatöz komponentlerinin konnektif dokudan köken alabileceği belirtilmiştir (Toth ve ark 1979). Karsinosarkom olgularının tamamında, özellikle kıkırdak yapılar, literatürlere uyumlu bir şekilde vimentin ile ekspresyon göstermiştir. Kemik yapılarda ise aynı yoğunlukta ekspresyonun varlığına rastlanmamıştır. Kalponin ve düz kas aktin ile miyoepitel hücre proliferasyonlarının ortaya konulmadığı sekiz olguda, sadece vimentin ile ekspresyonun görülmesi, bu olgulardaki kıkırdak ve kemik yapıların, konnektif dokudan metaplazi yoluyla geliştikleri olasılığını güçlendirmiştir.

Kimi araştırmacılar tarafından, karsinosarkomlar ve osteosarkomlarda, osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücrelerine rastlanabileceği belirtilmiştir (Misdorp 2002). Karsinosarkom olarak değerlendirilen 14 olgudan yalnızca bir olguda, osteoklast benzeri çok çekirdekli dev hücreler gözlenmiştir.

5. SONUÇ

Hem histopatolojik hem de immunohistokimyasal bulgular birlikte değerlendirildiğinde; histopatolojik olarak karsinosarkom tanısı konan üç olgu kompleks karsinom; kompleks karsinom tanısı konan bir olgu karsinosarkom; tubulopapillar karsinom tanısı konan iki olgu kompleks karsinom, iki olgu ise karsinosarkom; kompleks karsinom tanısı konan yedi olgu tubulopapillar karsinom olarak değerlendirilmiştir. Bu verilere dayanarak, tanının sadece histopatolojik bulgularla yapılmasının hatalara yol açabileceği, immunohistokimyasal bulgularla desteklenmesinin ise kesin ve güvenilir tanı için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

İmmunohistokimyasal teknikle, miyoepitel hücre demonstrasyonunda kalponin, düz kas aktine göre oldukça iyi sonuç vermiştir. Bu nedenle, miyoepitel hücre identifikasyonunda kalponin'in primer markır olarak kullanılmasının oldukça yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Köpek meme tümörlerinde yaygın olarak görülen kıkırdak ve kemik yapılarının büyük çoğunlukla konnektif dokudan metaplazi yoluyla geliştiği olasılığını destekleyen sonuçlar alınmıştır.

Köpek meme tümörlerinin tanısında, primer monoklonal markırların kullanımı ile gerçekleştirilen immunohistokimyasal tekniğin gerekliliği ve önemi bu çalışmayla ortaya konmuştur.

ÖZET

Köpek Meme Bezi Tümörlerinin Tanısında Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler

Bu çalışmada, köpek meme bezi tümörlerinde histopatolojik ve immunohistokimyasal teknikler kullanılarak, daha güvenilir tanının yapılması amaçlandı; çalışmanın materyalini, değişik yaş ve ırklarda 43 adet dişi köpeğe ait örnekler oluşturdu. Bu örnekler, histopatolojik (hematoksilen-eozin; HE) ve immunohistokimyasal (avidin-biotin peroxidase complex; ABC) teknikler kullanılarak incelendi. Sonuçlar, WHO-AFIP (World Health Organization–Armed Forces Institute of Pathology) tarafından kullanılan sınıflandırma göz önünde bulundurularak değerlendirildi. Bu değerlendirmede, üç olgu in situ karsinom, 12 olgu kompleks karsinom, 12 olgu tubulopapillar karsinom, bir olgu solid karsinom, bir olgu iç hücreli karsinom, 14 olgu karsinosarkom olarak tanımlandı.

İmmunohistokimyasal teknikte, sitokeratin AE1-AE3, kalponin, düz kas aktin ve vimentin monoklonal markır olarak kullanıldı. Sonuçlar semikantitatif olarak değerlendirildi. Tubulus epitel hücrelerini sitokeratin AE1-AE3; miyoepitel hücrelerini kalponin, düz kas aktin ve vimentin; kıkırdak ve kemik dokuyu vimentin eksprese etti. Kalponin, miyoepitel hücre demonstrasyonunda, düz kas aktine göre daha iyi sonuç verdi. Histopatolojik tanı ile histopatolojik-immunohistokimyasal tanı sonuçları arasında farklılıklar gözlemlendi. Bu verilere dayanarak; histopatolojik bulguların tek başına değerlendirilmesinin, köpek meme tümörlerinin tanısında yanılgılara neden olabileceği, güvenilir tanı için immunohistokimyasal bulgularla desteklenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Bu çalışma ile köpek meme tümörlerinin tanısında, immunohistokimyasal tekniğin gerekliliği ve önemi desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Köpek, meme bezi tümörleri, histopatoloji, immunohistokimya.

SUMMARY

Histopathological and immunohistochemical investigation on diagnosis of canine mammary gland tumors

The main objective of this study was to more reliable diagnosis of canine mammary tumors by using histopathological and immunohistochemical techniques. The tumors were obtained from 43 female dogs in different ages and breeds. Histopathological (hematoxylin and eosin staining) and immunohistochemical evaluations were performed. The final diagnoses were based on histopathological and immunohistochemical examinations. The tumors were diagnosed as in situ carcinoma (3 cases), complex carcinoma (12 cases), tubulopapillary carcinoma (12 cases), solid carcinoma (1 case), spindle cell carcinoma (1 case) and carcinosarcoma (14 cases). The tumors were classified according to WHO-AFIP (World Health Organization–Armed Forces Institute of Pathology) classification.

In the immunohistochemical evaluation, monoclonal markers directed against cytokeratin AE1-AE3, calponin, alpha smooth muscle actin and vimentin were used and the results were evaluated semi-quantitatively. Tubular epithelial cells were expressed by cytokeratin AE1-AE3; myoepithelial cells were expressed by calponin, alpha smooth muscle actin and vimentin; osseous and cartilaginous tissues were expressed by vimentin. Calponin performed better than alpha smooth muscle actin for the immunohistochemical demonstration of myoepithelial cells. Differentiations were observed between histopathological and histopathological-immunohistochemical results. Based on these results, only evaluating the histopathological findings may lead to misdiagnosis of canine mammary gland tumors, for this reason, histopathological findings should be supported by immunohistochemical findings was concluded.

As a result, the necessity and importance of immunohistochemical techniques in the diagnosis of canine mammary gland tumors revealed in this study.

Key Words: Dog, mammary gland tumors, histopathology, immunohistochemistry.

KAYNAKLAR

1. **Akiyoshi T, Uchida K, Tateyama S** (2004) *Expression of bone morphogenetic protein-6 and bone morphogenetic protein receptors in myoepithelial cells of canine mammary gland tumors*, *Veterinary Pathology*, 41: 154-163.
2. **Allen SW, Prasse KW, Mahaffey EA** (1986) *Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors*, *Veterinary Pathology*, 23 (6):649-655.
3. **Argyle DJ, Turek MM, Mac Donald V** (2008). *Canine and Feline Mammary Tumors*, Argyle DJ, Brearley MJ, Turek MM (eds), *Decision Making in Small Animal Oncology*, 1st Ed., Wiley-Blackwell, p: 327, Iowa.
4. **Aughey E, Frye FL** (2001) *Comparative Veterinary Histology With Clinical Correlates*, Manson Publishing, London, UK.
5. **Azumi N, Battifora H** (1987) *The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin and alcohol fixed tumors*, *American Journal of Clinical Pathology*, 88: 286-96.
6. **Bahrami A, Resetkova E, Ro JY, Ibanez JD, Ayala AG** (2007) *Primary osteosarcoma of the breast: Report of 2 cases*, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 131: 792-795.
7. **Bektaş S, Bahadır B, Gün BD, Çolak S, Özdamar ŞO** (2007) *Adenomyoepithelioma of the breast misdiagnosed as invasive ductal carcinoma*, *Turkish Journal of Pathology*, 23 (2): 116-120.
8. **Benazzi C, Sarli G, Galeotti M, Marcato PS** (1993) *Basement membrane components in mammary tumours of the dog and cat*, *Journal of Comparative Pathology*, 109 (3): 241-252.
9. **Benjamin, SA, Lee AC, Saunders WJ** (1999) *Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles*, *Veterinary Pathology*, 36: 423-436.

10. **Brunetti B, Sarli G, Marcato PS, Benazzi C** (2003a) *Histochemical and immunohistochemical characterization of canine mammary mucinous carcinoma*, Journal of Comparative Pathology, 129, 131-136.
11. **Brunetti B, Sarli G, Preziosi R, Leprotti S, Benazzi C** (2003b) *E-cadherin expression in canine mammary carcinomas with regional lymph node metastases*, Journal of Veterinary Medicine A, 50: 496-500.
12. **Budras KD, Fricke W, Richter R** (2009) *Veteriner Anatomi Atlası (Köpek)*, Türkçe 1. Basım, Medipres Matbaacılık, Malatya.
13. **Cassali GD, Gobbi H, Gartner F, Schmitt FC** (1999) *Secretory carcinoma of the canine mammary gland*, Veterinary Pathology, 36: 601-603.
14. **Chang SC, Chang CC, Chang TJ, Wong ML** (2005) *Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002)*, Journal of American Veterinary Medical Association, 227: 1625-1629.
15. **Czernobilsky B, Moll R, Levy R, Franke WW** (1985) *Co-expression of cytokeratin and vimentin filaments in mesothelial, granulosa and rete ovarii cells of the human ovary*, European Journal of Cell Biology, 37: 175-190.
16. **D'arville CN, Evans BAJ, Borthwick G, Pierrepoint CG** (1980) *Aspects of steroid metabolism in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch*, Journal of Steroid Biochemistry, 13: 1407-1411.
17. **Destexhe E, Lespagnard L, Degeyter M, Heymann R, Coignoul F** (1993) *Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial and connective tissue cells in canine mammary tumors*, Veterinary Pathology, 30:146-154.
18. **Dore M, Lanthier I, Sirois J** (2003) *Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumors*, Veterinary Pathology, 40: 207-212.
19. **Dutra AP, Granja NVM, Schmitt FC, Cassali GD** (2004) *c-erb-B-2 expression and nuclear pleomorphism in canine mammary tumors*, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 37: 1673-1681.

20. **Dutra AP, Azevedo Junior GM, Schmitt FC, Cassali GD** (2008) *Assessment of cell proliferation and prognostic factors in canine mammary gland tumors*, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 60 (6),1403-1412.
21. **Egenvall A, Bonnett BN, Öhagen P, Olson P, Hedhammar A, Von Euler H** (2005) *Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80.000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002*, Preventive Veterinary Medicine, 69: 109-127.
22. **Eichner R, Bonitz P, Sun TT** (1984) *Classification of epidermal keratins according to their immunoreactivity, isoelectric point, and mode of expression*, Journal of Cell Biology, 98 (4): 1388-1396.
23. **Erer H, Kıran MM** (2005) *Veteriner Onkoloji*, 3. Basım, Damla Ofset A.Ş., Konya.
24. **Evans HE** (1993) *Miller's Anatomy of the Dog*, 3rd Ed., Saunders, p:549-553, Philadelphia.
25. **Gama A, Alves A, Gartner F, Schmitt F** (2003) *p63: A novel myoepithelial cell marker in canine mammary tissues*, Veterinary Pathology, 40: 412-420.
26. **German AJ** (2006) *The growing problem of obesity in dogs and cats*, Journal of Nutrition, 136 (7): 1940-1946.
27. **Gülçubuk A, Gürel A** (2003) *1995-2000 yılları arasında İstanbul'da saptanan köpek tümörleri*, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 29 (1), 83-91.
28. **Haga S, Nakayama M, Tatsumi K, Maeda M, Imai S, Umesako S, Yamamoto H, Hilgers J, Sarkar NH** (2001) *Overexpression of the p53 gene product in canine mammary tumors*, Oncology Reports, 8: 1215-1219.
29. **Hampe JF, Misdorp W** (1974) *Tumours and dysplasias of the mammary gland*, Bulletin of the World Health Organization, 50, 111-133.
30. **Hashimoto S, Yamamura H, Sato T, Kanayama K, Sakai T** (2002) *Prevalence of mammary gland tumor of small breed dog in the Tokyo metropolitan area*, Japan Association for Social Informatics, 2: 85-91.

31. **Hellmen E, Lindgren A** (1989) *The expression of intermediate filaments in canine mammary glands and their tumors*, *Veterinary Pathology*, 26, 420-428.
32. **Hellmen E** (2005) *Complex mammary tumours in the female dog: A review*, *Journal of Dairy Research*, 72: 90-97.
33. **Illera JC, Perez Alenza MD, Nieto A, Jimenez MA, Silvan G, Dunner S, Pena L** (2006) *Steroids and receptors in canine mammary cancer*, *Steroids*, 71 (7): 541-548.
34. **Itoh T, Uchida K, Ishikawa K, Kushima K, Kushima E, Tamada H, Moritake T, Nakao H, Shii H** (2005) *Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: Differences between small-breed dogs and other*, *Journal of Veterinary Medical Science*, 67 (3): 345-347.
35. **İlhan F, Metin N, Birinciöğlü ST** (2008) *Immunohistochemical detection of PCNA and p53 in mammary tumours and normal tissues in dogs*, *Revue De Medecine Veterinaire*, 159 (5): 298-304.
36. **Jones TC, Hunt RD, King NV** (1997) *Veterinary Pathology*, 6th Ed., Williams & Wilkins, p: 1193-1197, Baltimore.
37. **Karayannopoulou M, Kaldrymidou E, Constantinidis TC, Dessiris A** (2001) *Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer*, *Journal of Veterinary Medicine A*, 48: 85-96.
38. **Karayannopoulou M, Kaldrymidou E, Constantinidis TC, Dessiris A** (2005) *Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: Application of a human grading method*, *Journal of Comparative Pathology*, 133: 246-252.
39. **Karelina TV, Golubeva VA** (1983) *Immunomorphological identification of myoepithelial cells in mixed mammary gland tumors in dogs*, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 96 (4): 1453-1455.
40. **Kierszenbaum AL** (2006) *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Demir R (Çev. Ed.), 1. Basım, Palme Yayınları, Ankara.

- 41. Langenbach A, Anderson MA, Dambach DM, Sorenmo KU, Shofer FD (1998)** *Extraskelatal osteosarcomas in dogs: A retrospective study of 169 cases (1986-1996)*, Journal of the American Animal Hospital Association, 34 (2): 113-120.
- 42. Las Mulas JM, Ordas J, Millan Y, De Lara FCM, Los Monteros AE, Reymundo C, Jover A (2004a)** *Immunohistochemical expression of estrogen receptor β in normal and tumoral canine mammary glands* Veterinary Pathology, 41: 269-272.
- 43. Las Mulas JM, Reymundo C, Los Monteros AE, Millan Y, Ordas J (2004b)** *Calponin expression and myoepithelial cell differentiation in canine, feline and human mammary simple carcinomas*, Veterinary and Comparative Oncology, 2 (1): 24.
- 44. Las Mulas JM, Millan Y, Dios R (2005)** *A prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor α and progesterone receptor expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog*, Veterinary Pathology, 42: 200-212.
- 45. Las Mulas JM, Reymundo C (2008)** *Animal models of human breast carcinoma: canine and feline neoplasms*, Clinical and Translational Oncology, 2 (6): 274-281.
- 46. Lazard D, Sastre X, Frid MG, Glukhova MA, Thiery JP, Koteliansky VE (1993)** *Expression of smooth muscle-specific proteins in myoepithelium and stromal myofibroblasts of normal and malignant human breast tissue*, Cell Biology, 90: 999-1003.
- 47. Li W, Qiao W, Chen L, Xu X, Yang X, Li D, Li C, Brodie SG, Meguid MM, Hennighausen L, Deng CX (2003)** *Squamous cell carcinoma and mammary abscess formation through squamous metaplasia in Smad4/Dpc4 conditional knockout mice*, Development and Disease, 130: 6143-6153.
- 48. Lukas J, Niu N, Press MF (2000)** *P53 mutations and expression in breast carcinoma in situ*, American Journal of Pathology, 156 (1): 183-191.
- 49. Luna GL (1968)** *Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd ed. Mcgraw Hill Book Company, U.S.

- 50. Maemura M, Lino Y, Oyama T, Hikino T, Yokoe T, Takei H, Horiguchi J, Ohwada S, Nakajima T, Morishita Y** (1997) *Spindle cell carcinoma of the breast*, Japanese Journal of Clinical Oncology, 27 (1): 46-50.
- 51. Martins AMCRPF, Tamaso E, Guerra JL** (2002) *Retrospective review and systematic study of mammary tumors in dogs and characteristics of the extracellular matrix*, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 39 (1): 38-42.
- 52. Matsuda K, Kobayashi S, Yamashita M, Hirayama K, Kadosawa T, Taniyama H** (2008) *Tubulopapillary carcinoma with spindle cell metaplasia of the mammary gland in a cat*, Journal of Veterinary Medical Science, 70 (5): 479-481.
- 53. Millanta F, Caneschi V, Ressel L, Citi S, Poli A** (2010) *Expression of vascular endothelial growth factor in canine inflammatory and non-inflammatory mammary carcinoma*, Journal of Comparative Pathology, 142: 36-42.
- 54. Milli ÜH, Hazıroğlu R, Aydın Y, Gülbahar MY** (2000) *Köpek meme tümörlerinde sitokeratin, vimentin ve alfa-düz kas aktin intermedier ve mikro filamentlerinin immunohistokimyasal lokalizasyonu*, Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 24: 81-92.
- 55. Misdorp W, Weijer K** (1980) *Animal model of human disease: Feline mammary carcinoma*, American Journal of Pathology, 98 (1): 573-576.
- 56. Misdorp W** (2002) *Tumors of the Mammary Gland*, Meuten DJ (ed), *Tumors in Domestic Animals*, 4th Ed., Iowa State Press, p: 575-599, Iowa.
- 57. Mol JA, Van Garderen E, Selman PJ, Wolfswinkel J, Rijnberk A, Rutteman G** (1995) *Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats*, Journal of Clinical Investigation, 95: 2028-2034.
- 58. Monteros AEL, Millan MY, Ordas J, Carrasco L, Reymundo C, Las Mulas JM** (2002) *Immunolocalization of the smooth muscle-specific protein calponin in complex and mixed tumors of the mammary gland of the dog: Assessment of the morphogenetic role of the myoepithelium*, Veterinary Pathology, 39: 247-256.
- 59. Monteros AEL, Hellmen E, Ramirez GA, Herraes P, Rodriguez F, Ordas J, Millan Y, Lara A, Mulas JML** (2003) *Lipid-rich carcinomas of the mammary*

gland in seven dogs: Clinicopathologic and immunohistochemical features, Veterinary Pathology, 40: 718-723.

- 60. Mottolese M, Morelli L, Agrimi U, Benevolo M, Sciarretta F, Antonucci G, Natali PG** (1994) *Spontaneous canine mammary tumors. A model for monoclonal antibody diagnosis and treatment of human breast cancer*, Laboratory Investigation, 71 (2): 182-187.
- 61. Moulton JE** (1990) *Tumors of the Mammary Gland*, Moulton JE (ed), *Tumors in Domestic Animals*, 3rd Ed., University of California Press, p: 518, California.
- 62. Mulas JML, Ordas J, Millan MY, Monteros AEL, Reymundo C** (2002) *Spontaneous basaloid adenomas of the mammary gland in four dogs: Clinicopathologic and immunohistochemical features*, Veterinary Pathology, 39: 739-743.
- 63. Namba M, Yamada K, Kudeken W, Mizutani K, Tsukitani K, Mori M, Takai Y** (2000) *Phenotypic Changes of Calponin in Salivary Gland Myoepithelial Cells during Postnatal Development of Rats*, Acta Histochemica et Cytochemica, 33 (2): 73-79.
- 64. Nieto A, Pena L, Perez Alenza MD, Sanchez MA, Flores JM, Castano M** (2000) *Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: Clinical and pathologic associations and prognostic significance*, Veterinary Pathology, 37: 239-347.
- 65. Novosad CA** (2003) *Principles of treatment for mammary gland tumors*, Topics in Companion Animal Medicine, 18 (2): 107-109.
- 66. Orr JP** (1984) *Fibrosarcoma affecting the mammary gland of a cow*, Canadian Journal of Comparative Medicine, 48 (2): 219-222.
- 67. Osipov NE, Lagova ND, Ponomar VI** (1972) *Spontaneous mammary gland tumors of dogs as a model for experimental tumor therapy*, Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 74 (8): 81-82.
- 68. Pandit AA, Vora IM, Mittal BV** (1987) *Squamous cell carcinoma of the breast*, Journal of Postgraduate Medicine, 33 (2): 87-90.

- 69. Patsikas MN, Karayannopoulou M, Kaldrymidoy E, Papazoglou, LG, Tzegas SI, Tziris NE, Kaitzis DG, Dimitriadis AS, Dessiris A (2006) *The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: A lymphographic study*, Anatomia Histologia Embryologia, 1-7.**
- 70. Pena L, Alenza-Perez MD, Bertos-Rodriguez A, Nieto A (2003a) *Canine inflammatory mammary carcinoma: histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases*, Breast Cancer Research and Treatment, 78: 141-148.**
- 71. Pena L, Silvan G, Perez-Alenza MD, Nieto A, Illera JC (2003b) *Steroid hormone profile of canine inflammatory mammary carcinoma: a preliminary study*, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 84: 211-216.**
- 72. Perez Alenza MD, Pena L, Nieto AI, Castano M (1997) *Clinical and pathological prognostic factors in canine mammary tumors*, Annali Dell'Istituto Superiore di Sanità, 33 (4), 581-585.**
- 73. Perez-Martinez C, Garcia-Iglesias MJ, Duran-Navarette AJ, Alvarez-Espinoza J, Garcia-Fernandez RA, Lorenzana-Robles N, Fernandez-Perez S, Garcia-Marin JF (2005) *Histopathological and immunohistochemical characteristics of two canine lipid-rich mammary carcinomas*, Journal of Veterinary Medicine A, 52: 61-66.**
- 74. Polton G (2009) *Mammary tumours in dogs*, Irish Veterinary Journal, 62 (1): 50-56.**
- 75. Prasad ML, Hyjek E, Giri DD, Ying L, O'Leary JJ, Hoda SA (1999) *Double immunolabeling with cytokeratin and smooth-muscle actin in confirming early invasive carcinoma of breast*, American Journal of Surgical Pathology, 23 (2):176-181.**
- 76. Queiroga FL, Perez-Alenza MD, Silvan G, Pena L, Lopes C, Illera JC (2005) *Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer*, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 94: 181-187.**
- 77. Queiroga FL, Alves A, Pires I, Lopes C (2007) *Expression of Cox-1 and Cox-2 in canine mammary tumours*, Journal of Comparative Pathology, 136: 177-185.**

- 78. Restucci B, Papparella S, Maiolino P, De Vico G** (2002) *Expression of vascular endothelial growth factor in canine mammary tumors*, *Veterinary Pathology*, 39: 488-493.
- 79. Rezaie A, Tavasoli A, Bahonar A, Mehrazma M** (2009) *Grading in canine mammary gland carcinoma*, *Journal of Biological Sciences*, 9: 333-338.
- 80. Richard MH, Viac J, Reano A, Gaucherand M, Thivolet J** (1990) *Vimentin expression in normal human keratinocytes grown in serum-free defined MCDB 153 medium*, *Archives of Dermatological Research*, 282 (8): 512-515.
- 81. Saba CF, Rogers KS, Newman S, Mauldin GE, Vail DM** (2007) *Biologic behavior and clinical characteristics of mammary gland tumors in male dogs*, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (5): 1056-1059.
- 82. Sassi F, Sarli G, Brunetti B, Morandi F, Benazzi C** (2008) *Immunohistochemical characterization of mammary squamous cell carcinoma of the dog*, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20: 766-773.
- 83. Seixas F, Pires MA, Lopes CA** (2008) *Complex carcinomas of the mammary gland in cats: Pathological and immunohistochemical features*, *The Veterinary Journal*, 176: 210-215.
- 84. Serin G, Aydoğan A** (2009) *Chondrosarcoma in the mammary gland of a bitch: A case report*, *Veterinarni Medicina*, 54 (11): 543-546.
- 85. Silver SA, Tavassoli FA** (1998) *Mammary ductal carcinoma in situ with microinvasion*, *Cancer*, 82 (12): 2382-2390.
- 86. Simon D, Schoenrock D, Baumgartner W, Nolte I** (2006) *Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumors in dog with doxorubicin and docetaxel*, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20: 1184-1190.
- 87. Skalli O, Pelte MF, Peclet MC, Gabbiani G, Gugliotta P, Bussolati G, Ravazzola M, Orci L** (1989) *Alpha-smooth muscle actin, a differentiation marker of smooth muscle cells, is present in microfilamentous bundles of pericytes*, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 37 (3): 315-321.
- 88. Sonnenschein EG, Glickman LT, Goldschmidt MH, Mc Kee LJ** (1991) *Body conformation, diet and risk of breast cancer in pet dogs: A case-control study*, *American Journal of Epidemiology*, 133 (7): 694-703.

- 89. Sontaş BH, Özyoğurtçu H, Gürel A, Ekici H** (2009) *Evaluation of clinical and pathological characteristics of 155 canines with mammary tumours: a retrospective study*, *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41: 53-59.
- 90. Sönmez G, Özmen Ö** (1996) *Bursa'da 1988-1996 yılları arasında incelenen köpek tümörleri*, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15: 69-76.
- 91. Stratmann N, Failing K, Richter A, Wehrend A** (2008) *Mammary tumor recurrens in bitches after regional mastectomy*, *Veterinary Surgery*, 37: 82-86.
- 92. Taniyama H, Kitamura A, Kagawa Y, Hirayama K, Yoshino T, Kamiya S** (2000) *Localized amyloidosis in canine mammary tumors*, *Veterinary Pathology*, 37: 104-107.
- 93. Tanyolaç A** (1999) *Özel Histoloji*, 3. Basım, Yorum Basın Yayın, Ankara.
- 94. Tateyama S, Uchida K, Hidaka T, Hirao M, Yamaguchi R** (2001) *Expression of bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumor*, *Veterinary Pathology*, 38: 703-709.
- 95. Thuroczy J, Reisvaag GJK, Perge E, Tibold A, Szilagyi J, Balogh L** (2007) *Immunohistochemical detection of progesterone and cellular proliferation in canine mammary tumours*, *Journal of Comparative Pathology*, 137: 122-129.
- 96. Tiemessen I** (1989) *Thoracic metastases of canine mammary gland tumors*, *Veterinary Radiology*, 30 (6): 249-252.
- 97. Toniti W, Buranasinsup S, Kongcharoen A, Charoonrut P, Puchadapirom P, Kasorndorkbua C** (2009) *Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptors in canine mammary tumors* *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 10: 907-911.
- 98. Toth J, Sugar J, Csuka O** (1979) *The role of myoepithelial cells in the morphogenesis of induced mammary tumours*, *Virchows Archiv-A Pathological Anatomy and Histology*, 385: 41-48.
- 99. Ünal EF, Mısırlıoğlu D, Nak Y, Nak D, Kahraman MM, Özmen Ö** (1994) *Doğum kliniğinde sık rastlanan tümör olguları, II. Meme Tümörleri*, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13: 94-103.

- 100.Vos JH, Van Den Ingh TSGAM, Misdorp W, Molenbeek RF, Van Mil FN, Rutteman GR, Ivanyi D, Ramaekers FCS** (1993) *Immunohistochemistry with keratin, vimentin, desmin, and α -smooth muscle actin monoclonal antibodies in canine mammary gland: Malignant mammary tumours*, Veterinary Quarterly, 14: 96-102.
- 101.Vural SA, Aydın Y** (2001) *Ankara'da 1973-1998 yılları arasında incelenen köpek meme tümörleri*, Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 25: 233-239.
- 102.Wensman H, Flama V, Pejler G, Hellmen E** (2010) *Plasticity of cloned canine mammary spindle cell tumor, osteosarcoma and carcinoma cells*, Veterinary Pathology, 45 (6): 803-815.
- 103.Yamagami T, Kobayashi T, Takahashi K, Sugiyama M** (1996) *Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification*, Journal of Veterinary Medical Science, 58 (11): 1079-1083.
- 104.Zatloukal J, Lorenzova J, Tichy F, Necas A, Kecova H, Kohout P** (2005) *Breed and age as risk factors for canine mammary tumours*, Acta Veterinaria Brno, 74: 103-109.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve öğrenimim süresince ilgi ve uyarıları ile beni yönlendiren, tezimin oluşturulmasında ve her aşamasında bilgi birikimini, tecrübe ve görüşlerini esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Prof. Dr. Nursal METİN'e; değerli görüş ve tecrübeleriyle ışık tutan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU, Doç Dr. Nihat TOPLU ve Doç. Dr. Recai TUNCA'ya; yardım ve destekleri ile her zaman yanımda olan Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Dr. Hamdi AVCI ve Erkmen Tuđrul EPİKMEN'e; laboratuvardaki teknik desteği ile Fatih TUNÇ'a; tezimin yürütülmesi için gerekli desteği sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na; her koşulda yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiğim sevgili anneme ve tüm aileme teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

İskenderun'da 13.02.1979 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İskenderun'da tamamladım. Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi'nden 2001 yılında mezun oldum. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime 2002 yılında başladım ve 2005 yılında tamamlayarak doktora eğitimine devam ettim.