



T.C

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VİGNKRĞSTĞN SÜLFAT ĞLE TEDAVĖ EDĞLEN TRANSMĖSSĞBLE
VENEREAL TÜMÖRLÜ KÖPEKLERĖN SERUM VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ SEVĖYELERĖ**

ESRA KOCABAĖ

DOĞUM VE JĖNEKOLOJĖ ANABĖLĖM DALI

YÜKSEK LĖSANS TEZĖ

DANIĖMAN

Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN

Dr. Öğr. Üyesi Özkan DURU

2021-KIRIKKALE

Esra KOCABAŞ tarafından hazırlanan “VİNKRİSTİN SULFAT İLE TEDAVİ EDİLEN TRANSMİSSİBLE VENEREAL T ORLU KOPEKLERİN SERUM VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTORU SEVİYELERİ” adlı tez
9alı#ması, aha daki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Jinekoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr. Hasan Ceyhan MACUN

Doküman ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.
Biyokimya Anabilim Dalı, KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Balkan: Prof.Dr. Nihat OZYURTLU

Doküman ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Dicle Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Uye: Doç.Dr. İlknur PİR YAGCI

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof.Dr. Mehmet Akif KARSLI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversite Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- o Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- o Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- o Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- o Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- o Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Esra KOCABAŞ
29.06.2021

ÖZET

VİNKRİSTİN SÜLFAT İLE TEDAVİ EDİLEN TRANSMİSSİBLE VENEREAL TÜRÖRLÜ KÖPEKLERİN SERUM VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ SEVİYELERİ

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN

Ortak Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özkan DURU

Haziran 2021, 60 sayfa

Sunulan çalışmada Transmissible Venereal Tumorlular (TVT)'li köpeklerde tümör anjiyogenezisinde önemli bir faktör olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü'nün (VEGF) serum konsantrasyonunun belirlenmesi ve vinkristin sülfat ile tedavide bu faktörün seyrinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Diğer taraftan VEGF seviyesi ile vinkristin sülfat uygulama sayısı arasında bir ilişkinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Çalışma materyalini; ovariohisterektomi (OHE) yapılmamış, TVT tanısı konulmuş kangal ve kangal melezi 12 dişi köpek (çalışma grubu), OHE yapılmamış kangal ve kangal melezi sağlıklı 12 dişi köpek (kontrol grubu) oluşturdu. Çalışma grubuna alınan 12 köpekten her tedavi öncesi ve tedavi bittikten 1 hafta sonra kan alındı. Kontrol grubunda yer alan köpeklerden de kan alındı. Çalışma grubunda yer alan vakaların tamamı 3-8 vinkristin sülfat uygulamasıyla tedavi edildi. Hastaların 3'ü 3 uygulamayla, 6'sı 4 uygulamayla, 1'i 5 uygulamayla, 1'i 6 uygulamayla ve 1'i 8 uygulamayla iyileşti. Tedavi öncesi serum VEGF seviyesi ile vinkristin sülfat uygulama sayısı arasında yapılan korelasyon analizinde herhangi bir ilişkiye rastlanmadı ($r = 0.51$). Çalışma grubundaki köpeklerin tedavi öncesi serum VEGF değeri ile kontrol grubundaki köpeklerin serum VEGF değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0.160$). Sonuç olarak TVT'li köpeklerin serum VEGF değerinin sağlıklı köpeklere göre daha yüksek olmasına rağmen farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Tedavi öncesi serum VEGF değeri ile uygulama sayısı arasında korelasyon bulunmadı.

Anahtar Sözcükler: Anjiogenezis, Köpek, TVT, VEGF, Vinkristin Sülfat

SUMMARY

SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVELS IN BITCHES WITH CANINE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMORS TREATED WITH VINCRIStINE SULPHATE

Kırıkkale University

Graduate School of Health Sciences

Department of Obstetrics and Gynecology, Master's Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN

Co-Supervisor: Assoc. Doc. Dr. Özkan DURU

June 2021, 60 pages

The goal of our study is to determine the serum concentrations of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in dogs with transmissible venereal tumor (TVT), which is an important factor in tumor angiogenesis, and to evaluate the levels of VEGF in the treatment of vincristine sulfate. On the other hand, it was also investigated whether there is a relationship between VEGF level and the number of vincristine sulfate administrations. For this study, twelve Kangal Shepherd sanditscrossbreds without ovariohysterectomy (OHE) diagnosed with TVT constituted the study group and 12 healthy Kangal Shepherd sanditscross breeds without OHE constituted the control group. Blood samples were collected from the 12 dog included in the study group before each treatment and one week after the treatment completed. Blood samples were also collected from dogs in the control group. All cases in the study group were treated with 3-8 vincristine sulfate administrations. 3 of the patients recovered with 3, 6 of the dogs with 4, 1 with 5, 1 with 6 administrations and 1 with 8 weeks of administrations. No correlation was found between pre-treatment serum VEGF levels and the number of vincristine sulphate administrations ($r = 0.51$). When serum VEGF values of dogs in the study group were compared with the pre-treatment serum VEGF values of dogs in the control group, no statistical difference was found ($p = 0.160$). In conclusion; although serum VEGF values of dogs with Transmissible Venereal Tumor were higher than healthy dogs, it was determined that there was no statistical difference. There was no correlation between pre-treatment serum VEGF value and the number of applications.

Key Words: Angiogenesis, Canine, TVT, VEGF, Vincristine Sulphate

TEŞEKKÜR

Transmissible venereal tümör ilk kez Hujard tarafından Avrupa'da 1820 yılında serbest veya yabancı köpeklerde kontrolsüz seksüel aktiviteyle veya başka bir köpekle yakın temasta olanlarda görülen bir hastalık şeklinde tanımlanmıştır. Antartika hariç, dünyanın birçok ülkesinde her iki cinsiyette de tespit edilmiştir. Transmissible venereal tümör veteriner saha da en çok bilenen tümöral hastalıklardan biri olmasına rağmen anjiyogenez, tedaviyi etkileyen faktörler gibi aydınlanmayan noktaları da bulunmaktadır. Sunulan bu çalışma; TVT'nin anjiyogenezisi hakkında sonraki çalışmalara faydalı olacaktır.

Sunulan tez çalışmasının planlamasından yürütülmesine kadar bu aşamaya getirilmesinde ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerimi ve deneyimini hiçbir zaman esirgemeyen, desteğini her zaman yanımda hissettiğim danışmanım Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN'a, laboratuvar analizlerinin yürütülmesinde emeğini ve desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen danışmanım Dr. Öğrt. Üyesi Özkan DURU'ya, yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yardımlarını gördüğüm ve mesleki tecrübelerini benimle paylaşan Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Hakan KALENDER'e, Doç. Dr. İlknur Pir YAĞCI'ya, Dr. Öğrt. Üyesi İbrahim Mert POLAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca gerek maddi ve manevi gerekse mesleki ve akademik olarak her zaman yanımda olan Dr. Taha Burak ELİFOĞLU'na çalışmamın numunelerini toplamam sırasında bana her zaman yardım eden Vet. Hek. Gökberk SEVEN, Vet. Hek. Aslıhan Merve ACER, fakültemiz intern öğrencilerine ve desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
Etik Beyanı	II
Özet	III
Abstract	IV
Teşekkür	V
İçindekiler	VI
Çizelgeler	VIII
Şekiller	IX
Kısaltmalar ve Simgeler	X

1. GİRİŞ	1
1.1. Papilloma	1
1.2. Skuamöz hücreli karsinom	2
1.3. Fibropapilloma	2
1.4. Lenfosarkoma	3
1.5. Fibrosarkoma	3
1.6. Leiomyosarkoma	4
1.7. Leiomyom	4
1.8. Transmissible Venereal Tümör	5
1.8.1. Coğrafi Dağılım	5
1.8.2. Etiyoloji ve Bulaşma	6
1.8.3. Klinik Belirtiler	7
1.8.4. Patoloji	10
1.8.5. İmmunoloji	10
1.8.6. Tanı	11
1.8.7. Tedavi	12
1.8.7.1. Cerrahi Girişim	12
1.8.7.2. Radyoterapi	13
1.8.7.3. İmmunoterapi	13
1.8.7.4. Kemoterapi	14
1.9. Anjiyogenez	16
1.9.1. Bazal Membranın ve Ekstraselüler Matriksin Proteazlar Tarafından Yıkılması	16
1.9.2. Endotel Hücrelerinin Göçü ve Proliferasyonu	17
1.9.3. Kapiller Tüp Formasyonu ve Endotel Hücrelerinin Olgunlaşması	17
1.9.4. Anjiyogenezi Uyarıcı Faktörler	18
1.9.5. Anjiyogenezi İnhibe Eden Faktörler	19
1.9.6. Fizyolojik Anjiyogenez	20
1.9.7. Patolojik Anjiyogenez	20
1.9.8. Bazı Anjiyogenik Faktörlerin Özellikleri	22

1.9.8.1.	Epidermal Büyüme Faktörü	22
1.9.8.2.	Fibroblast Büyüme Faktörü	22
1.9.8.3.	Transforming Edici Büyüme Faktörü- β	22
1.9.8.4.	Tümör Nekrozis Faktör- α	23
1.9.8.5.	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü	23
1.9.8.5.1.	Vaskular Endotelyal Biyime Faktörü'nün Yapı ve Salınımı	23
1.9.8.5.2.	Vaskular Endotelyal Büyüme Faktörü'nün Reseptörleri	25
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1.	Grupların Oluşturulması	27
2.2.	Giemsa Boyama ve TVT Hücrelerinin Değerlendirilmesi	27
2.3.	Kan Alınması	28
2.4.	Vinkristin Sülfat Tedavisi	29
2.5.	Serum VEGF Seviyesinin Belirlenmesi	29
2.5.1.	Kit Protokolünün Uygulanması	29
2.6.	İstatistiksel Analiz	30
3.	BULGULAR	31
3.1.	Genel Muayene Bulguları	31
3.2.	Sitoloji Bulguları	32
3.3.	Tedavi Bulguları	33
3.4.	Serum VEGF Değerleri	34
4.	TARTIŞMA	35
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	39
	KAYNAKLAR	40
	ÖZGEÇMİŞ	49

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1.	Çalışma (tedavi öncesi) ve kontrol grubundaki hayvanların kan parametreleri.	31
Çizelge 3.2.	Tedaviye alınan TVT'li köpeklerin serum VEGF seviyeleri (ng/l).	34
Çizelge 3.3.	Çalışmaya alınan TVT'li köpekler ile sağlıklı köpeklerin serum VEGF değerleri (ng/l).	34



ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Transmissible venereal tümörün dünya genelindeki dağılımı	6
Şekil 1.2.	Penisin kaudal kısmında transmissible venerel tümör olgusu	8
Şekil 1.3.	Transmissible venereal tümörün dişi köpekte klinik görüntüsü a: tedaviden önce b: tedaviden sonra	8
Şekil 1.4.	Transmissible venereal tümörün metastaz yaptığı doku ve organlar	9
Şekil 1.5.	Vakuollü transmissible venereal tümör hücreleri	12
Şekil 1.6.	Normal doku onarımı ve tümörlerde anjiyogenezi uyaran ortak yollar	21
Şekil 3.1.	Transmissible venerel tümör hücrelerinin mikroskopik görüntüsü	32

SİMGELER

<	Küçüktür
%	Yüzde
µl	Mikrolitre

KISALTMALAR

aFGF	Asit Fibroblast Büyüme Faktörü
ALP	Alkalen Fosfotaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
AT	Antihrombin
BCG	Bacillus calmette-Guerin
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
dl	Desilitre
DLA	Köpek Lökosit Antijeni
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ECM	Ekstraselüler Matriks
EDTA	Etilendiamintetraasetik
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FGF	Ana Fibroblast Büyüme Faktörü
g	Gram
GCSF	Granulosit Koloni Uyarıcı Faktör
HCT	Hemotokrit
HGB	Hemoglobin
HGB	Hemoglobin
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü
IgG	İmmunoglobulin G
IL	İnterlökin
IV	İntravenöz
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
kDa	KiloDalton
kg	Kilogram
L	Litre
m²	Metrekare
mg	Miligram
MHC	Majör Doku Uyumluluk Kompleksi
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mm³	Milimetreküp
MMP	Matriks Metalloproteinaz
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit

NaCl	Sodyum Klorur
ng	Nanogram
nm	Nanometre
OHE	Ovariohisterektomi
P	Gelişim
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PF	Platelet faktör
pg	Pikogram
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
PLT	Trombosit
R	Regresyon
rad	Radyasyon Absorbe Dozu
RBC	Eritrosit
RNA	Ribo Nükleik Asit
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TGF	Transforming Growth Factor
TGF	Transforming Büyüme Faktörü
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TVT	Transmissible Venereal Tumor
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEPF	Vasküler Endotelyal Permeabilite Faktörü
WBC	Lökosit
α	Alfa
β	Beta



1. GİRİŞ

Dişi üreme sisteminin tümörleri; ovaryumlardan ve tübüler genital organlardan köken alanlar olarak iki kategoriye ayrılmaktadır (Kang ve Holmberg, 1983). Dişi genital sistem tümörleri, tüm köpek tümörlerinin %2.4-3'ünü oluşturmaktadır (Withrow, Vail, Page, 2013) ve bunların %85-90'ı vajina ve vulvada görülmektedir (Kang ve Holmberg, 1983). Vulva dudaklarında ortaya çıkan deri tümörleri hariç, bu tümörlerin çoğu iyi huylu düz kas hücre tümörleridir. Genellikle orta yaşlı ve yaşlı dişilerde görülmektedir. Leiomyoma, fibroleiomyoma, fibroma ve polipler de dahil olmak üzere iyi huylu düz kas hücre tümörleri, bildirilen vajinal tümörlerin yaklaşık %83'ünü oluşturmaktadır. Leyimiyosarkom, en sık görülen kötü huylu tümör olarak bildirilmiş ve uzak metastazlara neden olduğu kaydedilmiştir (Withrow vd., 2013).

Vestibulum ve vajina tümörleri makroskopik olarak ekstralüminal ve intralüminal olarak sınıflandırılır. Ekstralüminal tümörler yavaş büyüyen, iyi kapsüllenmiş perineal kitleler gibi görülmektedir. İntرالüminal tümörler ise vestibulum veya vajina duvarına bir sap ile bağlanırken, çok sayıda olabilirler (Withrow vd., 2013).

Papilloma

Papilloma, dış genital bölge dahil olmak üzere vücudun herhangi bir yerinde deriyi etkileyebilecek epitel proliferasyonudur ve virüs kaynaklıdır. Papilloma, iyi huylu bir tümördür ve ender gözlenir (Mcentee ve Nielsen, 1974). Köpek papilloma virüsü, köpeklerde bulaşıcı siğiller ile karakterize bir ajandır. Sadece köpekleri etkileyen türe özgü bir DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) virüsüdür. Klinik bulgular, genellikle sistemik hastalıklardan veya ilaçlardan kaynaklanan bağışıklık sistemi baskılanmış köpeklerde görülmektedir. Bu köpekler çoğunlukla iki yaşından küçüktür veya ileri yaşta dırlar (Anonim 1, 2020).

Papilloma olgularında, lezyonlar sıklıkla kendiliğinden gerilemektedir. Spontan gerileme olmayan vakalarda cerrahi girişim ile uzaklaştırılabilmektedir.

Papillomanın generalize olduğu durumlarda, remisyonu hızlandırmak için ilaç tedavisi yapılabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise azitromisin remisyona sürecini hızlandırdığı bildirilmiştir (Anonim 1, 2020). Yağcı, Ural, Öcal, Haydardedeoğlu (2008) azitromisin, köpek papilloması için güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olduğunu bildirmişlerdir.

Skvamöz Hücreli Karsinom

Skvamöz hücreli karsinoma en sık inek, kısırak ve dişi köpeklerde rastlanmaktadır. Tümörün çoğu vulva derisinde veya yakınında karnabahar benzeri kitleler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Yüzeysel ve derin inguinal lenf nodüllerine ve akciğerlere metastaz eğilimi yüksektir. Skvamöz hücreli karsinom, papillomanın kötü huylu karşılığı olup hücreler arası köprüler ve keratin oluşumunu gösteren büyük epitel hücreler içermektedir. Eğer sınırlı miktarda biyopsi materyali mevcutsa, skuamöz hücreli karsinomları papillomlardan ayırt etmek zor olabilmektedir (Mcintee ve Nielsen, 1974).

Fibropapilloma

Fibropapilloma, genellikle mantara benzer ve bağlantı yeri geniş veya bir sap şeklinde olabilir. Sapı uzun olanlarda, tümör vulvadan dışarı sarkarak görülebilir. Tümörün boyutu genellikle küçüktür (3 cm'den daha az) ancak büyük boyutlara da ulaşabilir. Ülserasyon ve kanama özellikle büyük tümörlerde sık görülmekte ve spontan regresyon yüksek oranda izlenmektedir. İyi huylu tümördür ve esas olarak fibroblastlardan köken almaktadır. Fibropapillomlar, vajinal veya penil mukozaya

hücre içermeyen materyal ile deneysel olarak nakledilmektedir (Mcentee ve Nielsen, 1974).

Lenfosarkoma

Lenfosarkoma sıklıkla ineklerde nadiren de dişi köpeklerde, dişi domuzlarda ve kedilerde rastlanmaktadır. Lenf dokularının lenfosarkomu ile aynı morfolojik özelliklere sahiptirler (Mcentee ve Nielsen, 1974). Lenfosarkomanın tedavisi üzerine çok fazla kaynak bulunmamaktadır. Bir olguda vinkrisitin ile siklofosamid denenmiş ancak başarı sağlanamamış ve köpek tedavinin 66. gününde ölmüştür (Zambelli, Clift, Gerber, Schoeman, 2013).

Fibrosarkoma

Fibrosarkoma, vücudun yapı ve organlarını çevreleyen kötü huylu bir yumuşak doku tümörüdür. Evcil hayvan türlerinin çoğunda görülmesine rağmen insidensi düşüktür. Fibrosarkoma gözlenen köpeklerde ise olguların pek azının vulva ve vajinada olduğu bildirilmiştir. Vajina duvarına tutunmuş ve vulva dudaklarından dışarı sarkan klinik görünüme sahiptir. Bu tümöre sahip hayvanlarda vajinal akıntı, defakasyon ve ürinasyonda zorlanma gibi klinik belirtiler ile karşılaşmaktadır. Fibrosarkomanın tedavisinde perivajinal bölgeden yapılan ensizyon ile tümörün uzaklaştırılması tercih edilmelidir (Mumba, Pandey, Chijibua, Munjita, 2013).

Leyomiyosarkom

Evcil hayvanlarda düz kas hücre tümörlerinin nadir görüldüğü ve çoğunlukla da iyi huylu oldukları bildirilmiştir (Köse, Özsoy, Doğruer, 2017). Leyomiyosarkomlar, evcil hayvanların ilk olarak uterus, karaciğer, dalak, sekum, ince barsak ve midesinde tespit edilmiştir. Malign düz kas tümörü olan leyomiyosarkomlar, yavaş büyüyen karakterdedirler. Genellikle yukarıda belirtilen organların kas tabakasına tutunmaktadırlar (Wang, Chang, Liu, Jeng, 2005, Köse ve vd., 2017).

Leyomiyosarkomların tedavisinde OHE ile epizyotomi sonrası tümör ekstirpasyonu operasyonları tercih edilmektedir. Elektro koterizasyon kullanılarak tümör çıkartılırken, operasyondan sonra kemoterapi uygulanarak nüks oranı düşürülmektedir (Enginler, Sığırcı, Arun, Ekici, 2012).

Leyomiyom

Leyomiyom, mezenşimal komponente karşı bağ dokusu olan herhangi bir organda ortaya çıkabilecek düz kas hücrelerinin tümörüdür. Dişi üreme sistemi, prostat, üriner sistem, gastrointestinal sistem ve trake dahil olmak üzere birçok organda saptanmıştır. Leyomiyomlar köpek dişi üreme kanalında sık görülmekte ve tüm köpek neoplazilerin %2.4'ünü oluşturmaktadırlar. Dişi köpek üreme kanalında meydana gelen leyomiyomların yaklaşık %85'i vajina, vestibulum ve vulvada ortaya çıkmaktadırlar. İnsidensi ise 5 ile 16 yaşları arasında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (Kang ve Holmberg, 1983).

Vajinal leyomiyomlar tekli veya çoklu, intralüminal veya ekstralüminal olabilirler. Tümör; genellikle yuvarlak veya oval şekilli, iyi sınırlanmış ve kapsüllüdür. Boyut ve kıvamı, büyüme süresine bağlı olarak değişebilir ve bağ dokudaki artıştan dolayı daha sert hale gelebilir.

Ekstralüminal tümörler perineal şişmeye neden olma eğilimindeyken, büyük intralüminal tümörler vulvadan çıkıntı yapabilirler. Bu aşamada tümör, üretranın üzerine baskı yapabilir ve hayvanın disüri, konstipasyon ve tenesmus belirtileri göstermesine neden olabilir (Kang ve Holmberg, 1983). Tümörün ve metastazik odakların operatif olarak çıkartılması endikedir. İntralüminal olanlar vajinal yoldan çıkartılabilir (Alaçam, 2008).

Transmissible Venereal Tümör

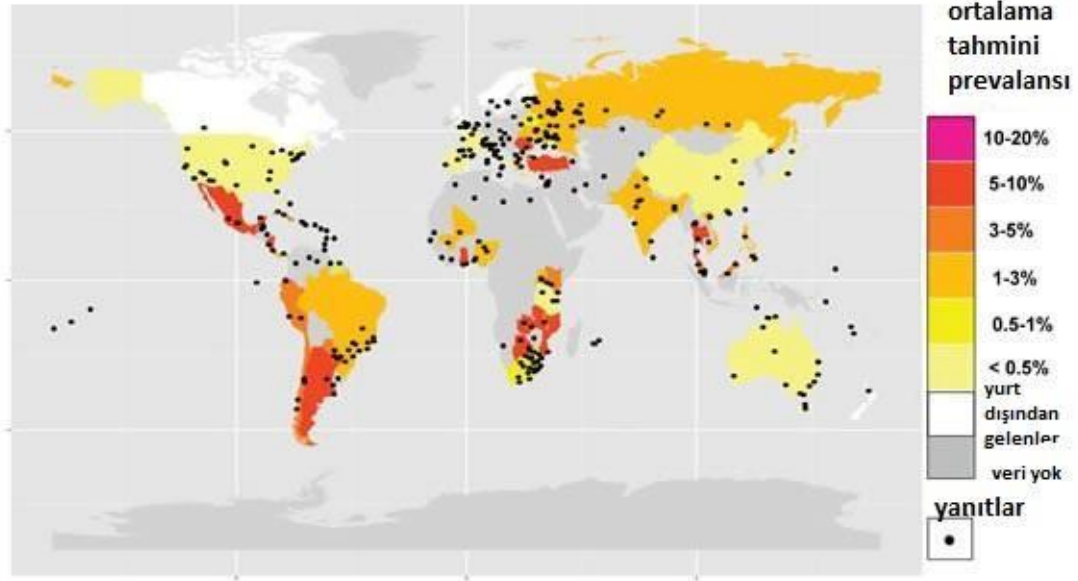
Köpeklerin tranmissible venereal tümörü (TVT); bulaşıcı venereal sarkamo, bulaşıcı lenfoma, venereal granuloma, enfeksiyöz sarkoma, Sticker's sarkom (Buragohain ve Goswami, 2019), köpek kandalomu, bulaşıcı lenfoma gibi değişik isimlerle anılmaktadır. Tranmissible venereal tümörler köpeklerin yaşam kalitesini bozan (Uçar, 2016), sıklıkla dış genital organlarını etkileyen ve genellikle çiftleşmeyle bulaşan (Das ve Das, 2000, Nak, İntaş, Tek, Mısırlıoğlu, 2004, Park, Kim, Kang, Oh, Cho, Shin, Kim, 2006, Nak ve Kaşıkçı, 2013), benign retikuloendotelyal tümörlerdir (Martins, Souza, Gobello, 2005, Buragohain ve Goswami, 2019).

Transmissible venereal tümör; birbiriyle yakın temasta bulunan köpeklerde, başıboş ve vahşi köpeklerin kontrolsüz seksüel aktivitelerinde yaygın olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle de östrüs belirtilerinin gözleendiği süreç en riskli dönem olarak tanımlanmıştır (Buragohain ve Goswami, 2019). Irk, yaş ve cinsiyet gözetmeksizin

tüm köpekler hastalığa duyarlıdır. Tümör, en sık 2-8 yaşlı köpeklerde belirlenmiştir (Das ve Das, 2000, Uçmak, Kırşan, Uçmak, Bamaç, Gürel, 2019).

Coğrafi Dağılım

Transmissible venereal tümör ilk kez Hujard tarafından Avrupa'da 1820 yılında serbest veya yabani köpeklerde kontrolsüz seksüel aktiviteyle veya başka bir köpekle yakın temasta olanlarda görülen bir hastalık şeklinde tanımlanmıştır (Ganguly, Das, Das, 2013). Antartika hariç (Das ve Das, 2000), dünyanın birçok ülkesinde (Şekil 1.1.) her iki cinsiyette de tespit edilmiştir (Strakova ve Murchison 2014, Uçar, 2016). Transmissible venereal tümörlü bir erkek köpek çok sayıda dişi köpek ile çiftleşebildiği için dişi köpeklerde, erkek köpeklere göre daha fazla TVT vakası saptanmaktadır. Evde beslenen köpeklerde ise nadiren rastlanmaktadır (Ganguly vd., 2013). Tümörün prevalansı ülkelerin gelişim seviyelerinden etkilenmektedir. Gelişim seviyesi arttıkça görülme oranı azalmaktadır (Strakova ve Murchison, 2014).



Şekil 1.1. Transmissible venereal tümörün dünya genelinde dağılımı (Anonim 2, 2020).

Etiyoloji ve Bulaşma

Transmissible venereal tümör, çiftleşme sırasında bulaşmanın hayvandan hayvana gerçekleştiği ilk tümör türüdür (Uçar, 2016). Nowinsky 1876 yılında bir köpeğin skarlanmış genital mukozasından eksize ettiği tümörü, ovarak-sürterek bir köpekten diğerine nakletmeyi başarmıştır. Koitus sırasında her iki cinsiyette meydana gelen genital yaralanmalar, tümör hücrelerinin transplantasyonunu kolaylaştırmaktadır (Das ve Das, 2000, Buragohain ve Goswami, 2019). Hastalığa duyarlı bir köpeğe, TVT'li bir köpeğin genital organlarını ve daha sonra kendini veya başka bir duyarlı köpeğin genital organlarını yaladığında da tümör bulaşabilmektedir (Das ve Das, 2000). Köpeklerde çiftleşmenin uzun sürmesi ve çiftleşme sırasında penisin genişlemesi nedeniyle TVT'li bir erkek köpek, dişi genital bölgede doku hasarına neden olabilir. Oluşan doku hasarı TVT'nin bulaşmasını kolaylaştırmaktadır. Genellikle başıboş dişi köpeklerin dış genital organlarında gözlenmesine rağmen, iç genital organlarda da rastlanmıştır (Rogers, 1997, Gurel, Kuscu, Gulanbe, Arun, 2002, Purohit, 2009). Koklama, yalama, tırmalama ya da ısırma gibi fiziksel temaslar vücudun farklı bölgelerine tümörü yayabilmektedir (Buragohain ve Goswami, 2019). Bu fiziksel temaslar sırasında soyulan TVT hücreleri genital sistemin yanı sıra, burun ve ağız mukozasına, rektum veya deriye de aktarıldığı

düşünülmektedir (Albanese, Poli, Millanta, Abramo, 2002, Amaral, vd., 2007, Rezaei, Azizi, Shahheidaripour, Rostami, 2016, Zayos, Malina, Guerra, Padilla, 2019, Silva-Hidalgo, Cota-Guajardo, Davila-paredes, Carcoma-Arechiga, LöpessValenzeula, 2020). Das ve Das (2000), tümörün çiftleşmemiş dişilerde bulunmayacağını bildirirken, Marcos, Santos, Marrinhas, Rocha (2006) prepubertal dönemdeki 11 aylık bir dişide TVT saptamıştır. Daha sonra annesinin vajinasında da TVT olduğu belirlenmiş ve birlikte oldukları dönemde annenin sosyal/annelik davranışlarına bağlı olarak tümörün nakledildiği kanısına varılmıştır.

Klinik Belirtiler

Erkek köpeklerde TVT, genellikle korpustan bulbus penise kadar olan penisin kaudal kısmında veya glans peniste yer alırken (Şekil 1.2.), nadiren prepisyumda rastlanmaktadır (Uçar, 2016). Dişi köpeklerde ise genellikle vestibulumda (%95.6), daha az sıklıkla vajinada (%44.5) veya vulva dudaklarında (%18.6) tespit edilmiştir (Şekil 1.3.) (Ganguly vd., 2013).

Genital lokalizasyonlu köpeklerde kanlı akıntı izlenmektedir. Bu kanlı akıntı östrüs, ürethritis, sistitis ve prostatitisle karışabilmektedir (Das ve Das, 2000, Uçar, 2016).



Şekil 1.2. Penisin kaudal kısmında transmissible venereal tümör olgusu (Anonim 3, 2020).



Şekil 1.3. Transmissible venereal tümörün dişi köpekte klinik görüntüsü. a: tedaviden önce b: tedaviden sonra (Cizmeci, Kose, Aydın, Dınc, Maden, Kose, 2012).

Lezyonlar, transplantasyondan 2-3 hafta sonra 1-3 mm çaplı, pembeden kırmızıya kadar değişen renklerde küçük nodüller şeklinde gözlenir. İlerleyen zamanlarda tümörün hacmi artarken kırmızı, hemorajik, karnabahar benzeri, kolayca ufalanabilir nodüler bir görünüm alır (Uçar, 2016, Uçmak vd., 2019). Transmissible venereal tümörün anatomik lokalizasyonuna bağlı olarak çeşitli belirtiler ortaya

çıkılmaktadır. Hapşırma, burun kanaması, göz yaşarması, ağız kokusu, diş fistülü, ekzoftalmus, bölgesel lenf nodüllerinin genişlemesi ile birlikte yüz ve ağız deformasyonları örnek olarak verilebilir (Ganguly vd., 2013). Metastazik odaklar; subkutan dokuda, deride, bölgesel lenf nodüllerinde, idrar kesesinde, uterusu, ovaryumlarda, beyinde, gözlerde, ağız ve burun boşluğunda, akciğerlerde, karaciğerde, böbrekte, dalakta, meme bezlerinde ve kemiklerde bildirilmiştir (Şekil 1.4.) (Uçmak vd., 2019, Amaral vd., 2020, Silva-Hidalgo vd., 2020).



Şekil 1.4. Transmissible venereal tümörün metastaz yaptığı doku ve organlar (Strakova ve Murchison, 2014).

Olgunun enfeksiyon ile komplikasyonu ve dişilerde mekanik engelleme nedeniyle ürinasyon zorlukları ve güç doğum, erkeklerde ise fimozis ve parafimozis görülebilir (Das ve Das, 2000, Birhan ve Chanie, 2015). Zayıflık, perineum bölgesinde ülserler, iştahsızlık, kabızlık ve çiftleşme reddi ise daha az görülen semptomlardır (Ganguly vd., 2013).

Normal hemotokrit değeri hafif şekilde düşen (%10'dan daha az) TVT'li köpeklerde şiddetli anemi izlenmemektedir. Vakaların yaklaşık %30'unda hafiften şiddete kadar değişen oranda lökositosis görülebilir. Bu duruma tümör yüzeyinde gelişen enfeksiyon neden olmaktadır (Ganguly vd., 2013).

Patoloji

İmplantasyondan yaklaşık 15-60 gün sonra (Martins vd., 2005) veya ilk çiftleşmeden 2-6 ay sonra (Das ve Das, 2000) tümörün geliştiği bildirilmektedir. Transmissible venereal tümörlerin gelişmesi; yavaş, hatta beklenmedik şekilde yıllar alabilir veya invaziv bir hal alarak malignant karaktere dönüşüp metastaz yapabilir (Martins vd., 2005).

Transmissible venereal tümörlerin muhtemel siklusunda; ilk olarak 4-6 aylık progresif fazı (P fazı), durağan fazı ve tüm tümörlerde olmamasına rağmen regresyon fazı (R fazı) bulunmaktadır. Progresif tümörler yüksek oranda mast hücresi ve tümör sınırında invaze çok sayıda mikro damarlarla karakterizedir. Regrese tümörlerin çoğu T lenfositleri olmak üzere fazla sayıda lenfosit içerirler. Progresif fazdaki tümörler yuvarlak hücreli mikrovillusları içerirken, durağan fazdakilerde yuvarlak hücreli iç şekilli fibroblastlara dönüşmüştür. Regrese olan tümörlerdeki iç şekilli hücrelerdeki vakuoller içinde intraselüler kollagen demetler yer almaktadır (Ganguly vd., 2013).

İmmunoloji

Tümörün, Majör Doku Uyumluluk Kompleksi (MHC) bariyerleri üzerinden nakledildiği gösterilmiştir. Sadece aynı MHC antijenlerini taşıyan sağlıklı hayvanlarda geliştirilebileceği belirtilmiştir (Murgia, Pritchard, Kim, Fassati, Weiss, 2006). Tümör hücrelerinin hızlı gelişim döneminde tip I ve tip II MHC antijenleri açığa çıkmazken, regresyon döneminin başlangıcında hücrelerin %30-40'ında her iki antijene de rastlanmaktadır (Zayos vd., 2019).

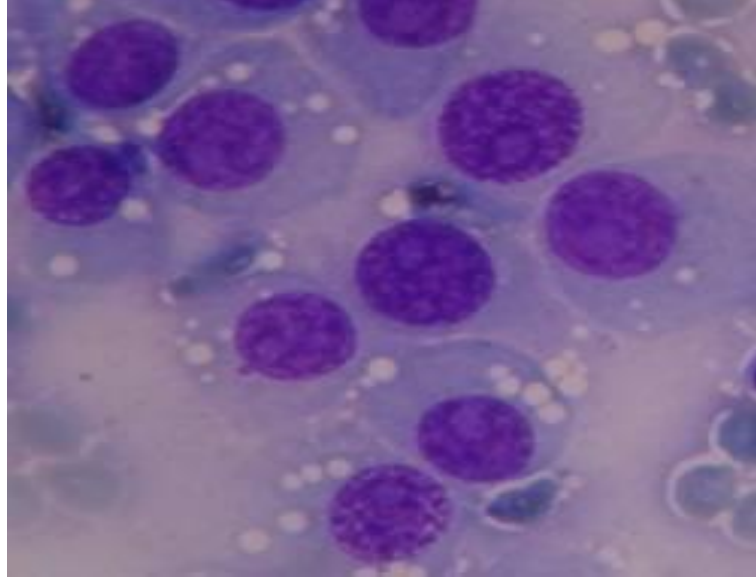
Transmissible venereal tümör hücreleri, konakçının immun cevabından çeşitli mekanizmalarla kaçabilmektedir. Tümör hücreleri; identifikasyonlarında belirteç olarak kullanılan kendi DLA (Köpek Lökosit Antijeni) genlerinin ekspresyonunu down regüle etmektedirler. Köpek lökosit antijen sınıf II'nin ekspresyonu tamamen inhibe edilirken, bazı DLA sınıf I genlerinin ekspresyonuna %10'a kadar izin verilmektedir. Tümörün konakçı immun sisteminden kaçabilmesi için bu durumun stratejik önemi vardır. Düşük seviyede sınıf I DLA ekspresyonu

aktif doğal öldürücü hücrelerin etkinliğini baskılayarak, konakçı immun sistemi için nerdeyse görünmez hal almaktadır. Transmissible venereal tümör hücreleri aynı zamanda konakçı immun sistemini suprese eden Transforming Büyüme Faktörü $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) de salgılamaktadırlar. İmmunsupresyonu uyaran TGF- $\beta 1$ 'in etkisi İnterlökin-6 (IL-6) ve IL-15 ile antagonize edilmektedir (Ganguly vd., 2013).

Tanı

Tümörün tanısı; anamnez, kitlenin tipik görüntüsü ve lokalizasyonuna göre yapılabilir (Alaçam, 2015). Eksfoliyatif sitoloji tekniği, düşük maliyetli, basit, kolay uygulanabilir ve minimal düzeyde invaziv olmasından dolayı önerilmektedir (Uçar, 2016). Transmissible venereal tümör hücreleri sıklıkla, stoplazmalarında vakuoller bulunan büyük nükleus içeren ve oval veya yuvarlak histiyosit benzeri hücrelerdir (Alaçam, 2015). Bu hücrelerin genellikle tek bir çekirdeği ve soluk mavi veya renksiz bir stoplazmaları bulunmaktadır. Ayrıca küçük, hafif açık renkli intrastoplazmik vakuoller ve çok sayıda mitotik figürler içerirler (Şekil 1.5.) (Uçar 2016). Ayrıca preparatlarda plazma hücreleri, lenfositler, makrofajlar ve nötrofillerden oluşan yangısal hücreler de gözlenir (Nak ve Kaşıkçı, 2013).

Hücrelerde karakteristik vakuoller yoksa ve kısmen tümör atipik bir yerleşime sahipse histiyositom, lenfom, mastositom ve amelanotik melanom gibi diğer yuvarlak hücre tümörleri ile karıştırılabilir (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Kesin tanı için biyopsi örneğinin histopatolojik incelenmesi gerekir (Alaçam, 2015, Uçar, 2016). Metastazik tümörlerin tanısında ise klinik bulgularla birlikte immunohistokimyasal teknikler kullanılır (Birhan ve Chanie, 2015). Diğer bir kesin tanı yöntemi ise kromozom sayısının belirlenmesidir. Köpeklerin somatik hücrelerindeki normal kromozom sayısı 78'dir ve bunlardan ikisi akrosentrik kromozomlardır. Tümör hücrelerinde ise genellikle kromozom sayısı 58-59'dur ve bunların 13-17'si metasentrik, 42'si akrosentrik kromozomlardır (Das ve Das, 2000).



Şekil 1.5. Vakuollü transmissible venereal tümör hücreleri. (Anonim 4, 2020).

Tedavi

Doğal şartlarda TVT'nin spontan regresyonu olabilir. Tam regresyon meydana gelmişse, hastalığın tekrar nüks etme ihtimali yoktur. Köpekler tümör hücrelerine karşı tam bağışıklık kazanırlar (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Tümör tedavisinde cerrahi girişim, kemoterapi, radyoterapi, immunoterapi, biyoterapi veya bunların kombinasyonlarını içeren bir çok seçenek denenmiştir (Das ve Das, 2000, Nak vd., 2004, Martins vd., 2005, Ganguly vd., 2013, Uçmak vd., 2019, Amaral vd., 2020).

Cerrahi Girişim

Generalize TVT vakalarında cerrahi uygulamaların pratik bir önemi yoktur (Das ve Das, 2000). Cerrahi girişimler küçük ve lokalize tümörler için etkili olsa da metastatik olgularda ameliyat sonrası nüks oranı %30-75'e ulaşabilmektedir (Uçar 2016). Tümör rezeke edilebilir karakterde olsa bile geleneksel cerrahi teknikleri

kullanıldığında ensizyon hattına kolaylıkla transplante olabilmektedir. Bu nedenle elektroşirurjikal veya kriyoşirurjikal tedavi daha uygundur (Das ve Das, 2000, Ganguly vd., 2013). Erkek köpeklerde yapılan işlemler sırasında üretraya zarar vermemeye özen gösterilmelidir. Eğer operasyon üretral orifisyumu kapsıyorsa, iyileşme olana kadar kalıcı üretral katater kullanılmalıdır (Das ve Das, 2000).

Radyoterapi

Radyasyonun, TVT tedavisinde oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Das ve Das, 2000, Nak vd., 2004, Ganguly vd., 2013, Nak ve Kaşıkçı, 2013). Radyoterapi, kemoterapi tedavisine bir alternatif olarak denenmiştir. Beyin, testis ve göz çevresinde oluşan lezyonlarda ve kemoterapiye direnç gösteren vakalarda kullanılabilir (Das ve Das, 2000, Uçar, 2016).

Bununla birlikte, uygulamadaki zorluklar, yeterli ekipmanın ve uzman personelin olmaması ve kemoterapiden daha uzun uygulama süresine duyulan ihtiyaç ve köpeklere kimyasal immobilizasyonun gerekmesi radyoterapinin temel dezavantajlarıdır (Das ve Das, 2000, Uçar, 2016). Bu sebeplerden dolayı daha çok diğer tedavi seçeneklerinin başarılı olmadığı olgularda tercih edilmelidir. Tedavinin dozu olgunun kronikliğine ve lezyonların büyüklüğüne bağlı olarak toplam 1500-2500 radyasyon absorbe dozu (rad) şeklinde düzenlenmektedir. Bu tedavi, 1-2 hafta aralıklarla 400-500 rad dozlarla veya 1000 rad'lık tek uygulama şeklinde yapılabilir. Başarı sağlanmazsa 1-4 sefer güvenle tekrar edilebilir (Ganguly vd., 2013).

İmmunoterapi

Transmissible venereal tümörün regresyonunda humoral ve hücrel immunitenin önemli oranda rol oynadığı bilindiği için tümörün immunoterapi uygulamaları ile sağaltımı denenmiştir (Mukaratirwa ve Gruys, 2003, Nak ve Kaşıkçı, 2013). Bu amaçla Stafilokok protein A, Bacillus calmette-Guerin (BCG) (verem aşısı) ve

levamizol gibi immunomodölatör ajanlar kullanılmıştır (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Verem aşısının intratümöral 3 hafta kullanılmasıyla düşük düzeyde başarı sağlanmış, uygulama sonrası makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu artmıştır. Takip eden süreçte apoptozis ve nekrozun uyarıldığı kaydedilmiştir (Mukaratirwa, Chitanga, Chimatira, Makuleke, Sayi, Bhebhe, 2009). Ancak Stafilokok protein A, BCG ve tümörden elde edilen aşuların uygulanmasıyla yapılan immunoterapilerden sonra nüksler gözlenmiştir. Ayrıca bazı araştırmacılar TVT vakalarını tedavi etmek için çeşitli bakteriyel toksinler kullanmışlardır. Sonuçlar karşılaştırıldığında, yalnızca *Chromobacterium prodigiosum*'un ölü süspansiyonlarında ve diğer organizmalarla kombinasyonlarında tatmin edici bulgular elde edilmiştir (Das ve Das, 2000).

İmmunoterapi tedavisinde lokal olarak IL-2'nin kullanımı %32 başarı sağlamıştır. İnterlökin-2'nin bu tümörün regresyonunda etkili olma mekanizması açık değildir. Transmissible venereal tümör hücrelerinin kültürlerinde kükürtlü aminoasitlerin gelişimi baskıladığı belirlenmiş ve diyetlere bu aminoasitlerin eklenmesiyle tümör regresyonunun hızlandığı tespit edilmiştir (Ganguly vd., 2013).

Kemoterapi

Transmissible venereal tümörün tedavisinde en etkili ve pratik yöntem kemoterapidir (Nak vd., 2004, Martins vd., 2005, Nak ve Kaşıkçı, 2013). Bu tedavi ile sadece primer tümör değil, metastazları da tamamen iyileşebilmektedir (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Tedavide siklofosamid, metotreksat, vinblastin ve doksorubisin gibi antimitotik ajanlar da tercih edilmesine rağmen (Das ve Das, 2000, Nak vd., 2004), vinkristin sülfat kemoterapide en sık kullanılan ilaçtır (Nak vd., 2004, Martins vd., 2005, Ganguly vd., 2013).

Vinkristin sülfat 0.5-0.7 mg/m² veya 0.025 mg/kg dozda, serum fizyolojik ile dilue edilip, intravenöz (IV) olarak yavaş infüzyon şeklinde ve haftalık olarak uygulanmalıdır. Etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen; hücredeki mitoz bölünmenin metafaz safhasında mikrotübüllerden ibaret olan mitoz iğciklerinin oluşumunu engellemektedir. Bu şekilde tübülün molekülleriyle birleşerek mikrotübül oluşturmasını engeller. Ayrıca DNA bağımlı Ribo Nükleik Asit'i (RNA) etkileyerek RNA sentezini inhibe ederler. Hücrede mitoz bölünmeyi metafaz

aşamasında bu şekilde durdurarak sitotoksik etki gösterir (Anonim 4, 2020). İlaç IV verilmelidir. İlacın subkutan uygulanması lokal doku nekrozuna sebep olmaktadır. Böyle bir durumda dışarı sızan vinkristinin her mililitresi için 20-25 mg hidrokortizon, infiltrasyon şeklinde kullanılmaktadır. Sağaltıma hastalığın gözle görülebilir klinik bir belirtisi kalmayınca kadar devam edilmelidir. Tamamen iyileşme genellikle 2-8 hafta arasında gerçekleşmektedir. Lezyonlarda, tedavinin başlangıcından itibaren belirgin bir gerileme olmasına rağmen, involusyonu yavaş gerçekleşmektedir. İlk hafta sonunda tümördeki kanama bulguları gözle görülebilir şekilde ortadan kalkarken, ikinci hafta sonunda ise tümörde belirgin bir küçülme görülmektedir. Vakaların %90'ından fazlasında başarı sağlanmaktadır. Anoreksi, kusma, diyare, miyelosüpresyon ve alopesi gibi ilacın geçici yan etkileri gözlenebilir (Nak ve Kaşıkçı, 2013).

Eğer vinkristinle başarı sağlanmazsa tümör tamamen küçülünceye kadar doksorubisin 30 mg/m² veya 1 mg/kg dozunda IV infüzyon şeklinde haftalık olarak, maksimum 3 haftaya kadar uygulanabilir (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Tedaviden sonra kalan küçük lezyonlar, takip eden 1-2 haftalık süreçte spontan olarak kaybolabilirler. Tümörlerin kemoterapiyle tamamen kaybolmadığı durumlarda, elektrokoterizasyon veya kriyokoterizasyon uygulanabilir (Martins vd., 2005).

Diğer bir sağaltım şekli ise vinkristin, metotroksat ve siklofosfamidin üçlü kombinasyon şeklinde kullanımınıdır (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Vinkristin sülfat (haftada 0.0125 mg/kg/hafta, IV), metotroksat (haftada 0.3-0.5 mg/kg/hafta, IV) ve siklofosfamid (günde 1 mg/kg/gün, oral) kombinasyonu kitle kaybolana kadar kullanılabilir (Uçar, 2016). Uygulama yaklaşık 4-6 hafta sürmekte ve sağaltım başarısı %93-100 arasında değişmektedir (Nak ve Kaşıkçı, 2013)

Anjiyogenez

Vasküler sistemin gelişimi, vaskülogenez ve anjiyogenez olmak üzere iki farklı süreç ile gerçekleşir. Embriyo gelişimi sırasında vaskülogenez ile endotelial prekürsörlerden kan damarları farklılaşırken, yetişkinlerde anjiyogenez adı verilen

bir süreçle, daha önce oluşan damar yapılarından filizlenme yolu ile yeni kan damarlarının oluşumu gerçekleşir (Senger vd., 1993, Mercurio, Lipscomb, Bachelder, 2005, Kato vd., 2007). Filizlenme yoluyla meydana gelen anjiyogenez, bir damardaki endotel hücreleri çevreleyen bazal membranın enzimatik degradasyonu ve bunu takiben anjiyogenik uyarıya cevap olarak endotel hücrelerin komşu stromaya göçünü ve proliferasyonunu kapsar. Endotel hücrelerin farklılaşması ve maturasyonu, lümen oluşumu, perisitlerin göçü ve tüplerin kıvrımlarının birleşimi ile yeni kan damarlarının oluşum süreci tamamlanır (Çelik ve Mete, 2017).

Yeni damar yapılarının oluşumu genel olarak üç basamakta gerçekleşmektedir;

1. Bazal membranın ve ekstrasellüler matriksin proteazlar tarafından yıkılması,
2. Anjiyogenik uyarıya doğru endotel hücrelerinin göçü ve proliferasyonu,
3. Kapiller tüp formasyonu ve endotel hücrelerin olgunlaşması (Konukoğlu ve Turhan, 2005, Demirer, Ayten, Taş, 2014).

Bazal Membranın ve Ekstrasellüler Matriksin Proteazlar Tarafından Yıkılması

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar. Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Endotel hücreleri normalde yayılma eğilimi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Endotel Hücrelerinin Göçü ve Proliferasyonu

Anjiyogenik uyarı, proteolitik yıkımdan kısa bir süre sonra endotel hücrelerini aktive eder. Endotel hücreleri ekstrasellüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en

etkili anjiyogenik faktör vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Kapiller Tüp Formasyonu ve Endotel Hücrelerin Olgunlaşması

Endotel hücre çoğalmasından sonra ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Oluşan kapiller filizlenmenin ucundaki yeni gelişen ECM'de yıkılma tekrarlanır ve bu sayede daha ileri yayılım olur. Bazal membranın yıkılması endotel hücre göçüne ve filiz oluşumuna izin verir. Endotelin yol alması ve uzaması sırasında hücre içi ve hücreler arası boşlukta, damarların olduğu lümenler gelişir. Böylece, ekstraselüler matriks proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda kapillerler oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluştururlar. Bu nedenle, endotel hücrelerinin yeni kapiller yapılar oluşturabilmeleri için birbirlerine ve ECM'ye tutunma gereksinimi vardır. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Anjiyogenezi Uyarıcı Faktörler

Yeni oluşan mikrodamarların olgunlaşması ve yapılandırılması proanjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Bu süreç mikrovasküler düzeyde birden çok proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörün koordinasyonu ile olmaktadır (Senger vd., 1993, Kato vd., 2007, Demirer vd., 2014).

- Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
- Ana Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)
- Asit Fibroblast Büyüme Faktörü (aFGF)
- Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)
- Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)
- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)
- İnsulin-Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)
- Transforming Büyüme Faktörü α (TGF- α)
- Transforming Büyüme Faktör β (TGF- β)
- Tümör Nekrozis Faktör α (TNF- α)
- Plasental Büyüme Faktörü (PIGF)
- Anjiyopietin-1
- Anjiyogenin
- Pleotrofin
- Interlökin 8
- Granulosit Koloni Uyarıcı Faktör (GCSF)
- Proliferin
- Leptin

Anjiyogenezi İnhibe Eden Faktörler

Anjiyogenez, aktivator ve inhibitor moleküller tarafından düzenlenir. Normalde inhibitörler büyümenin engellenmesi yönünde etkindirler. Yeni kan damarlarının oluşması gerektiğinde, anjiyogenezis aktivatorlerinin sayısı artarken, inhibitörlerin sayısı azalır. Bu olay büyümeyi ve vasküler endotelyal hücrelerin bölünmesini hızlandırır ve böylece yeni kan damarları oluşur (Ölgen, Bıçak, Nebioğlu, 2002).

- Trombospondin
- Anjiyostatin (plasminojen kısmı)
- Endostatin (kollajen XVIII kısmı)
- AT III (antithrombin III kısmı)
- Vazostatin
- Prolaktin
- Troponin 1
- Anjiyopoietin-2
- Alfa interferon
- Gamma interferon
- İnterlökin 12
- Fibronektin
- Metalloproteinaz doku inhibitörleri
- Plazminojen aktivatör inhibitör 1
- Platelet faktör 4 (PF 4)
- Pigment epitelial hücre faktörü
- Retinoik asit (Konukoğlu ve Turhan, 2005, Turgut, Güler, Demir T, Türkçüoğlu, Çeliker, 2007, Demirer vd., 2014, Çelik ve Mete, 2017, Hamutoğlu ve Önder, 2017).

Fizyolojik Anjiyogenez

Anjiyogenez, büyüme ve gelişme ile yara iyileşmesi gibi süreçlerde olması beklenen bir olaydır (Demirer vd., 2014). Ayrıca gebelerde embriyonik gelişim, yetişkinlerde östrüs siklusunu da kapsayan üreme fonksiyonları için de çok önemlidir (Çelik ve Mete, 2017). Normal bir implantasyon, desidualizasyon ve plasentasyon sürecinde

vasküler permeabilitede artış ve neovaskülarizasyon görülür (Hamutoğlu ve Önder, 2017).

Patolojik Anjiyogenez

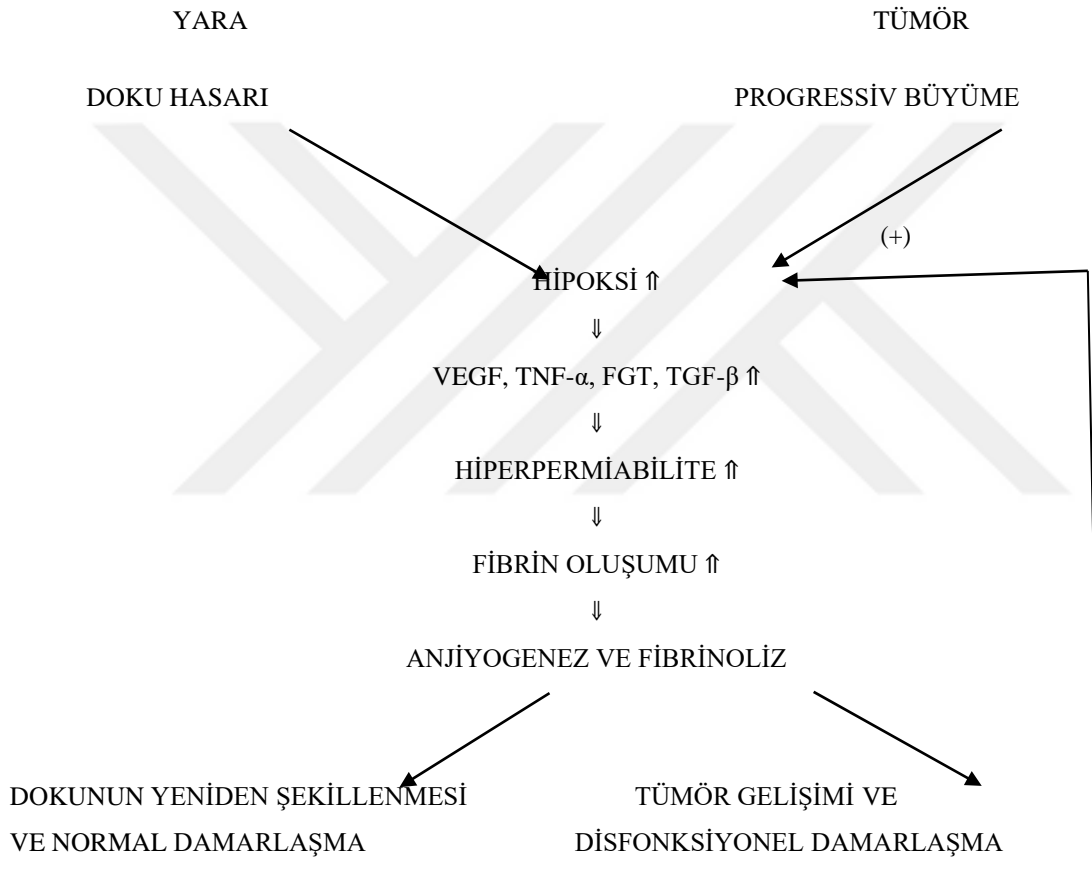
Fizyolojik anjiyogenezin yanında romatoid artritte, retinopatilerde, sedef hastalığında, foliküler kist oluşumunda, polikistik over sendromunda, ovaryum hiperstimülasyon sendromu ile benign ve malign ovaryan tümörler gibi patolojilerde, yeni vasküler damarların gelişimine bağlı süreçlerde anormal anjiyogenez meydana gelmektedir (Çelik ve Mete, 2017, Hamutoğlu ve Önder, 2017). Bununla birlikte hemanjiyomlar ve kanser gibi bazı patolojik durumlarda da anormal anjiyogenez ortaya çıkmaktadır (Hamutoğlu ve Önder, 2017).

Folkman, 1971 yılında “tümör gelişimi anjiyogeneze bağımlıdır” diyerek anjiyogenez konusunda asıl tartışmayı başlatmıştır. Tümörün büyüklüğü 0.5 mm^3 'ün üstüne çıkınca tümörün beslenmesi anjiyogeneze bağımlı iken, bu hacimden daha küçük bir tümör, oksijen ve besin maddelerini difüzyon ile alabilmektedir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Tümör dokusunun büyümesi, invazyonu ve metastazı için oksijene, besin maddelerine ve büyüme faktörlerinin sağlanması için yeni kan damarlarının oluşumuna ihtiyaç vardır. Bu nedenle, tümör hücrelerinden salgılanan faktörler ile anjiyogenez uyarılmaktadır (Konukoğlu ve Turhan, 2005, Çelik ve Mete, 2017). Tümör kitlesinin 1 mm çaptan daha fazla büyümesi için damarlaşmaya ihtiyaç vardır. Çevre dokudan kapiller ağ kurulmasında, tümör hücreleri tarafından salgılanan proanjiyogenik faktörler sorumludur (Taşkiran, Akar, Erbaş, 2017). Tümör kitlesi $1-2 \text{ mm}^3$ 'lük boyuta ulaştığında besin ve oksijen desteği için anjiyogenez uyarılır. Yeni damar oluşumu gerçekleşmediğinde ise tümör dokusu çevresindeki dokudan difüzyon ile beslenir ve en fazla $0.5-1 \text{ mm}^3$ 'lük boyutlara ulaşabilir. Tümör dokusunun daha fazla büyüebilmesi için anjiyogenez şarttır (Konukoğlu ve Turhan, 2005, Çelik ve Mete, 2017).

Tümöral hastalıklarda anjiyogenez, tümör hücrelerinin bizzat kendileri tarafından ya da tümör-sızıntılı makrofajlar tarafından salgılanabilen VEGF-A gibi

çeşitli sinyallerle uyarılır. Çoğu tümöral hastalıkta tümör anjiyogenezi; tümör hücrelerine besin maddelerini, oksijeni ve metastatik yayılımı sağlayarak hastalığı ilerletirler. Diğer taraftan tümör damarlarının organize olma özelliği yoktur. Bu damarlar sızıntı yaparak, tümör dokusunda hipoksiye bağlı VEGF-A'nın ekspresyonu ile damar fonksiyonlarında bozulmaya ve anjiyogenezin daha fazla uyarılmasına neden olurlar (Şekil 1.6.) (Hamutoğlu ve Önder, 2017).



Şekil 1.6. Normal doku onarımı ve tümörlerde anjiyogenezi uyarıcı ortak yollar (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Bazı Anjiyogenik Faktörlerin Özellikleri

Epidermal Büyüme Faktörü

Epidermal büyüme faktörü birçok memeli türünün değişik doku ve vücut sıvılarında bulunan, 53 aminoasitten oluşan mitojenik bir polipeptittir (Türkyılmaz, Çelebi, Gönül, 1996). Hücrelerin bölünmesini, farklılaşmasını, çoğalmasını, büyümesini ve hücre göçünü uyarmakta, organizmadaki pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol almaktadır (Yarım ve Kazak, 2016). Epidermal büyüme faktörünün kaynağı trombosit, keratonosit, makrofaj ve fibroblastlardır (Öztopalan, Işık, Durmuş, 2017). Epitel hücreler, endotel ve fibroblastlar için kemotaktik görevi vardır. Anjiyogenezi ve kollagenaz aktivitesini uyarır (Konukoğlu ve Turhan 2005, Öztopalan vd., 2017).

Fibroblast Büyüme Faktörü

Embriyonik gelişim sırasında FGF; hücre proliferasyonunda, göçünde ve farklılaşmasında görev almaktadır. Yetişkin organizmasında ise homeostazis ve doku onarımında görev almaktadır (Ornitz ve Itoh, 2001). Mezenşimal hücreler için mitojendir. Endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırıp neovaskülarizasyonu hızlandırarak anjiyogeneizde etkilidir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Transforming Büyüme Faktörü- β

Doku homeostazının sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Proapoptotik etkisi ile epitelyal hücre proliferasyonu ve inflamatuvar cevabını da baskılıyan TGF, bir tümör supresörü gibi davranır (Vural, 2010). Trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi bir çok farklı dokudan izole edilmiştir. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur ve hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Tümör Nekrozis Faktörü- α

Tümörlerde nekroz oluşturan TNF, aynı zamanda apoptoz ve inflamasyon süreçlerinde rol oynayan bir sitokindir. Alerji ve yangı gibi reaksiyonlarda makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden salınan TNF, doğal bağışıklığın oluşmasında önemli rol oynar (Işık, Demirezen, Beksac, 2008). Ayrıca kanser kaşeksisi ve endotoksik şokta da görev alır. Vücut sıcaklığını yükseltme özelliği bulunur. Düşük dozda endotelial hücre çoğalmasını ve tubul oluşumunu sağlarken, yüksek dozda zıt yönde etki gösterir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

Vaskular Endotelial Büyüme Faktörünün Yapı ve Salınımı

Anjiyogenik faktörler içerisinde en önemli olanı VEGF'dir. İlk bulunduğu vasküler endotelial permeabilite faktörü (VEPF) olarak adlandırılan bu faktör günümüzde VEGF-A olarak adlandırılmaktadır. VEGF, 46 kDa ağırlığında, homodimerik, heparine bağlı glikoprotein yapısında bir moleküldür. VEGF A, B, C, D, E (Ferrara, 2001, Alevizakos, Kaltsas, Syrigos, 2013), F (Demirer vd., 2014, Güzel, 2015) ve PlGF (Ferrara, 2001, Alevizakos vd. 2013) olmak üzere yedi alt grubu bulunmaktadır. Ayrıca amino asit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 ve VEGF206 olarak adlandırılan izoformları da bulunmaktadır. VEGF anjiyogeneizde rol oynayan faktörlerden biridir. Aynı zamanda kan basıncının düzenlenmesi, gebelik, postnatal damarlaşma, yara iyileşmesi, ovulasyon, kanser, romatoid artirit, retinada yeni damarlaşma, kalp-damar hastalıkları ve sedef hastalığı dahil olmak üzere çok sayıdaki patofizyolojik durumlarda da önem arz etmektedir (Hicklin ve Ellis, 2005, Konukoğlu ve Turhan, 2005).

VEGF anjiyogenezde;

1. Nitrik oksit salınımını uyararak damar permeabilitesini artırır,
2. Bazal membran ve matriks yıkımını artırır,
3. Anjiyopöietinler sayesinde endotel hücrelerin farklılaşmasında ve maturasyonunda rol oynar (Demirer vd., 2014).

Vaskular endotelial büyüme faktörü, başlangıçta damar geçirgenliğini artıran bir faktör olarak tanımlanmıştır. Endotel hücrelerinin çok sayıdaki biyolojik fonksiyonunu, sitokin sentezini ve salınımını, trombolitik ve pıhtılaşma yollarında yer alan moleküllerin ekspresyonunu ve düz kas hücre hiperplazisini düzenlenmektedir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Vaskular endotelial büyüme faktörü etkisini gösterebilmesi için endotel hücreleri ve lenf damarları üzerinde bulunan özgün transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması gerekir. Bağlanma sonucu aktifleşen VEGF reseptörleri hücre içerisinde sinyal iletisi sağlayan bir dizi proteini fosforilize eder. Bu olay ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak endotel hücrelerin çoğalmasını ve göçünü sağlar (Demirer vd., 2014, Gram, Hoffmann, Bass, Kowalewski, 2015).

Vasküler endotelial büyüme faktörü, tümör bulunan hastaların serum ve plazmasında ölçülmektedir. Vaskular endotelial büyüme faktörü, aktif bir şekilde tümör dokusundan salgılanır ve çözünür şekli (VEGF₁₆₅) kanda saptanabilir. VEGF trombositlerde depolanır ve kanın pıhtılaşması sırasında serbest bırakılır, bu da serumda VEGF konsantrasyonunun artmasına neden olur. Vaskular endotelial büyüme faktörü özellikle tümör neovaskülarizasyonuna aracılık eden, tümör büyümesini ve metastazı başlatan endotel hücrelerine etki eder. İnsanlarda, yüksek VEGF seviyeleri kötü prognoz ile ilişkilidir (Wergin ve Hotz, 2004). Vasküler endotelial büyüme faktörünün yüksekliği; tümör yükünü, tedaviye yanıtı ve hastalığın ilerlemesini yansıtmaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalarda VEGF' nin dendritik soy hücrelerini inhibe ederek konakçının antijen oluşturma kabiliyetini zayıflattığı bildirilmiştir. Bu zayıflama immun sistemin tümör hücrelerinin tespitini sınırlandırmakta ve metastazı arttırmaktadır (Clifford vd., 2001).

İnsan karsinomunda VEGF ekspresyonu ve tümör vaskülarizasyonu arasında korelasyon belirlenmiştir. Hipervasküler renal hücreli karsinomların hemen hemen hepsinde yüksek VEGF mRNA düzeyleri belirlenirken, hipovasküler karsinomlarda

bu durumun olmadığı tespit edilmiştir. Birçok organda neoplazi gelişimi ile seyreden ve otozomal dominant geçiş gösteren Von Hippel-Lindau hastalığında; VEGF'nin ve reseptörlerinin belirgin bir up-regülasyonu saptanmıştır. Tümörün stromal hücreleri, VEGF transkripsiyonunun yüksek miktarda yapıldığı yerdir (Baron ve Marme, 1995).

Son zamanlarda bazı araştırmalar sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığında, kötü huylu tümörlere sahip köpeklerde dolaşımdaki VEGF seviyesinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir (Kato vd., 2007). Buna rağmen VEGF'nin köpek malignitelerindeki rolü iyi tanımlanamamıştır. Vaskular endotelyal büyüme faktörünün tüm ana izoformları köpeklerde bulunur ve VEGF ekspresyonu, malignant tümöre sahip birkaç köpekte bildirilmiştir (Clifford vd., 2001). Meme tümörü, seminoma ve skuamöz hücreli karsinomda VEGF ve reseptörünün aşırı ekspresyonu immünohistopatolojik olarak belirlenmiştir (Kato vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada; sağlıklı ve hemanjiyosarkomlu köpeklerin plazma VEGF seviyeleri araştırılmıştır. Hemanjiyosarkomlu köpeklerde bu değerin sağlıklı köpeklerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. VEGF seviyesinin teşhis ve prognozda kullanılabileceği bildirilmiştir (Clifford vd., 2001). Benzer şekilde Gentilini vd., (2005), 2 köpekte serum VEGF, 9 köpekte plazma matriks metalloproteinaz (MMP) seviyelerine bakarak lenfomanın prognoz tahminini çalışmışlardır. Bu parametrelerin köpek lenfomasında prognoz açısından değerli olduğunu belirlemişlerdir.

Vaskular Endotelyal Büyüme Faktörünün Reseptörleri

VEGFR-1 (VEGFR-1/Flt-1): VEGFR olarak ilk tanımlanan yapı, tirozin kinaz reseptörüdür. Molekül ağırlığı 180 kDa'dur. VEGF-A, VEGF-B ve PlGF bu reseptöre yüksek afinite gösterir (Verrax vd., 2011, Güzel, 2015). Vasküler endotel hücresi, osteoblast, plasental trofoblast, renal mezengial hücre ve hematopoetik kök hücrelerde sentezlendiği gösterilmiştir (Güzel, 2015).

VEGFR-2 (insan; fetal liver kinase 1, Flk-1 fare): 200-230 kDa ağırlığında bir reseptördür. Bu reseptöre VEGF-A'nın yüksek afinitesi vardır. VEGF'nin mitojenik, anjiyogenik ve permeabilite artışı etkilerinden sorumlu olan reseptördür (Verrax vd.,

2011, Güzel, 2015). VEGF-E, VEGF-C ve VEGF-D de bağlanabilir. Endotel hücresi, osteoblast, nöron, megakaryosit ve hematopoetik kök hücreler tarafından sentezlenir (Güzel, 2015).

Yapılan literatür taramada köpek TVT olgularında serum VEGF değerlerine rastlanmamıştır. Sunulan çalışmada; tümör anjiyogenezisinde önemli bir faktör olan VEGF'nin TVT'li köpeklerde serum konsantrasyonlarını belirlerken, vinkristin sülfat ile tedavide bu faktörün seyrini değerlendirmek amaçlanmıştır. Diğer taraftan VEGF seviyesi ile vinkristin sülfat uygulama sayısı arasında bir ilişki olup olmadığı da araştırılmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

Sunulan çalışma; Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 2019/06 toplantısında 31 numaralı onayı alınarak yapıldı.

Grupların Oluşturulması

Ovariohisterektomi yapılmamış, TVT tanısı konulmuş kangal ve kangal melezi 12 diş köpek çalışma grubunu, OHE yapılmamış kangal ve kangal melezi sağlıklı 12 diş köpek kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışma grubunda yer alan köpeklerin genel muayenesi yapıldı (vücut sıcaklığı, solunum sayısı, kalp atım sayısı, hemogram bulguları, kitlenin lokalizasyonu ve büyüklüğü, kanama eğilimi) ve bilgileri (yaş, eşkal, vücut ağırlığı) kayıt altına alındı. Tümöral kitle odağı birden fazla ve çapı 2 cm'den küçük, 5 cm'den büyük olanlar çalışmaya alınmadı. Klinik muayenesinde TVT olduğu düşünülen bu kitlelerin üzerinden pamuk eküvyonla alınan hücreler 2 temiz lama yayıldı. Hazırlanan bu preparatlar, boyama yapılması için laboratuvara gönderildi.

Kontrol grubundaki köpeklerin genel muayenesi de (vücut sıcaklığı, solunum sayısı, kalp atım sayısı, hemogram bulguları) çalışma grubuna benzer şekilde yapıldı ve bilgileri (yaş, eşkal) kayıt altına alındı. Genel muayenesinde herhangi bir bozukluğa rastlanılmayanlar çalışmaya dahil edildi.

Giemsa Boyama ve TVT hücrelerinin değerlendirilmesi

Çalışma grubunda yer alan hayvanların ilk muayeneleri sırasında, TVT şüpheli kitleler üzerinden hazırlanarak laboratuvara gönderilen preparatlar absolut metanol ile kaplandı ve 2-3 dakika beklendi. Bu şekilde hücreler lama tespit edilmiş oldu. Süre bitiminde lam yüzeyindeki alkol dökülerek preparat havada kurutuldu. Her bir

preparat için 5 ml distile suya 5 damla stok Giemsa (Merck, 25024-00 KGaA) damlatılarak hazırlanan boya karışımıyla lamaların yüzeyi kaplandı. Üzeri kaplanan lamalar 45 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve süre sonunda hafif akan çeşme suyuyla yıkandı. Yüzeyi temizlenen bu preparatlar, havada kurutularak mikroskopta (Olympus CX21) çeşitli büyütmelemlerde incelendi. Hazırlanan preparatlarda Alaçam (2015)'ın tarif ettiği şekilde stoplazmasında vakuoller bulunan büyük nükleuslu, oval veya yuvarlak biçimli TVT hücrelerinin belirlenmesiyle teşhis doğrulandı.

Kan alınması

Sitoloji muayenesi ile TVT olduğu doğrulanan köpeklerden vinkristin sülfat tedavisine başlamadan hemen önce sağ veya sol *vena cephalica antebrachii*'den EDTA'lı ve antikoagülansız serum tüplerine kan alındı. Kan alma işlemi, haftalık vinkristin sülfat tedavisinden önce ve son vinkristin sülfat tedavisinden 1 hafta sonra tekrarlandı. EDTA'lı tüpe alınan kanlardan hemogram cihazında (Abacus Junior Vet5) tam kan analizi yapıldı. Antikoagülansız serum tüplerine alınan kanlar ise 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüje (M 4808 P) edilerek serumu çıkarıldı. Çıkarılan serumlar, plastik ependorf tüplerine alındı ve analizleri yapılana kadar -80 C'lik derin dondurucuda (Nüve DF 490) saklandı. Haftalık tam kan analizleriyle beraber yukarıda anılan genel muayeneleri de yapıldı.

Kontrol grubunda yer alan köpeklerin de tekniğine uygun olarak *vena cephalica antebrachii*'den girilerek EDTA'lı ve antikoagülansız tüplere kan alındı. Çalışma grubuna benzer şekilde tam kan analizi yapıldı ve serum çıkarıldı. Çıkarılan serumlar aynı derin dondurucuda analizleri yapılana kadar saklandı.

Vinkristin Sülfat Tedavisi

Vinkristin sülfat (Vincristine[®], Koçak Farma), 0.025 mg/kg dozda 250 ml serum fizyolojik (%0.09 NaCl) (Medifleks[®], Koçak Farma) içerisinde IV olarak haftada bir

kez verildi. İçine vinkristin sülfat koyulan bu serum, yavaş şekilde infüze edilirken (yaklaşık 30 dakika) ışıktan etkilenmemesi için siyah poşet geçirildi.

Her vinkristin sülfat tedavisinden önce yapılan genel muayene ve tam kan analizine göre uygulamaya devam edildi veya ara verildi. Tam kan analizinde özellikle lökosit sayısının mililitrede 4000'in altına düştüğü vakalarda tedavi 2 gün ertelendi. Tümörü gerileyerek kaybolan ve sitolojisinde TVT hücrelerine rastlanmayan vakalar, iyileşti kabul edilerek tedavisine son verildi.

Serum VEGF Seviyesinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında TVT'li köpeklerden toplanan kan serumlarından VEGF seviyesinin belirlenmesi amacıyla ticari olarak satılan Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA) test kiti (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai Korain) ve ELISA okuyucusu (Thermo Multiskan GO) kullanıldı.

Kit Protokolünün Uygulanması

- 1- -80 °C'de muhafaza edilen serum örnekleri 1 gün öncesinden -20°C'ye alındı. Analizin yapılacağı gün, serum örnekleri ve +4 °C'de muhafaza edilen ELISA kiti oda sıcaklığına getirildi.
- 2- Kit içeriğinden çıkan ELISA plate üzerinde standart, numune ve blank kuyucukları belirlendi.
- 3- Standart kuyucuklarına her bir standart numunesinden 50 µl eklendi.
- 4- Numune kuyucuklarına çalışma kapsamında toplanan serumdan 40 µl, VEGF-A antikorundan 10 µl eklendi.
- 5- Hem standart hem de numune kuyucuklarına 50 µl Streptavidin-HRP enzim eklendi ve 37 °C'de 60 dakika boyunca etüvde inkübe edildi.
- 6- İnkübasyondan sonra yıkama işlemi uygulandı ve beş kez tekrar edilen bu işlem için kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklendi. Yıkama solüsyonu eklendikten sonra 1 dakika beklendi ve işlem tekrarlandı.

- 7- Yıkama işlemi sonrası blank kuyucukları dahil her kuyucuğa 50 µl subsrat A ve 50 µl subsrat B solüsyonlarından eklendi.
- 8- 37 °C'de 10 dakika etüvde inkübe edildi.
- 9- İnkübasyon bitiminde kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi.
- 10- ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Ön analizlerde parametrik test varsayımlarının (normalite ve varyans homojenite testi) karşılanıp karşılanmadığına bakıldı. Veriler normal dağılmadığından tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplarının karşılaştırılmasında Wilcoxon testi yapıldı. Hasta hayvanlar ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırma Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Tedavi öncesi ve uygulama sayısı arasındaki ilişki ise Spearman Rank korelasyon testi ile yapıldı. Tüm analizlerde SPSS V.15 (Chicago, II, USA) kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

Genel Muayene Bulguları

Çalışma grubuna dahil edilen 12 dişi kangal ve kangal melezi köpeklerin yaşları 24-48 ay (35.9 ay) aralığında değişiklik gösterdi. Bu gruptaki hayvanların vücut ağırlıkları 20.1- 44.4 kg (30.14 kg) olarak belirlendi. Kontrol grubuna dahil edilen 12 dişi kangal ve kangal melezi köpeklerin yaşları 18-24 ay (21.16 ay) aralığındaydı.

Çalışma ve kontrol grubundaki hayvanların vücut sıcaklığı 38-39.2 °C, kalp atımı 70-110/dk ve solunum sayısı 10-40/dk aralığında belirlendi. Tam kan bulguları ise çizelge 3.1. de özetlendi. Çalışma grubundaki hayvanların ortalama HGB (Hemoglobinin) seviyesi referans değerinden hafif düşük bulunurken, diğer tüm değerler normal sınırlar içindeydi.

Çizelge 3.1. Çalışma (tedavi öncesi) ve kontrol grubundaki hayvanların kan parametreleri.

Parametreler	Çalışma Grubu n:12	Kontrol Grubu n:12	Referans Aralığı
WBC (x 10 ⁹ /L)	10.51	8.59	6-17
RBC (x 10 ¹² /L)	6.65	7.08	5.5-8.5
HGB (g/dl)	11.72	14.01	12-18
HCT (%)	43.27	46.14	37-55
PLT (x 10 ⁹ /L)	280.45	343.41	200-500

WBC: Lökosit, RBC: Eritrosit, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, PLT: Trombosit

Çalışma grubunda yer alan köpeklerin tamamında tümör; vulva vajina sınırında, kanamaya yatkın şekilde ve yüzeyi tipik karnabahar görünümündeydi. Vakaların birinde benzer bulgulara (1.5x3.0 cm) sağ göz alt palpebrasında da rastlandı.

Sitoloji Bulguları

Çalışma grubundaki hastaların TVT şüpheli kitlelerinden hazırlanan preparatların tamamında tipik TVT hücreleri belirlendi. Palpebra üzerindeki kitleden hazırlanan preparatta da bu hücrelere rastlanarak olgunun metastaz olabileceği kanısına varıldı (Şekil 3.1.). Çalışma grubundaki hayvanlarda metastaz oranının %8.33 (1/12) olduğu tespit edildi.



Şekil 3.1. Transmissible venereal tümör hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (x400).

Tedavi Bulguları

Çalışma grubunda yer alan vakaların tamamı 3-8 vinkristin sülfat uygulamasıyla tedavi edildi. Hastaların 3'ü 3 uygulamayla, 6'sı 4 uygulamayla, 1'i 5 uygulamayla, 1'i 6 uygulamayla ve 1'i 8 uygulamayla iyileşti. İkinci vinkristin sülfat uygulamalarından sonra vakaların tamamında dikkat çekici seviyede küçülme tespit edildi. Sonraki uygulamalarda küçülmenin daha yavaş olduğu gözlemlendi. Metastaz olduğu düşünülen köpekte 3 uygulamada gözdeki odak tedavi olurken, genital bölgede bulunan kitlesi ise 8 uygulamanın sonunda tedavi edilebildi. Kitlelerin kanama eğilimi ilk vinkristin sülfat uygulamasından sonra kayboldu veya azaldı.

Tedaviden önce yapılan tam kan muayenelerinde 2 köpeğin 3. uygulamalarında total lökosit sayısının mililitrede 4000 altına (1500 ve 2000) düşmesinden dolayı tedavi ertelendi. Anılan bu köpeklerin diğer kan parametreleri de referans değerlerinin altına gerilemişti. İki gün sonraki kontrol muayenesinde total lökosit sayısı mililitrede 1500 olan köpeğin değerinin mililitrede 9200 olduğu, değeri mililitrede 2000 olan köpeğin ise mililitrede 12100 olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde diğer kan parametrelerinin de düzeldiği belirlendi ve vinkristin sülfat uygulaması yapıldı. Bu hastaların sonraki vinkristin sülfat uygulamalarında tedaviyi etkileyecek herhangi bir bozukluğa rastlanılmadı. Her 2 köpek de 4 uygulamayla tedavi edildi.

Tedavi sırasında tüm köpeklerde hafif seviyede tüy dökülmesi vardı. Beş vinkristin sülfat uygulamasıyla tedavi olan 1 köpekte ise son 3 uygulama döneminde iştahsızlık gözlemlendi. Bu köpekte tedavi başlangıcından sonuna kadar vücut ağırlığında yaklaşık %5'lik kayıp belirlendi. Tedavinin sonlandırılmasından sonra bu bulgular kayboldu.

Serum VEGF Değerleri

Çalışma grubundaki köpeklerin vinkristin sülfat uygulamalarındaki serum ortalama VEGF değerleri çizelge 3.2. verildi ve istatistiksel bir farka rastlanmadı (p=0.488).

Çizelge 3.2. Tedaviye alınan TVT'li köpeklerin serum VEGF seviyeleri (ng/l).

Tedavi	n	Mean ±SE	Median±IQR	Mean rank	P
Tedavi öncesi	12	88.10±37.71	24.82±108.68	32.50	0.488
T1	12	116.0±52.85	28.94±182.06	32.21	
T2	12	193.74±121.98	16.88±213.53	24.63	
T3	9	199.47±110.45	28.64±336.0	33.11	
T4	3	250.01±234.90	16.29±0	27.83	
T5	2	405.11±388.82	405.11±0	37.75	
T6	1	*	*	63.00	
T7	1	*	*	58.00	
T.sonrası	12	174.82±94.76	25.41±227.35	35.83	

*: Örnek sayısı yeterli olmadığı için istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

Tedavi öncesi serum VEGF seviyesi ile vinkristin sülfat uygulama sayısı arasında yapılan korelasyon analizinde herhangi bir ilişkiye rastlanmadı (r=0.51). Çalışma grubundaki köpeklerin tedavi öncesi serum VEGF değeri ile kontrol grubundaki köpeklerin serum VEGF değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel bir fark tespit edilemedi (Çizelge 3.3.) (p=0.160).

Çizelge 3.3. Çalışmaya alınan TVT'li köpekler ile sağlıklı köpeklerin serum VEGF değerleri (ng/l).

Gruplar	n	Mean±SE	Median±IQR	Mean Rank	P
Çalışma (tedavi öncesi)	12	88.10±37.71	24.82±108.68	14.58	0.160
Kontrol	12	37.22±13.31	18.64±34.56	10.42	

4. TARTIŞMA

Transmissible venereal tümör; bulaşıcı venereal sarkoma, bulaşıcı lenfoma, venereal granuloma, enfeksiyöz sarkoma, Sticker's sarkom, köpek kandilomu, bulaşıcı lenfoma gibi değişik isimlerle de anılmaktadır (Buragohain ve Goswami, 2019). Tümör, en sık 2-8 yaşlı köpeklerde belirlenirken (Das ve Das, 2000, Uçmak vd., 2019), prepubertal dönemdeki 11 aylık bir dişide de saptanmıştır. Muayene sonucunda annesinin vajinasında da TVT olduğu belirlenmiş ve birlikte oldukları dönemde annenin sosyal/annelik davranışlarına bağlı olarak tümörün nakledildiği kanısına varılmıştır (Marcos vd., 2006). Benzer şekilde sunulan çalışmada köpeklerin yaş ortalaması 2-4 yaşları aralığındaydı. Prepubertal dönemde hastaya rastlanmadı.

TVT sıklıkla dış genital organları etkileyen ve genellikle çiftleşmeyle bulaşan bir tümördür (Das ve Das, 2000, Nak vd., 2004, Park vd., 2006, Nak ve Kaşıkçı, 2013). Koklama, yalama, tırmalama ya da ısırma gibi fiziksel kontaklar vücudun farklı bölgelerine tümörü yayabilmektedir (Buragohain ve Goswami, 2019). Fiziksel temasla soyulan TVT hücreleri genital sistemin yanı sıra, burun ve ağız mukozası, rektum veya deriye aktarıldığı düşünülmektedir (Albanese vd., 2002, Amaral vd., 2007, Rezaei vd., 2016, Zayos vd., 2019, Silva-Hidalgo vd., 2020). Metastaz; vakaların %5'inden daha azında bildirilmiştir (Das ve Das, 2000). Ancak bu oranın aksine Dass ve Sahay (1989) metastazı %7 olarak bildirmişlerdir. Metastaz erkek köpeklerde %16, dişi köpeklere %2 olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada, 11 dişi köpekte vajinada, 1 köpekte ise hem vajinada hem de palpebrada TVT tanısı konmuştur. Ekstragenital organ metastaz oranı %8.33 olarak belirlendi ve yukarıda anılan çalışmalardan yüksek olduğu gözlemlendi. Metastaz; hastanın yaşı, cinsiyeti gibi bir çok faktör etkilediği için farklılıklar olabileceği kanısına varıldı.

Transmissible venereal tümör'ün teşhisi; klinik, sitoloji ve histopatoloji ile yapılabilir. Klinik olarak kitle kırmızı, hemorajik, karnabahar benzeri, kolayca ufalanabilir, nodüler görünümdeyken (Uçar, 2016, Uçmak vd., 2019), sitolojisinde TVT hücreleri sıklıkla, stoplazmalarında vakuoller bulunan, büyük nükleus içeren ve oval veya yuvarlak histiyosit benzeri hücreler şeklindedir (Alaçam, 2015). Kesin teşhis ise biyopsi alınarak histopatolojik muayene ile yapılır (Nak vd., 2004). Kitlenin görülemediği durumlarda ultrasonografiye de başvurulabilir (Fathi, Ashry,

Ali, Hassan, Elkarmoty, 2018). Sunulan çalışmada klinik olarak TVT olduğu düşünülen tüm kitlelerin sitolojilerinde tipik TVT hücreleri belirlendi. Benzer şekilde, klinik olarak teşhis koyulup sitoloji ile doğrulanabileceği de araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Serin, Kırıl, Serin, 2008).

Kemoterapi, TVT'nin tedavisinde en etkili ve pratik yöntemdir. Vinkristin sülfat ise kemoterapide en sık kullanılan ilaçtır (Nak vd., 2004, Martins vd., 2005, Nak ve Kaşıkçı, 2013, Gangluy vd., 2013). Fathi vd., (2018) 104 TVT'li köpekte yaptıkları çalışmada tedavi süresini 4-8 hafta olarak bildirirken, Boscov ve Ververidis (2004) tedavi süresini 2-6 hafta olarak bildirmişlerdir. Tamamen iyileşme genellikle 2-8 hafta arasında gerçekleşmektedir (Nak ve Kaşıkçı, 2013). Tedavi başarısı olarak çeşitli oranlar (%90-100) verilmektedir (Martins vd., 2005, Nak ve Kaşıkçı, 2013). Diğer taraftan Morales, Popdetti, Roman (1990) vinkristin kullandıkları 16 TVT'li köpeğin 2'sinin tedavi tamamlanmadan belirleyemedikleri nedenle öldüğünü kaydetmişlerdir. Sunulan çalışmada da yukarıdaki literatür bilgiyle uyumlu şekilde tamamen iyileşme 3-8 uygulamada gerçekleşti ve çalışmaya alınan hayvanların tamamında başarı sağlanırken hayvanların hiçbirinde ölüm gözlenmedi. Uygulama sayısı ve başarısı tümörün boyutuna ve büyüklüğüne, etkilenen bölgeye, hayvanın immun sistemine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Amaral vd., 2020).

Parmar, Joseph, Morabiya, Thakre, Patel (2017) başlangıçta çok büyük olan tümör dokusunun, ikinci dozdan sonra kademeli olarak küçüdüğüne, dördüncü uygulamada tümör dokusunun tamamen ortadan kaybolduğunu bildirmişlerdir. Boscov, Ververidis, Tondis, Stamou, Samartzı (1998) ikinci vinkristin sülfat uygulamasından önce tüm lezyonlarda anlamlı gerileme fark edildiğini, dördüncü uygulama ile tüm ekstragenital lezyonlar ortadan kalkarken, genital bölgedeki kitlelerin büyüklüğünün önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, sunulan çalışmada da vakaların tamamında 2. uygulamadan sonra tümör boyutunda belirgin bir gerileme gözlemlendi.

Vinkristin sülfat ile tedaviyi takip eden 1-2 günlük süreçte, köpeklerin %20'sinden daha azında geçici yan etkiler görülebilir. Bunlar hafif anoreksi ve depresyon şeklinde sıralanabilir (Boscov ve Ververidis, 2004). Kemoterapinin, total lökosit sayılarında azalmalara (geçici lökopeni) neden olabileceği ve bazı vakalarda

(%2'den az) antibiyotik tedavisine gerek duyulabileceği veya vinkristin sülfat tedavisinin ertelenebileceği belirtilmiştir. Bu yüzden vinkristin sülfat ile tedaviye başlamadan önce hayvanın genel sağlık durumunun değerlendirilmesi ve haftalık total lökosit sayısının takip edilmesi önemsenmiştir. Ayrıca vinkristin sülfat ile tedavi edilen köpeklerde total veya lokal alopesia gibi yan etkiler gözlenebilmektedir (Boscos ve Ververidis, 2004, Nak vd., 2004). Sunulan çalışmada; 1 köpekte iştahsızlığa bağlı %5 oranında kilo kaybı gözlenirken, 2 köpekte toplam lökosit sayısı mililitrede 4000'nin altına düştü ve bu köpeklerin tedavileri 2 gün ertelendi. İki gün sonra kontrol edilen total lökosit sayısı normal değer aralığındaydı ve tedavilerine devam edildi. Tedavi edilen bütün köpeklerde hafif seviyede tüy dökülmesi gözlendi. Gözlenen tüm bu belirtilerin, yukarıda anılan yan etkilerle uyumlu olduğu değerlendirildi.

Vasküler endotelial büyüme faktörü, anjiyogenik faktörler arasında en önemli olanıdır. Bu faktör, tümörlü hastaların serum ve plazmasında ölçülebilmektedir. VEGF, aktif bir şekilde tümör dokusundan salgılanır ve çözünür şekli (VEGF₁₆₅) değerlendirilir. VEGF trombositlerde depolanır ve kanın pıhtılaşması sırasında serbest bırakılır, bu da serumda VEGF konsantrasyonunun artmasına neden olur. VEGF özellikle tümör neovaskülarizasyonuna aracılık eden, tümör büyümesini ve metastazı başlatan endotel hücrelerine etki eder (Wergin ve Hotz, 2004). Yapılan literatür taramasında TVT tespit edilen köpeklerde serum VEGF seviyesi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Sadece Féo vd., (2018) in vivo ve in vitro TVT hücrelerinde VEGF incelemişler ve yüksek seviyede VEGF tespit etmişlerdir. Çalışmalarındaki 17 TVT'li köpeğin hem doku örneklerinde hem de hücre kültürlerinde yüksek oranda VEGF genini belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada TVT'li köpeklerin serum VEGF değerleri sağlıklı köpeklerden yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak bir farka rastlanılmamıştır (p=0.160). Tedavi sürecinde de herhangi bir farklılık oluşmadığı (p=0.488) saptanmıştır. Dolayısıyla doku kültürü ve hücre kültüründe elde edilen VEGF farkları, sunulan çalışmada belirlenmemiştir.

Salmanoğlu ve Mermercioğlu (2008) yaptıkları çalışmada 20 meme tümörlü köpekte serum VEGF seviyesini ortalama 115.1 ± 82.5 pg/ml olarak bildirmişlerdir. Anılan çalışmada kontrol grubu olarak 10 sağlıklı köpek seçilmiş ve bu köpeklerin serum VEGF seviyesi 36.70 ± 10.0 pg/ml olarak belirlenmiştir. Köpek meme tümörlerinin prognozunun belirlenmesinde prognostik bir faktör olarak dolaşımdaki

VEGF seviyelerinin kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada kontrol gurubu olarak 12 sağlıklı köpek seçilmiş ve bu köpeklerin serum VEGF seviyesi 37.22 ± 13.31 ng/l olarak belirlenmiş ve yukarıda anılan çalışma ile benzerlik göstermiştir. Özdoğan vd. (2016) yaptıkları çalışmada meme tümörlü 50 kadında serum VEGF seviyesini araştırmışlar ve bu değeri 225.054 ± 91.004 pg/ml olarak belirlemişlerdir. Serum VEGF seviyesini meme kanserli hastalarda prognozu öngören faydalı bir belirteç olabileceğini bildirmişlerdir. Bilgiç ve Tez (2015) mide kanseri olan 30 hastada serum VEGF seviyesini $140 (40-542.1)$ pg/ml olarak belirlemişler ve bu hastalarda serum VEGF düzeylerinin, ameliyat öncesi invazyon ve tümör tipinin değerlendirilmesi için ek prognostik bilgi sağlayabileceği kanısına varmışlardır. Sunulan çalışmanın TVT'li köpeklerin VEGF değerinin Salmanoğlu ve Mermercioğlu (2008)'na göre düşük olduğu görüldü. Ayrıca yukarıda anılan çalışmalarda elde edilen istatistiksel fark sunulan çalışmada belirlenemedi. Bu farklılığının tümörlerin malign ya da benign karakterde olmasıyla ilgili olabileceği düşünülürken, Clifford vd. (2001) tarafından VEGF'nin köpek malignitelerindeki rolünün iyi tanımlanmadığı bildirilmiştir. VEGF'nin tüm ana izoformlarının köpeklerde bulunduğu ve VEGF ekspresyonunun malignant tümöre sahip birkaç köpekte tespit edildiği bildirilmiştir. Diğer taraftan vinkristin sülfat uygulama sayısı ile serum VEGF seviyesi arasında herhangi bir korelasyona rastlanmamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Transmissible venereal tümörlü köpeklerin serum VEGF değerinin sağlıklı köpeklere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel bir fark olmadığı belirlendi.
- Transmissible venereal tümörün vinkrisitin sülfat ile tedavisinde serum VEGF değerlerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlendi.
- Tedavi öncesi serum VEGF değeri ile uygulama sayısı arasında korelasyon bulunmadı.
- Diğer taraftan TVT'li köpeklerin serum VEGF değerlerinin araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle sonraki çalışmalara katkı sağlayacağı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

ALAÇAM E (2008). 'Üreme Organlarının Tümörleri', Köpek ve Kedilerde Üreme Süreci ve Sorunları (1. Baskı), 123-126.

ALAÇAM E (2015). Karnivorlarda Üreme Organlarının Tümörleri, ' Vagina ve Vulva Tümörleri'(8. Baskı), 354-356.

ALBANESE F, POLI A, MILLANTA F, ABRAMO F (2002). Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with *Leishmania* laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin. *Vet Dermatol*, 13, 243-246.

ALEVIZAKOS M, KALTSAS S, SYRIGOS KN (2013). The vascular endothelial growth factor pathway in lung cancer. *Cancer Chemother Pgarmacol*, 72,1169-1181.

AMARAL AS, SANDRA BS, ISABELLA F, FONSECA LS, ANDRADE FH, GASPAR LF, ROCHA NS (2007). cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumour. *Rev Port Cienc Vet*, 10, 253-260.

AMARAL AVC, MUCHA F, OLIVERIA IB, CARVALHO CF, ATAIDE WF, SATURNINO KC (2020). Primary Ocular Transmissible Venereal Tumor in a Prepubescent Female Dog. *Acta Scientiae Veterinariae*, 48 (Suppl 1), 476.

ANONİM 1 (2020). Köpek Papilloma Virüsü, Erişim: <https://caninepapilloma.wordpress.com/2012/04>.

ANONİM 2 (2020). Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT), Erişim: www.tcg.vet.com.ac.uk/about/ctvt .

ANONİM 3 (2020). Canine Transmissible Venereal Tumour, Erişim: <https://www.sciencedirect.com/topics/veterinary-science-and-veterinary-medicine/canine-transmissible-venereal-tumor>.

ANONİM 4 (2020). Vincristine-Koçak 1 mg/1 ml IV Enjeksiyonluk Solüsyon İçeren Flakon. (kocakfarma.com/urun-aciklama.aspx?bolumSeo=kisabilgi&id=259&lang=).

BARON GM, MARME D (1995). Vascular endothelial growth factor mediated tumour angiogenesis: a new target for cancer therapy. *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 6, Issue 6, 675-680.

BIRHAN G, CHANIE M (2015). A Review on Canine Transmissible Venereal Tumour: from Morphologic to Biochemical and Molecular Diagnosis. *Acad J Anim Diseases*, 4(3): 185-195.

BİLGİÇ Cİ, TEZ M, (2015). Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters: *Turk Med. Sci.*, 45, 112-117.

BOSCOS CM, VERVERIDIS HN, TONDIS DK, STAMOU AI, SAMARTZI FC (1998). Ocular involvement of transmissible venereal tumor in a dog. *Veterinary Ophthalmology*, 1, 167-170.

BOSCOS CM, VERVERIDIS HN (2004). Clinical Findings, Diagnosis and Treatment. Scientific proceedings WSVA-FECAVAHMS World Congress Rhodes, 2: 758-761.

BURAGOHAİN M, GOSWAMI S (2019). Cytological and Histopathological Findings of Nasal Transmissible Venereal Tumour in a Dog. *Int. J. Curr. Microbiol App. Sci.*, 8(6),1864-1867.

CIZMECI SU, KOSE AM, AYDIN I, DINC DA, MADEN M, KOSE SI (2012). Clinical Efficiency of Doxorubicin and Cisplatin in Treatment of Transmissible Venereal Tumor of Bitches, *Revue Med Vet*, 163(11): 516-521.

CLIFFORD CA, HUGHES D, BEAL MW, MACKIN AJ, HENRY CJ, SCHAFER FS and SORENMA KU (2001). Plasma Vascular Endothelial Growth Factor concentrations in Healthy Dogs and Dogs with Hemangiosarcoma. *J Vet Intern*, 15,131-135.

- ÇELİK LS, METE UÖ (2017). Overlerde Anjiyogenezi Etkileyen Faktörler. *Archives Medical Review Journal*, 26(3), 330-341.
- DAS U, DAS AK (2000). Review of Canine Transmissible Venereal Sarcoma. *Vet Res Comm*, 24: 545-556.
- DASS LL, SAHAY PN (1989). Surgical treatment of canine transmissible venereal tumour – a retrospective study, *Indian Veterinary Journal*, 66:255-258.
- DEMİRER E, AYTEN Ö, TAŞ D (2014). Angiogenesis and Anti-Angiogenesis Treatments. *J Clin Anal Med*, 5(1),75-79.
- ENGİNLER SÖ, SİĞİRCİ U, ARUN SS, EKİCİ H (2012) . Vaginal leiomyosarcoma subsequent to pyometra in a labrador retriever bitch. *J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ.* 40(1), 109-113.
- FATHI M, ASHRY M, ALI KM, HASSAN A, ELKARMOTY AF (2018). Clinico-pathological evaluation and treatment outcomes of canine transmissible venereal tumor using three different protocols. *Pak Vet. J.*, 38(2),204-208.
- FÉO HB, FLOREZ LM, YAMATOĞI RS, DUZANSKI AP, ARAUJO Jr JP, OLIVEIRA RA, ROCHA NS (2018). Does the tumour microenvironment after tumorigenesis and clinical response in transmissible venereal tumour in dogs? *Vet Comp Oncol*, 16,370-378.
- FERRARA N (2001). Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280,C1358-1366.
- B, DAS U, DAS AK (2013). Canine Transmissible Venereal Tumour: a review. *Vet and Comp Oncol*, 14(1): 417-417
- GENTILINI F, CALZOLARI C, TURBAME, AGNOLI C, FABBA D, FORNI M, BERGOMINI PF (2005). Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and plasma activity of matrix metalloproteinase (MMP) 2 and 9 in lymphoma affected dogs. *Leukemia Research*, Volume 29, Issue 11, 1263-1269.

GRAM A, HOFFMANN B, BASS A, KOWALEWSKI MP (2015). Expression and localization of vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and its two receptors (VEGFR1/FLT1 and VEGFR2/FLK1/KDR) in the canine corpus luteum and utero-plecental compartments during pregnancy and at normal and induced parturition. *General and Comparative Endocrinology*, Volume 223, 1,54-65.

GUREL A, KUSCU B, GULANBE EG, ARUN SS (2002). Transmissible Venereal Tumours Detected in the Extragenital Organs of Dogs. *Israel J Vet Med*, 57: 23-26.

GÜZEL D (2015). Damar Oluşum Fizyolojisi ve Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü. *J Hum Rhythm*, 1(2),42-45.

HAMUTOĞLU R, ÖNDER O (2017). Fizyolojik ve patolojik koşullarda anjiyogenezin rolü. *FNG& Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, 2(2),56-62.

HICKLIN DJ, ELLIS LM (2005). Role of the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Tumor Growth and Angiogenesis. *J Clin Oncol*, 23,1011-1027.

IŞIK G, DEMİREZEN Ş, BEKSAÇ MS (2008). Tümör Nekroz Faktör ve Servikal Kanser Bağlantısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 1, 2: 55-61.

KANG TB, HOLMBERG DL (1983). Vaginal Leiomyoma in a Dog, *Can Vet J* 24: 258-260.

KATO Y, ASANO K, MOGI T, KUTARA K, TESHIMA K, EDAMURA K, TSUMAGARI S, HASEGAWA A, TANAKA S (2007). Clinical Significance of Circulating Vascular Endothelial Growth Factor in Dogs with Mammary Gland Tumors. *J Vet. Medç Sci.*, 69(1),77-80.

KONUKOĞLU D, TURHAN MS (2005). Anjiyogenezin temel moleküler mekanizmaları ve tümör anjiyogenezini. *Cerrahpaşa J Med*, 36,42-48.

KÖSE M, ÖZSOY Ş, DOĞRUER G (2017). Bir Köpekte Vajinal Leyomiyosarkom. *Atatürk Üni. Vet. Bil. Derg* 12(1): 80-83.

MARCOS R, SANTOS M, MARRINHAS C, ROCHA E (2006). Cutaneous Transmissible Venereal Tumor without Genital Involvement in a Prepubertal Female Dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 35:106-109.

MARTINS MIM, SOUZA FF, GOBELLO C (2005). The Canine Transmissible Venereal Tumor: Etiology, Pathology, Diagnosis and Treatment. *International Veterinary Information Service*, Ithaca NY. A1233-0405.

MCENTEE K, NIELSEN SW (1974). Tumours of the female genital tract. *Bull World Health Org.*, 50(1-2), 217-226.

MERCURIO AM, LIPSCOMB EA, BACHELDER RE (2005). Non-Angogenic Functions of Vascular Endothelial Growth Factor in Breast Cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 10,283-290.

MORALES C, POPDETTI M, ROMAN T (1990). Treatment of canine transmissible venereal tumour using vincristine sulphate report of 16 cases. *Ciencias Veterinarius heredia*, 12(2-3), 27-33.

MUKARATIRWA S, GRUYS E (2003). Canine Transmissible Venereal TUMOUR: Cytogenetic Origin, Immunophenotype and Immunobiology-a Review. *The Veterinary Quarterly*, 25: 101-111.

MUKARATIRWA S, CHITANGA S, CHIMATIRA T, MAKULEKE C, SAYI ST, BHEBHE E (2009). Combination therapy using intratumoral bacillus Calmette-Guerin (BCG) and vincristine in dogs with transmissible venereal tumours: therapeutic efficacy and histological changes. *Journal of the South African Veterinary Association*, 80: 92-96.

MUMBA C, PANDEY GS, CHIJBUA J, MUNJITA S (2013). Multiple Vaginal Fibrosarcoma in a Dog, *India Vet J*, 90(2): 108-109.

MURGIA C, PRITCHARD JK, KIM SY, FASSATI A, WEISS RA (2006). Clonal origin and evolution of a transmissible cancer, *Cell* 2006, 126: 477-87.

NAK D, KAŞIKÇI G (2013). İnfertilite, 'Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji', M KAYMAZ, M FINDIK, A RİŞVANLI, A KÖKER (Edt), 1st ed. 223-273, Medipres, Malatya.

NAK D, NAK Y, İNTAŞ KS, TEK HB, MISIRLIOĞLU D (2004). Transmissible Venereal Tumor with Mammary Gland Metastase in a Bich. *Vet Bil Derg* 2004, 20(1): 99-102.

ORNITZ DM, ITOH N (2001). Fibroblast Growth Factors. *Genome Biology*. 2(3), reviews 3005 1-12.

ÖLGEN S, BIÇAK I, NEBİOĞLU D (2002). Angiogenesis and new aspects of cancer chemotherapy. *Ankara Ecz. Fak Derg.*, 31(3),193-214.

ÖZDOĞAN HK, ERALDEMİR FC, ÇEKMEN MB, TİRYAKİ Ç, YAVAŞ İ, ERÇİN C, UTKAN NZ (2016). İnvasive Ductal Breast Cancr: Relationship with Vascular Endothelial Growth Factor and Nitric Oxide. *AOT*, 74-79.

ÖZTOPOLAN DF, IŞIK R, DURMUŞ AS (2017). Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinlerin Rolü. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 10(1),83-88.

PARK MS, KIM Y, KANG MS, OH SY, CHO DY, SHIN NS, KIM DY, (2006). Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18: 130-133.

PARMAR KH, JOSEPH JP, MORABIYA KK, THAKRE BJ, PATEL JS (2017) Successfull Chemotherapy of Canine Transmissible Veneral Tumor in a Bitch. *The Indian Journal of Veterinary Sciences&Biotechnology*, volume 13, Issue 1, 85-87.

PUROHIT G (2009). Canine Transmissible Venereal Tumor: A Review. *I J Vet Med*, 6(1): 1-6.

REZAEI M, AZIZI S, SHAHHEIDARIPOUR S, ROSTAMI S (2016). Primary Oral and Nasal Transmissible Venereal Tumor in a Mix-Breed Dog. *Asian Pac J Trop Biomed*, 6(5): 443-445.

ROGERS KS (1997). Transmissible Venereal Tumor. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 19: 1036-1045.

SALMANOĞLU B, MERMERCİOĞLU B (2008). Meme tümörlü köpeklerde tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü (VEGF) ve Vitamin E düzeylerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

SENGER DR, WATER LVD, BROWN LF, NAGY JA, YEO KT, YEO TK, BERSE B, JACKMAN RW, DVOROK AM,, DVOROK HF (1993). Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. *Cancer and Metastasis Reviews*, 12,303-324.

SERİN G, KIRAL F, SERİN İ (2008). Serum Sialic Acid Fractions in Kangal Breed Bitches with Transmissible Venereal Tumours. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55: 95-98.

SILVA-HIDALGO G, COTA-GUAJARDO SC, DAVILA-PAREDES MS, CARCOMA-ARECHIGA NM, LÖPES-VALENZEULA M (2020). Cerebral metastasis of Transmissible Venereal Tumor after effective chemotherapy in a dog. *Turk J Vet Anim Sci*,44.

STRAKOVA A, MURCHISON EP (2014). The Changing Global Distribution and Prevalence of Canine Transmissible Venereal Tumour. *BMC Vet Research*, 10:168.

TAŞKIRAN E, AKAR H, ERBAŞ O (2017). Tümöral anjiyogenezi engelleyen doğal sağlık ürünleri. *FNG& Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, 2(1), 1-6.

TURGUT B, GÜLER M, DEMİR T, TÜRKÇÜOĞLU P, ÇELİKEER Ü (2007). Oküler Anjiyogeneizde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün Rolü. *Türkiye Klinikleri J. Ophthalmol*, 16: 38-48.

TÜRKYILMAZ A, ÇELEBİ N, GÖNÜL B (1996). Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)'nün Yara İyileşmesindeki Rolü. *FABAD J Pharm Sci*, 21,61-69.

UÇAR M (2016). Transmissible Venereal Tumor: A Review, *Kocatepe Vet J* 9(3): 230-235.

UÇMAK ZG, KIRŞAN İ, UÇMAK M, BAMAÇ Ö, GÜREL A (2019). Clinical approaches for genital and extragenital metastasis of transmissible venereal tumor in a bitch with ovarian remnant syndrome. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 66,417-421.

VERRAX J, DEFRESNE F, LAIR F, VANDERMEULE G, ROTH G, DESSY C, PREAT V, FERON O (2011). Delivery of Soluble VEGF Receptor 1 (sFlt 1) by Gene Electrotransfer as a New Antiangiogenic Cancer Therapy. *Mol Pharmaceutics*, 8,701-708.

VURAL P (2010). The Suppressing Role of Transforming Growth Factor β in Cancer. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 8(1), 35-42.

WANG FI, CHANG CH, LIU CH, JENG CR (2005). Epitheloid Leiomyosarcoma in the Visceral Peritoneum of an American badger. *J Vet Diagn Invest*, 17:86-89.

WERGIN MC, HOTZ BK (2004). Plasma Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Measured in Seventy Dogs with Spontaneously Occuring Tumours. *In vivo*, 18: 15-20.

WITHROW SJ, VAIL DM, PAGE RL (2013). Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 'Tumours of the Female Reproductive System', Ed: Withrow SJ, Vail DM, Page LR. 5th Edition: 535-537.

YAĞCI BB, URAL K, ÖCAL N, HAYDARDEDEOĞLU AE (2008). Azithromycin therapy of papillomatosis in dogs: a prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Vet Dermatol*, 19(4): 194-198.

YARIM GF, KAZAK F (2016). Epidermal Büyüme Faktörü. *Kocatepe Vet J*, 9(3): 215-225.

ZAMBELLI AB, CLIFT SJ, GERBER D, SCHOEMAN JP (2013). Hypercalcaemic Multicentric Lymphoma in a Dog Presenting as Clitoromegaly. *J S Afr Vet Assoc*

ZAYOS YR, MALINA MAF, GUERRA RT, PADILLA CR (2019). Evaluation of a canine transmissible venereal tumour cell line with tumour immunity capacity but without tumorigenic property. *J Vet Res*, 63,225-233.

