

Kocatepe Vet.J (2013) 6(2): 23-28
DOI: 10.5578/kvj.6466
Submission: 20.09.2013
Accepted : 24.10.2013

ARAŞTIRMA MAKALESİ

RESEARCH ARTICLE

Anahtar Kelimeler

ADA
Kistik Endometriyal Hiperplazi
Köpek
Pyometra

Key Words

ADA
Cystic Endometrial Hyperplasia
Bitch
Pyometra Complex

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Doğum ve
Jinekoloji Anabilim Dalı,
Samsun-Türkiye

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Biyokimya
Anabilim Dalı,
Samsun-Türkiye

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Patoloji
Anabilim Dalı,
Samsun-Türkiye

*Corresponding author
E-mail: vetnilgun@gmail.com
Telefon: +90 (362) 312 19 19

Kistik Endometriyal Hiperplazi-Pyometra Kompleks Tanısı Konulan Köpeklerde Serum Adenozin Deaminaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Nilgün GÜLTİKEN^{1*}, Gül Fatma YARIM², Murat YARIM³

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, kliniğimize getirilen ve kistik endometriyal hiperplazi (KEH)-pyometra kompleks tanısı konulan köpeklerde serum adenozin deaminaz aktivitesinin belirlenmesi ve sonuçların kan lenfosit ve monosit sayılarıyla ilişkisinin araştırılmasıdır. Çalışmada açık serviks KEH-pyometrası bulunan 18 köpek ve diöstrus döneminin ortasında olan 7 sağlıklı köpek olmak üzere toplam 25 köpek kullanıldı. KEH-pyometra tanısı klinik, ultrasonografik ve hematolojik bulgulara dayanılarak konuldu. Kontrol köpeklerinin diöstrusun ortasında olduğu sitolojik muayeneye belirlendi. Ovaryohistektomi yapılmadan önce kan örnekleri alındı ve operasyon sonrası histopatolojik incelemeler için doku örnekleri alındı. ADA aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Serum ADA aktivitesi KEH-pyometralı köpeklerde 5.99 ± 0.31 U/l, diöstrustaki kontrol köpeklerinde ise 3.50 ± 0.64 U/l olarak belirlendi. Ortalama serum ADA aktivitesi (KEH)-pyometra kompleks tanısı konulan köpeklerde sağlıklı köpeklere göre daha yüksek bulundu ($p \leq 0.01$). Sonuç olarak, KEH-pyometra kompleksinin köpeklerde hücre aracılı bağışıklık sistemini uyararak serum ADA aktivitesinde yükselmeye neden olduğu ve serum ADA aktivitesinin değerlendirilmesinin bu hastalığın tanısında ve tedavisinin izlenmesinde yararlı bir parametre olabileceği kanısına varılmıştır.



Determination of Serum Adenosine Deaminase Activity in Bitch Diagnosed as Cystic Endometrial Hyperplasia (CEH)-pyometra Complex

SUMMARY

The purpose of the study was to investigate serum ADA activity and blood lymphocyte and monocyte numbers in the bitch diagnosed as cystic endometrial hyperplasia (CEH)-pyometra complex. Twenty five female dogs were involved in the study. Samples from 18 bitches with open cervix CEH-pyometra and 7 mid-diestrus bitches were used. The diagnosis of CEH-pyometra was based on clinical, ultrasonographical and haematological findings. Mid-diestrus control bitches were diagnosed by vaginal cytologic examination. Blood samples were taken before the operation and tissue samples were collected at the time of surgery from the uteri of 18 adult bitch diagnosed as cystic endometrial hyperplasia (CEH)-pyometra complex and of 7 healthy mid-diestrus dogs presented for ovariohysterectomy for histopathological investigation. Serum ADA activity was measured by spectrophotometrically and determined to be 5.99 ± 0.31 U/l in bitches with CEH-pyometra and 3.50 ± 0.64 U/l in mid-diestrus bitches. Mean serum ADA activity were higher in bitches with CEH-pyometra complex compared with the concentrations in healthy mid-diestrus dogs ($p \leq 0.01$). It was concluded that CEH-pyometra complex results in increase in serum ADA activity by cell-mediated immune system and evaluation of serum ADA activity could be an useful parameter for diagnosis and treatment follow-up of this complex.

GİRİŞ

Köpeklerde pyometra seksüel siklusun diöstrus döneminde progesteron hormonu etkisi altındaki endometriyumda oluşan patolojik değişikliklerle karakterize bir hastalıktır. Progesteron, kistik endometriyal hiperplazi (KEH) oluşumuna yol açarak uterus lumeninde sıvı birikmesine neden olur. Ayrıca lökosit aktivitesini ve myometriyal kontraksiyonları baskılar ve böylece enterik bakterilerin uterusu asendens enfeksiyon oluşturma riskini artırır (Pretzer 2008). Bu hastalığın semptomları çoğunlukla vaginal akıntı, kusma, abdominal şişkinlik, iştahsızlık, poliüri, polidipsi ve letarji olup ilerleyen dönemlerde septisemi ve endotoksemi tablosu gelişebilir (Wiebe ve Howard 2009). Toksemi ve dehidrasyon derecesine bağlı olarak serum alkalin fosfataz, üre ve kreatinin konsantrasyonları artabilir ve normositik-normokromik anemi gelişebilir. Ayrıca tipik bir bulgu olarak, nötrofillerin toksik dejenerasyonu söz konusu olup lökositozis ve monositozis belirlenir (Verstegen ve ark 2008).

Adenozin deaminaz (ADA, EC 3.5.4.4., adenozin aminohidrolaz), purin katabolik yolunun bir enzimi olup, adenozin ve deoksiadenozini sırasıyla inozin ve 2'-deoksiinozin'e geri dönüşümsüz hidrolitik katalizler (Gakis 1996, Ungerer ve ark 1992). Çoğunlukla lenfoid hücrelerde ve timik T-hücrelerinde bulunan ADA, lenfositlerin ve monositlerin normal fonksiyonunda, çoğalmasında ve olgunlaşmasında görev alır (Adams ve Harkness 1976, Grosjean ve ark 1996, Moriwaki ve ark 1999). Bu nedenle ADA aktivitesi hücreli bağışıklığın belirteci olarak kabul edilir (Baganha ve ark 1990, Ungerer ve ark 1992). Hücre aracılı bağışıklık yanıtı ile ilgili olan pek çok hastalıkta serum ADA aktivitesinin değiştiği rapor edilmiştir (Da Silva ve ark 2013, Lamsal ve ark 2007, Veena 1996). Bu çalışmanın amacı, açık serviksli pyometralı köpeklerde serum ADA aktivitesindeki değişimin belirlenmesidir.

MATERYAL VE METOD

Hayvan Materyali

Çalışmada kliniğimize getirilen toplam 25 köpek kullanıldı. Bunlardan purulent vaginal akıntı, iştahsızlık, poliüri ve polidipsi şikayetiyle getirilen ve yaşları 7.94 ± 3.42 olan 18 pyometralı köpek çalışma grubu, ovaryohistektomi amacıyla getirilen, seksüel siklusun diöstrus döneminde olan ve yaşları 2.29 ± 0.75 olan 7 sağlıklı köpek kontrol grubu olarak değerlendirildi. Her iki gruptaki köpeklerin beden ısısı ölçümü, solunum sayısı, nabız alımı ve vulvanın

inspeksiyonunu içeren fiziksel muayeneleri yapıldıktan sonra tüp şeklinde steril vaginoskop vulva dudakları temizlendikten sonra uygulandı ve ışık kaynağı yardımıyla vagina duvarı ve serviks ağzı muayene edildi. Çalışma grubundaki köpeklere (n=18), B-mod gerçek zamanlı veteriner cihazı ve 7.5 mHz'lik sektor proba (Falco Vet, Pie Medical Imaging, Maastricht, The Netherlands) ultrasonografik muayene uygulandı. Pyometra diöstrus dönemi hastalığı olduğu için sağlıklı bir karşılaştırma amacıyla kontrol grubu diöstrus dönemindeki köpeklerden oluşturuldu. Bu amaçla, kontrol grubuna (n=7) klinik olarak sağlıklı ve vaginal sitolojik muayeneleri sonucunda diöstrus döneminin ortalarında oldukları belirlenen köpekler dahil edildi. Vaginal sitolojik örnekler vestibulum vaginadan hücre almamak için vaginoskop yerleştirildikten sonra fizyolojik tuzlu suyla nemlendirilmiş pamuk uçlu svap çubuğu kullanılarak anterior vagina duvarından alındı. Örnek lam üzerine iki ayrı iz şeklinde sürüldükten sonra Papanicolaou tekniğiyle (Papanicolaou 1942) boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Leica Microsystems Inc., Illinois, USA) altında hücre tipleri ve birim alandaki sayısı dikkate alınarak incelendi. Çalışma grubundaki köpeklere tedavi amacıyla, kontrol grubundaki köpeklere ise sahiplerinin isteği üzerine ovaryohistektomi yapıldı.

Kan serumlarının hazırlanması ve hematolojik inceleme

Preoperatif dönemde, *v. saphalica antebrahii*'den antikoagulanlı ve antikoagulanız tüplere 5' er ml kan örneği alındı. Antikoagulanız tüplerdeki kan örnekleri 1550 g' de 10 dk santrifüj edildi ve ADA analizleri yapılmaya kadar -20 °C' de muhafaza edildi. Antikoagulanlı tüplerdeki kan örneklerinde hemogram cihazı (Abacus Vet Junior, Diatron MI Ltd, Budapest, Hungary) kullanılarak lökosit, lenfosit ve monosit sayıları belirlendi.

Adenozin deaminaz aktivitesinin ölçümü

Serum ADA aktivitesi substrat olarak adenozinin kullanıldığı Bertholet reaksiyonuna dayanan kolorimetrik metodla ölçüldü (Giusti ve Galanti 1984). Bu metod, ADA' nın adenozini inozine deamine etmesi ve oluşan amonyakın alkali ortamda sodium hipoklorid ve fenol ile mavi renkli indofenol kompleksini oluşturması esasına dayanmaktadır. Bu amaçla, cam tüplerde serum örnekleri üzerine fosfat tampon ve adenozin çözeltisi eklendikten sonra tüplerin ağzı parafilm ile kapatılarak 37 °C' da 60 dakika süre ile bekletildi. Bu süre sonunda, tüplere fenol nitroprussid çözeltisi ve alkali hipoklorit ilave edilerek 37 °C' da 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Reaksiyon sonucunda oluşan renkli kompleks 628 nm'de distile suya karşı

kolorimetrik olarak ölçüldü ve ADA aktivitesi hesaplandı (numunenin absorbanansı/ standardın absorbanansı) x 50.

Histopatolojik inceleme

Ovaryohistektomi yapılarak uzaklaştırılan ovarium ve kornu uteriler % 10' luk tamponlu formalinde tespit edilip parafinde bloklandı. Beş µm' lik alınan ilk kesitlere Haematoxylin-Eosine (HxE) boyama yöntemi uygulandı ve ışık mikroskopunda histopatolojik yönden incelendi. Çalışma grubunda bulunan 18 köpeğin 12'sine ait pyometralı uterus dokusunda histopatolojik tiplendirme yapıldı (Dow 1957).

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi için SPSS 11.5 istatistik bilgisayar programı kullanıldı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Tüm verilerin ortalama ve standart sapmaları hesaplandı ve sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı ve p≤0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Serum ADA aktivitesi ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Klinik, Vaginoskopik ve Ultrasonografik Muayene Bulguları

Köpeklerin ırkları ve yaşları Tablo 1' de sunuldu. Çalışma grubundaki köpeklerin hepsinde poliüri, polidipsi, anoreksi ve kusma semptomlarının yanı sıra purulent vulval akıntı vardı. Çalışma grubundaki köpeklerde lökositozis belirlendi. Bu köpeklerin lökosit sayıları $33.51 \pm 5.80 \times 10^3/\mu\text{l}$, kontrol grubundakilerin ise $11.12 \pm 0.91 \times 10^3/\mu\text{l}$ idi. Bu köpeklerin vaginoskopik muayenesinde serviksın açık olduğu ve anterior vaginada akıntı bulunduğu tespit edildi. Kontrol grubundaki köpeklerde ise herhangi bir patolojiye rastlanmadı ve mukoza parlak pembemsi renkteydi. Ayrıca diöstrus dönemine uygun olarak uzunlamasına mukozal kıvrımlar bulunduğu ve vaginoskopla dokunulduğunda büzüşmeler olduğu belirlendi. Kontrol grubundaki köpeklerden alınan sitolojik örnekten hazırlanan preparatların subjektif mikroskopik muayenesinde az sayıda süperfisyal hücreye ek olarak çok sayıda parabazal ve intermediyer hücreler ve lökosit varlığı diöstrus döneminin ikinci yarısında olduklarını gösterdi. Ultrasonografik muayenede pyometralı köpeklerde, vesica urinarianın dorsalinde anekojen gözükken kornu uterilerin çaplarının büyümüş olduğu saptandı. Ayrıca endometriyumun kalınlaştığı gözlemlendi. Kontrol grubundaki köpeklerin ise

ultrasonografik muayenede jinekolojik açıdan sağlıklı idi. Çalışma grubundaki köpeklerle tedavi amacıyla ve kontrol grubundaki köpeklerle sahiplerinin isteği üzerine yapılan ovaryohistektomi takiben postoperatif dönemde hiçbir köpekte ölüm görülmedi.

Tablo 1. Çalışma ve kontrol grubundaki köpeklerin bireysel özellikleri.

Table 1. Individual features of the bitches in study and control groups.

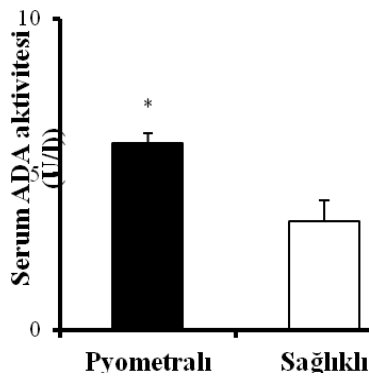
Grup	Hayvan No	ırkı	Yaşı	Pyometra tipi	ADA aktivitesi
Çalışma grubu	1	Terrier	7	2	5.71
	2	Terrier	9	2	4.28
	3	Melez	6	4	7.75
	4	Pincher	4	3	5.49
	5	Golden Retriever	7	3	6.28
	6	Melez	4	4	8.14
	7	Pekingese	14	3	5.27
	8	Melez	4	1	3.63
	9	Pekingese	8	4	7.24
	10	İngiliz Setter	4	2	7.38
	11	Terrier	11	3	6.48
	12	Doberman	9	2	5.95
	13	Terrier	11	-	7.96
	14	Melez	4	-	4.46
	15	Great Danua	9	-	5.26
	16	Terrier	7	-	7.76
	17	Terrier	11	-	5.41
	18	Terrier	14	-	5.90
Kontrol grubu	19	Melez	2	-	3.59
	20	Melez	2	-	2.31
	21	Pointer	4	-	3.86
	22	Melez	2	-	6.61
	23	İngiliz Setter	2	-	2.16
	24	Melez	2	-	1.59
	25	Dogo Arjantin	2	-	4.42

Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubundaki köpeklerden alınan uterus dokusunun histopatolojik incelemesinde hafif fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, hafif derecede fibrozis ve endometriyumda hafif kanamalar belirlendi. Pyometralı köpeklerin uteruslarında ise kistik endometriyal hiperplaziyle birlikte mononükleer hücre infiltrasyonları ve endometriyal bezlerde sayıca azalma gözlemlendi. Böylece klinik muayene yöntemleriyle konulmuş olan pyometra tanısı histopatolojik muayeneyle doğrulanmış oldu. KEH-pyometra tanısı konan 12 köpeğin uterus dokusunun histopatolojik tipleri Tablo 1'de verildi.

ADA Aktivitesi ile Lenfosit ve Monosit Sayıları

KEH-pyometra kompleks tanısı konulan köpeklerde ve sağlıklı köpeklerin serum ADA aktiviteleri, sırası ile 5.99 ± 0.31 U/l ve 3.50 ± 0.64 U/l bulundu. Gruplar arasındaki istatistik farklılığın $p \leq 0.01$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 1). KEH-pyometra kompleks tanısı konulan köpeklerde ve sağlıklı köpeklerde kan lenfosit sayıları sırası ile $1.82 \pm 0.41 \times 10^3/\mu\text{l}$ ve $2.41 \pm 0.54 \times 10^3/\mu\text{l}$, kan monosit sayıları $1.65 \pm 0.33 \times 10^3/\mu\text{l}$ ve $0.71 \pm 0.08 \times 10^3/\mu\text{l}$ olarak tespit edildi. Erişkin köpeklerde lenfosit ve monosit sayılarının referans değerleri, sırası ile $1.0-4.9 \times 10^3/\mu\text{l}$ ve $0.1-1.4 \times 10^3/\mu\text{l}$ dir (Turgut 2000).



Şekil 1. Pyometral ve Sağlıklı Köpeklerin Serum ADA Aktivitesi. * $p \leq 0.01$, Mann-Whitney U test.

Figure 1. Serum ADA activity of the Bitches with Pyometra and Healthy Bitches. * $p \leq 0.01$, Mann-Whitney U test.

Pyometral köpeklerin serum ADA aktivitesi ile kan lenfosit sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı ($r = 0.762$, $p \leq 0.001$). Serum ADA aktivitesi ile monosit sayıları arasında önemli bir korelasyon olmadığı belirlendi ($r = 0.171$, $p \geq 0.05$).

TARTIŞMA

Pyometra, köpeklerde sık görülen ve uterus bakteriyel enfeksiyon ile karakterize ölümcül bir hastalıktır. Hastalık, uterusun endometrial bezlerinde kistik yapılar, lenfositik hücre infiltrasyonuna ve purulent yangıya neden olur (Verstegen ve ark 2008). KEH-pyometra tanısı ve tedavi geciktiğinde purulent akıntının karın boşluğuna yayılmasına kadar varabilen ciddi komplikasyonlar ile köpeklerde hayatı tehdit etmektedir (Oelzner ve Munnich 1997).

Serum ADA aktivitesi ADA-1 ve ADA-2 izoenzimlerinden oluşur. ADA-1 tüm hücre tiplerinde ve daha çok lenfoid dokularda mevcut olup lenfosit proliferasyonu ve farklılaşmasında

önemli bir rol oynar (Ungerer ve ark 1992). ADA-2 izoenziminin kaynağı ise monosit-makrofaj sistemidir (Gakis ve ark 1989). ADA pek çok hastalığın klinik tanısının doğrulanmasında önemli bir parametredir. ADA aktivitesi pek çok yangısal hastalıkta yükselirken, immün yetmezlikte ve malignitelerde düşük bulunmakta ve serum ADA aktivitesinin belirlenmesi, bu hastalıkların tanı ve tedavisinin yönlendirilmesinde yardımcı bir parametre olarak kullanılmaktadır. İnsanların endometrial adenokarsinom, ovaryum tümörleri ve servikal adenokarsinom gibi tümör vakalarında lenfosit ADA aktivitesinin düşük olduğu ve lenfosit ADA aktivitesinin kanser vakalarında prognostik bilgi verebileceği ileri sürülmüştür (Specchia ve ark 1985). Öte yandan, tümör ya da konjestif kalp hastalığı bulunan köpeklerden alınan plevral ve peritoneal efüzyon sıvılarında ADA aktivitesinin artmış olduğu anlaşılmıştır (Hirschberger ve Koch 1996). Lenfositosis ve monositosis ile karakterize olan hiperemesis gravidarumda serum ADA aktivitesinin ve ADA-2 izoenzim aktivitesinin yükselmiş olduğu ifade edilmiştir (Yoneyama ve ark., 2002a). Yoneyama ve ark. (2002b), preeklampsili gebe kadınlarda artmış serum ADA aktivitesinin, preeklampsisi sırasında gelişmiş hücre aracılı bağışıklık ile ilgili olduğunu öne sürmüşlerdir. Tifolu hastalarda serum ADA-2 aktivitesinin monosit-makrofaj aktivitesinin belirteci olduğu ileri sürülmüştür (Ungerer ve ark 1992). Sığırların lökkoz hastalığında lökositosisle ilişkili olarak serum ADA aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Yasuda ve ark 1996). Kedilerin enfeksiyöz peritonitisinde artmış serum ADA aktivitesi belirlenmiştir (Hirschberger ve Koch 1995). Pyometra olgularında lökogramın normal ya da değişken, ancak lökositosis, kısmi monositosis ve lenfopeninin karakteristik olduğu rapor edilmiştir (Faldyna ve ark 2001). Sunulan çalışmada KEH-pyometral köpeklerde lenfosit sayısı çalışmanın kontrol grubundaki köpeklerinkine göre düşük olmakla beraber her iki grubun değerleri sağlıklı köpekler için bildirilen referans aralıkları içindeydi (Turgut 2000). Monosit sayılarının ise KEH-pyometra tanısı konulan köpeklerde daha yüksek olduğu tespit edildi. Çalışma grubunun serum ADA aktivitesinin kontrol grubundan önemli ölçüde ($p \leq 0.01$) yüksek olduğu belirlendi. Yükselmiş serum ADA aktivitesinin KEH-pyometra nedeni ile artmış monosit sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, KEH-pyometra kompleksinin köpeklerde hücre aracılı bağışıklık sistemini uyarak serum ADA aktivitesinde yükselmeye neden olduğu ve serum ADA aktivitesinin değerlendirilmesinin bu hastalığın tanısında ve tedavisinin izlenmesinde yararlı bir parametre olabileceği kanısına varılmıştır. Yapılan literatür taramasında köpeklerde KEH-

pyometra vakalarında ADA aktivitesinin ölçüldüğü bir çalışmaya rastlanamamıştır. Sunulan çalışma bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutabilecek niteliktedir.

KAYNAKLAR

- Adams A, Harkness RA. 1976.** Adenosine deaminase activity in thymus and other human tissues. *Clin Exp Immunol*, 26, 647-649.
- Baganha MF, Pego A, Lima MA, Gaspar EV, Cordeiro AR. 1990.** Serum and pleural adenosine deaminase. Correlation with lymphocytic populations. *Chest*, 97, 605-610.
- Da Silva A, França R, Costa M, Paim F, Pimentel V, Schmatz R, Jaques J, Schetinger MR, Mazzantti C, Tonin A, Lopes S. 2013.** Adenosine levels in serum and E-ADA activity in blood cells of dogs infected by *Rangelia vitalii*. *J Parasitol*, doi: <http://dx.doi.org/10.1645/13-176.1>
- Dow C. 1957.** The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Vet Rec*, 69, 1409-1415.
- Faldyna M, Laznicka A, Toman M. 2001.** Immunosuppression in bitches with pyometra. *J Small Anim Pract*, 42, 5-10.
- Gakis C, Calia G, Naitana A, Pirino D, Serru G. 1989.** Serum adenosine deaminase activity in HIV positive subjects. A hypothesis on the significance of ADA2. *Panminerva Med*, 31, 107-113.
- Gakis C. 1996.** Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA 2: diagnostic and biological role. *Eur Respir J*, 9, 632-633.
- Grosjean H, Auxilien, S, Constantinesco F, Siman, C, Corda Y, Becker HF, Foiret D, Morin A, Jin YX, Fournier M, Fourrey JL. 1996.** Enzymatic conversion of adenosine to inosine and to N1-methylinosine in transfer RNAs. *Biochimie*, 78, 488-501.
- Giusti G, Galanti B.** Colorimetric method. In: Bergmeyer HU, ed. *Methods of enzymatic analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1984, 315-323.
- Hirschberger J, Koch S. 1996.** Validation of an adenosine deaminase assay and its use in the evaluation of body fluids in dogs. *Vet Clin Pathol*, 25, 100-104.
- Hirschberger J, Koch S. 1995.** Validation of the determination of the activity of adenosine deaminase in the body effusions of cats. *Res Vet Sci*, 59, 226-229.
- Lamsal M, Gautam N, Bhatta N, Majhi S, Baral N, Bhattacharya SK. 2007.** Diagnostic utility of adenosine deaminase (ADA) activity in pleural fluid and serum of tuberculous and non-tuberculous respiratory disease patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 38, 363-369.
- Moriwaki Y., Yamamoto T., Higashino K. 1999.** Enzymes involved in purine metabolism--a review of histochemical localization and functional implications. *Histol Histopathol*, 14, 1321-1340.
- Oelzner J, Munnich A. 1997.** Diagnostic and therapeutic aspects of the pyometra-endometritis complex in dog. *Tierarztl Prax*, 25, 249-253.
- Papanicolaou GN. 1942.** A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 95,432.
- Pretzer SD. 2008.** Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. *Theriogenology*, 70, 359-363.
- Specchia G, Pavone V, Maggio F, Lojudice L, Iacobazzi A, De Tullio L, Cagnazzo G, Liso V. 1985.** Adenosine deaminase activity in peripheral lymphocytes of patients with gynaecologic malignancies. *Boll Ist Sieroter Milan*, 64, 404-407.
- Turgut K. 2000.** Veteriner KlinikLaboratuvar Teşhis. Bahçivanlar Basım Sanayi AŞ. Konya, 885.
- Ungerer JP, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermmak WJH. 1992.** Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application. *Clin Chem*, 38, 1322-1326.
- Veena B. 1996.** Adenosine Deaminase isoenzymes and Pleural Tuberculosis. *J Lab Clin Med*, 127, 326-327.
- Verstegen J, Dhaliwal G, Verstegen-Onclin K. 2008.** Mucometra, cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70, 364-374.
- Wiebe VJ, Howard JP. 2009.** Pharmacologic advances in canine and feline reproduction. *Top Companion Anim M*, 24, 71-99.
- Yasuda J, Tanabe T, Hashimoto A, Too K. 1996.** Adenosine deaminase (ADA) activity in tissues and sera from normal and leukaemic cattle. *British Vet J*, 152, 485-488.
- Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, Otsubo Y, Araki T. 2002a.** Serum adenosine deaminase activity

in women with hyperemesis gravidarum. Clin Chim Acta, 324, 141-145.

Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, Otsubo Y, Miura A, Kuwabara Y, Ishino H, Kiyokawa Y, Doi D, Yoneyama K, Kobayashi H, Araki T. 2002b. Serum adenosine deaminase activity in women with pre-eclampsia. Gyn Obst Invest, 54, 164-167.