

**KÖPEKLERDE DALAK KİTLELERİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL ARAŞTIRILMASI**

Erkan Yunus TÜFEKÇİ

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT

Tez No:2024-012

Afyonkarahisar

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Hazırlayan
Erkan Yunus TÜFEKÇİ**

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT**

Tez No: 2024-012

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:
“20.SAĞ.BİL.16”**

T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ ONAYI

Öğrencinin	Adı SOYADI	Erkan Yunus TÜFEKÇİ
	Numarası	183335002
	Anabilim Dalı	Veteriner Patoloji
	Programı	
	Program Düzeyi	<input type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input checked="" type="checkbox"/> Doktora
Tezin Başlığı	KÖPEKLERDE DALAK KİTLELERİNİN HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL ARAŞTIRILMASI	
Tez Savunma Sınav Tarihi	12.08.2024	
Tez Savunma Sınav Saati	11:00	

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Esma KOZAN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Erkan Yunus TÜFEKÇİ

ÖZET

KÖPEKLERDE DALAK KİTLELERİNİN HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada köpeklerde neoplastik ve neoplastik olmayan dalak lezyonlarının patomorfolojik ve immunohistokimyasal yöntemler ile araştırılması amacıyla 101 adet farklı ırk ve yaşlardaki köpeklere ait dalak dokusu incelendi. Dokular farklı poliklinik ve hayvan hastanelerine başvuran ve dalaklarında lezyon bulunan köpeklerden operatif yolla elde edildi. Operasyon materyallerin incelenmesi Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Dokular mikroskopik inceleme sonrasında neoplastik veya neoplastik olmayan lezyonlar olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Neoplastik lezyonlarda en sık rastlanan tümörler hemanjiosarkomlardı. Hemanjiosarkomları takiben daha az oranlarda lenfoma, stromal sarkomlar ve histiositik sarkom gözlemlendi. En az gözlenen lezyon ise dalağa metastaz yapmış başka organ/doku orijinli tümörlerdi. Neoplastik olmayan lezyonların ise hematomlar, lenfoid hiperplaziler, ekstramedullar hematopoez, splenitis, leishmaniazis ve anormal birikimler olduğu görüldü.

Hemanjiosarkomların tanısı çoğu vakada morfolojik olarak konulabildi. Bazı vakalarda mikroskopik yapısı bakımından diğer tümörlere benzerlik göstermekteydi. Bu gibi durumlarda hemanjiosarkom ayırımı yapabilmek adına CD31 antikorunu kullanıldı. Lenfoma tanılarında T ve B alt tiplerinin ayırt edilebilmesi için CD3, CD20 ve CD79

antikorları kullanıldı. Histiositik sarkom şüpheli vakalarda Iba-1 antikoru kullanıldı. Stromal sarkomların tanısında vimentin, MNF, CD31 ve S-100 antikorları kullanıldı. Bir vakada dalak metastazı yapmış olan karsinomun tanısı için MNF antikoru kullanıldı.

Neoplastik olmayan lezyonlarda ekstrameduller hematopoez, lenfoid hiperplazi ve hematomlar genellikle birlikte gözlemlendi. Bazı olgularda neoplastik lezyonlara neoplastik olmayan lezyonların da eşlik ettiği görüldü. Sadece neoplastik olmayan vakalar değerlendirildiğinde ise en sık hematomlara rastlandı. İki adet vakada Leishmaniazis etkeninin tanısı makrofajlar içerisinde etkenin görülmesi ile konuldu. Üç adet splenitis vakasında ise etken gözlenmedi ve bu vakaların sistemik etkiden kaynaklandığı kanısına varıldı.

İmmunohistokimya (IHC)'nin neoplastik lezyonların nihai tanısında bir seçenekten çok bir zorunluluk olduğunu görüldü. Köpek dalak lezyonlarının ülkemizde ilk defa incelendiği bu çalışmanın literatüre destek olacağı ve gelecekteki çalışmalara önemli katkılar sağlayacağı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Dalak, immunohistokimya, köpek, patoloji, tümör

SUMMARY

HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION OF SPLENIC MASSES IN DOGS

In this study, 101 spleen tissues were examined to investigate canine spleen lesions with pathomorphological and immunohistochemical methods. The tissues were obtained surgically from dogs admitted to polyclinics and animal hospitals that had pathologies in their spleens. Examination of the operation materials was carried out in the pathology laboratory of Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine.

After microscopic examination the tissues were divided into two main groups: neoplastic and non-neoplastic. The most common tumors in neoplastic lesions were hemangiosarcomas. Following hemangiosarcomas, lymphoma, stromal sarcomas, histiocytic sarcoma were less common, the least common lesion being spleen metastasis. Hematomas, lymphoid hyperplasia, extramedullary hematopoiesis, splenitis, leishmaniasis and abnormal storage diseases were observed in non-neoplastic lesions.

In most cases, hemangiosarcomas were diagnosed morphologically. In some cases, it was similar to other tumors of microscopic structure. In such cases, the CD31 antibody was used to differentiate the hemangiosarcoma. CD3, CD20 and CD79 antibodies were used to differentiate T and B subtypes in lymphoma diagnoses. The Iba-1 antibody was used in suspected histiocytic sarcoma cases. Vimentin, MNF, CD31 and S-100 antibodies were used in the diagnosis of stromal sarcomas. MNF antibody was used in one case for the diagnosis of splenic metastasis of carcinoma.

Extramedullary hematopoiesis, lymphoid hyperplasia and hematomas were generally observed together in non-neoplastic lesions. In some cases, it was seen that non-neoplastic lesions accompanied neoplastic lesions. When only non-neoplastic cases were evaluated, hematomas were the most common. 2 Leishmaniasis cases were diagnosed through phagocytosed parasitic agents in macrophages. No agent was observed in 3 splenitis cases. It is thought that splenitis cases may be due to systemic effects.

IHC appears to be a necessity rather than an option in the final diagnosis of neoplastic lesions. This study is the first to examine canine spleen lesions in the country and, in the author's opinion will aid and contribute to the literature and future studies.

Keywords: Spleen, immunohistochemistry, dog, pathology, tumor

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimimin öncesinde ve süresince bana yol gösteren, teşvik eden, destek olan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT'a öncelikle teşekkür ederim.

Araştırmada finansal açıdan destek sağlayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimine (BAPK) teşekkür ederim.

Tez aşamasında bana destek ve yardımcı olan Afyon Kocatepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hikmet KELEŞ hocama, Dokuz Eylül Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Erkan KARADAŞ hocama, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN hocama, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Patoloji laboratuvarında görev almış melektaşlarım ve öğrenci arkadaşlarıma, sitolojiye bakış açımı değiştiren Dr. Oğuz KUZUCU'ya, Veteriner Tıp Merkezi Hayvan Hastanesi mesai arkadaşlarıma, bu süreçte hep yanımda olan sevgili eşim Deniz Poyraz TÜFEKÇİ'ye ve en büyük anlayışı gösteren kıymetli kızım Derin Deniz TÜFEKÇİ'ye teşekkür ederim.

Erkan Yunus TÜFEKÇİ

Afyonkarahisar

2024

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	III
ÖNSÖZ	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
ŞEKİLLER	IX
ÇİZELGELER	XI
RESİMLER	XVII
1. GİRİŞ	1
1.1. Dalak Morfolojisi	1
1.2. Dalakta Görülen Patolojik Değişiklikler	5
1.2.1. Neoplastik Dalak Lezyonları	5
1.2.1.1. Hemanjiosarkoma	5
1.2.1.2. Lenfoma	8
1.2.1.3. Histiositik Sarkoma	12
1.2.1.4. Dalağın Stromal Tümörleri	14
1.2.1.5. Myelolipoma	17
1.2.1.6. Metastatik Tümörler	18
1.2.2. Neoplastik Olmayan Dalak Lezyonları	18
1.2.2.1. Granuloma ve Apseler	18
1.2.2.2. Konjesyon	18
1.2.2.3. Ekstramedüller Hematopoezis	19
1.2.2.4. İnfarkt	19
1.2.2.5. Hematom	20
1.2.2.6. Hemanjioma	22
1.2.2.7. Nodular hiperplazi	22
1.2.2.8. Leishmaniazis	25

1.2.2.9. Siderofibrotik Plaklar	25
2. MATERYAL ve METOT	27
2.1. Materyal	27
2.2. Metot	27
2.2.1. Doku Takibi ve Hematoksilen Eozin Boyama	27
2.2.2. İmmunohistokimyasal Boyama	28
3. BULGULAR	29
3.1. Neoplastik Dalak Lezyonları	32
3.1.1. Hemanjiosarkoma	32
3.1.2. Lenfoma	36
3.1.3. Histiositik Sarkoma	41
3.1.4. Splenik Stromal Sarkoma	43
3.1.5. Dalağa Metastaz	46
3.2. Neoplastik Olmayan Dalak Lezyonları	48
3.2.1. Ekstramedullar Hematopoezis	48
3.2.2. Hematom	49
3.2.3. Lenfoid Hiperplazi	50
3.2.4. Leishmaniazis	54
3.2.5. Splenitis	55
4. TARTIŞMA	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
6. KAYNAKLAR	67
7. EKLER	73
7.1. İl Tarım Müdürlüğü Proje Bazlı İzni	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

‰: Yüzde

µm: mikrometre

ABC: Avidin Biotin Complex

AEC: 3-Amino-9-Ethylcarbazole

BAPK: Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyonu

CD: Farklılaşma kümesi

cm: santimetre

CT: Computer Tomography (Bilgisayarlı Tomografi)

DBBHL: Diffuz büyük B hücreli lenfoma

EMH: Ekstramedullar hematopoezis

GIST: Gastrointestinal stromal tumor

H₂O₂: Hidrojen peroksit

HE: Hematoksilin eozin

İba-1: İyonize kalsiyum bağlayan adaptör -1

IHC: İmmunohistokimya

LH: Lenfoid hiperplazi

Lyve-1: Lenfatik damar endotelial hyaluronan reseptörü

M: Molarite

N:C: Nuclear: Cytoplasm (Çekirdek: Sitoplazma)

Nk: Natural killer (Doğal öldürücü)

Pals: Periarterial lymphatic sheath (Periarteriyal lenfatik kılıf)

PBS: Phosphate buffer saline (Fosfat tamponlu salin)

PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincire reaksiyonu)

Pams: Periarterial macrophage sheath (Periarteriyel makrofaj kılıf)

Pecam-1: Trombosit-endotel hücre yapışma molekülü

Prox-1: Prospero benzeri homeobox proteini

a- Sma: Smooth muscle actin (Alfa düz kas aktini)

Vd.: ve diğeri

ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 1.1. Dalağın abdominal boşluktaki konumu	1
Şekil 1.2. Dalağın histolojik görünümü	2
Şekil 1.3. Açık dolaşım, kapalı dolaşımın görüntüsü	3
Şekil 1.4. Dalakta PALS ve beyaz pulpa	4
Şekil 1.5. Dalak marjiniinde siderofibrotik plak	26
Şekil 3.1. Neoplastik olmayan dalak lezyonlarının dağılımı	32
Şekil 3.2. Hemanjiosarkomun sonografik ve sitolojik görüntüsü	33
Şekil 3.3. Hemanjiosarkom histolojik ve makroskopik görünümü	34
Şekil 3.4. Kapillar, kavernoöz ve solid hemanjiosarkom histopatolojisi	35
Şekil 3.5. Solid hemanjiosarkom ve CD31 boyaması	36
Şekil 3.6. Lenfoma histopatolojisi ve kanama alanları	37
Şekil 3.7. Lenfomada mitotik figürler ve hemosiderin pigmentleri	37
Şekil 3.8. İmmunoblastik ve sentroblastik DBBHL	38
Şekil 3.9. Lenfomanın sitolojik görünümü	39
Şekil 3.10. Lenfoma vakasının CD3 (-) ve CD20 (+) boyanması	39
Şekil 3.11. Lenfoma vakasının CD3 (+) ve CD20 (+) boyanması	40
Şekil 3.12. Histiositik sarkomun dalak üzerindeki ultrason görünümü	41
Şekil 3.13. Histiositik sarkomun histopatolojik ve İba-1 boyanması	42
Şekil 3.14. Histiositik sarkomun dalak ve lenf üzerindeki histopatolojisi	43
Şekil 3.15. Dalak üzerindeki stromal tümörün histopatolojik görünümü	44
Şekil 3.16. Stromal sarkomda gözlenen mitotik aktivite görünümü	45
Şekil 3.17. Stromal sarkomun vimentin, CD31, MNF ve S100 boyanması	46
Şekil 3.18. Dalak metastazının histopatolojik görünümü	47
Şekil 3.19. Dalak metastazının MNF boyanması	47
Şekil 3.20. EMH görünümü	48
Şekil 3.21. Dalak üzerinde bulunan hematomaın operasyon görüntüsü	49

Şekil 3.22. Hematomun histotaptolojik görünümü	50
Şekil 3.23. LH'nin USG, makroskopik, sitolojik ve histopatolojik görünümü	51
Şekil 3.24. Dalak üzerindeki fokal hiperplazinin görünümü	52
Şekil 3.25. Dalak üzerinde lenfoid hiperplazinin histopatolojik görünümü	53
Şekil 3.26. Leishmaniazis etkeninin dalakta görünümü	54
Şekil 3.27. Leishmania ve lenfomanın histopatolojik ve IHC boyamaları	55
Şekil 3.28. Purulent splenitis olgusunun histopatolojik görünümü	56

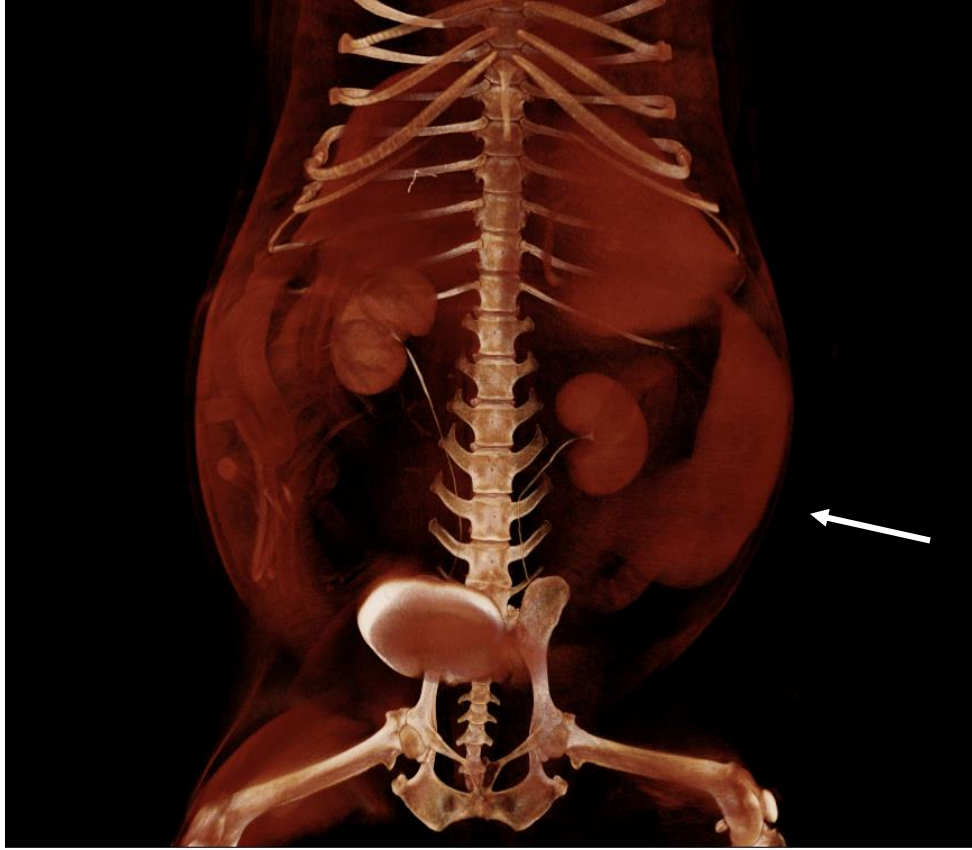
ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 1.1. Fibrohistiositik nodüllerin gruplandırılması	24
Çizelge 3.1. Dalak kitlelerinin dağılımları	29
Çizelge 3.2. Neoplastik dalak kitlelerinin sayı ve oranları	30
Çizelge 3.3. Hemanjiosarkomların görüldüğü ırk ve yaş tablosu	30
Çizelge 3.4. Lenfomaların ırk ve yüzde oranları	31

1. GİRİŞ

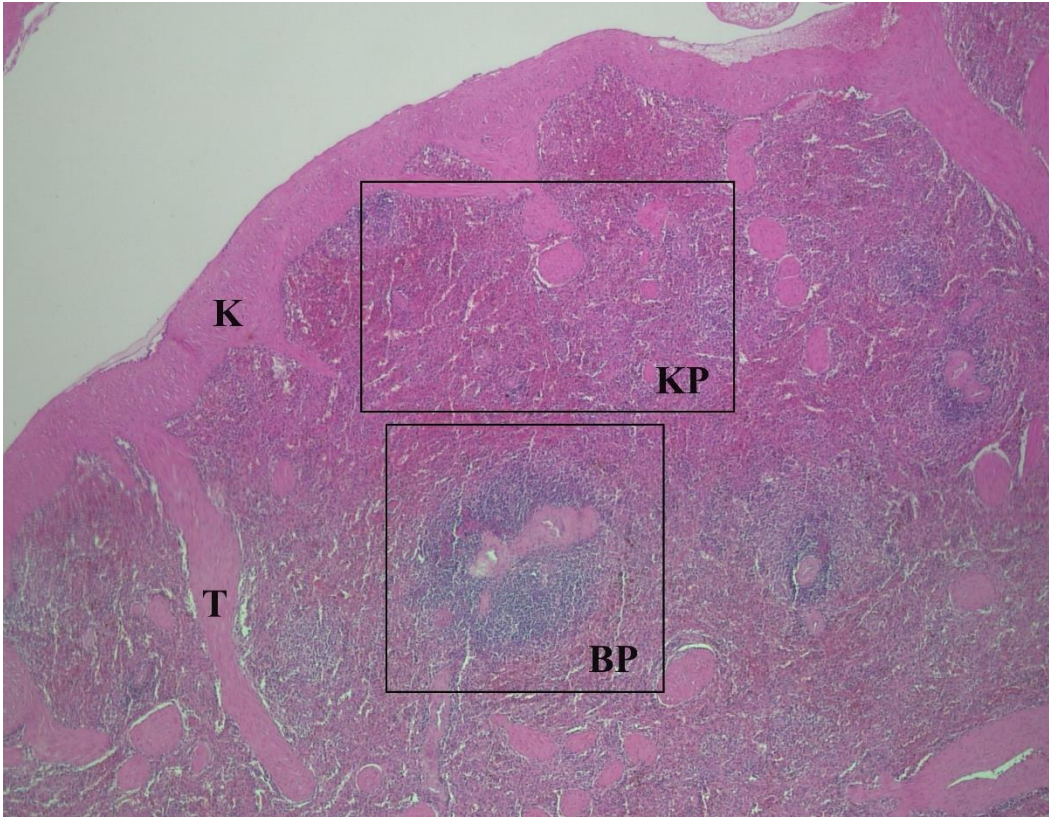
1.1. Dalak Morfolojisi

Dalak anatomik bölge olarak sol hipogastirik bölgede yer alan, baş ve kuyruk uzantıları bulunan, genellikle köpeklerde kesit yüzü üçgen şeklinde, kedilerde ise kesiti ovoid olan uzun yassı bir organdır. Dalağın baş kısmı sol dorsal kranial abdomende bulunur. Midenin fundus bölgesine gastrosplenik ligament, kısa ven ve arterler ile bağlanır. Dalağın gövde ve kuyruk bölümü hareketli olup genellikle orta ventral abdomende yer alır (Şekil 1.1) (Boes ve Durham, 2017).



Şekil 1.1: Köpek dalağının abdominal boşluktaki sol hipogastrik bölgedeki konumu (beyaz ok).

Bütün memelilerde dalak periton tarafından korunan bir kapsül ile çevrenmiştir. Dalağın içerisine doğru kapsül tarafından girintiler yapan trabeküller bulunur. Kapsül ve trabeküllerin arasında dalak pulpası bulunur. Diğer organlarda yer alan korteks ve medulla dalakta bulunmaz. Korteks ve medulla yerine dalak, hematojen kırmızı pulpa ve lenfoid beyaz pulpa olmak üzere iki pulpadan oluşur. Bu iki yapı birbirinden marjinal zon ile ayrılır (Boes ve Durham, 2017).

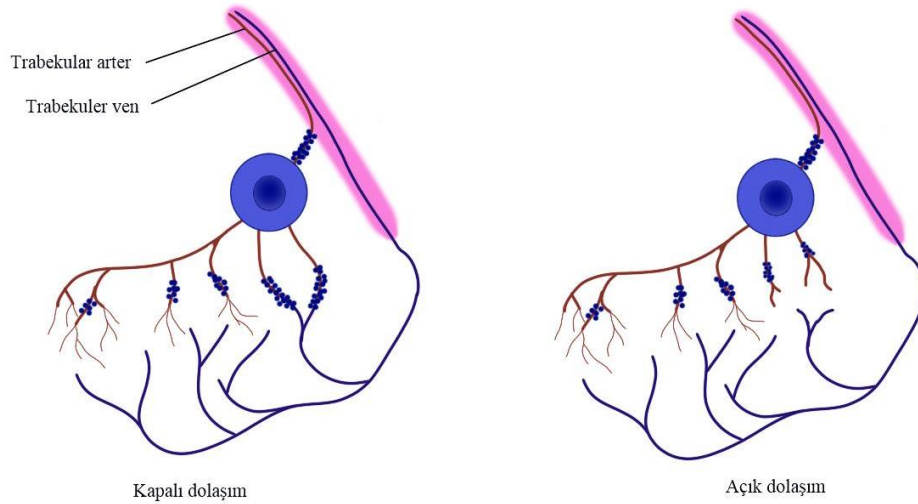


Şekil 1.2: Dalağın histolojik görünümü. Dalak etrafını saran kapsül (K), içeri doğru uzantılar veren trabekül (T). Lenfoid foliküllerden oluşan beyaz pulpa (BP), Eritrositlerden zengin olan kırmızı folikül (KP).

Hayvanlarda dalak, kapsuler ve trabekuler düz kas fibrinlerinin dizilimine göre iki basit tipe ayrılmıştır. Defansif tip dalaklarda az miktarda trabekül ve düz kas fibrinleri bulunurken

fazla miktarda lenfatik doku bulunur. Köpeklerde bulunan depo dalak tipte ise fazla miktarda trabekül ve düz kas fibrinleri içerir (Eurell ve Frappier, 2013; Onkar ve Govardhan, 2013; Udrouiu, 2017).

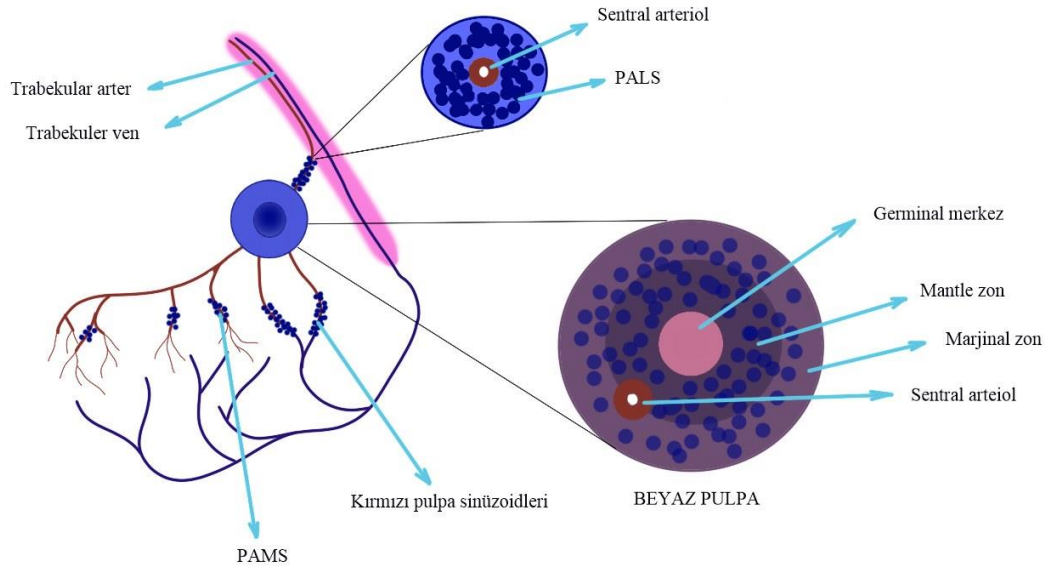
Dellman ve Brown'a (2006) göre memeli dalakları post kapillar damarların sinüzoidal (açık dolaşım) veya non-sinüzoidal (kapalı dolaşım) olarak ikiye ayrılır (Şekil 1.3). Köpeklerde dalak sinüzoidal dalak tipinde olup acil ihtiyaç durumlarında kanı hızlı bir şekilde dolaşıma verebilmektedir. Köpeklerde kan hacminin yaklaşık %12'si dalakta bulunur ki bu oran da kontraksiyon durumunda hematokriti arttıracak bir orandır. Evcil hayvanlarda dalak sadece köpeklerde sinüzoidal yapıdadır bu yapı ratların ve insan dalağının histolojik yapısına benzer (Takubo vd., 1986; Udrouiu, 2017; Dao vd., 2021).



Şekil 1.3: Açık dolaşım ve kapalı dolaşımın görünümü, Dalağın kırmızı pulpa vasküler alandaki kırmızı pulpa arteriyolünün, kırmızı pulpa venülü ile bağlantı yapmasına göre açık dolaşım (sinüzoidal) veya kapalı dolaşım (non sinüzoidal) olarak isimlendirilir (Boes ve Durham, 2017).

Major sekonder lenfatik organ olan dalakındaki yabancı organellerdi, bakterileri ve hemotropik parazitleri filtre eder ve ömrünü tamamlamış eritrositleri dolaşımdan uzaklaştırır (Onkar ve Govardhan, 2013; Boes ve Durham, 2017).

Beyaz pulpa periarteriyel lenfatik sistemden ve bunu saran marjinal zondan meydana gelir. Lenfoma, lenfoid hiperplazi veya amiloid birikimi gibi patolojilerin olmadığı durumlar haricinde makroskopik patolojide gözlenmez. Sentral arterin etrafını saran T lenfositlerden oluşan periarteriyel lenfatik kılıf (PALS)'ın çevresini beyaz pulpada B lenfositler çevreler. Marjinal sinüse yakın hatta marjinal makrofajlar yer alır. Marjinal zon'da marjinal sinus, marjinal zon B lenfositleri, marjinal zon makrofajları ve dendritik hücreler bulunur (Şekil 1.4).



Şekil 1.4: Dalakta PALS ve Beyaz Pulpa. Dalakta trabekülden ayrılan damarın izlediği yol, PALS ve beyaz pulpanın şeması (Boes ve Durham, 2017)

Kırmızı pulpada monosit-makrofaj sistemi, periarterioal makrofaj kılıf (PAMS), sinusoidler (köpek, rat ve insanlarda), kırmızı pulpa vasküler boşlukları, stromal hücreler ile ilişkili retiküler hücreler, fibroblastlar ve trabeküler myositler bulunur. Kırmızı pulpanın vasküler boşluklarındaki labirentler kanı fonksiyonel ve fiziksel olarak filtre eder. Özellikle kırmızı pulpadaki makrofajlar kan kökenli yabancı materyallerin, bakterilerin, zarar görmüş veya yaşam süresini tamamlamış eritrositlerin fagositozundan sorumludur. Köpeklerde sinüzoidal makrofajlar eritrositlerin tamamını fagosit eder. Köpek kan yaymalarında görünen eritrosit içerisindeki nükleer kalıntılar (Howell-Jolly cisimcikleri) sinüzoidal sistemin hatalı çalıştığına dair bir ipucu verir. Normal sayıda eritrositin sirküler sistemden uzaklaştırılması dalağın hacminin artmasına neden olmaz; fakat, sayıca artmış bozuk eritrositlerin varlığı hemofagositozun artmasına sebep olacağından şiddetli hemolitik anemi gibi durumlar splenomegaliye neden olur (Boes ve Durham, 2017).

1.2. Dalakta Görülen Patolojik Değişiklikler

1.2.1. Neoplastik Dalak Lezyonları

1.2.1.1. Hemanjiosarkoma

Hemanjiosarkomalar endotelial hücrelerin malign neoplazileridir. Primer dalak hemanjiosarkomaları özellikle köpeklerde sık görülür (Boes ve Durham, 2017). Hemanjiosarkomalar insanlardaki malign anjiosarkomlara benzemektedir (Takubo vd., 1986). Takubo vd. (1986)'nin yaptığı araştırmada köpeklerin ve insanların dalak damar yapılarının birbirine benzediği ortaya konulmuştur. Beşerî tıpta malign dalak tümörlerine oldukça nadir rastlanır (Giovagnoni vd., 2005; Fotiadis vd., 2009; Megquier vd., 2019). Bu durum sonucunda hemanjiosarkomaların dalağın morfolojik yapısından kaynaklanmadığı düşünürebilir. Köpeklerde genetik faktörlerin hemanjiosarkomalar için predispozisyon faktörü olabileceği öne sürülmüştür (Megquier vd., 2019; Estabrooks vd., 2023). Kökeni tam olarak anlayamamakla birlikte bu konuda iki hipotez öne sürülmüş olup, geçmiş

yıllardaki histopatolojik incelemelere dayanarak bu tümörlerin damar endotelinden malign mutasyonlar sonucu şekillendiği düşünülürken günümüzde kemik iliğinin tam farklılaşmamış pluripotent kök hücrelerinden köken aldığını destekleyen kanıtlar artmaktadır (Fosmire vd., 2004; Lamerato-Kozicki vd., 2006; Gorden vd., 2014; Griffin vd., 2021). Hemanjiosarkomlar lokasyon ve kökenine göre viseral veya viseral olmayan olmak üzere iki gruba ayrılır (De Nardi vd., 2023). Primer dalak hemanjiosarkomları agresif büyüme, erken metastaz ve kötü prognoz ile köpeklerdeki diğer viseral hemanjiosarkomlara benzemektedir (Brown vd., 1985; Srebernik ve Appleby, 1991; Schultheiss, 2004; Valli vd., 2016).

Son yıllarda kronik enfeksiyonlara neden olan Bartonella, Babesia ve Leishmania gibi vektör kaynaklı ajanların hemanjiosarkomlara sebep olabileceğine dair çalışmalar yayımlanmıştır (Kim vd., 2015; Movilla vd., 2017; Lashnits vd., 2021).

Çeşitli araştırmalarda Alman Çoban Köpekleri ve Golden Retrieverlarda ırk yatkınlığı olduğu bildirilmiş, ancak bu ırkların fazlaca sahiplenilen popüler ırklar olması nedeniyle beslenme kaynaklı bir artış olabileceği de ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda hemanjiosarkomların melez ırklarda da sık görüldüğü ve genellikle 6 ile 17 yaşlar arasında ortaya çıktığı gözlenmiştir (Hosgood, 1987; Prymak vd., 1988; Spangler ve Culbertson, 1992; Eberle vd., 2012; Hart vd., 2014; Moore, 2016; Valli vd., 2016).

Metastaz tümörün erken dönemlerinde görülür. Peritonda tomurcuklanarak sayısız kırmızı-siyah renkteki kitleler omentumda ve organların serozalarında da bulunur. Hematojen metastazlara karaciğer ve akciğerde sıklıkla rastlanır. Köpeklerde hemanjiosarkomalar kalbin sağ atriumunda, retroperitoneal yağda ve derinin dermal ve subkutan katmanlarında görülebilir (Boes ve Durham, 2017). Santral sinir sistemine metastazları, özellikle intrakraniyal hemorajiler olduğunda, klinik olarak davranış değişiklikleri ve nöbetlere

neden olabilir (Snyder vd., 2008). Köpeklerde hemanjiosarkomaların beyine en çok metastaz yapan tümörler olduğuna dair önermeler mevcuttur (Waters vd., 1989; Snyder vd., 2008).

Dalak hemanjiosarkomaları tek veya multiple, küçükten büyüğe değişken boyutlarda, yumuşak parankimal kitlelerdir. Kesit yüzeyi alacalı koyu kırmızı, bal peteği görünümündedir. Kesit yüzeylerindeki boz-beyaz rengi alanlar daha sert kıvamlı olup benzer makroskobik görünüme sahip fibrozis ve nekrozdan ayırt edilmelidir. Beyaz alanlara yapılan trimlerde tümörün solid yapısına rastlanabilir. Tümörün sebep olduğu bozuk yapı ve geniş kanama alanları tümörün tanısı için zorlayıcı olabilir (Valli vd., 2016).

Morfolojik olarak kapillar, kavernöz ve solid yapıdaki malign hücreler oldukça pleomorfik paternler oluşturur. Bu yapılar diğer sarkomlarda görülen özelliklere benzer. Asıl ayırım düzensiz dizilim gösteren vaskuler boşluklarda kan toplanması ve endotelial farklılaşmasındaki protein ekspirasyonu ile ilişkilidir (Fosmire vd., 2004).

Çoğu vakada yüksek çekirdek sitoplazma oranına sahip kromatini azalmış büyük poligonal hücreler epitelooid olarak tanımlanır. Vakaların neredeyse hepsinde hemoraji ve nekroz bulunur (Görirtz vd., 2013).

Neoplastik endotelial hücreler normal endotelial hücrelerden büyük, tek katlı, hiperkromik, şişkin ve iğsi yapıdadır. Hücre boyutları, anizositoz, anizokaryoz ve mitotik figürler değişkenlik gösterse de genellikle bulunur. Neoplastik endotelial hücrelerdeki mitotik figürler hemanjiosarkomların tanısını destekler. Granulasyon dokusunda veya reperatif dokudaki neovaskülarizasyonda mitotik hücrelere de bazen rastlanabilir. Nadiren de olsa çok çekirdekli hücrelere rastlanabilir. İmmunohistokimyasal yöntemlere çoğu zaman hemanjiosarkomların tanısında gerek duyulmayabilir fakat solid hemanjiosarkomlarda ve

kötü diferansiye neoplazilerin tanısında IHC gerekebilir. Solid yapıya sahip hemanjiosarkomaları diğer stromal tümörlerden ayırt etmek zorlayıcıdır. Histolojik açıdan en iyi ipucunu neoplastik hücrelerin arasına sızan kırmızı kan hücreleri verebilir. Fakat bu yapı her zaman gözlenmez ve hemorajiyi taklit edebilir (Valli vd., 2016).

CD31 ve Factor VIII ilişkili antijenler endotelial hücrelerin ayrımında kullanılabilir. Bu iki marker lenfatik damarları kan damarlarından ayıramaz. Lyve-1 ve Prox-1 kedi ve köpeklerde kan damar endotelini boyamazken lenfatik damarları boyar. Hemanjiosarkomları taklit eden neoplastik olmayan reaktif alanları neoplastik hücrelerin ayrımını yapacak proteinleri tanıyacak spesifik bir immunhistokimyasal antikor bulunmamaktadır. Neoplazinin tanısı halen morfolojik kriterlere bakılarak patolojik yorumlanma ile yapılmaktadır (Valli vd., 2016).

Dalakta hemanjiosarkomların derecelendirilmesi genellikle yapılmamaktadır. Tümör oldukça agresif seyrettiğinden klinik evre, histolojik dereceleri ve anatomik yapısı yaşam süresi hakkında fikir verici olmamaktadır (Hammer vd., 1991; Avallone vd., 2021). Yapılan bir çalışmada vasküler yapıları, pleomorfizm skorları, mitoz sayısı ve tümör nekrozu puanlaması göre 3 derece altında toplanmıştır. 2023 Son yıllarda yapılan bir çalışmada CD31 kuvvetli pozitiflik gösteren tümörlerde yaşam ömrünün daha kısa olduğu belirtilmiştir (Chu vd., 2023).

1.2.1.2. Lenfoma

Lenf nodları, dalak ve kemik iliği gibi lenfoid dokulardan köken alan (Hughes vd., 2021; Pinello vd., 2023) ve lenfoid dokunun neoplazisi olan lenfoma, dalakta sistemik bir lenfomanın etkisi olarak sekonder veya sadece dalakta primer olarak oluşabilir. Lenfomalar insanlarda olduğu gibi köpeklerde de en sık karşılaşılan hematopoetik neoplazilerdendir

(Valli vd., 2016; Pinello vd., 2023). Dünya sağlık örgütüne göre 43 çeşit lenfoma bulunmaktadır (van Stee vd., 2015). İnsidensi yaklaşık 100000 köpekte 13-24 arasındadır. 100000 köpekte 1 yaş altında 1.5, 10-11 yaş civarında ise 84 vaka civarında görülmüştür. Lenfoma köpek neoplazileri arasında %7-24 arasında ve köpek hematopoetik neoplaziler arasında %83 civarındadır. Veteriner Medikal Bilgi Bazlı Programının 1987-1997 yılları arasında vakaların görülme sıklığı yıllara göre incelendiğinde insidensin %0,75'den %2'ye yükseldiği görülmüş ve halen arttığı ifade edilmiştir (Valli vd., 2016). Porto Üniversitesinin 2005 ile 2016 yılları arasında 75 köpek üzerinde yaptığı lenfoma çalışmasında multisentrik lenfomaların en yaygın ve ikinci sırada dalak lenfomaları olduğu görülmüştür (Pinello vd., 2023). Pinello vd. (2023) çalışmalarında, dalak lenfomalarının diğer araştırmacılarından daha fazla olmasının sebebinin diğer yazarların çalışmalarına dalak lenfomalarını sınıflandırmadığından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Genetik yatkınlığın önemli olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Coğrafi farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda bölgesel baskınlıklarda farklılıklar görülmüştür. Avrupa'da 1529 köpekte yapılan bir çalışmada Doberman, Rottweiler, Bernese Dağ Köpeği ve Boxerlarda yatkınlık olduğu görülmüştür. Bu çalışmada Avrupa haricindeki bölgelerde baskınlık gösteren Labradorların Avrupa'da lenfomaya yatkınlık göstermediğini belirtilmiştir (Comazzi vd., 2018). İngiltere'de yapılan bir çalışmada Boxer, Bulldog ve Mastiff ırklarının lenfomaya yatkın olduğu (Edwards vd., 2003). Yeni Güney Galler'de Avustralya Çoban Köpeği ve Dobermanlar'ın (Yau vd., 2017); Amerika'da yapılan bir çalışmada ise melez ırklar, Golden Retrieverlar, Labrador Retriever, Alman Çoban Köpeği ve Boxerlar'ı en sık lenfomanın gözlendiği ırklar olduğu görülmüştür (Villamil vd., 2009). Yapılan başka bir çalışmada ise Boxer, Bull Mastif, Baset Tazısı, St Bernard, Scottish Terrier, Airedales ve Bulldog gibi ırklarda sık görülürken, Dachshund ve Pomeranianlarda daha nadir gözlendiği ifade edilmiştir (Vail ve Young, 2006). Coğrafi farklılıklar beşerî araştırmalarda da farklılıklar göstermektedir. Batı ülkelerinde insanlarda foliküler lenfoma, Asya ülkelerinde T hücreli lenfoma ve Orta doğu ülkelerinde intestinal lenfomalarda yatkınlık gözlenmiştir (Müller vd., 2005; Pinello vd., 2023).

Köpeklerin primer dalak lenfomalarında en sık görülen lenfomalar indolent B alt grubu

olan Marjinal zon lenfoma ve Mantle hücreli lenfomalar olarak bilinir (Valli vd., 2016; Sabattini vd., 2018; Stein vd., 2019). Fakat primer dalak lenfomalarına ait az sayıda veri bulunmaktadır. Köpeklerde, 1995-2011 yılları arasında yapılan bir çalışmada 28 adet dalak lenfoma tanısı konulmuş ve bunların Marjinal zon lenfoma (11 adet), mantle hücreli lenfoma (9 adet), diğer B hücreli lenfomalar (3 adet), T olmayan, B olmayan lenfoma (2 adet) ve periferel T hücreli lenfomadan (3 adet) oluştuğu ifade edilmiştir (van Stee vd., 2015). Yine köpeklerde 2001-2008 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada ise 5 adet köpeğe splenik marjinal zon lenfoma tanısı konulmuştur ve tedavisi yapılmıştır (Stefanello vd., 2011; van Stee vd., 2015).

İnsanlarda marjinal zon lenfomalar dalağın tamamında bütün foliküllerde uniform mikronodular yapılar oluştururken, köpeklerde ultrason ile tespit edilen fokal veya tedavi sırasında yapılan palpasyon ile hissedilen kitleler formunda bulunabilir. Marjinal zon lenfomaların tanısı sitoloji ile konulamaz. İmmunoblastik lenfomadaki hücre görünümünün aksine düşük mitoz sayısı en belirgin özelliğidir (Valli vd., 2016). İmmunohistokimyasal yöntemler neoplastik B lenfositlerin tanımlanmasında yardımcı olsa da spesifik bir immün markeri bulunmamaktadır. CD79a, CD20 pozitif reaksiyon verirken CD3 negatif reaksiyon verir. Tanısı histolojik organizasyonu, fenotipi ve sitolojik özellikleri kombine edilerek konulabilir. Marjinal zon hücreleri normal dokuda görülmez. Görülebilmesi için bir uyarıcıya ihtiyaç vardır. Reaktif veya neoplastik durumlarda sentral germinal merkezin etrafını saran B hücrelerinden zengin bir katman oluşturur. Marjinal zon hiperplazisini Marjinal zon lenfomadan ayırt etmek zordur. İki oluşum da marjinal zonda bulunan lenfoid foliküllerinden köken alır. Hiperplazilerde marjinal zondaki lenfositler oldukça monomorf yapıda, orta büyüklükte ve belirgin tek bir çekirdekçik bulundurur. Marjinal zon hiperplazide değişiklikler genellikle dalağın tamamına yayılır. Marjinal zon lenfomada ise proliferasyon marjinal zona değişken boyutlarda girintiler yapar. Marjinal lenfomalarda parakortal atrofinin görülmesi ayırıcıda yardımcı olabilir (Valli vd., 2016; Stein vd., 2019).

Mantle hücreli lenfomalar dalakta fokal kitle formasyonunda veya generalize (diğer adıyla blastoid) olmak üzere iki tip olarak bulunabilir. Mantle hücreler dalakta ve lenf

yumrularında lenfoid folikülün etrafında bulunur. Eritrositlerin yaklaşık bir buçuk katı büyüklüğünde orta boylu yuvarlak lenfositlerdir. Blastoid tip biraz daha büyük olabilir büyüklükleri eritrositlerin iki katına kadar ulaşabilir. Sitoplazması dar, çekirdek koyu kromatin yapılı, çekirdekçik belirgin değildir, fakat, kitlede büyük boyutlu lenfositlerde seçilebilir (Valli vd., 2016; Stein vd., 2019). Blastoid tip lenfomalarda germinal merkez iki katı büyüklüğe kadar ulaşabilir. Merkezde oluşan basınç nedeniyle kanama ve sonrasında merkezde iskemik nekrozlar görülebilir. Mitotik aktiviteleri düşüktür. Mantle hücreli lenfomaların erken evrelerinde yakın lenf yumrularında neoplastik değişiklikler genellikle gözlenmez. İleri evrelerde devam eden infiltrasyon diffuz ve geniş alanlara yayılabilir. Bu durum trabekül düz kaslarının incelmeye neden olur. Sitolojik açıdan incelendiğinde ise küçük uniform lenfositlerin bulunmasından dolayı benign oluşumlar olarak değerlendirilebilir. İnsanlarda mantle hücreli lenfomaların tanısında kullanılan cyclin D1 köpeklerde ise iyi sonuç vermemektedir (Valli vd., 2016). İmmunohistokimyasal antikorlarının yetersiz kalması mantle hücreli lenfomaları foliküler hiperplazilerden ayırt etmeyi oldukça zorlaştırmaktadır (Valli vd., 2016).

Foliküler lenfoma dalakta foliküllerin etkilendiği B hücreli bir lenfomadır. Sık görülen bir lenfoma tipi değildir. Marjinal zon ve Mantle hücreli lenfomalar gibi indolent, yavaş seyirli bir lenfomadır. Foliküler lenfoma, foliküler hiperplazi ile birbirlerine yakın bir morfolojik görünüm sergilerler ve dolayısıyla ayırımları yapılmalıdır. Hayvanlarda nadir olarak tanımlanan foliküler lenfoma dalakta foliküller değişken boyutlarda keskin kenarlı yuvarlak görünür. CD79a pozitif reaksiyon veren germinal merkezin etrafı neoplastik olmayan CD3 pozitif T lenfositleri ile çevrilidir. Dalağın tamamı diffuz olarak etkilenmez. Dalak sinusleri arasındaki foliküller konjesyone olup etkilenmemiştir (Valli vd., 2016).

Köpeklerde insanlarda olduğu gibi B tipi ve B'nin alt tipi olan diffuz hücreli lenfomalar en sık görülen lenfoma tipleridir (Hughes vd., 2021; Pinello vd., 2023). Bu tip lenfomalar çok sık görülen olmaları ile birlikte oldukça agresif seyirlidirler (Aresu, 2016). Köpeklerde %60-70'i B hücreli lenfomalardan, %30-40 civarındakileri T hücreli ve %1'in altında bir oranda ise B ve T olmayan lenfomalardan oluşur (Valli vd., 2016; Hughes vd., 2021). B

hücreli lenfoblastik lenfomalarda dalak diffuz ve simetrik olarak etkilenir. Periarteriolar lenfoid kılıfta atrofi görülür. Normal germinal merkezler kaybolur. Akut lenfoblastik lösemi gibi agresif lenfomalarda tümör hücreleri büyük kas damarlarının subendotelial katmanlarında kolonize olurlar. Bu tip lenfomalarda prognoz oldukça olumsuzdur. Ortalama yaşam ömrü günler veya haftalar ile sınırlıdır (Valli vd., 2016).

Diffuz büyük B hücreli lenfoma köpeklerin en sık görülen lenfomasıdır. Diffuz büyük B hücreli lenfomalarda dalak tek bir büyük odak halinde veya diffuz olarak genişlemiş etli bir görünüm alabilir. Diffuz yayılım yaptığında kesit yüzü pembe beyaz bir görünümde dir. Çoğu lenfoma beyaz kesit yüzüne sahiptir. Lezyon alanında konjesyon, hiperemi veya kanama olduğunda pembe renkli görünebilir. Dalakta zorlukla seçilebilen germinal zonlarda sadece dentritik hücreler kalmıştır. Sitolojide ve histolojide büyük, erişkin olmayan, büyük çekirdekli, yüksek mitotik aktiviteye sahip lenfositler homojen dağılım gösterir. Diffuz büyük hücreli lenfomalar, lenfoblastik lenfomalar ile karşılaştırıldığında büyük çekirdek ve büyük ve belirgin çekirdekçiğe rastlanır (Valli vd., 2016).

Akut T hücreli lenfoblastik lösemilerde dalak hemen hemen bütün vakalarda etkilenir. T hücreli lenfoblastik lenfomalarda dalak ve karaciğer etkilenmeyebilir. T hücreli lenfoblastik lenfomalar perivasküler ve periportal alanda, akut T hücreli lösemiler sinusoidal alanda bulunur (Valli vd., 2016).

Çoğu küçük hücreli lenfositik lenfoma ve kronik lenfositik lösemilerde hücreler CD79a, CD20 ve CD21 negatifve CD3 pozitifdir yani T hücrelidir. Kronik lenfositik lösemilerde splenomegali görülmeyebilir. Etkilenen dalaklarda neoplastik lenfositler sinüslerde bulunur. Genellikle bu tip dalaklarda ekstramedullar hematopoeze rastlanmaz (Valli vd., 2016).

1.2.1.3. Histiositik Sarkoma

Histiositik sarkomların primer lezyonları dalak, lenf nodları, akciğer, kemik iliği, sentral sinir sistemi, deri, deri altı, ekstremitelerin eklem ve eklem çevresindedir. Özellikle dalak

gibi organlarda lezyonlar soliter veya multiple olarak görülür. Histiositik sarkomlar genellikle interstisiyel dentritik hücrelerden köken alırlar. Hema-fagositik histiositik sarkomlar genellikle kemik iliğinden uyarılarak dalağın kırmızı pulpasında oluşur (Moore, 2016).

Histolojik olarak büyük hücre gruplarından oluşan yuvarlak, pleomorfik, mononükleer ve çok çekirdekli dev hücre formasyonu gösteren hücreler görülür. Bu hücrelerde belirgin sitolojik atipi ile anormal mitotik figürler gözlenir (Moore, 2016; Mullin ve Clifford, 2019).

Bazı lezyonlar fibroblast, myofibroblast veya düz kas orijinli hücreler gibi iğsi görünümde olabilir. Bu gibi durumlarda ayırım sadece immunohistokimyasal yöntemler ile yapılabilir (Moore, 2016; Mullin ve Clifford, 2019). Histiositik sarkomlar morfolojik olarak stromal tümörler ile ve zayıf diferansiye hemanjiosarkomlar ile karışabilir. Bu ayırım ancak immunohistokimyasal yöntemler kullanarak yapmak mümkündür. Histiositik sarkomlar CD18'e pozitif reaksiyon verdiğinden, CD18'e negatif reaksiyon veren diğer stromal tümörlerden, yuvarlak hücreli tümörlerden, sarkomlardan ve karsinomlardan ayrılabilir (Moore, 2016; Mullin ve Clifford, 2019). Dalakta histiositik sarkomun hemofagositik varyantının identifikasyonunda CD11d antikoru kullanılabilir. Kötü diferansiye hemanjiosarkomların stromal tümörlerden ayırımında ise Faktör VIII ile ilişkili antijen ve CD31 kullanılabilir. Bu antikolar teşhise destek amaçlı kullanılmış olsa da halen doğruluğu kesinleşmiş ve standardize edilmiş protokoller değildir (Valli vd., 2016).

Iba1'de güncel olarak kullanılan histiositik seriye spesifik olup parafin bloklarda iyi çalışan bir antikordur (Pierezan vd., 2014; Valli vd., 2016)

1.2.1.4. Dalağın Stromal Tümörleri

Dalağın stromal sarkomları nadir karşılaşılan tümörlerdir. Bu tümörler önceden anjiomatöz olmayan- lenfomatöz olmayan mezenşimal köpek dalak tümörleri olarak sınıflandırılıyordu (Weinstein vd., 1989; Wittenberns vd., 2021). Köpeklerde malign karakterli stromal tümörlerine benign karakterli neoplazilere oranla daha sık rastlanır. Fibrosarkoma, leiomyosarkoma sık görülen malign stromal tümörlerdir. Liposarkoma, mikzosarkoma, rabdomyosarkoma, kondrosarkoma, osteosarkoma ve mezenkimoma gibi malign kökenli neoplazilere daha az rastlanır (Weinstein vd., 1989). Fibroma, lipoma, myelolipoma ve leiomyoma gibi nadir karşılaşılan benign vakalardır (Spangler ve Culbertson, 1992; Spangler vd., 1994; Rahal vd., 1996; Spangler ve Kass, 1997). Stromal tümörlere genellikle 3 ve 17 yaş aralığında rastlanır. Herhangi bir ırk ve cinsiyet yatkınlığı bulunmamaktadır (Weinstein vd., 1989; Spangler vd., 1994).

Stromal tümörler büyük boyutlarda, boz renginden beyaza alan, yumuşak sıkı formda genellikle hemoraji ve nekroz alanları bulunduran yapılardır. Makroskobisindeki morfolojik değişiklikler spesifik olmasa da tümör tipi için ipucu verebilmektedir. rnek olarak mikzomatz tümörlerin kesit yüzeyi süngerimsi yapıda ve mukuslu, viskz, akışkan, kaygan bir sıvı ile karkaterizedir. Lipomatöz varyasyonların adipöz veya hafif yağlı kaygan görünümde olabilir. Bazı kondrosarkomlarda kartilojen matriks bulunabilir, yarısaydam beyaz-gri sıkı lastik kıvamında olabilir. Az sayıdaki splenik osteosarkomalarda osteoid kemik matriksine ait mineralizasyonlara rastlanabilir (Smolowitz ve Carpenter, 1988; Weinstein vd., 1989). Hemanjiosarkomlardaki gibi hemoabdomene pek rastlanmaz. Abdominal efüzyonlar görülür fakat modifiye transudat karakterlidir (Spangler ve Culbertson, 1992). Hatırlanmalıdır ki stromal tümörler ve hemanjiosarkomun sebep olduğu efüzyonlarda hücre saılmaz bundan dolayı efüzyonlarda tümör hücrelerine rastlanmaz. Fakat epitelial ve yuvarlak hücre tümörlerinin sebep olduğu efüzyonlar incelendiğinde neoplastik hücelere rastlamak mümkündür (Valli vd., 2016).

Benign stromal tümörler malign karakterlilerin aksine diyagnostik açıdan zorlayıcı değildir. Osteosarkomlar osteoid ile ilişkili veya primitif iğsi hücreleri saran hücrelerin varlığı ile tanımlanabilir. Çok çekirdekli dev hücrelere sık rastlanır hatta skeletal osteosarkomlara kıyasla daha fazla görülür. Bu çok çekirdekli hücreler osteoklast benzeri morfoloji gösterir (Smolowitz ve Carpenter, 1988). Mineralize osteoid yapılar görülebilir fakat sık değildir. Splenik osteosarkomlarda kartilojenez matriks bulunabilir fakat nadir olarak rastlanır (Valli vd., 2016).

Fibrosarkomlar büyük ve geniş, birbirine geçmeli oldukça hücresel demetlerden oluşan kollajenöz matriks birikimi gösteren yapılardır. Leiomyosarkomalar ince uzun çekirdek morfolojisi ve uçları küt ve eozinofilik sitoplazması ile fibrosarkomlardan ayrılabilir. Dev hücreler her iki tip sarkomlarda bulunabilir. Pleomorfik ve küçük yuvarlak hücreli leiomyosarkom varyantları histolojik olarak ayıramayabilir. Tanı koymanın zor olduğu pleomorfik tiplerde düz kas aktin ve desmin gibi myojenik komponentlerin immunohistokimyasal olarak tespit edilmesi ile ayırımı yapılması sağlanır. Gastrointestinal stromal hücreli tümörlerin dalağa metastazları nadirdir. Bu gibi durumlarda immunohistokimyasal olarak c-KIT antikoru kullanılabilir. İntestinal sistemde bulunabilecek tümör varlığının da araştırılması, bağırsaktan dalağa metastaz yapmış bir stromal tümörü işaret edebilir (Valli vd., 2016).

Mikzosarkomlar genellikle zayıf hücresellik gösterir. Neoplastik hücreler iğsiden yıldız şekline kadar değişen, diğer sarkomlardan veya mikzomalardan belirgin ayrımı olmayan oluşumlardır. Tanıda musikarmin veya alcian mavi boyama teknikleri ile geniş alana yayılmış soluk bol boya alan ekstrasellüler matriksin varlığı ipucu verebilir. Dev hücreler bulunabilir, fakat, sık rastlanan bulgular değildir (Valli vd., 2016).

Liposarkomlarda mezenşimal hücreler küçükten büyüğe değişken boyutlarda, ayrık, yuvarlak, şeffaf sitoplazmik yağ vakuolleri bulundurur. Multivakuoller arada sırada görülsede genellikle tek vakuollüdürler. Frozen incelemelerden alınan kesitler Oil-red-O gibi yağ vakullerini boyayan boyama yöntemleri ile tanı güçlendirilir. Evcil hayvanlarda iyi diferansiye, pleomorfik ve miksoid olmak üzere üç çeşit liposarkom bulunur. Bu üç varyant dalakta bulunabilir. Dev hücreler görülebilir (Valli vd., 2016).

Rhabdomyosarkomlar gevşek dizilimli, dağınık, değişken boyutta, yuvarlak veya pleomorfik eozinofilik sitoplazması bulunan hücrelerdir. Raket ve şerit hücreler genellikle belirleyicidir. Morfolojisi çok değişken olduğundan dolayı myoglobin, myogenin ve myoD gibi myojenik komponentlerin IHC ile konfirmasyonu gerekmektedir (Valli vd., 2016).

Mezenşimomaların tanımı üç veya daha fazla diferansiye mezenşimal hücre fenotiplerinin aynı neoplazide bulunması durumudur. Lipoma, osteosarkoma, kondrosarkoma, liposarkoma, rhabdomyosarkoma, fibrosarkoma, leiomyosarkoma ve hemanjiosarkoma fenotipleri ile birlikte diferansiye olmayan sarkomları köpek dalak mezenşimomalarında yer alabilir (Valli vd., 2016).

Dalak stromal tümörleri yüksek metastaz yeteneğine sahip oldukça kötü prognoza sahip tümörlerdir. Bu konuda, 57 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada ortalama yaşam süresinin 2,5 ay gibi bir süre olduğu görülmüştür (Weinstein vd., 1989). Stromal tümör metastazların yaklaşık yüzde 85'inin karaciğere olduğu tespit edilmiştir. Bu benzer sonuçlar dalak leiomyosarkomalarında ve dalak osteosarkomlarında görülmektedir (Valli vd., 2016). Stromal tümörler ayrıca omentum, mezenter, periton, retroperiton, diyafram, akciğer, böbrek, prostat, kemik iliği, idrar kesesi ve lenf nodlarına metastazlar yapabilmektedir. Post mortem incelemeler sınırlı yapılabildiğinden metastazlar operasyonlar sırasında bazen rastlantısal olarak görülebilmektedir. Yaşam süresi hakkında yapılan diğer bir çalışmada

stromal tümörlerin tipleri ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Spangler vd., 1994). Bu çalışmaya göre fibrosarkoma 2 ay, leiomyosarkoma 3 ay, osteosarkoma 1 ay, mikzosarkoma 2 ay ve diferansiye edilmemiş tümörlerde 1 ay olduğu görülmüş. Stromal tümörler bir grup olarak değerlendirildiğinde mitotik aktivitenin yaşam süresi üzerine etkili olabileceği de düşünülmektedir (Spangler vd., 1994). Alanlar fark etmeksizin 400'lük büyültmede 9 veya altında mitotik aktivite gösterenlerde ortalama yaşam ömrü 7,5 ay gibi bir süreken daha fazla mitotik aktiviteye sahip tümörlerde (histiositik sarkomlarda dahil, osteosarkomlar hariç) 2 ay veya altında yaşam ömrü olduğu görülmüştür (Valli vd., 2016).

1.2.1.5. Myelolipoma

Myelolipomalar kedi ve köpeklerde genellikle dalak ve karaciğerde ve ayrıca böbreküstü bezi, omentum, epidural spinal kanal ve gözde nadir karşılaşılan benign tümörlerdir. (Spangler ve Culbertson, 1992; Spangler vd., 1994; Day vd., 1995). Kitlelerin neoplastik, metaplastik veya hamartamatöz kökenli olabilecekleri tartışılmaktadır. Irk ve cinsiyet yatkınlığı hakkında yeterli vaka olmadığından ilişkilendirme yapılamamaktadır. Genellikle vakalar 11-16 yaş arasındaki yaşlı hayvanlarda görülmüştür. Klinik olarak spesifik bir bulgusu olmadığından teşhis tesadüfi olarak ultrason, laparotomi veya post mortem muayenelerde konulmaktadır. Bazen kitle dışarıdan palpe edilecek boyuta gelse bile klinik belirti vermeyebilir (Valli vd., 2016).

Dalakta myelolipomalar parankime gömülü tek veya birden fazla küre şeklinde kitlelerdir. Boyutları birkaç milimetreden 8-10 cm ye kadar değişmektedir. Bazen küçük plak benzeri kitlelere de rastlamak mümkün olabilmektedir. Tümörler yumuşak gevrek boz rengi beyazdan sarı portakala değişen renktedir. Kitlede kanamalar olduğu takdirde koyu kırmızı renkte de görülebilir. Myelolipomalar erişkin adipoz dokulardan ve normal hematopoetik hücrelerden oluşur (Al-Rukibat ve Bani Ismail, 2006). Lipoma ve liposarkomalar nadir

olarak köpeklerde dalak kitlelerine sebep olurlar. Bu iki tümör de hematopoetik hücrelerin bulunmaması ile myelolipomalardan ayırt edilebilir (Spangler ve Culbertson, 1992; Day vd., 1995; Valli vd., 2016).

1.2.1.6. Metastatik tümörler

Dalak kanı filtre eden ve yüksek miktarda kan deposu olan bir organ olmasına rağmen beklendiği kadar metastazlarına rastlanmaz. Oluşan metastazlar arterial yolla veya implantasyon yoluyla meydana gelir. Dalağın afferent lenf damarları olmadığından bu yolla gelen bir metastaz beklenemez.

1.2.2. Neoplastik Olmayan Dalak Lezyonları

1.2.2.1. Granuloma ve Apseler

Köpeklerde dalak apseleri ile nadir olarak karşılaşılır (Spangler ve Culbertson, 1992; Sprada vd., 2015; Boes ve Durham, 2017). Bakteri, mantar gibi mikroorganizmalar bakteriyemi-septisemi sonrasında dalağa ulaşarak buralarda diffuz granulatöz alanlar oluşturarak fokal veya multifokal nodüllere neden olabilir ve bunun sonucunda uniform splenomegali görülebilir (Boes ve Durham, 2017). Dalak apselerinin klinik bulguları veya laboratuvar sonuçları nonspesifik olup sıklıkla lökositozis görülür (Nikolaidis vd., 2005; Schulz vd., 2006).

1.2.2.2. Konjesyon

Köpeklerde özellikle barbitürat anestezipleri, sedasyon, tromboz, konjestif sağ kalp yetmezliği, splenik torsiyon ve portal hipertansiyon gibi nedenler dalakta konjesyona sebep

olabilir ve konjesyon da şiddetli splenomegaliye neden olabilir. Histolojik olarak kırmızı pulpa eritrositlerden zengin, beyaz pulpa küçük ve genişçe ayrılmış olarak görülür (Boes ve Durham, 2017).

1.2.2.3. Ekstramedüller Hematopoezis

Ekstramedüller hematopoezis (EMH) kemik iliğindeki gerçekleşen kan yapım ve oluşumunun ilik dışında meydana gelmesidir (Zamokas vd., 2016; Boes ve Durham, 2017). EMH çoğu dokuda olabilceği gibi en çok görüldüğü organ dalaktır. Hematopoezde bir veya birden fazla kan serisi bulunabilir (Boes ve Durham, 2017). Ekstramedüller hematopoezis yönünden incelenen 105 köpeğin dalağının %58,3'ünde eritroid seri, %8,3'ünde myeloid seri ve %33,3'ünde ise eritroid ve myeloid serili karışık hematopoezis görülmüştür (Zamokas vd., 2016). EMH'nin oluşum mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Şiddetli kemik iliği yetmezliği, myelostimülasyon, doku inflamasyonu, doku hasarı veya iyileşmesi, anormal kemokin üretilmesi gibi teoriler düşünülmektedir (Zamokas vd., 2016; Boes ve Durham, 2017). Kronik hemolitik anemi, myeloproliferatif süreç, lenfoid doku tümörleri, myelodisplastik sendrom ve köpeklerde hemanjiosarkomlar gibi hematolojik bozukluklarda EMH'ye rastlanır. EMH'de görülen splenomegali dalaktaki fazla çalışmanın sebep olduğu bir büyümedir. EMH'ler özellikle lenfoid hiperplazinin eşlik ettiği, dalak apsesi ve kronik torsiyon dalakta lokal büyümeye neden olabilir (Zamokas vd., 2016).

1.2.2.4. İnfarkt

Dalak infarktları primer olarak dalağın marjinlerinde üçgen veya kama şeklinde hemorajik lezyonlar şeklinde gözlenir. Köpeklerde infarktlar genellikle karaciğer bozukluğu, renal yetmezlik, Cushing's sendromu, neoplaziler ve kardiovasküler bozukluklardaki

hiperpihtılaşma olaylarında görülür. Akut infarktları erken evrede makroskopik olarak görmek zor olabilir. Akut infarkt başlangıçta koyu renkli, kanlı olup, kronikleştikce lezyon gri beyaz renk alır ve fibrin ile sınırlanır (Boes ve Durham, 2017).

1.2.2.5. Hematom

Dalak hematomları, çeşitli nedenlere bağlı olarak kan akımının değişmesi ve kırmızı-koyu kırmızıya renkteki kanın, yumuşak, şişkin, boyutları 2-15 cm arasında değişen soliter yapıda kitleler halinde gözlenir. Splenomegali vakalarının %50'den fazlasına hematomlar neden olmaktadır. Hematomların nedenleri arasında parankim hasarına neden olan travmalar, benign noduler hiperplaziler ve hemanijiosarkom dşnlmekte ancak, nedeni tam olarak bilinmemektedir (Valli vd., 2016; Boes ve Durham, 2017). Köpeklerde dalak hematomlarının yaklaşık %30-60'ının noduler hiperplazilerden kaynaklandığı görülmüştür (Spangler ve Culbertson, 1992; Spangler ve Kass, 1997; Cole, 2012) bu durumun marjinal zonda bulunan lenfoid yapıların bozulmasından kaynaklandığı dşnlmektedir (Spangler ve Culbertson, 1992). Sporadik olarak amiloidozis ile primer ve sekonder enfeksiyonların da hematomlara neden olabileceği dşnlmektedir (Valli vd., 2016; Boes ve Durham, 2017).

Benign veya malign sebeplerden meydana gelen solid dalak hematomları; yapı, hemoabdomen oluşumu veya morfolojilerinden yola çıkılarak ayırt edilemez (Prymak vd., 1988; Spangler ve Culbertson, 1992; Cole, 2012). Dalağın frajil yapısı ve dikiş hattındaki olası iyileşme problemleri göz önüne alındığında dalak biyopsisi yerine dalağın bir bütün olarak alınmasında fayda vardır. Cerrah dalak üzerinde şüphelendiği küçük alanları patoloğlara belirtmelidir. Fakat pratikte dalağın tamamının çıkartılması her zaman mümkün olmamaktadır. şüpheli durumlarda kitledeki boz beyaz alanlar incelenmelidir, nekroz alanlarından kaçınılmalıdır (Valli vd., 2016).

Dalak hematomları özellikle 3-16 yaş arasında köpeklerde sıklıkla görülür. Cinsiyet yatkınlığı bulunmaz. Golden Retriever, Labrador Retriever ve Alman Çoban köpeklerinde sık karşılaşılmakta olup Standart Poodle ve Alman Çoban Köpeklerinin ırk predispozisyonu bulunmaktadır (Prymak vd., 1988; Cole, 2012; Valli vd., 2016).

Dalak hematomları genellikle küre şeklinde, boyutları 20 cm çapını geçmeyen oluşumlardır. Genel bir kural olarak dalakta bulunan tek ve büyük bir kitle genellikle benignidir. Büyük hematomlarda kapsül şişkin ve incelmıştır. Hematomların fragil yapısı bazı durumlarda yırtılarak hemoabdomene neden olabilir. Yırtılan kapsül omentuma yapışarak omental adhezyonlara neden olabilir. Tekrarlayan rupturların oluşması olasıdır. Hematomun rezolüsyonu nadirdir (Valli vd., 2016) ve günler haftalar sürebilir. Önce koagülasyon oluşarak koyu kırmızı-kahverengine dönüşür. Makrofajlar tarafından fagosite edilen eritrositlerdeki hemoglobin parçalanarak hematoidin ve hemosiderin açığa çıkar. Onarım ile birlikte fibrozis gelişir. Hematomların yırtılması sonucu hemoperitoneum, hipovolemik şok ve ölüm gerçekleşebilir (Boes ve Durham, 2017).

Histolojik olarak nekroz ve fibrin kümeleri ile fazla miktarda ve pıhtılaşmış kana rastlanır. Bazen sayıca artmış dejenere nötrofiller görülür. Uzun süren kanamalarda marjinde proliferatif stromal hücreler ile neovaskülarize dokuda hipertrofik endotelial hücreler görülür. Bu hücreleri hemanjiosarkomlardan ayırmak oldukça zordur. Aralıklı endotelial hücreler, pleomorfizmin olmaması ve mitotik aktivitenin yoksunluğu olguyu hemanjiosarkomadan ayırabilir (Prymak vd., 1988).

Köpeklerde sayıca fazla lenfosit kümelerinin dalak paranzimine yakın bulunması, hematomun noduler lenfoid hiperplaziden kaynaklanmış olabileceği yönünde ipucu verebilir (Valli vd., 2016). Köpeklerde yapılan bir çalışmada, 120 dalak hematomunda lenfoid hiperplaziye sıklıkla rastlanırken hemanjiosarkomlarda lenfoid hiperplazi gözlenmemiştir. Bu durum sonucunda lenfoid hiperplazinin varlığı patolojinin hematomdan kaynaklandığını düşündürebilir (Cole, 2012).

Dalak üzerinde veya marjinlerde bulunan ten renkli, altın sarı, plak benzeri tek veya çok sayıda bulunan lezyonlar lokal hemodinamik bozukluklardan kaynaklanan oluşumlar olup dalak hematomları veya hemanjiosarkomları ile ilişkili değildir (Cole, 2012).

1.2.2.6. Hemanjioma

Dalak hemanjiomları evcil hayvanlarda sınırlı sayıda bulunmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda dalak hemanjiomlarının prevalansının %1-5 arasında olduğu görülmüştür (Hosgood, 1987; Johnson vd., 1989; Spangler ve Culbertson, 1992; Day vd., 1995; Eberle vd., 2012).

Hemanjiomalar genellikle tek organda bulunur ve histolojik olarak tanımlamak gerekirse düzensiz, tek katlı, uniform, düz neoplastik endotel hücrelerden oluşan mitotik aktiviteden yoksun kitlelerdir. Septa değişkenlik gösterir fakat genellikle ince, kollajenöz ve nonhipertrofik hücrelerden oluşur (Day vd., 1995). Tümörde ve bitişindeki nonneoplastik dalak dokusunda kanama alanları görülür. Normal damar yapılarından genellikle yoksundur (Valli vd., 2016). Hemanjiosarkomlardaki büyük hücreler, malignite kriterleri ve mitotik aktivite hemanjiomlarda gözlenmez. Hemanjiosarkomalarda trabeküllere destek olan stromal hücrelerde hipertrofi görülür. Noduler lenfoid hiperplazi genellikle dalak hematomlarda görülür ve varlığı hemanjiomlardan ayırımında ipucu olabilir (Cole, 2012). Dalak hemanjiomlarında vasküler proliferasyon, büyük hücreli hemanjiomaların morfolojik varyantları, arteriovenöz malformasyonlar, anjiomatozis gibi benign damar paternleri diğer organlardaki gibi tanımlanmamıştır. Dalak hemanjiomlarının hemanjiosarkoma dönüşmesi hakkında bir kanıt bulunmamaktadır (Valli vd., 2016).

1.2.2.7. Nodular Hiperplazi

Nodüler hiperplaziler dalakta bulunan normal hücrelerin benign proliferasyonlarıdır. Hematopoetik, lenfoid veya kompleks gibi baskın hücre tipine göre isimlendirilirler. Lenfoid noduler hiperplaziler genellikle büyük lenfoid foliküllerden oluşur. Hematopetik noduler hiperplaziler megakaryopoezisin de bulunduğu eritropoezisin baskın olduğu oluşumlardır. Kompleks noduler hiperplaziler lenfoid foliküllerin bulunduğu fakat stromal hücrelerin proliferasyonunun baskın olduğu ve histiyositlerin de eşlik edebileceği hiperplazilerdir (Moore vd., 2012; Valli vd., 2016). Mitotoik figürlere rastlanabilir ama sık değildir (Valli vd., 2016).

Dalak fibrohistiyositik nodüller hiperplazi terimi ise bir çatıyı ifade eder, lenfoid hiperplaziden gelişen, lenfoid, hematopetik ve sarkomatöz hücrelerden oluşan heterojen hücre gruplarının olduğu nodüllerdir (Spangler ve Kass, 1998). Bu nodüller genellikle benign karakterli hiperplaziler olup daha kötü prognoza sahip lenfoma varyantlarından ve histiyositik sarkomlardan ayırt edilmelidir (Valli vd., 2016). İmmunohistokimyasal boyaların gelişmesi ile dalağın fibrohistiositik nodülleri hakkında daha çok bilgiye sahip olabilmekteyiz (Boes ve Durham, 2017).

Son yıllarda yapılan sınıflandırmalara göre fibrohistiositik nodüller, benign lenfoid hiperplazi ve kompleks hiperplaziden, lenfomaya kadar genişletilmiştir. Bu sınıflandırmaya ek olarak malign fibröz histiozis, histiositik sarkom ve stromal sarkom olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Fibrohistiositik nodüller sonuç itibarıyla 4 ana başlık ve onun alt grupları halinde toplanmıştır (Çizelge 1.1). Stromal sarkomlarda poligonal- iğsi hücreler, bazen çok çekirdekli dev hücreler, geniş nekroz alanları ve EMH'ye sık rastlanırken, histiositik sarkomlarda yuvarlak-iğsi hücrelerde pleomorfizm, çok çekirdekli dev hücrelere normal lenfosit popülasyonu eşlik eder. Bu bulgular tanıyı desteklese de farklılığın ayırımı

immunohistokimyasal yöntemler ile desteklenmelidir (Moore vd., 2012; Spröhnle-Barrera vd., 2022).

Çizelge 1.1: Fibrohistiositik nodüllerin ana ve alt grupları (Moore vd., 2012; Spröhnle-Barrera vd., 2022)

Histopatolojik tanı	Genişletilmiş histopatolojik terminoloji
Lenfoid hiperplazi	Benign hiperplastik nodüller 1.Derece fibrohistiositik nodül Noduler hiperplazi Lenfoid foliküler hiperplazi
Kompleks hiperplazi	Kompleks nodüler hiperplazi 2. Derece fibrohistiositik nodül Nodüler kompleks hiperplazi
Histiositik sarkom	Histiositik Histiositik sarkom 3. Derece fibrohistiositik nodül Malign histiositosis (splenik)
Stromal sarkom	Stromal sarkom Splenik stromal sarkom 3. Derece Sarkom

Dalakta nodüler hiperplaziler makroskopik olarak bir veya birden fazla, genellikle belirgin solid yapıdaki kitlelerdir. Yumuşak nodüler hiperplaziler küre şeklinde ve genellikle küçük olup hemorajik olmaları halinde çapları 20 cm'ye kadar ulaşabilen yapılardır (Day vd., 1995; Spangler ve Kass, 1997)

Lenfoid noduler hiperplazi lenfoma ile; kompleks noduler hiperplaziler ise histiositik sarkom ve stromal sarkomlarla karıştırılabileceğinden ayırımında dikkatli olunmalıdır (Spangler ve Kass, 1998).

Lenfoid noduler hiperplaziler lenfositlerin kümelendiği sınırları belirgin, ayrılmış kitlelerdir. Lenfositler germinal merkezde foliküler yapılar oluşturur, bunlara mantle ve marjinal zone morfolojik özelliklerini gösteren lenfositler eşlik edebilir. Aradaki dokularda plazma hücreleri bulunabilir fakat, stromada yer almaz. Kompleks noduler hiperplaziler ise lenfoid ve stromal hücrelerden proliferen olan iki komponentden meydana gelir. Stromal dokuda fibroplazi, düz kas hiperplazisi, histiyositik hiperplazi ve ekstramedüller hematopoezis olabilir ve plazma hücreleri bulunabilir (Boes ve Durham, 2017).

1.2.1.8. Leishmaniazis

Leishmaniazis, *Leishmania* sp. etkeninin sebep olduğu monosit-makrofaj sisteminin bir hastalığıdır. Amerika, Avrupa, Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde görülen endemik bir hastalıktır. Protozoa etkeni tatarcık sineğinin bağırsağında bölünerek çoğalır. Sineğin memelileri ısırması ile flagellalı etken makrofajlar tarafından fagosite edilir ve bu dönemden sonra makrofajlarda flagellasız formu görülür. Hastalık viseral, kutanöz form veya her iki formun birlikte görülebildiği hastalık tablosu olabilir. Viseral formda abdominal lenf nodlarında büyüme, hepato-splenomegali görülebilir. Histopatolojik olarak lenf nodları sinüslerinde ve dalağın kırmızı pulpasındaki makrofajlar içerisinde intrastoplazmik, 2 µm çapında, yuvarlak kinetoplastlı etkenler görülür. Dalak ve lenf nodlarındaki hiperplazi hastalığın ilk aşamasında görülür, hastalık kronikleştikçe bu organlarda atrofi görülür (Boes ve Durham, 2017).

1.2.1.9. Siderofibrotik Plaklar

Siderofibrotik plaklar aynı zamanda siderokalsifik plaklar veya Gamna-Gandy cisimleri olarak da bilinir. Makroskopide gri-beyaz, sarımsı, kuru kabuklu yapılar olarak göze çarpar. Genellikle yaşlı köpeklerde organ marjinlerinde görülebileceği gibi organ paransiminde de bulunabilir (şekil 1.5).



Şekil 1.5: Genellikle ileri yaşı köpeklerde rastlanan dalak marjinde gözlenen sarımtırak renkli siderofibrotik plak. (Vet. Hek. Safure KARATAŞ Vtm hayvan hastanesi. 2023. Operasyon görüntüsünü paylaştığı için teşekkürler)

Hematoksilen eozin boyamalarda hematoidin sarı, hemosiderin altın sarı kahverengi, hematoksilenofilik kalsiyum mineralleri ise mor mavi gözüktür. Hematoidin hipoksi veya anoksi durumda hemoglobinden kaynaklı bir endojen pigmenttir. Hemosiderin kristalleri ise demir içermez ve Prussian mavisinde boya almaz. Yaşlı hayvanlarda zamanla oluşabileceği gibi geçmişteki kanamalar ve travma sonrası da oluşabilir (Boes ve Durham, 2017; Martínez-Girón vd., 2020). Beşeri tıpta dalak sirkülasyonunda kan basıncındaki artış sonucunda splenik parankimdeki oluşan minimal kanamaların hemosiderin, kalsiyum

tuzları ve fibrotik dokunun organize olmasından kaynaklanabileceği düşünölmektedir (Piubelli vd., 2019).

Bu çalışmada, köpeklerde neoplastik ve neoplastik olmayan dalak lezyonlarının patomorfolojik ve immunohistokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Bu çalışmada ırk, yaş veya cinsiyet ayrımı gözetmeksizin hayvan hastaneleri ve kliniklerinde (Vtm hayvan hastanesi, İzmir hayvan hastanesi, Doğa veteriner polikliniğini, Pet City veteriner kliniği) muayene edilen, rutin kontroller sırasında dalakta lezyon olduğu fark edilen veya hastalığa bağlı şikayetler sonrasında patolojik olduğu düşünölmektedir ve splenektomi yapılan 101 adet köpeğe ait dalak dokusu bu çalışmanın materyali olarak kullanılmıştır.

Projenin izni: T.C. Afyon Karahisar Valiliği İl Tarım ve Orman Müdürlüğünün 06.01.2021 tarihli E-39637749-325.04.03-45925 sayılı yazı (Ek 7.2) ve T.C. Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.01.2021 tarihli 49533702/05 sayı numarası (Ek 7.1) ile izinleri alınmıştır

2.2. Metot

2.2.1. Doku Takibi ve Hematoksilen-Eozin Boyama

Dalak dokuları %10'luk tampon formalin içerisinde en az bir gün tespit edildi. Dokular kasetlere alınarak küçültüldü. Fiksasyon işlemi sonrasında doku takip cihazında (Leica TP 1020) %70, %80, %92, %96 ve absöü alkol ile dehidrasyon işlemi tamamlandı. Dokular iki kez ksilende şeffaflaştırıldı. Şeffaflaşan dokulara sıvı parafin infiltrasyonu yapıldı. Dokular parafine gömüldü. Ardından mikrotom cihazı (Leica RM 2155) ile 4-6 mikron kalınlığında kesitler alınarak ılık su banyosuna (Leica HI 1210) aktarılarak buradan lamlara transfer edilerek kurutuldu. Kesitler hematoksilen-eozin (HE) yöntemiyle boyanarak ışık mikroskobu (Accu-scope) altında değerlendirildi.

2.2.2. İmmunohistokimyasal Boyama

İşık mikroskobi ile immunohistokimyasal analiz yapılacak dokular belirlendi. Parafin bloklardan adhezivli lama alınan 4-6 mikron kalınlığındaki dokular ksilen ile 5'er dakikadan iki defa şeffaflaştırıldı. İkişier dakika %100, %100, %96 ve %80'lik alkolden geçirildi. Fosfat tamponlu tuzlu solüsyona (PBS, 0.1 M, pH 7.4) alınan lamlar %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 10 dakika bekletilerek endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. Antijeni açığa çıkartmak için lamlar 20 dakika 0.01M pH 6.0 sitrat tamponda mikrodalga fırında düdüklü tencere ile kaynatıldı. Lamlarda bulunan dokuların çevresi hidrofob kalem ile işaretlendi. Endjoen serum bloklanması at serumu ile 10 dakika ve 37⁰C derecede inkübe edildi. Nem kamarasında kullanılacak antikorlar 37⁰C derecede 2 saat inkübe edildikten sonra yıkandı. Daha sonra Avidin biotin peroksidaz complex (ABC) kiti uygulamasına başlandı. Peroksidaz ile konjuge biotin damlatılarak 37 derecede 30 dakika inkübe edildi. Lamlar yıkandıktan sonra kırmızı renk veren Aminoetilkarbazol (AEC) peroksidaz substratı ile

dokular muamele edildi. Distile su kullanılarak reaksiyon durduruldu ve lamalar aköz yapıştırıcı ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi. Çalışmamızda CD31 (SCBT; 1/500), CD3 (Dako; 1/50), CD20 (Thermo; 1/400), CD79a (Santa cruz HM47, sc-20064), Iba-1 (Wako, 019-19741; 1/500), MNF 116 (Santa cruz, sc-58830 ;1/5), a-SMA (Santa cruz, sc-53142), S-100 (DAKO, Z0311; 1/500) ve Vimentin (Abcam, ab28028; 1/200) IHC antikorları kullanıldı

3. BULGULAR

Hastane, poliklinik ve kliniklerde tespit edilen patolojik olduğu düşünülen 101 adet patolojik lezyon tespit edilen dalak dokusu incelenmiştir. İncelenen dokuların 35 tanesi (%34,65) neoplastik, 66 tanesi (%65,35) neoplastik olmayan lezyonlar olduğu ortaya konulmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Dalak kitlelerinin dağılımları

Kitleler	Adet	Yüzde
Neoplastik kitleler	35	34.65
Neoplastik olmayanlar	66	65.35
	101	

Neoplastik kitlelerin incelenmesi sonucunda 35 adet neoplastik lezyonun 17 adedinin (%48,57) hemanijiosarkom, 9 adedinin lenfoma (%25,71), 5 adedinin stromal sarkom (%14,29), 3 adedinin histiositik sarkom (%8,57), 1 adedinin karsinom metastazı (%2,86) olduğu görülmüştür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2: Neoplastik dalak kitlelerinin sayı ve oranları

Neoplazilerin sınıflandırması	Adet	Neoplastik vakalara göre Yüzde	Neoplastik ve nonneoplastik vakalara göre yüzde
Hemanjiosarkoma	17	48.57	16.83
Lenfoma	9	25.71	8.91
Stromal sarkom	5	14.29	4.95
Histiositik sarkom	3	8.57	2.97
Karsinom metastazı	1	2.86	0.99
Toplam	35		

Hemanjiosarkom tanısı konulmuş hastaların ırk yatkınlıkları sırasıyla; Golden Retriever (%35,29), İngiliz Cocker Spainel (%17,65), Alman Çoban Köpeği (%11,76), Melez ırk (%23,53), Shar Pei (%5,88), Rotweiler (%5,88), Akita (%5,88) şeklinde idi. Vakaların görüldüğü yaş ortalaması ise 11 yaş civarındaydı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3: Hemanjiosarkomların görüldüğü ırk ve ortalama yaşlar

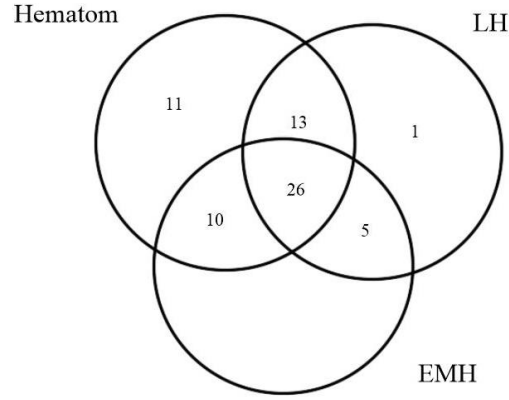
Hemanjiosarkom	Adet	Yüzde	Yaş ortalaması
Golden Retriever	6	35,29	11,5
İngiliz Cocker Spaniel	3	17,65	14,33
Alman Çoban Köpeği	1	5,88	9
Melez Irk	4	23,53	9
Shar Pei	1	5,88	8
Rotweiler	1	5,88	10
Akita	1	5,88	12
Toplam	17		11,12

Lenfoma tanısı konulmuş 9 hastanın 5 tanesi melez ırk olup, Golden Retriever, Labrador Retriever, Boxer, Rottweiler ırklarından ise 1'er vakada lenfomaya rastlandı. Yaş aralığının 6-15 arasında olduğu ortalamasının ise 9.3 yaş olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4: Lenfoma tanısı konulmuş hayvanların ırk ve yüzde oranları

İrk	Adet	Yüzde
Melez	5	55,55
Golden Retriever	1	11,11
Labrador	1	11,11
French Bulldog	1	11,11
Rottweiler	1	11,11
Toplam	9	

Neoplastik olmayan 66 adet dalak lezyonundan, 26 tanesinde lenfoid hiperplazi, hematom ve ekstramedullar hematopoezis birlikte görüldü. Hayvanların 13 tanesinde lenfoid hiperplazi ve hematom; 10 tanesinde hematom ve EMH; 5 tanesinde lenfoid hiperplazi ve EMH birlikte görülürken, 11 tanesinde hematom, 1 tanesinde ise lenfoid hiperplazi teşhis edildi (Şekil 3.1). Neoplastik değişiklikler ile görülen EMH, lenfoid hiperplazi veya hematomlar ise değerlendirilmedi.



Şekil 3.1: Neoplastik olmayan lezyonların dağılımı. En sık gözlenen ve genelde birbirleri ile gözlenen neoplastik olmayan dalak lezyonları. LH= Lenfoid hiperplazi, EMH= Ekstramedullar hematopoez

Dalakta görülen lenfoid hiperplazi, hematoma ve EMH'ler çoğunlukla bir arada görülüyordu. Bazı vakalarda Lenfoid hiperplaziler hakimken, bazılarında ise hematoma dalak genelindeki patolojiyi domine ediyordu.

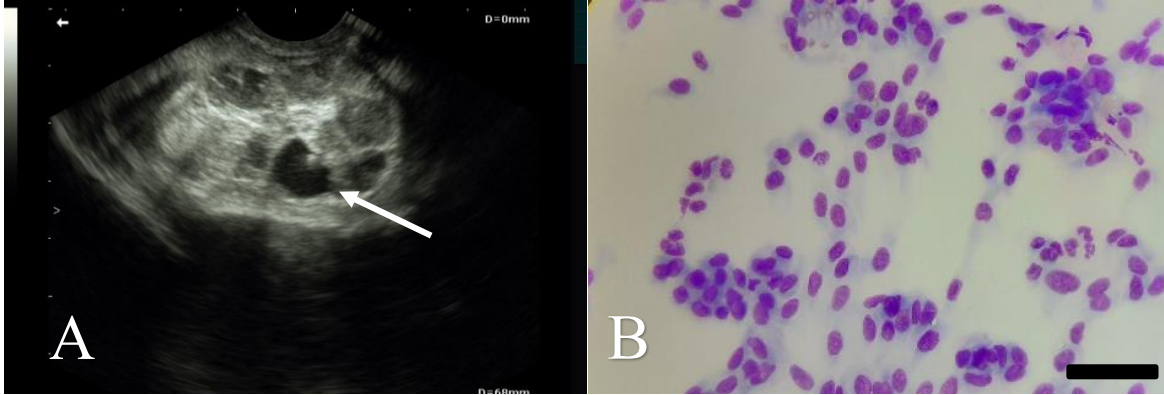
3.1. Neoplastik Dalak Lezyonları

3.1.1. Hemanjiosarkoma

İncelen 35 adet neoplastik dalak lezyonları içerisinde %48,57 ile en yüksek oranda hemanjiosarkomlara rastlandı (Çizelge 3.2).

Dalak hemanjiosarkomlarının büyük bir bölümü, dalakta kitlenin yırtılması sonucu kanın karın boşluğunda birikerek hemoabdomene ve bunun sonucunda ortaya çıkan hipovolemik şok ilişkili klinik tablo ile karakterize idi Çok az bir bölümü ise rutin kontroller sırasında röntgen veya ultrason ile fark edildi. Operasyon dalak materyali kesitlerinden lamlara baskı

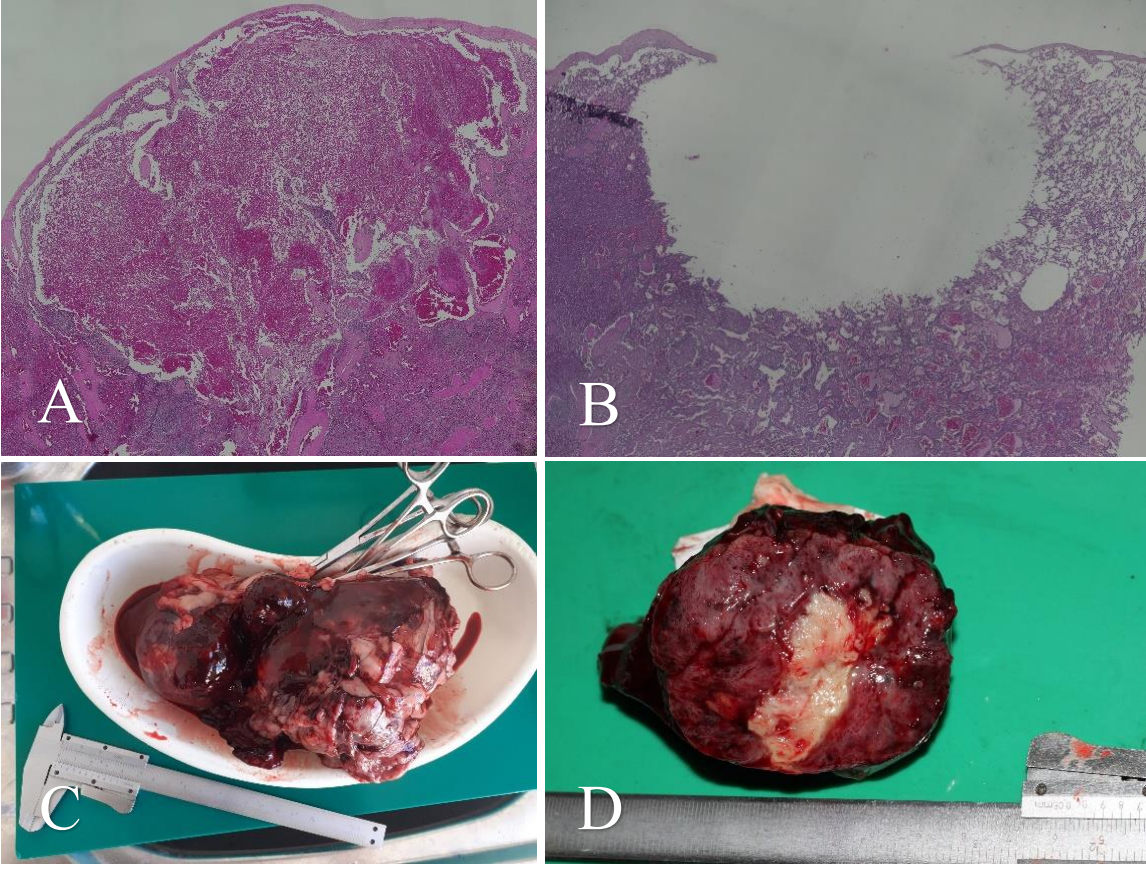
yöntemi ile sitolojik incelemenin yapıldığı örneklerde patognomik olmayan, şüpheli içsi hücrelere rastlandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Hemanjiosarkomun ultrason ve sitolojik görüntüsü A. Ultrason muayene: dalak üzerinde bulunan yuvarlak heterojen görünümdeki kitlenin içerisinde hiperekoik ve içerisinde kan dolu olduğu düşünülen hipoekoik alan (beyaz ok) alanlar B. Kitle kesitinden alınan sitoloji örneği. Mezenşimal hücrelerde hafif pleomorfizm, çekirdek sitoplazma oranı artmış, çekirdek büyük, hafif derece anisositosis, kaba kromatin yapısı belirgin, çekirdekçik detayı fazla belirgin değil. HE. Bar=50µm.

Hemanjiosarkomlar damar yapısında bozulma sonucu dalak içinde dışarıya taşkınlik oluşturmamayan kanamalar içeriyordu (Şekil 3.3.A). Kitlenin büyümesi veya kanamanın dışarıya doğru taşkınlik yapması sonucunda organın kapsülünü incelterek yırtılmalara sebep olduğu görüldü (Şekil 3.3.B). Yırtılan bölgenin üzeri kimi zaman omentum tarafından kapatılarak kanama durdurulmuştu. Bu gibi durumlarda dalağın üzerine yapışık omentum veya fibrin dokusu görüldü (Şekil 3.3.C).

Hemanjiosarkom kesitleri kahverenginden kırmızıya değişkenlik gösteren renkteydi (Şekil 3.3.D). Çapça büyük lezyonların merkezinde genelde kanama ve nekrotik alan görüldü, merkezin beyaz olduğu odaklara da rastlandı. Kesitler sert kıvamda veya çabuk parçalanam yumuşak yapılar şeklinde değişkenlik gösteriyordu.

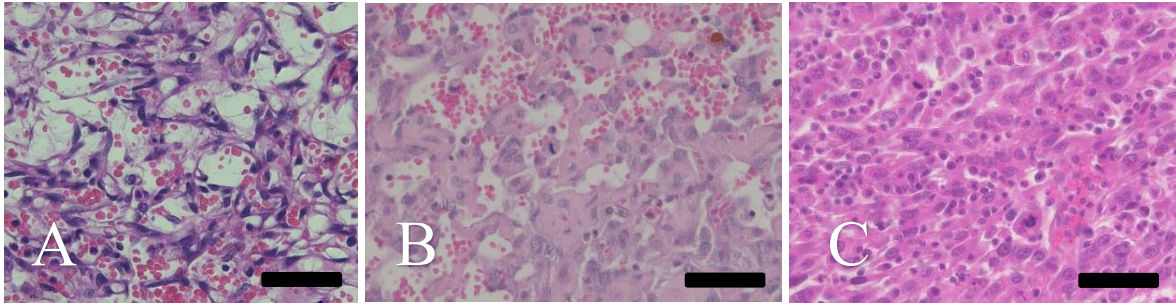


Şekil 3.3: Hemanjiosarkomun histolojik ve makroskopik görünümü. A. Dalak içerisinde kanama. B. Dalak içerisinde kanama alanı, dalak kapsülünün incelerek yırtılması. C. Dalak üzerinde tümör kaynaklı rupturun omentum tarafından örtülmesi. D. Tümörün merkezinde boz beyaz renkli fibröz doku.

Omentum üzerinde 1-2 cm çaplı kırmızı, koyu kahverengi odaklar görüldü. Bu lezyonlara bazı vakalarda abdominal organlarda, karın iç duvarında da rastlandı.

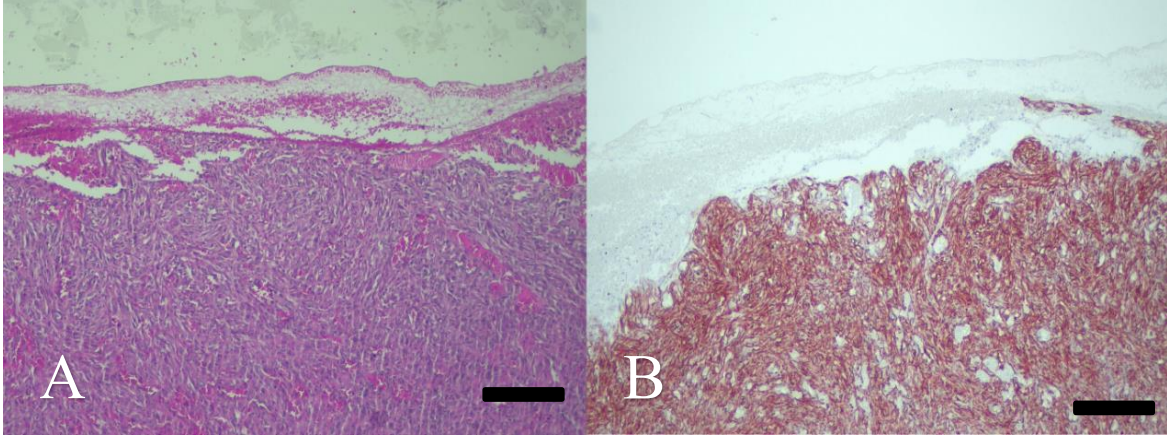
Mikroskopik olarak hemanjiosarkomlarda neoplastik hücreler kapillar, kavernöz ve solid desen göstermekteydi (Şekil 3.4). İncelenen vakalarda solid ve kavernöz tip dizilimli vakalara kapillar dizilim gösteren vakalara oranla daha çok rastlandı. Kavernöz, solid desen gösteren kitlelerin genellikle merkezi solid, perifere doğru kavernöz bir yapı oluşturduğu

örnekler görüldü. Kapillar desen hemanjiosarkomlardaki hücrelerde atipi, solid ve kavernözde görülen neoplastik hücrelere göre atipinin daha zayıf olduğu dikkat çekti. Hücrelerin çekirdekleri daha ince ve hücreler arasındaki alanlar daha geniş olduğundan hücreler arası boşluklardaki kanama daha fazla idi. Kavernöz ve solid desende neoplastik hücrelerde ise atipi belirgin, normal endotelial hücrelerden daha büyük, anizositoz ve anizokaryoz sergileyen çekirdekleri şişkin, belirgin çekirdekçik bulunan hücrelerden oluşmaktaydı. Solid tip desende hücreler arası boşluk neredeyse yok denilecek kadar azdı. Mitotik aktivite genellikle yüksekti.



Şekil 3.4: Hemanjiosarkom histopatolojisinde A. kapillar, B. kavernöz, C. solid desen. HE. Bar=50 μ m

İyi diferansiye hemanjiosarkomlarda IHC'ye ihtiyaç duyulmadan tanı morfolojik olarak konulabilmekteydi. Kötü diferansiye hemanjiosarkomlarda ise CD31'in sitoplazma ve çekirdekte verdiği pozitif yanıt tanıya yardımcı oldu (Şekil 3.5).

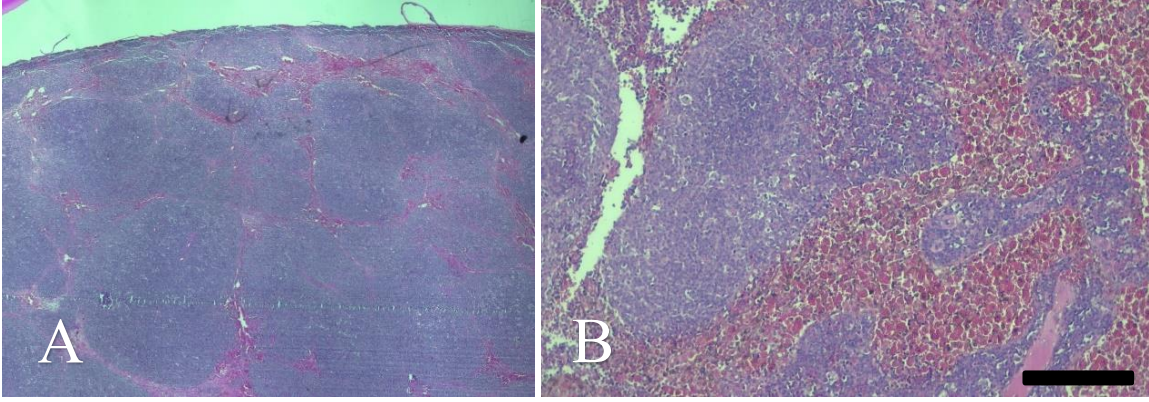


Şekil 3.5: A. Solid desene sahip hemanjiosarkomda neoplastik hücrelerin HE boyaması, B. Aynı alandaki hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinin CD31 boyamaya pozitif reaksiyon göstermesi. Bar=200µm

3.1.2. Lenfoma

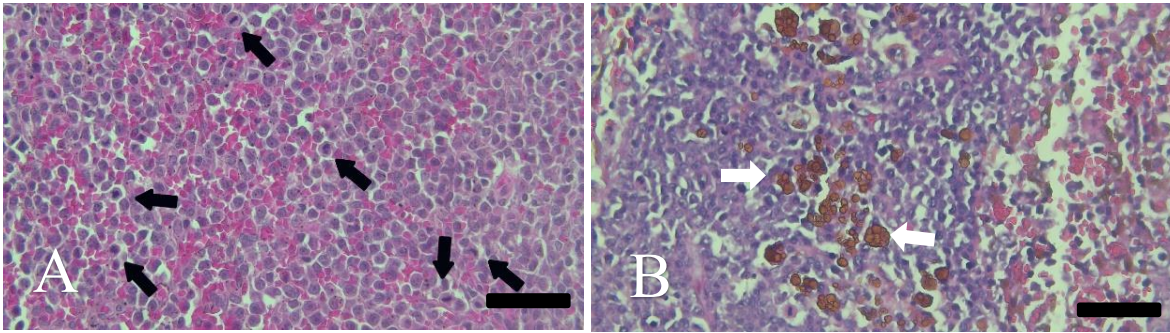
İncelenen dokular arasında hemanjiosarkomlardan sonra %25.71 orana ile tespit edilen neoplastik dalak patolojisi lenfomaydı.

İncelenen dokular arasında toplam 9 lenfoma vakasından, 4'ünün diffuz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) olduğu görüldü ve vakalarda genellikle mikroskopik bakıda diffuz bir splenomegali mevcuttu. Kesit yüzleri hiperemik ve kanamalıydı. Mikroskopik olarak dalağın büyük bir bölümü lenfositler ile kaplıydı. Bazı alanlarda kırmızı pulpanın tamamen ortadan kaybolduğu görüldü. İncelenen vakalarda değişiklikler genelde dalağın tamamına yayılmıştı. Kapsülde infiltrasyonlar görüldü (Şekil 3.6 A). Genişleyen foliküller arasında kanama, hiperemi veya konjesyona rastlandı (Şekil 3.6 B).



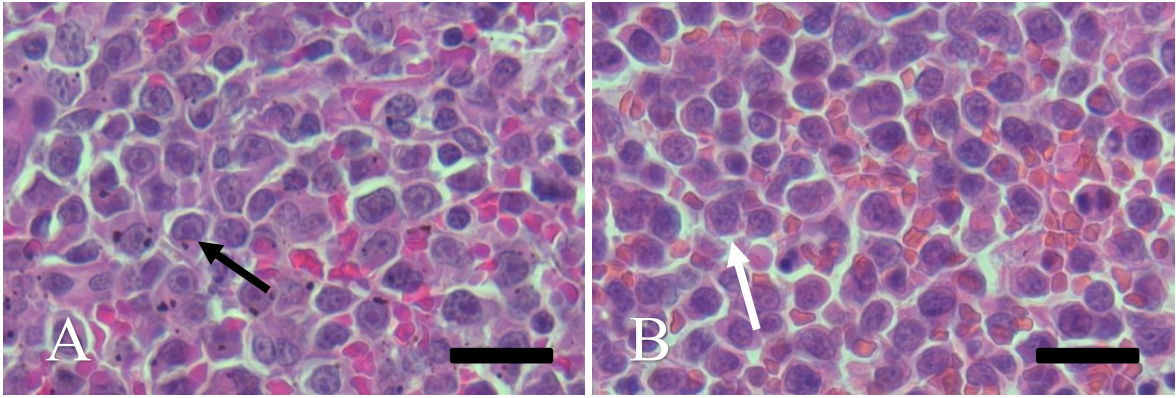
Şekil 3.6: A. Foliküllerdeki neoplastik lenfositlerin aşırı çoğalması sonucu kırmızı pulpa ve trabeküllerde atrofi. HE. B. Neoplastik lenfositlerin etrafındaki alanlarda görülen kanama alanları. HE. Bar = 200µm

Kanama alanlarında veya kırmızı pulpa da hemosiderin pigmentlerine, megakaryositlere ve ekstramedullar hematopoeze rastlandı. Tingle body makrofajlarına her vakada rastlanmadı. Vakalarda yoğun mitotik aktivite görülmekteydi (Şekil 3.7.A-B).



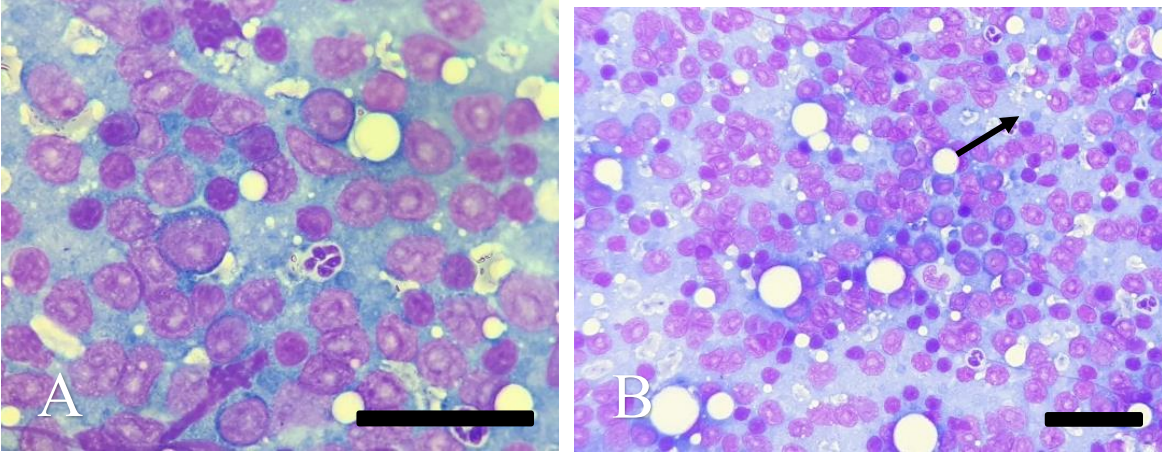
Şekil 3.7: A. Dalak dokusunda çok sayıda mitotik figürler (Siyah ok). HE. Bar = 50µm. B. Eski kanama alanında neoplastik lenfositlerin arasında kehribar renkli hemosiderin pigmentleri (Beyaz ok). HE. Bar = 50µm

Neoplastik lenfositler yuvarlak ve çekirdeği çapı eritrostillere göre yaklaşık iki katına yakındı. İmmunoblastik olan DBBHL'lerde tek bir çekirdekçik bulunurdu ve büyük ve belirgin olan çekirdekçik ortada yerleşik durumdaydı (Şekil 3.8.A). Sentroblastik DBBHL'lerde ise birden fazla küçük çekirdekçik mevcuttu. Belirgin olan bu çekirdekçikler ve merkezi yerleşimli değildi (Şekil 3.8.B).



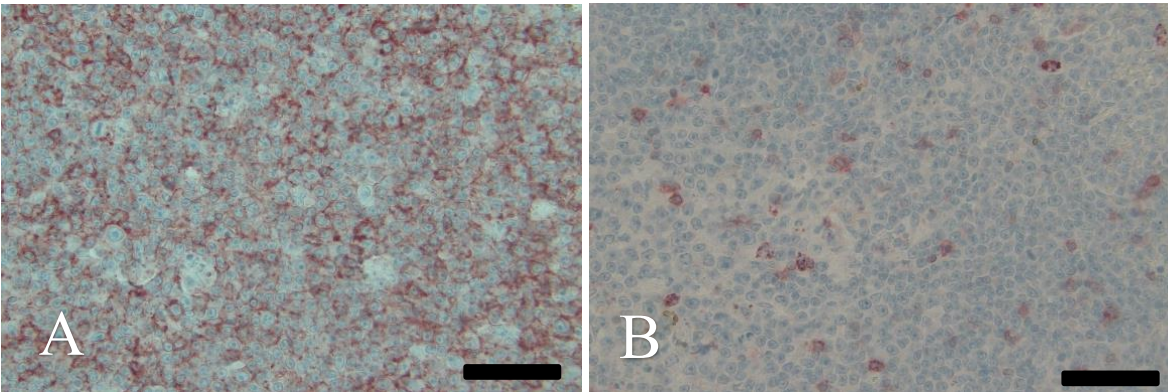
Şekil 3.8: A. İmmunoblastik DBBHL'de çekirdekçik tek büyük belirgin ve çekirdeğin merkezinde (siyah ok). B. Sentroblastik DBBHL'de birden fazla çekirdekçik çekirdeğin merkezine uzak yerleşimli (beyaz ok). HE. Bar=20µm.

Sitolojik incelemelerde alana hâkim lenfositlerin yuvarlak büyük hücrelerden oluştuğu fark edilmekteydi. N:C oranı büyük, sitoplazma dar ve koyu bazofilik, çekirdek yuvarlak, kaba kromatin yapı belirginleşmiş, çekirdekçik belirgin idi (Şekil 3.9.A). Arka planda lenfoglandular cisimleri görünüyordu (Şekil 3.9.B). Mitozda artış histopatolojik kesitlerde olduğu gibi fazlaca gözlenmekteydi.



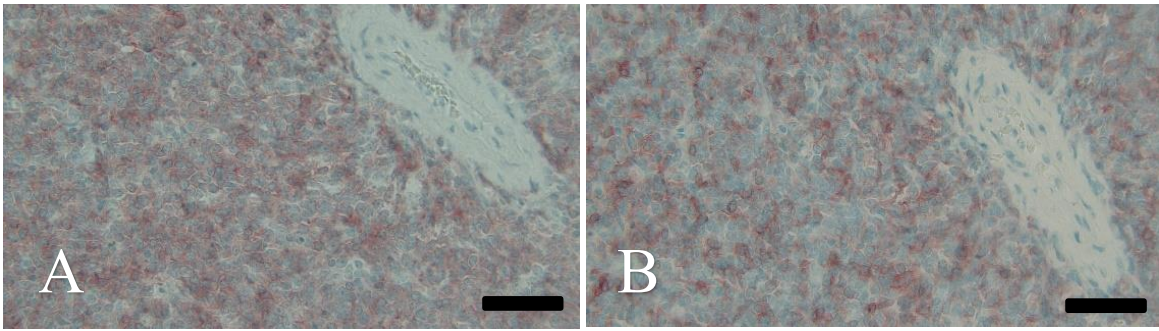
Şekil 3.9: Lenfomanın sitolojik görünümü. Sitolojik inceleme yapılan alanlarda hüresellik oldukça fazla olup tek tip lenfositler hâkim hücrelerdi. Hücrelerde koyu bazofilik sitoplazma, büyük N:C oranı, büyük ve belirgin çekirdekçik mevcut. Lenfoglandular yapılar alanda gözlenmekte (ok). (Şekil 37.A'daki neoplazinin sitolojik incelemesi). HE. Bar=50µm.

DBBHL'ler immunohistokimyasal incelemelerde neoplastik alanların CD20'ye şiddetli pozitif reaksiyon verdiği (Şekil 3.10.A), CD79'a orta seviyelerde pozitiflik verdiği ve CD3'e negatif reaksiyon verdiği neoplastik lenfositlerden oluşan alanlar görüldü (Şekil 3.10. B).



Şekil 3.10: A. Neoplastik B lenfositlerin CD20'ye verdiği şiddetli pozitif reaksiyon. B. Alanda bulunan az sayıda T lenfositin CD3'e verdiği reaksiyon. Bar=50µm.

Bir lenfoma vakasında atipik neoplastik lenfositlerde aşırı diffuz bir artış gözlemlendi. Genişleyen foliküllerin kırmızı pulpayı neredeyse ortadan kaldırdığı dikkati çekti. Dar sitoplazmalı orta büyüklükteki bu lenfositlerde çekirdek kaba kromatin yapısı içermekteydi. Çekirdekçik küçük ve belirgindi. Yüksek mitotik aktivite göstermekteydi. Az sayıda tingble body makrofajlara rastlandı. İmmunokimyasal boyama sonucunda CD3, CD20 pozitif reaksiyon verirken CD79 negatif reaksiyon verdi (Şekil 3.11.A-B).

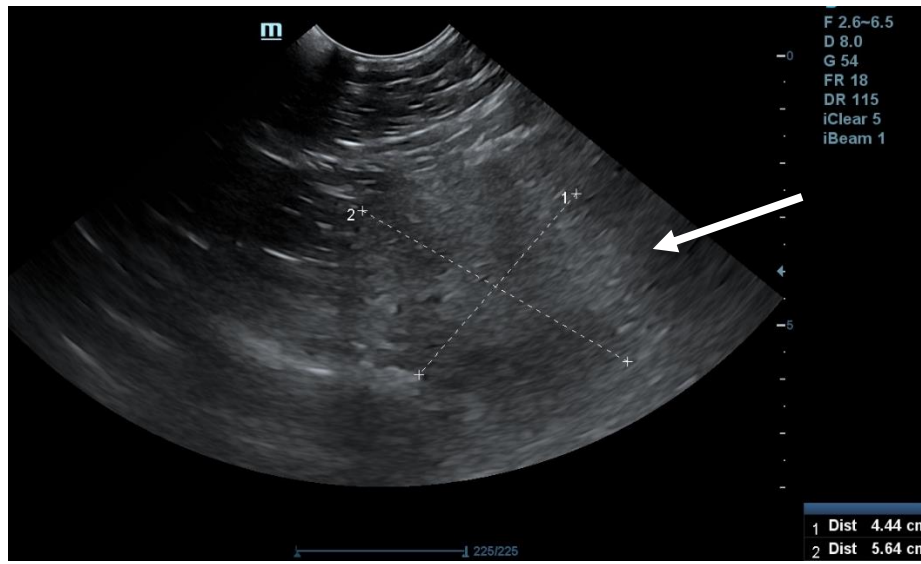


Şekil 3.11: A. CD3 pozitif reaksiyon veren neoplastik lenfositler. B. Aynı alanda, CD20 pozitif reaksiyon veren lenfositler. Bar=50µm

Bir vakada lenfomaya *Leishmania* sp. etkenleri eşlik ediyordu (Şekil 3.26.B). Dalak dokusunda lenfositler geniş alanlarda bulunuyordu. Şiddetli CD3 pozitif reaksiyon veren lenfositler dalağın geniş bir bölümünde hakimdi. Hafif CD20 pozitif reaksiyon veren lenfositler dalak parankimine dağılmış vaziyette idi. Mitoza az rastlandı. Lenfositler küçük orta büyüklükteydi ve monomorf bir dağılım gösteriyordu. Sitoplazması dar, çekirdek sitoplazma oranı büyüktü. Çekirdeklerde kromatin yapısı hafif belirgindi. Bu netice sonucunda hastaya T lenfoma tanısı konuldu.

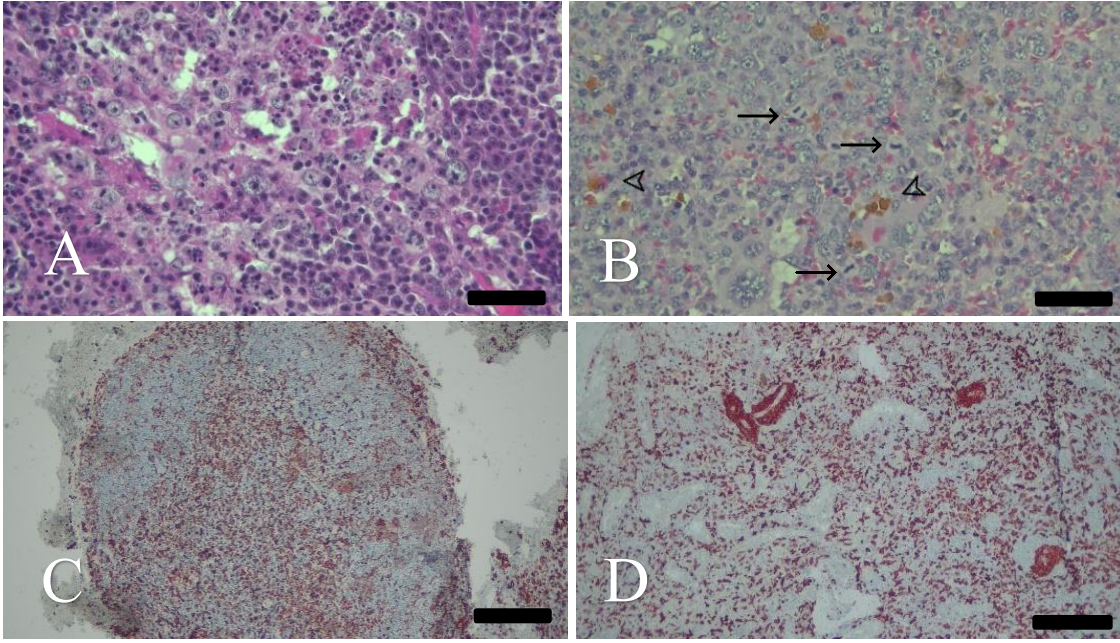
3.1.3. Histiositik Sarkoma

İncelenen neoplastik dalak kitleleri arasında %8,57 ile üçüncü sırada histiositik sarkomlara rastlandı. Vakalar 8,6 ve 13 yaşlarında, melez, Husky ve Terier ırkı köpeklere aitti. İki vakada neoplastik değişiklikler yoğunlukla dalak dokusunda incelenirken (Şekil 3.12), diğer vakada değişiklikler daha çok dalağa yakın bir lenf nodundaydı. Dalakta hemoraji ve hematom ön planda olup küçük bir alanda neoplastik histiositik hücelere rastlandı.



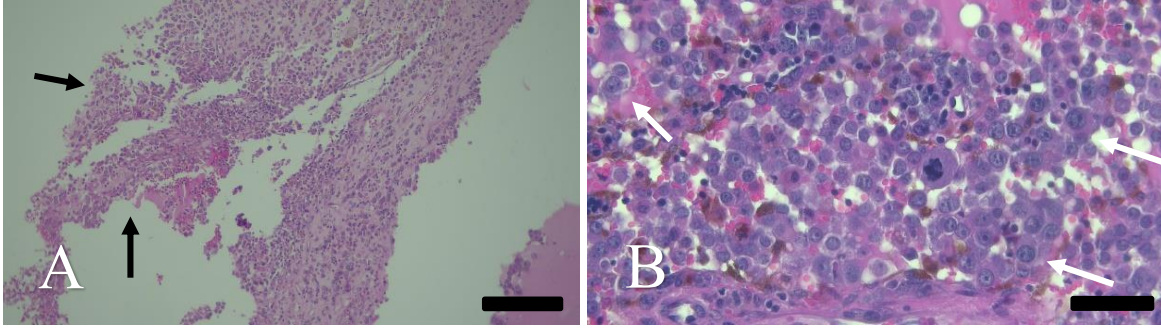
Şekil 3.12: Dalak üzerinde ultrason muaynesinde tespit edilen 4.4x 5.64 cm çaplı, üzerinde hipoeoik alanların bulunduğu neoplastik alan (beyaz ok)

Mikroskopik olarak incelenen iki dalak dokusunda neoplastik histiositler diffuz olarak yaygındı. Bazı alanlarda beyaz pulpa atrofikti ve hatta bazı alanlarda beyaz pulpanın ortadan kaybolduğu görüldü. Neoplastik hücreler yuvarlak, büyük, pleomorfik, anizokaryoz ve anizositoz belirgin olarak görüldü. Çekirdek büyümüşü hatta bazı hücrelerde çift çekirdek görüldü. Çekirdekçik belirgin ve bazılarında makronükleikti. Aşırı büyük hücelere rastlandı (Şekil 3.13.A). Mitozun oldukça yaygın olduğu gözlemlendi. Hemosiderin pigmentlerine ve megakaryositlere rastlandı (Şekil 3.13.B). Bu hücreler Iba-1'e şiddetli pozitif immun reaksiyon verdiği görüldü. (Şekil 3.13.C-D).



Şekil 3.13: A. Dalakta diffuz yayılmış pleomorfik, genellikle büyük hücreli, kaba kromatin yapılı neoplastik hücreler. HE. Bar=50µm B.Mitotik aktivitenin yüksek olduğu alandaki (oklar). Dalakta kronik kanama sonrasında oluşan hemosiderin pigmentleri (Ok başları). HE. Bar=50µm C. Şekil 3.13A'daki dokunun neoplastik hücrelerin iba-1'e verdiği pozitif reaksiyon. Bar=200µm. D. Şekil 3.13B'deki hücrelerin Iba-1'e verdiği pozitif reaksiyon. Bar=200µm

İncelenen diğer vakanın dalak dokusunda çok geniş alanlara yayılmış hematomlar ve kanama alanları dikkati çekti. Dalağın geniş bir bölümünde normal yapısının yerini kanama alanlarına bıraktığı görüldü. Beyaz ve kırmızı pulpanın bulunduğu alanlarda EMH görüldü. Küçük bir alanda neoplastik hücrelere rastlandı (Şekil 3.14.A). Bu alandaki neoplastik hücreler büyük, yuvarlak ve pleomorfikti. Genellikle tek çekirdekli olan hücrelerde anizositoz ve anizokaryoz belirgindi. Çekirdek sitoplazma oranı büyük, çekirdekçik belirgin ve büyüktü. Benzer özellikteki hücrelere lenf dokularında da rastlandı fakat lenf yumrusundaki neoplastik hücrelerde çok çekirdekli hücrelere daha fazla rastlandı. Mitozun da daha fazla olduğu anormal büyük hücreler görüldü. Hücrelerin lenf dokusunda organ mimarisini bozarak yer yer kavernler oluşturduğu görüldü (Şekil 3.14.B).

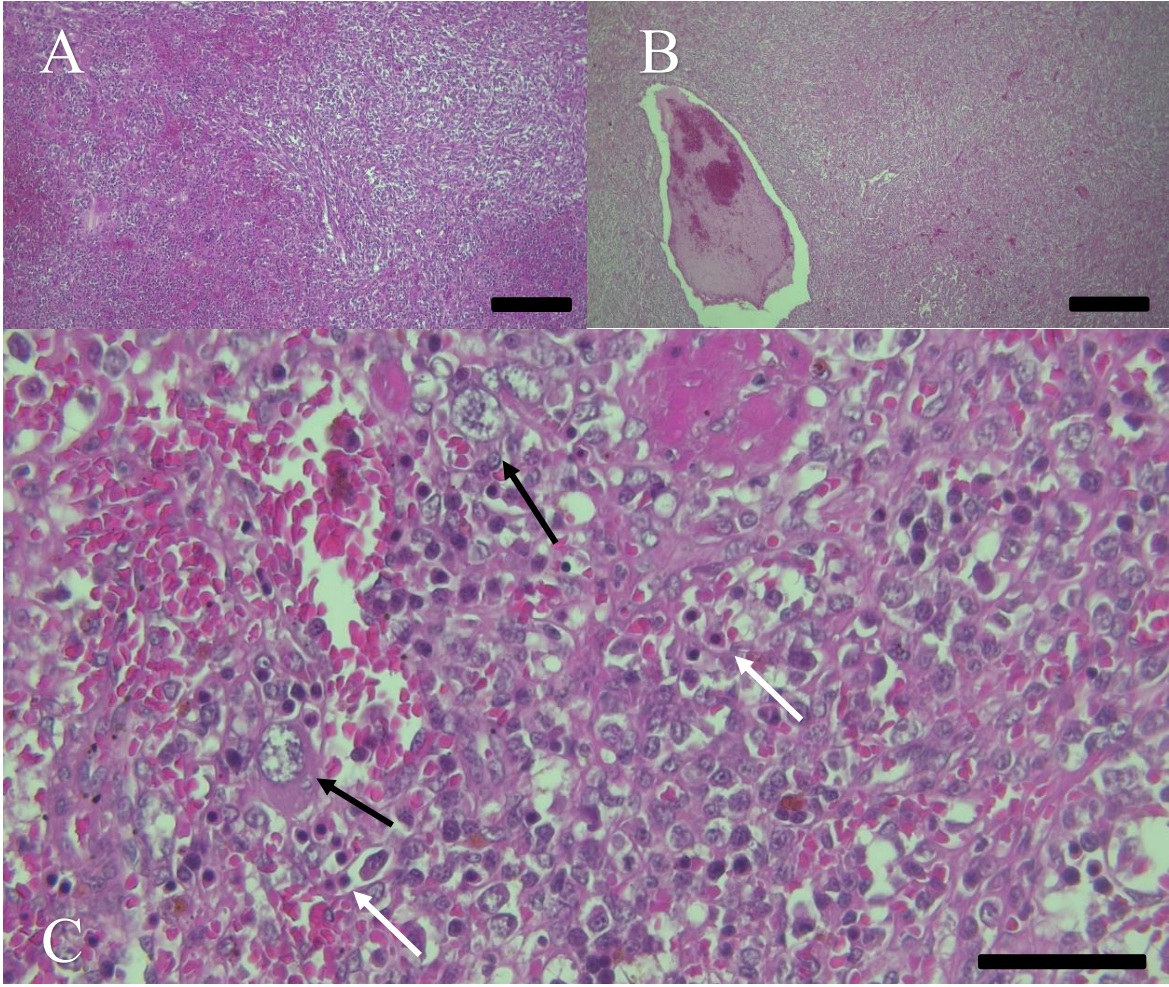


Şekil 3.14: Histiositik sarkomun dalak ve lenf üzerindeki histopatolojisi A. Kanamanın hakim olduğu dalakta, neoplastik histiositlerin küçük bir alanda yerleşimi (siyah ok). HE. Bar=200µm. B. Aynı vakaya ait komşu lenf nodlarında bulunan neoplastik histiositlerin daha diffuz yayılımı (beyaz ok). HE. Bar=50µm.

3.1.4. Stromal Sarkom

Stromal sarkomlar neoplastik dalak lezyonları arasında %14,29 görülme oranı ile lenfomadan sonra en sık karşılaşılan üçüncü tip neoplazilerdendi.

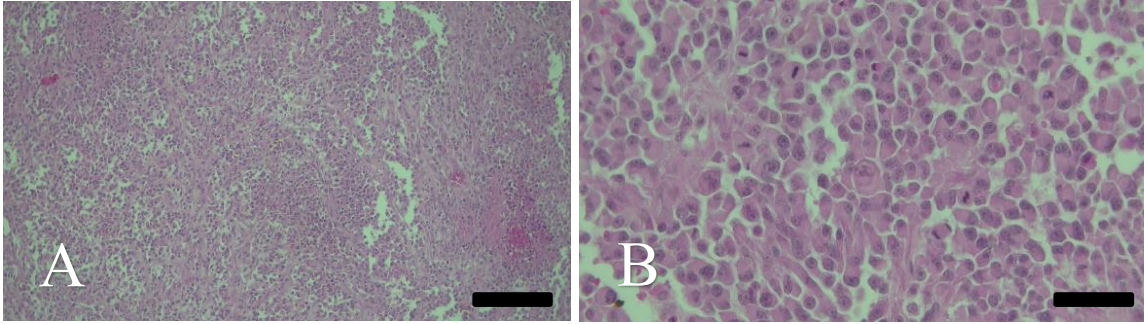
İki olgudan birinde 9x9x15 cm ve 8x9x16cm boyutlarında birer adet kitle tespit edildi. Kitlelerin kesit yüzeylerinde kanamalar görüldü. Kitleler yapı olarak birbirine çok benzerlik göstermekteydi. Mikroskopik incelemelerde geniş neoplastik alanlardaki pleomorfik yapıda olan iğsi hücrelerde çekirdek sitoplazma oranı büyük olup, bu hücrelerde anisositoz, anizokaryoz ve makronüklei gibi malignite kriterlerini gösteriyordu. Bu alanlarda kırmızı ve beyaz pulpa tamamen ortadan kaybolmuştu (Şekil 3.15.A). Bazı alanlardaki neoplastik hücreler ise yuvarlak ovale yakın bir görünümdeydi. Bu alanda çok çekirdekli hücreler, dev hücreler daha sık görülüyordu (Şekil 3.15.C). Hücre aralarında kanama ve hemosiderin pigmentleri içeren makrofajlar bulunuyordu. İncelenen bölgedeki damarlarda tromboz bulunuyordu (Şekil 3.15.B). Bazı alanlarda EMH görüldü.



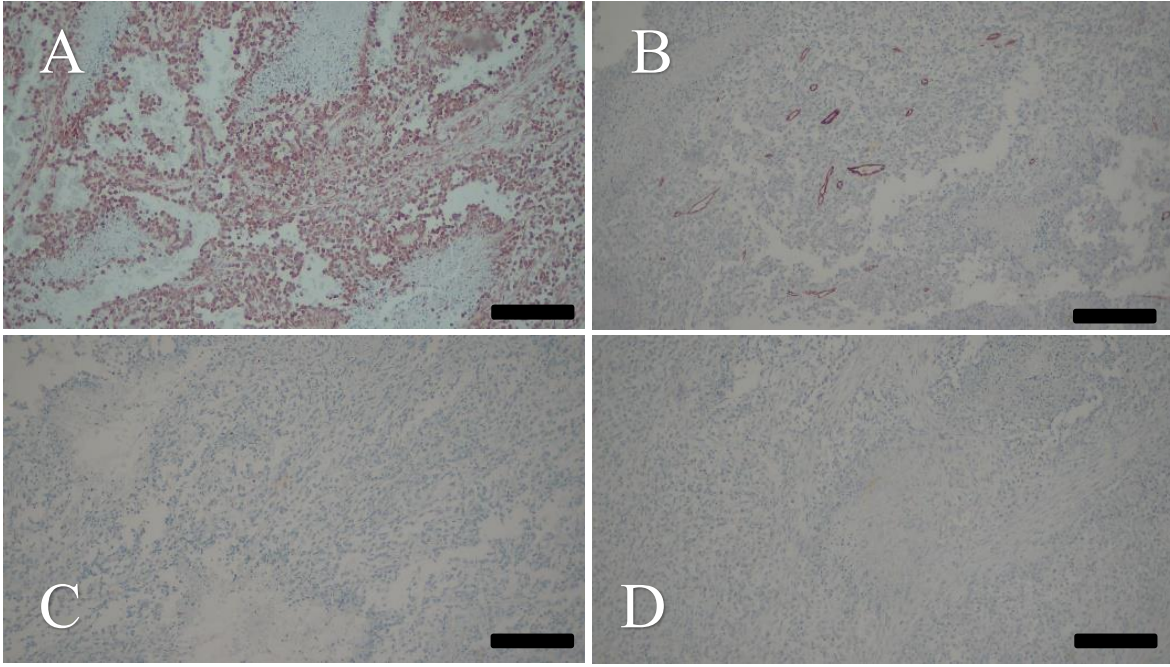
Şekil 3.15: Dalak stromal tümörlerin histopatolojik görünümü. A. İğsi neoplastik hücrelerin bulunduğu, beyaz ve kırmızı pulpanın ortadan kaybolduğu tümör alanı. HE. Bar=200µm. B. Damarda bulunan tromboz. HE. Bar=200µm. C. Neoplastik hücrelerin yuvarlak ovoid yapıda olduğu, pleomorfizm anizositoz, anizokaryoz sergileyen hücreler. Dev çekirdekli hücreler (siyah ok). Eritroid seriye ait hücrelerin hâkim olduğu EMH tablosu (beyaz ok). HE. Bar=50µm.

Diğer olguda halsizlik ve kusma şikayetleri bulunan 10 yaşlı bir köpeğin kontrolleri sırasında kranial abdomende fark edilen boyutları 8x10x4 cm olan dalak ilişkili kitlenin operasyonu gerçekleştirildi. Bu kitleye ek olarak dalak üzerinde birden fazla küçük boyutlarda kitleler görüldü. Mikroskopik incelemede tümör dokunun sınırı belirli değildi. Bazı alanlarda geniş nekroz ve kanama alanları bulunuyordu. Tümörün etkilediği alanlarda

beyaz ve kırmızı pulpa tamamen kaybolmuştu. Neoplastik iğsi, yuvarlak hücreler pleomorfizm, anizositoz, anizokaryoz, makronüklei, çok çekirdeklilik gibi malign karakterlerin çoğunu gösteriyordu. Çekirdek sitoplazma oranı büyük, bazı hücrelerde çekirdek oldukça büyük, çekirdekçik belirgin ve kaba kromatin yapıdaydı. Mitotik aktivite oldukça yüksekti (Şekil 3.16A-B). Alandaki kanama alanlarında bazı eritrositlerin makrofajlar tarafından fagosite edildiği görüldü, kronik kanama alanlarında ise hemosiderin pigmentlerine rastlandı. Yapılan IHC incelemesi sonucunda neoplastik hücreler vimentin'e şiddetli pozitif reaksiyon verirken, CD31, MNF ve s100'e negatif reaksiyon verdi (Şekil 3.17.A-D).



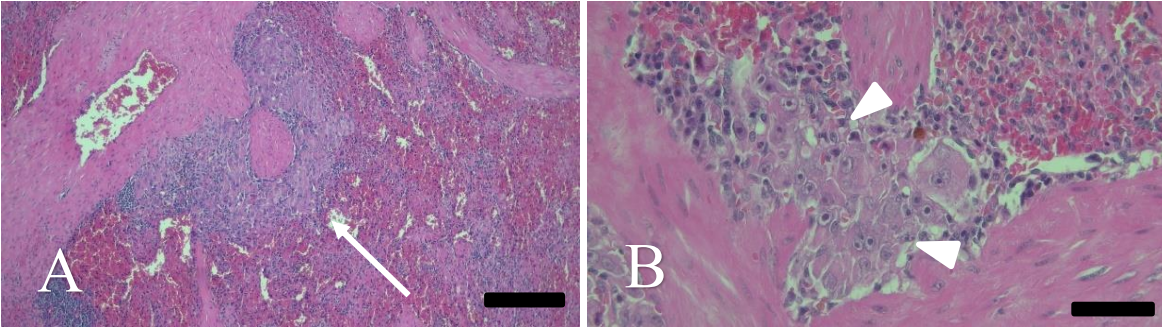
Şekil 3.16: Stromal sarkomun histolojisi ve mitotik aktivitenin görünümü A. Sınırları belirli olmayan neoplastik mezenşimal hücrelerin düzensiz dağılımı. HE. Bar=200µm. B. Pleomorfik, anizositoz, anizokaryoz ve nükleer malignite kriterleri gösteren neoplastik hücreler ve mitotik aktivitenin yüksek olduğu alana ait görüntü. HE. Bar=50µm.



Şekil 3.17: Şekil 3.15'te histopatolojik incelemesi bulunan hücrelerin IHC olarak incelenmesi. A. Vimentin pozitif reaksiyon veren neoplastik hücreler. B. CD31'e tümör hücrelerin verdiği negatif yanıt, damar çevresindeki damar endoteline ait hücrelerde gözlenen pozitif reaksiyon. C. MNF ve D. S100'e karşı oluşan negatif immün yanıt. Bar=200µm.

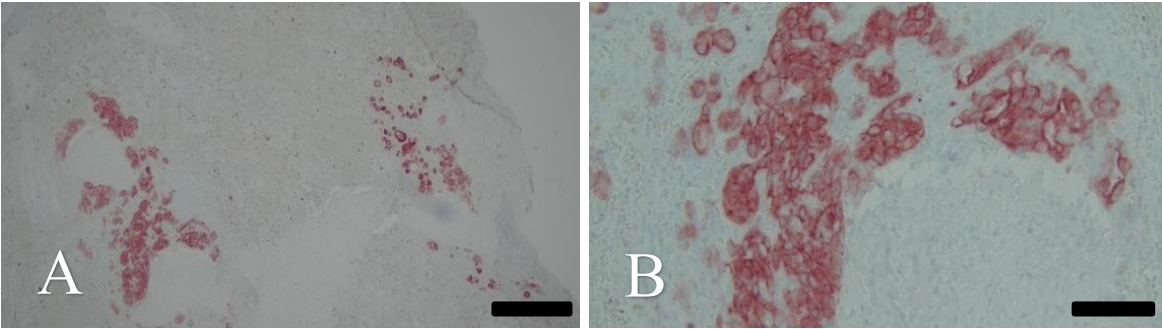
3.1.5. Dalağa Metastaz

Sekiz yaşlı erkek bir köpeğe ait dalak incelenen bir dalak dokusunda diffuz kanama alanları görüldü. Beyaz pulpada hafif atrofi dikkati çekti. Dalak kapsülünü yakın alanda, beyaz pulpaya komşu ve kırmızı pulpada neoplastik hücre grupları görüldü (Şekil 3.18.A). Tümör hücreleri pleomorfik, büyük, anizositoz ve anizokaryoz malign karakteri sergiliyordu. Hücrelerin sitoplazmaları eozinofilik ve çekirdekleri büyüktü. Çekirdekçik kaba kromatin yapılı, çekirdekçik bazı hücrelerde oldukça büyüktü ve birden fazla çekirdekçiklerin görüldüğü hücreler bulunuyordu (Şekil 3.18.B).



Şekil 3.18: Dalak metastazının histopatolojik görünümü. A.Trabekül civarındaki neoplastik epithelial hücreler (beyaz ok). HE. Bar=200µm. B. Pleomorfizm gösteren, büyük hücreli, anizositoz ve anizokaryoz kriterlere sahip, çekirdekçiği büyük ve belirgin neoplastik hücreler (ok başı). HE. Bar=50µm.

Bu tümör hücre gruplarının sitokeratin markerı olan MNF 116'ya pozitif reaksiyon vermesi sonunda hücre gruplarının karsinom metastazına ilişkin olduğu düşünüldü (Şekil 3.19.A-B).



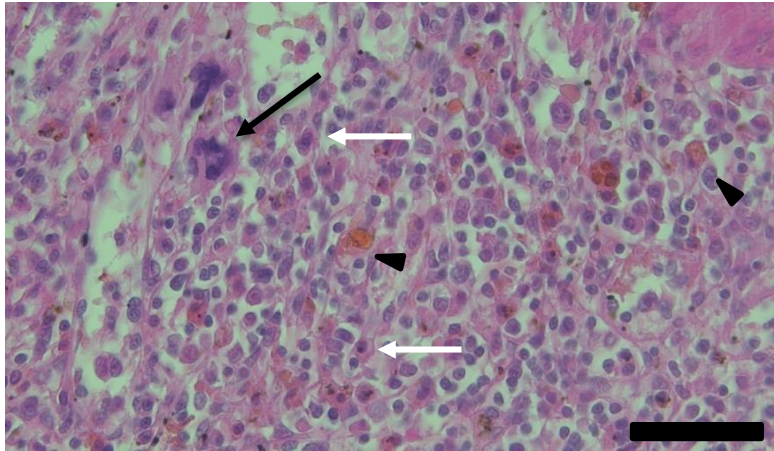
Şekil 3.19: Dalak metastazının MNF boyaması. Neoplastik epitel kökenli neoplastik hücrelerin MNF116'ya verdiği pozitif reaksiyon. A. Küçük büyütme. Bar=200µm. B. Büyük büyütme Bar=50µm.

3.2. Neoplastik Olmayan Dalak Lezyonları

3.2.1. Ekstramedullar Hematopoezis

İncelenen dalak dokularında EMH'ler sık karşılaşılan non-neoplastik bulgulardı. Neoplastik oluşumlarda da çoğunlukla EMH'lere ile karşılaşıldı fakat bu bölümde neoplastik olmayan EMH'ler değerlendirildi. EMH incelenen dokularda tek başına bir değişiklik olarak görülmedi. Hematom ile 10; lenfoid hiperplazi ile 5; hematom, lenfoid hiperplazi ve EMH'nin birlikte 26 adet vakada gözlemlendi. Vakalar makroskopik olarak tek bir kitle halinde veya diffuz splenomegali görünümündeydi.

Mikroskopik incelemede kırmızı pulpada yaygın bir şekilde dağılmış eritroid veya myeloid seriye ait hücreler görüldü. Vakaların tümünde megakaryositler bulunuyordu fakat sayısı ve yoğunluğu değişiklik gösteriyordu. Hücreler arasında dağılmış hemosiderin pigmentleri içeren makrofajlar bulunuyordu (Şekil 3.20). Kırmızı pulpada genellikle kanama odakları mevcuttu.



Şekil 3.20: EMH bulunan bir dalakta megakaryositler (siyah ok), eritroid seri hücrelerinin yoğunlukta olduğu hematopoez (beyaz ok), hemosiderin pigmentleri (ok başı). HE. Bar=50µm.

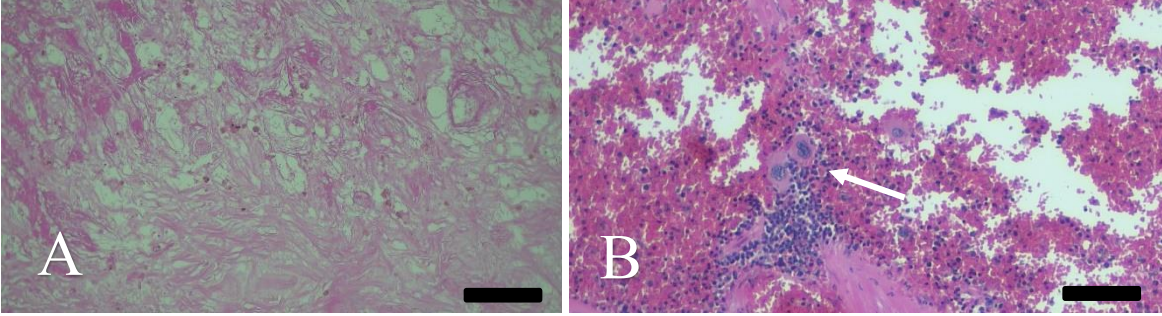
3.2.2. Hematom

Dalakta hematomlar oldukça yaygın olup diğer değişiklerle birlikte toplamda 60 adet vakada rastlandı. Tek başına 11 vakada, Lenfoid hiperplazi ile 13 vakada, EMH ile 10 vakada ve EMH, lenfoid hiperplazi ile 26 vakada görüldü. Bazı vakalarda tek kitle olarak rastlandı. Kitle yüzeyi düzgün, tam bir küre şeklindeydi. Fibröz bir kapsülle çevirili olan kitlenin yüzeyi kırmızı, kahverengi ve koagule bir kitle halinde olup bazı alanlar ise koyu mor renkteydi (Şekil 3.21). Kitlelerin boyutları değişkenlik gösteriyordu. Henüz ruptüre olmamış dalaklarda rutin kontroller sırasında veya tesadüfi olarak tespit edildi. Oldukça büyük boyutlara ulaşabilen hematomlar yüzey geriliminin artmasına bağlı yırtılma sonrasında sistemik dolaşımdaki ani kan kaybına bağlı hipovolemik şok tablosu ile tanısı konuldu. Bazı vakalarda omentumun yırtılan bölgeyi tamponlayarak kanamayı durdurduğu görüldü. Dokuların kesit yüzeyleri kanlı, yumuşak kıvamlı, kimi zaman gevrek kıvamdaydı.



Şekil 3.21: Dalak üzerinde bulunan hematomun operasyon görüntüsü (Vet. Hek. Erman PEKTEZEL Vtm hayvan hastanesi operasyon görüntüsünü paylaştığı için teşekkürler).

Mikroskopik incelemelerde dalak dokusu tam olarak ayırt edilemiyordu. Geniş alanlarda organize olmuş kanama alanları bulunuyordu. Kanama alanlarında fibrin ağlarına rastlandı. Bazı organize olmuş alanlarda fibröz doku arasında makrofajlar tarafından fagosite edilmiş hemosiderin pigmentlerine ve eritrositlere rastlandı (Şekil 3.22.A-B).



Şekil 3.22: Dalak üzerindeki hematoma histopatolojik görüntüsü. A. Organize olmuş bir hematoma kitlesinin kesitinde fibrin ağları arasında lize olmuş eritrositler, eritrosit ve hemosiderin içeren makrofajlar B. Normal dalak dokusunu görünümünün kaybolduğu, eritrositlerin geniş alanlara yayıldığı megakaryositlerin sayıca artmış (beyaz ok) olduğu EMH tablosu. HE. Bar=200µm.

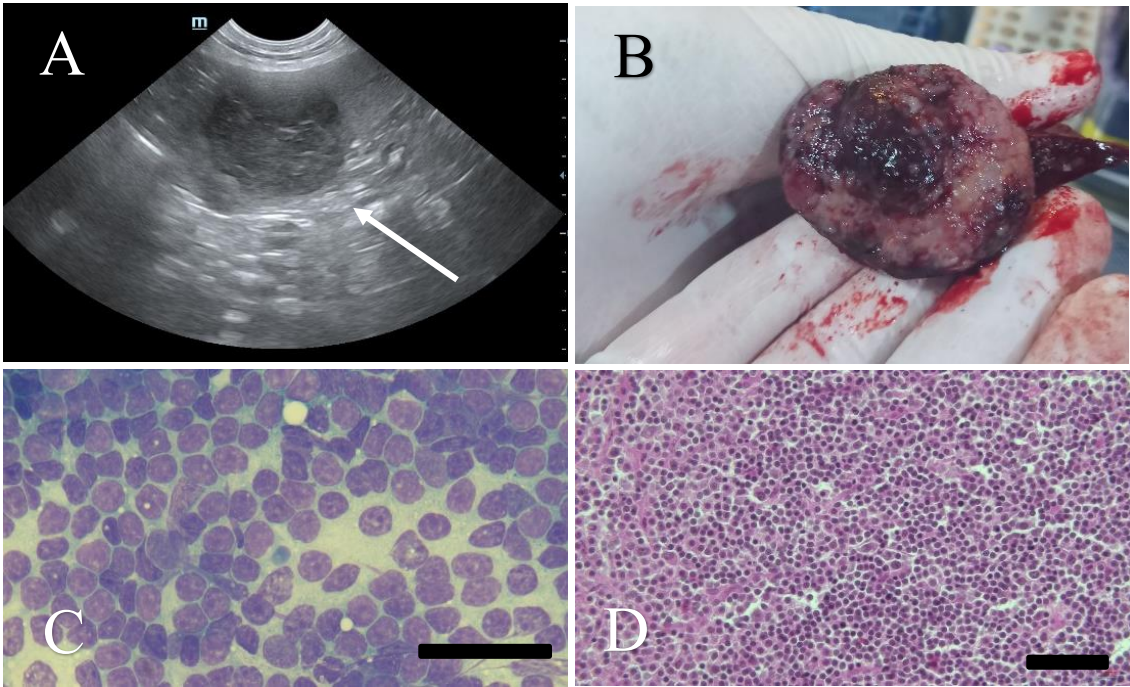
3.2.3. Lenfoid Hiperplazi

Dalakta 45 olguda lenfoid hiperplazi tespit edildi. Lenfoid hiperplaziler neoplastik olmayan lezyonlar içinde ikinci sırada yer alıyordu. Vakalardaki hiperplaziler dalağa diffuz olarak dağılmış veya nodüler olarak bir odak halinde bulunuyordu. Tespit edilen kitleler genel kontrol muayeneleri sırasında veya bir başka hastalığın sebep olduğu şikayetlerin araştırılması sırasında rastlantısal olarak tespit edilen kitlelerdi. Lenfoid hiperplazilerde hematomlarda olduğu gibi kitle rupturuna rastlanmadı.

Ultrasonografik muayenelerde tespit edilen lokal veya diffuz kitlelerin incelenmesi sonucunda, nodüler olanların kesit yüzleri boz renkli ve yumuşak kıvamdaydı. Nodüler

hiperplazilere çoğunlukla hematoma eşlik ediyordu. Diffuz olan vakalarda dalak genelinde bir splenomegali mevcuttu.

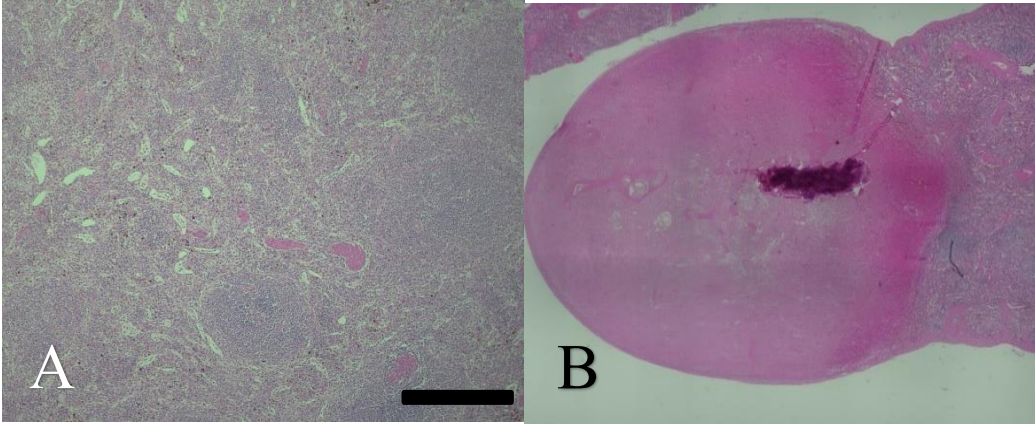
İncelenen bir dalağa ait ultrasonografik incelemede sınırları belirgin bir alanda ekojenite farkı dikkati çekti (Şekil 3.23.A). Makroskobik olarak kitlenin kesit yüzü boz beyaz renkteydi (Şekil 3.23.B). Sitolojik incelemesinde lenfositten zengin hücreler monomorf yapıda, mitotik aktivenin düşük olduğu, çekirdek detayında hafif belirgin erişkin lenfositlerden oluştuğu görüldü (Şekil 3.23.C). Histopatolojik incelemelerde neoplastik olmayan monomorf karakterde sayıca artmış küçük boyutlu lenfositler görüldü (Şekil 3.23.D).



Şekil 3.23: Lenfoid hiperplazinin USG, makroskobik, sitolojik ve histolojik görünümü. A. Dalak üzerinde 4,35x 3,19 cm boyutlarında heterojen, hipoekoik kitle (beyaz ok). B. Kitlenin kesit yüzü üzerinde çevresi beyaz renkli ve ortasında kanama bulunan odak. C. Kesitten alınan sitolojik incelemede sayıca artmış monomorf karakterli, küçük, dar sitoplazmalı, çekirdek detayı

hafif belirgin, mitoz rastlanmayan hücreler. HE. Bar=50 μ m. D. Histolojik kesitte; monomorf yapılı, küçük hücreli lenfositlerin hâkim olduğu, az sayıda mitoz bulunan, lenfoid hücreler. HE. Bar=50 μ m.

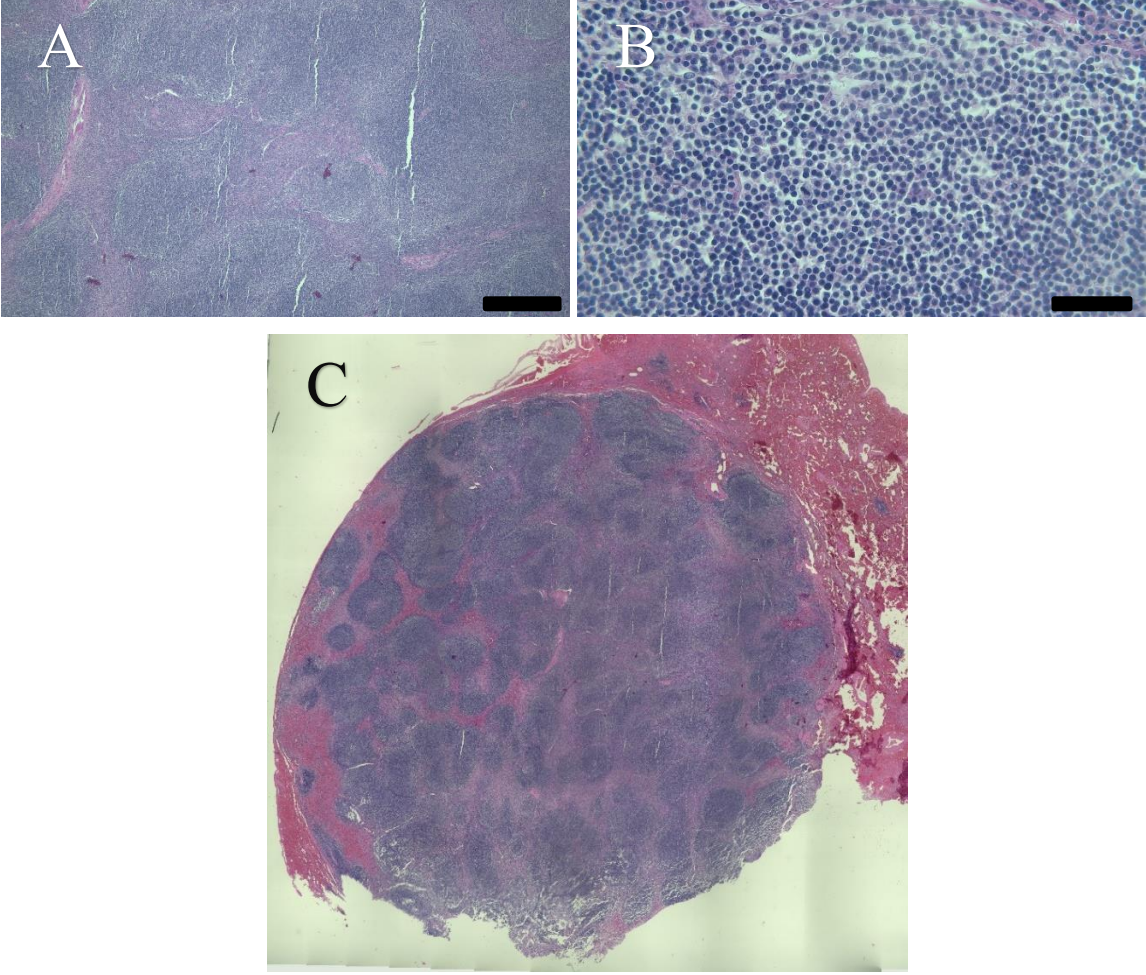
Fokal hiperplazinin bulunduğu diğer bir vakada incelenen örnekte lenfoid hiperplazinin dalağa diffuz yayılmış, özellikle damar çevrelerinde oluştuğu görüldü (Şekil 3.24.A). Fokal olarak bulunan hiperplazik alanın histolojik incelemesinde hematomdan oluşan kitlenin ortasında nekroz bulunan organize olmuş kanama alanı görüldü (Şekil 3.24.B). Eritroid serinin hâkim olduğu EMH ve bol miktarda hemosiderin pigmenti içeren alanlar bulunuyordu.



Şekil 3.24: A. Dalağın geneline diffuz yayılmış, damar çevrelerindeki lenfoid alanlarda oluşan hiperplazi. HE. Bar=500 μ m. B. Dalağın yüzeyinde oluşan hematomun neden olduğu fokal hiperplazi. HE.

İncelenen farklı bir dalak dokusunda organın sınırında oluşan çevresi kapsül ile çevrelenmiş fokal hiperplazinin nodüler lenfoid hiperplazi ilişkili olduğu tespit edildi. Bir cm çaplı, sınırları belirgin yuvarlak kitlenin etrafı geniş kanama alanları tarzında hematom ile çevrelenmişti. Kitlenin histopatolojik olarak incelemesinde Lenfositler orta büyüklükte,

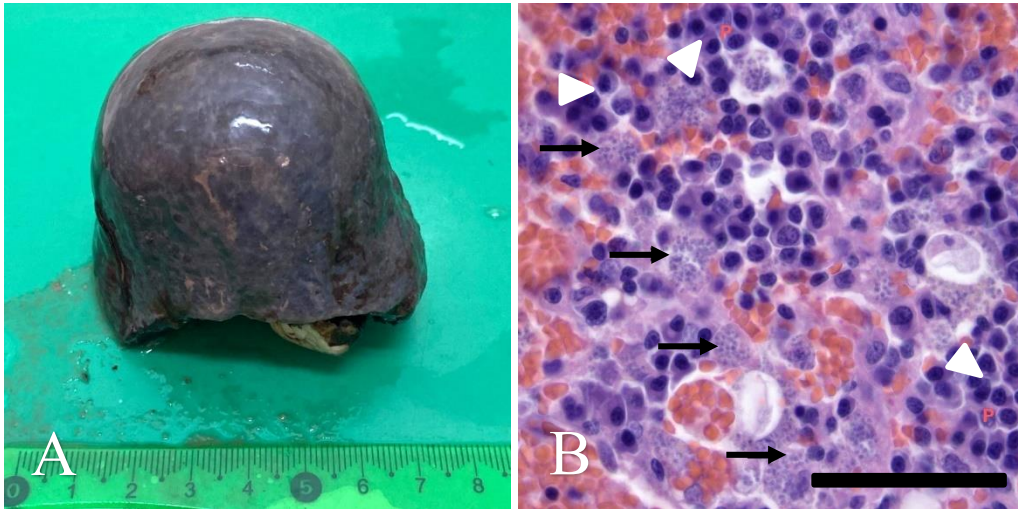
sayıca artmış, mitotik aktivesi düşük ve geniş alanlara yayılmıştı kaplıyordu (Şekil 3.25.A-C).



Şekil 3.25: A. Dalak sınırında yer alan 1cm çaplı lenfoid hiperplazik alan. Hiperplazik nodulun etrafında hematom ve kanama alanları. Nodülün etrafı ince fibroz doku ile çevrelenmiş. HE. Bar=500µm. B. Genişlemiş lenfoid foliküller arasında neredeyse kırmızı pulpaya ait alan bulunmuyor. Lenfositler sayıca artmış ve foliküller birebirlerine dayanmış. Küçük büyültme. HE. Bar=50µm. C. Atipi göstermeyen monomorf, orta büyüklükteki lenfositlerden oluşan folikül.

3.2.4. Leishmaniazis

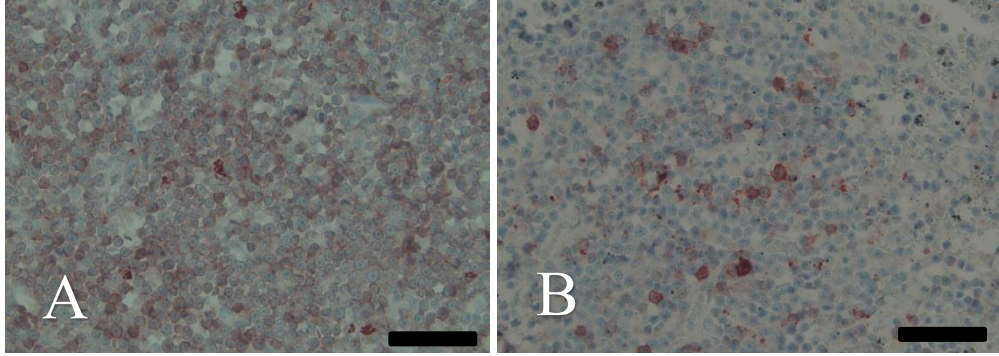
İncelenen iki adet leishmania vakasının birinde dalak üzerinde 7cm çaplı taşkınlık gösteren kitle (Şekil 3.26.A) bulunmaktaydı. Bu kitlenin kesitinin mikroskopik incelemesinde yer yer kanama alanlarına rastlandı. Lenfositlerin boyutları küçük-orta büyüklükte olup monomorf yapıda ve sayıca geniş alanlara yayılmış haldeydi. Mitotik aktivite hafif düzeydeydi. Dalakta diffuz olarak makrofajlarda artış görüldü. Makrofajlarda intrastoplazmik 2 µm çaplı yuvarlak kinetoplastlara rastlandı (Şekil 3.26.B). İki vakada da dalak kapsülünde lenfosit infiltrasyonlarının olduğu görüldü.



Şekil 3.26: Leishmaniazis etkenlerinin dalakta görünümü. A. Dalak üzerinde taşkınlık gösteren leishmania etkeninin sebep olduğu hiperplazi. B. Leishmania etkenini fagosite etmiş makrofajların yoğun bulunduğu alan (Siyah ok). Makrofajların etrafına yangıya plazma hücreleri (Beyaz ok başı) eşlik ediyor. HE. Bar=50µm.

Diğer leishmania vakası lenfoma ile eş seyirliği olduğundan immunohistokimyasal inceleme sonucunda geniş alanlarda CD3 pozitif reaksiyon (Şekil 3.27.A) ve bazı alanlarda

seyrek olarak CD20 pozitif reaksiyonlar vermiş olsa da incelenen doku genelinde negatif immun reaksiyon vermiştir (Şekil 3.27.B). Hastaya T tip lenfoma tanısı konulmuştur.



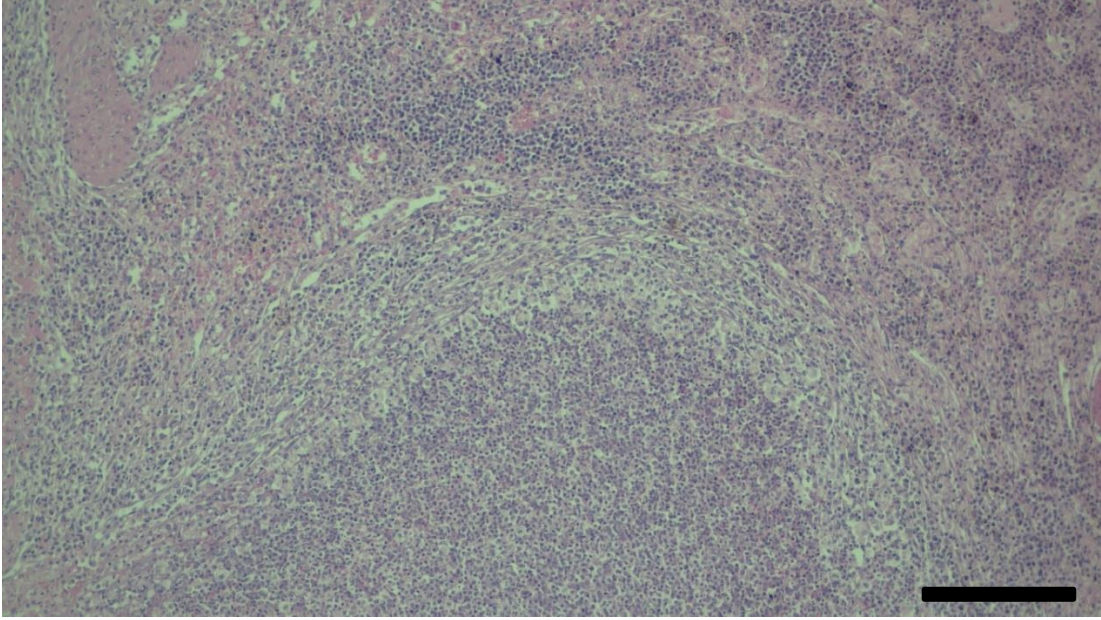
Şekil 3.27: Leishmania ve T hücreli lenfomanın İmmunohistokimyasal incelenmesi
A. CD3 pozitif reaksiyon gösteren neoplastik lenfositler. Bar=50µm. B. Aynı vakada CD20 negatif reaksiyon gösteren lenfositler. Bar=50µm.

3.2.5. Splenitis

İncelenen 3 vakada dalak yüzeyinde makroskobik olarak gözlenen hafif taşkınlık gösteren kitlelerin kesit yüzlerinin kahverengi siyah renkte olduğu görüldü.

Kitlelerin mikroskobik incelemesinde üç vakada da geniş nekrotik alanlar ile nötrofil lökositlerin ağılıkta olduğu, piknotik hücrelerinde yer aldığı yangı alanı görüldü. Yangının etrafında bir vakada ince bir fibröz kapsül ile çevriliydi. Çevre dokuda interstisiyel kanama ve hafif ödem görüldü. Bir vakada hematoma alanı hâkim ve hemosiderin pigmentleri de yoğunlukta idi. İkinci vakada ise lenfoid hiperplazi alanları bulunuyordu.

Üçüncü vakada dalak üzerindeki lezyon pyometra operasyonu sırasında rastlantısal olarak fark edildi. Bu vakada diğer vakalardan farklı olarak dalak kapsülünün lezyona komşu olan kenarında incelme, yırtılma noktasına geldiği görüldü (Şekil 3.28).



Şekil 3.28: Nötrofil lökositler yoğunlukta olmakla birlikte alanda makrofajlarda bulunuyordu. Nötrofillerde piknoz görüldü. Yangı hücrelerinin etrafı iğsi hücrelerden oluşan bir band ile çevriliydi. Kapsül çevresindeki dokuda hafif derece interstisiyel ödem ve kanama mevcuttu. HE. Bar=200µm.

4. TARTIŞMA

Kanser vakaları insanlarda olduğu gibi kedi ve köpeklerde de yaşamı etkileyen önemli patolojilerdendir. Bazı araştırmacıların yaptığı incelemelerde kedi ve köpeklerdeki en önemli ölüm sebeplerinden biri kanser vakaları olarak görülmüştür (MacEwen, 1990; Sarver vd., 2022). Köpeklerde tümörlere insanlara oranla iki kat daha fazla sıklıkla rastlanmaktadır. Kedilerde bu oran insanların yarısı kadardır (MacEwen, 1990). Kedi ve köpeklerin yaşam süresinin uzaması tümör görülme sıklığını arttırmış olabilir (Sarver vd., 2022). Tümör vakalarının tespit edilmesindeki artış, konu ile ilgili yapılan çalışmalar ile tanı ve tedavi yöntemleri üzerine yapılan araştırmaların artmasına paralellik göstermiştir. Tümör görülme sıklığı ile ilgili yapılan çalışmalarda küçük değişikliklerle göstermiş olsa da sırasıyla meme tümörleri, osteosarkomlar, deri tümörleri ve hematopoetik tümörler sık görülenler arasındadır (MacEwen, 1990). Yapılan bir çalışmada 2000 ile 2010 yılları arasında incelenen 9085 adet köpek dokusundan 179 tane ve %2'lik bir oranda dalak lezyonları yer almaktadır (Bandinelli vd., 2011). Colorado eyalet üniversitesi veteriner tanı laboratuvarına başvuran köpek vakalarının yaklaşık %1,6'sı dalak hemanjiosarkom ve hematomları olduğu görülmüştür (Cole, 2012).

Araştırılan 224 dalak vakasında yapılan çalışmada %49,55'i neoplastik ve %50,45'i neoplastik olmayan olarak kitleler olarak görülmüştür (Figueiredo vd., 2019). Diğer bir çalışmada 500 vakada %48,2'si neoplastik ve %51,4'ü neoplastik olmayan (Spangler ve Kass, 1997), 539 köpeğin bulunduğu bir araştırmada %55,66'sı neoplastik ve %42,67'si neoplastik olmayan lezyonlara rastlanmıştır (Wendelburg vd., 2014). Benzer bir çalışmada 179 vakada %69,3'ü neoplastik ve %30,6'sı neoplastik olmayan lezyon oranları görülmüştür (Bandinelli vd., 2011). Bandinelli vd. (2011)'nin çalışmasında literatür ile karşılaştırıldığında diğer araştırmalara göre daha neoplastik lezyonlar daha yüksek bir orana sahip olduğu görülmüştür. Köpek kilolarının dalak kitleleri ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada 15 kg'dan küçük 370'te 1cm'den büyük lezyonlar bulunan dalak numuneleri

incelenmiş ve %56 neoplastik ve %44 neoplastik olmayan lezyonlar bulunmuştur (Fernandez vd., 2019). Diğer köpek ağırlığı ve dalak lezyonlarının araştırılışı bir çalışmada 2005 ile 2011 arasında 45 adet 16 kg'dan küçük köpeklere ait lezyonlar incelenmiş, bu vakaların %47'si neoplastik ve %53'ünün neoplastik olmayan lezyonlar olduğu tespit edilmiştir (Corbin vd., 2017). Corbin vd. (2017) ve Fernandez vd. (2019)'nin küçük ırk köpeklerdeki inceleme sonuçlarının bizim ve diğer araştırma sonuçlarının aralığında olduğu görüldü. Bu durum neticesinde ırk boyutlarının ve kilonun sonuçları çok etkilemediği düşünüldü. Kore'de yapılan 137 vakaya ait dalak kitlelerinin incelendiği bir çalışmada görülen %27,7'si neoplastik ve %72,3'ü neoplastik olmayan dalak lezyonlar olduğu saptanmıştır (Ko vd., 2023). Bizim çalışmamızda incelenen 101 adet vakada gözlenen %34,66 neoplastik ve %65,35 neoplastik olmayan lezyonlarla karşılaştırıldığında Ko vd. (2023)'nin bulmuş oldukları neoplastik lezyonların oranından göre yüksek, diğer araştırmacıların çalışmaları ile karşılaştırıldığında neoplastik lezyonlara ise daha az oranda rastlandığı görülmüştür.

Neoplastik dalak lezyonları arasında yapılan birçok çalışmada hemanjiosarkomların köpek dalaklarında en sık görülen tümörler olduğu görülmüştür. Splangler ve Culbertson (1992) 1480 vakadan oluşan çalışmasında tüm dalak lezyonlarına oranlandığında %11,41 ile en çok hemanjiosarkomları gözlemlemişlerdir. Figueiredo vd. (2019) yaptıkları çalışmada neoplastik dalak lezyonlarından %52,25'inin hemanjiosarkom olduğunu ifade etmişlerdir. Bandinelli vd. (2011) %65,8, Spangler ve Kass (1997) %51, Corbin vd. (2017) %67, Wendelburg vd. (2014) %76, Spröhnle-Barrera vd. (2022) %56,2, Fernandez vd. (2019) %54, Davies ve Taylor (2020) %66, Ko vd. (2023) %36,84 değerlerini bulmuşlardır. Hemanjiosarkoma bizim bulgularımızda toplam dalak vakalarının %16,83'ünü, neoplastik dalak lezyonlarının ise %48,57'ini oluşturmaktaydı. Hemanjiosarkomların neoplastik dalak kitlelerinde görülme oranları, bizim çalışmamız da dahil edildiğinde küçük farklıklar gösteriyor olsa da yapılan bütün çalışmalarda en sık görülen neoplastik tümörler olduğu görüldü. Johnson vd. (1989)'nin bahsettiği "*çift ikide üçler kuralı*"na göre dalak kitlelerinin 2/3'ü neoplastik lezyonlardan ve neoplastik lezyonlarında 2/3'ü

hemanjiosarkomlardan ibaret olabilir. Ko vd. (2023)'de çalışmasında bahsettiği oranlar ve bizim çalışmamızdaki bulgular Johnson vd. (1989)'da bahsettiği *çift ikide üçler kuralına* uymamaktadır.

Hemanjiosarkomların görüldüğü yaş aralığı, çalışmaların çoğunda 10 veya 10'a çok yakın yaş aralıkları olarak bulunmuştur (Bandinelli vd., 2011; Cole, 2012; Figueiredo vd., 2019; Davies ve Taylor, 2020; Müller, 2022; Spröhnle-Barrera vd., 2022). Bizim çalışmamızda hemanjiosarkom görülme yaşı 11 olarak ortalamanın üzerinde bulunmuştur.

Yapılan bazı genetik çalışmalarda hemanjiosarkomlu hayvanlarda görülen TP53'deki somatik mutasyonlar ile SETD2 ve NOTCH1 gibi germ hattındaki varyasyonların ırklara göre görülme oranını ve hastanın yaşam ömrünü etkilediği görülmüştür (Megquier vd., 2019; Estabrooks vd., 2023). Köpek ırkları hakkında yapılan bazı çalışmalarda hemanjiosarkomlara Labrador, Alman çoban köpeği ve Golden Retriever gibi ırklarda sık rastlandığı belirtilmiştir (Cole, 2012; Davies ve Taylor, 2020; Müller, 2022). Güney Amerika ülkelerinde yapılan çalışmalarda ise dalak lezyonlarının Poodle, Shih Tzu ve Terrier, Rottweiler ve Cocker Spaniel gibi ırklarda tanımlanmıştır. Bazı çalışmalarda ise en sık melez ırklarda gözlenmiştir (Bandinelli vd., 2011; Figueiredo vd., 2019). Bizim çalışmamızda ise en çok Golden Retriever, melez ırklar ve Cocker Spaniel ırklarında gözlenmiştir. Bizim incelediğimiz vakalarda, ırk popülaritesi ülkemizde yüksek olan Golden retriever ırkında en fazla hemanjiosarkom görülmesi Cole (2012)'nin yaptığı çalışmada 15-25 yıl öncesine göre dalak kitlelerinin hayvan ırklarının popülaritesine göre ve yaşadığı coğrafi konuma göre farklılıklar gösterebilmesine ilişkin olabilir.

İncelediğimiz neoplastik dalak lezyonlarında hemanjiosarkomlardan sonra en sık rastlandığımız patoloji lenfoma oldu. Spröhnle Barrera vd. (2022)'nin yaptıkları çalışmada %2,2, Zamokas vd. (2016) %8,57, Ko vd. (2023) %8 oranında lenfoma tanısı

koymuşlardır. Çalışmamızda lenfomalar malign neoplaziler arasında %25,71 değere sahipken toplam dalak vakalarında %8,91 oranına sahipti. Bulgularımız önceki araştırmacılar ile yakın değerdeydi. Köpeklerde diffuz büyük B hücreli lenfomalar ve marjinal zon lenfomaların en sık karşılaşılan neoplaziler olduğu görülmüştür (Valli vd., 2016; Hughes vd., 2021). Bizim vakalarımızda da en sık rastlanılabildiğimiz lenfoma tipi %55,55 ile DBBHL'lar olmuştur. Vakalarımız morfolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Morfolojik olarak neoplastik hücreler çekirdek çapının yaklaşık iki katında, dokuda diffuz histopatolojik bir patern göstermekteydi. CD3 negatif ve CD20 pozitif reaksiyon vermektedir. Vakalarda yüksek derece mitozlara rastlandı. DBBHL olmayan lenfoma tiplerini de birbirinden ayırt etmek oldukça zorlayıcı olabilmektedir. MacEwen (1990) yaptığı çalışmada lenfomaların heterojen ve her zaman diffuz olduğundan bahsetmiştir. Araştırmamızda bazı lenfoma vakalarımızda hücrelerde birbirine benzerlik gösteren boy ve şekillerde homojeniteye rastladık. Araştırmamızda ülkemizin çeşitli bölgelerinden topladığımız örneklerde Golden Retriever ve melez ırklarda daha fazla görüldü. Irk yatkınlıkları coğrafi bölgelerde değişkenlik gösterebildiği gibi popülerite ve tanı imkanların ulaşılabilirliği lenfomanın ırk popülasyonundaki oranını etkilediğini düşünmekteyiz. Bu tip değerlendirilmelerin genetik veya coğrafi sebeplerden kaynaklandığını ispatlayabilmek için geniş çaplı örneklerle araştırmalar gerekmektedir.

Cinsiyetin lenfomadaki etkisi üzerine etkisi üzerine yapılan araştırmalarda ortak bir bulgu yer almaktadır. Kısırlaştırılmamış dişilerde lenfoma daha az oranda rastlandığı bildirilmiştir. Nedeni tam olarak açıklanmasa da östrojen reseptör 1'in ilişkisinin lenfoma gelişimindeki hormonal etkisini düşündürmektedir (Villamil vd., 2009; Van Rooyen vd., 2018). Araştırmamızda dişi köpeklerde erkeklerden iki kat fazla lenfoma vakasına rastlandı. Fakat kısırlaştırma ile ilgili bilgiler değerlendirilmemiştir. İncelediğimiz dalak dokularında primer dalak indolent lenfomalarına rastlamadık. Bir vakamızda CD3 ve CD20 pozitif reaksiyon vermektedir. Hastaya lenfoma tanısı konuldu fakat alt tipinde morfoloji ve immunohistokimyanın yeterli olmadığı görüldü. Wilkerson vd. (2005)'nin 59 köpekte lenfoma ve lösemi vakalarının incelendiği bir araştırmada 6 vakanın CD3 ve

CD21 pozitif ko-ekspirasyonundan bahsetmektedirler. Lenfoma sistemik bir hastalık olduğundan dalağın tek başına yorumlanması, lenfoid hiperplaziler ile bazı lenfoma tiplerinin birbirleri ile çok yakın morfolojik, immunohistokimyasal benzerlikler göstermesi, kullanılabilir immunohistokimyasal antikorların sayıca yetersiz olması ve bazı tiplerde tam bir standart oluşturamamış olması, lösemilerin ileri evrelerinde primer odağın tam olarak anlaşılmasından dolayı oldukça zorlayıcı olmaktadır. Splenik lenfomaların yavaş seyirli olması bazı durumlarda asemptomatik olması ve oluşan lezyonun sadece dalak ile sınırlı olduğundan, klinik belirti vermeyen fakat dalakta şüpheli bir lezyon bulunan hastaya splenektomi önerilmesi ve sonrasında tanı konulması sahipli pet hastalarda kolay olmamaktadır.

Leishmaniasis ile lenfomanın birlikte seyrettiği vakamız immunohistokimyasal olarak CD3 (+) ve CD20 (-) reaksiyon vermektedir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada (Porto vd., 2022) Hodgkin's lenfoma ile leishmania hastalıklarının birlikte bulunduğu bir çalışmada CD3 (-) ve CD20 (-) reaksiyon elde eden araştırmacılar lenfomanın sebep olduğu immunsupresyonun endemik bölge olduğundan dolayı leishmania etkenine bir predispozisyon oluşturduğunu düşünmüşlerdir. Bu hipotezin antitezinde leishmania etkeninin yol açtığı kronik stimulanın lenfatik sistemde neoplazilere neden olabileceğini düşünülebilir.

Stromal sarkomlar, anjiomatöz ve lenfomatöz hücrelerden olmayan dalağın stromasında bulunan mezenşimal hücre tümörleridir (Wittenberns vd., 2021; Ferrari vd., 2024). Yapılan çalışmalarda stromal dalak tümörleri primer dalak neoplazilerinin %23 ile %34'ini oluşturabilir (Spangler ve Culbertson, 1992; Ferrari vd., 2024). Ko vd. (2023) yaptıkları çalışmada 137 köpek dalak kitlesi incelemiş ve %7,3 oranında stromal sarkom tanısı koymuşlardır. Bulgularımız neoplastik dalak lezyonlarında stromal sarkomlar %14,29 oranındaydı. Bazı vakalarda morfolojik olarak stromal sarkomlar, hemanjiyosarkomlar ve histiositik sarkomlar benzerlik gösterebilir. Bu gibi durumlarda tümörleri ayırt etmek için

hemanjiosarkom tanısında CD31'in pozitif reaksiyonundan, histiositik sarkom ayrımı için ise Iba-1'in pozitifliğinden yararlanılabilir. Vimentin'in pozitifliği stromal tümörlerin genelinde yardımcı olacak bir diğer antikordur. MNF, S-100, desmin ve SMA stromal tümörlerin kökeninin ayırımında yardımcı olmaktadır. Bir vakamızda vimentin haricinde CD31, MNF ve S100 antikorlarına negatif immun yanıt aldık. Wittenberns vd. (2021) yapmış oldukları çalışmada bizim vakamızda olduğu gibi vimentin pozitif olduğu fakat sonuçlandıramadıkları patolojileri tanımlanamayan stromal sarkomlar olarak değerlendirmişlerdir. Bu tip tümörlerin diferansiye edilebilmesi için immunohistokimyasal antikorların günümüzde yetersizliği bulunmaktadır. Gelecek yıllardaki çalışmaların bu alandaki belirsizliği azaltacağını düşünmekteyiz.

Histiositik sarkomlar köpeklerde dalakta çoğunlukla gözlenir. Dissemine ve hemofagositik sarkomlar sık görülen alt tipleridir. Dalakta lokalize histiositik sarkomda bulunabilir fakat az sayıda rapor edilmiştir (Latifi vd., 2020). Dalakta görünen histiositik sarkom CD34 pozitif prekürsör interstisyel dentritik hücrelerden köken almaktadır (Moore, 2014). Histiositik sarkomların değerlendirildiği ırklara yönelik bir çalışmada 14 köpeğe ait dalakta yapılan bir çalışmada melez ırk, Golden Retriever, Jack Russel Terrier, Yorkshire Terrier, Bouvier Des Flanders, Standart Poodle, Labrador Retriever, Miniature Daschund ve Shih Tzu gibi ırklarda görülmüştür (Latifi vd., 2020). Yapılan diğer bir çalışmada Labrador Retriever, Alman Kurdu ve melez ırklarda dalakta histiositik sarkomların, dissemine formun ise Bernese dağ köpeklerinde ve lokal formun düz tüylü retrieverlarda yaygın olduğundan bahsetmektedir (Spröhnle-Barrera vd., 2022). Araştırmamızda melez ırk, Terrier ve Sibiry Kurdu olmak üzere 3 adet histiositik sarkom vakası bulunmaktaydı. Önceki araştırmalarda incelenen örnek sayısı ve ırkların bu denli geniş bir yelpazeye dağıldığını gördüğümüzden dolayı çalışmamızda dalak histiositik sarkomlarında ırk yatkınlığı yorumu yapılamadı. Oransal olarak histiositik sarkomlar dalak malign neoplazileri arasında %8,57, genel toplamda ise %2,97'lik bir orana sahipti. Vakalarımızda İba-1'e kuvvetli pozitif immun reaksiyon olduğu görüldü. Lokalize histiositik sarkom ve dissemine histiositik sarkom morfolojik olarak birbirine benzer ve immunohistokimyasal

fenotip olarak benzerlik gösterdiğinden (Latifi vd., 2020; Vieira vd., 2021) tanılarımızda bu ayrıma gitmeden vakalar hisitositik sarkom olarak değerlendirildi.

Bir vakamızda dalak dokusuna MNF 116'nın şiddetli pozitif immunreaksiyon verdiği neoplastik hücreler içeren epitel kökenli bir tümörün metastazında rastladık.

Neoplastik dalak lezyonlarına oranla neoplastik olmayan dalak lezyonlarına daha çok rastlanır (Figueiredo vd., 2019; Spangler ve Kass, 1997; Wendelburg vd., 2014). Diğer araştırmacıların aksine Bandinelli vd. (2011) %29,6 oranında neoplastik olmayan lezyonları neoplastik lezyonlardan daha az oranda bümüşlardır. Bizim vakalarımızda neoplastik olmayan lezyonlar %65,35 oranına sahipti. Yaş ortalamasına bakıldığında neoplastik lezyonlar ile birbirine yakın ve 10 yaş civarında olduğu görüldü (Cole, 2012; Figueiredo vd., 2019; Spröhnle-Barrera vd., 2022). Bizim vakalarımızda neoplastik olmayan lezyonlar 9,5 yaş ortalamasında görüldü. Fernandez vd. (2019) büyük ırk köpekler ile karşılaştırıldığında küçük ırk köpeklerde benign dalak lezyonlarına daha sık rastlandığını görmüştür. Zamokas vd. (2016) göre lokal dalak lezyonlarının, diffuz değişikliklerinden daha sık karşılaşılmıştır. Bu durum bizim çalışmamız ile paralellik göstermekteydi. Neoplastik olmayan lezyonlar arasında Ko vd. (2023) nodular hiperplazileri %48,2 ve hematmaları %24,1 oranında, Spröhnle Barrera vd. (2022) lenfoid hiperplazileri %34, Wendelburg vd., (2014) hematmaları %45,22, Zamokas vd. (2016) EMHleri %68,6, Figueriedo vd. (2019) hematmaları %18.58, Bandinelli vd. (2011) nodular hiperplazileri %67,9 oranında bulmuşlardır. Davies ve Taylor (2012) lenfoid hiperplazileri en sık daha sonra sırasıyla EMH, hematmalar sıralamasıyla ifade etmişlerdir. Zamokas vd. (2016) yaptıkları çalışmada EMH'lerde %58,3 oranında eritroid seriye ait değişiklikler olduğunu görmüşlerdir. Araştırmamızda neoplastik değişiklikler ile birlikte bulunan EMH veya lenfoid hiperplazik değişiklikleri dahil etmediğimiz durumda en sık hematmalara, lenfoid hiperplazilere daha sonra EMH'lere rastladık. Benign değişiklikler birbirleri ile ortak vakalarda yer almaktaydı. Cole (2012)'ün yaptığı bir çalışmada lenfoid

hiperplazilerin hematolarda görüldüğünden, hemanjiosarkomlarda gözlenmediğinden, siderotik nodüllere ise hematolarda hemanjiosarkomlardan daha sık rastlandığından bahsetmiştir. Bu bulgular bizim vakalarımızda da yer almaktadır. Hemanjiosarkomlar vaskular endotelial büyüme faktörünü üreterek kemik iliğinde hematopoezisi baskılar. Bu durumda hematopoezin dalak ve karaciğerde olmasına teşvik eder (Zamokas vd., 2016). EMH'nin bulunması ve lenfoid hiperplazinin olmaması gözden kaçabilecek küçük boyutlardaki hemanjiosarkom lezyonları için bir ipucu olabilir.

İncelenen üç splenitis vakasında dalak sahaların etkenlere rastlanmadı. Bir vakada splenitis bulunan dalak pyometra operasyonu sırasında ekstripe edildi. Bu vakada splenitisin pyometra ile ilişkili olabileceği, diğer vakalarda ise nedenlerin non-enfeksiyöz veya sistemik bir hastalık kaynaklı olabileceği düşünüldü. Spesifik bir neden bulunamadı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuç ve öneriler aşağıda sıralanmıştır;

1. Bu çalışmada 101 adet dalak dokusunu histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi. Ülkemizde köpeklerde dalak lezyonlarının ilk defa incelendiği bu çalışmanın literatüre destek olacağı düşünüldü.
2. Neoplastik dalak lezyonları içerisinde en sık karşılaşılan hemanjiosarkomların değerlendirilmesinde çoğu zaman hematoksilen eozin incelemenin tanıya götürdüğünü, şüpheli durumlarda CD31'in yeterli olacağını görüldü. Hemanjiosarkomlarda bahsedilen 2/3 kuralındaki oranlara bu çalışmada ulaşılmamıştır.
3. Lenfomaların tanısında B ve T tiplendirme için CD3, CD20 ve CD79'dan faydalandık. Lenfomanın alt tiplendirmelerinde henüz köpeklerde tam oturmuş standart protokoller bulunmadığından ve kullanılan antikoların gelişmekte olduğundan IHC'nin günümüzde her vaka için yeterli olamayacağını düşünüldü.
4. Histiyositik sarkomların tanısı için morfolojik kriterler ile birlikte iba-1 antikorunun kullanımından literatür ile paralel olarak başarılı sonuçlar elde edildi.
5. Stromal sarkomlarda iba-1, CD31 negatifliği ve vimentin pozitifliği bizi tanıya yönlendirse de mezenşimal tümörlerin nihai tanısında lenfomalarda olduğu gibi daha fazla antikorlara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.
6. Araştırmanın sonucunda gelecekte yapılacak araştırmacılara ve çalışmalara önerebileceğimiz düşüncelerimiz;

7. Neoplastik ve neoplastik olmayan dalak lezyonları literatürde olduğu gibi bu çalışmada da 10 yaş civarındaki köpeklerde görüldü. Klinisyen ve hasta yakınlarının 10 yaşına gelmiş köpeklerin özellikle klinik kontrollerin dalak kontrolünün yapılması alışkanlığının kazandırılması bazı vakaların daha erken tespit edilmesine ve önlenbilmesine olanak sağlayabileceği düşünüldü.
8. Hemanjiosarkomlarda kesin tanının perifer kan taramalarını yaparak minimal invaziv, erken tanı yöntemleri geliştirilebilir
9. Lenfomalar genellikle sistemik hastalıklarda olabildiğinden dalak üzerinde yapılan çalışmalara ek olarak lenforetiküler sistemin de incelenmesi gerekmektedir. Çalışmada lenfoma vakalarında sadece dalak lezyonları değerlendirildi.
10. İndolent lenfomalardaki gibi asemptomatik seyreden ve sadece dalak ile sınırlı lenfomalarda veteriner hekimlerin dikkatini dalaktaki değişikliklere çekmek, tanılarının sayıca artmasını sağlayabilir.
11. Araştırmalar PCR, CT veya kontrast görüntülemeler ile desteklenerek daha geniş bilgi sahibi olunabilir.
12. Bu tip çalışmaların daha geniş popülasyonlarda yapılması daha yararlı olacağı kanatine varıldı.

6. KAYNAKLAR

- Al-Rukibat R. K., Bani Ismail Z. A. (2006). Unusual presentation of splenic myelolipoma in a dog. *Can. Vet. J.*, 47(11): 1112–1114.
- Aresu L. (2016). Canine lymphoma, more than a morphological diagnosis: What we have learned about diffuse large B-cell lymphoma. *Front. Vet. Sci.*, 3(AUG), DOI:10.3389/fvets.2016.00077.
- Avallone G., Rasotto R., Chambers J. K., Miller A. D., Behling-Kelly E., Monti P., Berlato D., Valenti P., Roccabianca P. (2021). Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. *Vet Pathol*, 58(5): 809-828.
- Bandinelli M. B., Pavarini S. P., Oliveira E. C., Gomes D. C., Cruz C. E. F., Driemeier D. (2011). Estudo retrospectivo de lesões em baços de cães esplenectomizados: 179 casos. *Pesqui. Vet. Bras.*, 31(8): 697–701.
- Boes K. M., Durham A. C. (2017). Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. *Pathol. Basis Vet. Dis. Expert Consult.*; 724-804.e2.
- Brady R. V., Rebhun R. B., Skorupski K. A., Burton J. H., Al-Nadaf S., Choi E., Willcox J. L. (2022). Retrospective immunohistochemical investigation of suspected non-visceral leiomyosarcoma in dogs. *J. Vet. Diagnostic Investig.*, 34(3): 465–473.
- Brown N. O., Patnaik A. K., MacEwen E. G. (1985). Canine hemangiosarcoma: retrospective analysis of 104 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 186(1): 56–58.
- Cesta M. F. (2006). Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. *Toxicol. Pathol.*, 34(5): 455–465.
- Chu K. T., Nekouei O., Sandy J. R. (2023). Histopathological Grading, Clinical Staging and CD 31 Expression of Canine Splenic Hemangiosarcoma. *Veterinary Sciences* 2023(10): 190.
- Cole P. A. (2012). Association of canine splenic hemangiosarcomas and hematomas with nodular lymphoid hyperplasia or siderotic nodules. *J. Vet. Diagnostic Investig.*, 24(4): 759–762.
- Comazzi S., Marelli S., Cozzi M., Rizzi R., Finotello R., Henriques J., Pastor J., Ponce F., Rohrer-Bley C., Rütgen B. C., Teske E. (2018). Breed-associated risks for developing canine lymphoma differ among countries: An European canine lymphoma network study. *BMC Vet. Res.*, 14(1), DOI:10.1186/s12917-018-1557-2.
- Corbin E. E., Cavanaugh R. P., Schwartz P., Zawadzki K. I., Donovan T. (2017). Splenomegaly in small-breed dogs: 45 cases(2005–2011). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 250(10): 1148–1154.
- Dao M., MacDonald I., Asaro R. J. (2021). Erythrocyte flow through the interendothelial slits of the splenic venous sinus. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, 20(6): 2227–2245.
- Davies O., Taylor A. J. (2020). Refining the “double two-thirds” rule: Genotype-based breed grouping and clinical presentation help predict the diagnosis of canine splenic mass lesions in 288 dogs. *Vet. Comp. Oncol.*, 18(4): 548–558.
- Day M. J., Lucke V. M., Pearson H. (1995). A review of Pathological diagnoses made from 87 canine splenic biopsies. *J. Small Anim. Pract.*, 36(10): 426–433.
- Eberle N., Von Babo V., Nolte I., Baumgärtner W., Betz D. (2012). Splenic masses in dogs. Part 1: Epidemiologic, clinical characteristics as well as histopathologic diagnosis in 249 cases (2000-2011). *Tierarztl. Prax. Ausgabe K Kleintiere - Heimtiere*, 40(4): 250–260.

- Edwards D. S., Henley W. E., Harding E. F., Dobson J. M., Wood J. L. N. (2003). Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. *Vet. Comp. Oncol.*, 1(4): 200–206.
- Estabrooks T., Gurinovich A., Pietruska J., Lewis B., Harvey G., Post G., Lambert L., Miller A., Rodrigues L., White M. E., Lopes C., London C. A., Megquier K. (2023). Identification of genomic alterations with clinical impact in canine splenic hemangiosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.*, 21(4): 623–633.
- Eurell J. A., Frappier B. L. (2013). *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology.*, Blackwell Pub. Ames, Iowa
- Fernandez S., Lang J. M., Maritato K. C. (2019). Evaluation of Nodular Splenic Lesions in 370 Small-Breed Dogs (<15 kg). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 55(4): 201–209.
- Ferrari R., Marconato L., Boracchi P., Stefanello D., Godizzi F., Murgia D., Schievenin V., Amati M., Faroni E., Roccabianca P. (2024). Splenic stromal sarcomas in dogs: Outcome and clinicopathological prognostic factors in 32 cases. *Vet. Comp. Oncol.*, 22(1): 12–21.
- Figueiredo R. S., Muramoto C., Fontes T. N., Meneses I. D. S., Cardoso P. G. S., Vieira Filho C. H. C., Estrela-Lima A., Peixoto T. C. (2019). Lesions in 224 spleens of splenectomized dogs and evaluation of alternative techniques for previous microscopic diagnosis. *Pesqui. Vet. Bras.*, 39(8): 622–629.
- Fosmire S. P., Dickerson E. B., Scott A. M., Bianco S. R., Pettengill M. J., Meylemans H., Padilla M., Frazer-Abel A. A., Akhtar N., Getzy D. M., Wojcieszyn J., Breen M., Helfand S. C., Modiano J. F. (2004). Canine malignant hemangiosarcoma as a model of primitive angiogenic endothelium. *Lab. Investig.*, 84(5): 562–572.
- Fotiadis C. I., Georgopoulos I., Stoidis C., Patapis P. (2009). Primary Tumors of the Spleen. *Int. J. Biomed. Sci.*, 5(2): 85.
- Giovagnoni A., Giorgi C., Goteri G. (2005). Tumours of the spleen. *Cancer Imaging*, 5(1): 73, <https://doi.org/10.1102/1470-7330.2005.0002>.
- Gorden B. H., Kim J. H., Sarver A. L., Frantz A. M., Breen M., Lindblad-Toh K., O'Brien T. D., Sharkey L. C., Modiano J. F., Dickerson E. B. (2014). Identification of three molecular and functional subtypes in canine hemangiosarcoma through gene expression profiling and progenitor cell characterization. *Am. J. Pathol.*, 184(4): 985–995.
- Göritz M., Müller K., Krastel D., Staudacher G., Schmidt P., Kühn M., Nickel R., Schoon H. A. (2013). Canine splenic haemangiosarcoma: Influence of metastases, chemotherapy and growth pattern on post-splenectomy survival and expression of angiogenic factors. *J. Comp. Pathol.*, 149(1): 30–39.
- Griffin M. A., Culp W. T. N., Rebhun R. B. (2021). Canine and feline haemangiosarcoma. *Vet. Rec.*, DOI:10.1002/vetr.585.
- Hammer Ai. S., Couto C. G., Filppi J., Getzy D., Shank K. (1991). Efficacy and Toxicity of VAC Chemotherapy (Vincristine, Doxorubicin, and Cyclophosphamide) in Dogs with Hemangiosarcoma. *J Vet Intern Med*, 5(3): 160-166.
- Hart B. L., Hart L. A., Thigpen A. P., Willits N. H. (2014). Long-Term Health Effects of Neutering Dogs: Comparison of Labrador Retrievers with Golden. *PLoS One*, DOI:10.1371/journal.pone.0102241.
- Hosgood G. (1987). Splenectomy in the dog: a retrospective study of 31 cases. *J Am Anim Hosp*

- Assoc*, 23(3): 275-283.
- Hughes K. L., Ehrhart E. J., Rout E. D., Harris L. J., Fernandez M., Yoshimoto J. A., Dossey J., Kuzmik A. R., Avery P. R., Avery A. C. (2021). Diffuse Small B-Cell Lymphoma: A High-Grade Malignancy. *Vet. Pathol.*, 58(5): 912–922.
- Johnson K., Powers B., ... S. W.-J. of veterinary, 1989 undefined (1989). Splenomegaly in dogs: predictors of neoplasia and survival after splenectomy. *Wiley Online Libr. Johnson, BE Powers, SJ Withrow, MJ Sheetz, CR Curtis, RH Wrigley* *Journal Vet. Intern. Med.* 1989•*Wiley Online Libr.*, 3(3): 160–166.
- Kim J. H., Graef A. J., Dickerson E. B., Modiano J. F. (2015). Pathobiology of hemangiosarcoma in dogs: Research advances and future perspectives. *Vet. Sci.*, 2(4): 388–405.
- Ko Y. U., Bae M. K., Sur J. H., Choe N. H. (2023). Analysis of the Prevalence of Canine Splenic Mass Lesions in Republic of Korea via Histopathological Diagnosis with Immunohistochemistry. *Vet. Sci.*, DOI:10.3390/vetsci10040247.
- Kozaki M., Nakamura Yuka, Iguchi M., Kano R., Watanabe S., Fujiwara K., Hasegawa A., Nakamura Y (2001). Immunohistochemical analysis of cytokeratin expression in dog. *Journal Vet. Med.* 63(4): 1–4.
- Lamerato-Kozicki A. R., Helm K. M., Jubala C. M., Cutter G. C., Modiano J. F. (2006). Canine hemangiosarcoma originates from hematopoietic precursors with potential for endothelial differentiation. *Exp. Hematol.*, 34(7): 870–878.
- Lashnits E., Neupane P., Bradley J. M., Richardson T., Maggi R. G., Breitschwerdt E. B. (2021). Comparison of serological and molecular assays for bartonella species in dogs with hemangiosarcoma. *Pathogens*, DOI:10.3390/pathogens10070794.
- Latifi M., Tuohy J. L., Coutermarsh-Ott S. L., Klahn S. L., Leeper | Haley, Dervisis N. (2020). Clinical outcomes in dogs with localized splenic histiocytic sarcoma treated with splenectomy with or without adjuvant chemotherapy. *Wiley Online Libr.*, 34(6): 2645–2650.
- MacEwen E. G. (1990). Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer Metastasis Rev.*, 9(2): 125–136.
- Martínez-Girón R., Van Woerden H. C., Pantanowitz L. (2020). Hematoidin crystals in sputum smears: Cytopathology and clinical associations. *Ann. Thorac. Med.*, 15(3): 155–162.
- Mebius R. E., Kraal G. (2005). Structure and function of the spleen. *Nat. Rev. Immunol.*, 5(8): 606–616.
- Megquier K., Turner-Maier J., Swofford R., Kim J. H., Sarver A. L., Wang C., Sakthikumar S., Johnson J., Koltookian M., Lewellen M., Scott M. C., Schulte A. J., Borst L., Tonomura N., Alfoldi J., Painter C., Thomas R., Karlsson E. K., Breen M., Modiano J. F., Elvers I., Lindblad-Toh K. (2019). Comparative genomics reveals shared mutational landscape in canine hemangiosarcoma and human angiosarcoma. *Mol. Cancer Res.*, 17(12): 2410–2421.
- Moore, A. S., Frimberger, A. E., Sullivan, N., Moore, P. F. (2012). Histologic and immunohistochemical review of splenic fibrohistiocytic nodules in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 26(5), 1164–1168.
- Moore P. F. (2014). A Review of Histiocytic Diseases of Dogs and Cats. *Vet. Pathol.*, 51(1): 167–184.

- Moore P. F. (2016). Canine and Feline Histiocytic Diseases. *Tumors Domest. Anim.*; 322–336.
- Movilla R., Altet L., Serrano L., Tabar M. D., Roura X. (2017). Molecular detection of vector-borne pathogens in blood and splenic samples from dogs with splenic disease. *Parasit Vectors.*, 10(1), 131.
- Müller A. M. S., Ihorst G., Mertelsmann R., Engelhardt M. (2005). Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): Trends, geographic distribution, and etiology. *Ann. Hematol.*, 84(1): 1–12.
- Müller H. (2022). Vascular tumors. In: Braun-Falco's Dermatology. Eds: Plewig, G., French, L., Ruzicka, T., Kaufmann, R., Hertl, M. Springer, Berlin, DOI:10.1007/978-3-662-63709-8_107.
- Mullin C., Clifford C. A. (2019). Histiocytic Sarcoma and Hemangiosarcoma Update. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.*, 49(5): 855–879.
- De Nardi A. B., de Oliveira Massoco Salles Gomes C., Fonseca-Alves C. E., de Paiva F. N., Linhares L. C. M., Carra G. J. U., dos Santos Horta R., Ruiz Sueiro F. A., Jark P. C., Nishiya A. T., de Carvalho Vasconcellos C. H., Ubukata R., Batschinski K., Sobral R. A., Fernandes S. C., Biondi L. R., De Francisco Strefezzi R., Matera J. M., Rangel M. M. M., dos Anjos D. S., Brunner C. H. M., Laufer-Amorim R., Cadrobbi K. G., Cirillo J. V., Martins M. C., de Paula Reis Filho N., Silva Lessa D. F., Portela R., Scarpa Carneiro C., Ricci Lucas S. R., Fukumasu H., Feliciano M. A. R., Gomes Quitzan J., Dagli M. L. Z. (2023). Diagnosis, Prognosis, and Treatment of Canine Hemangiosarcoma: A Review Based on a Consensus Organized by the Brazilian Association of Veterinary Oncology, ABROVET. *Cancers (Basel)*, 15(7), DOI: 10.3390/cancers15072025
- Nikolaidis N., Giouleme O., Gkisakis D., Grammatikos N. (2005). Posttraumatic splenic abscess with gastrosplenic fistula. *Gastrointest. Endosc.*, 61(6): 771–772.
- Onkar D. P., Govardhan S. A. (2013). Comparative histology of human and dog spleen. *J. Morphol. Sci.*, 30(1): 16–20.
- Pierezan F., Mansell J., Ambrus A., Hoffmann A. R. (2014). Immunohistochemical expression of ionized calcium binding adapter molecule 1 in cutaneous histiocytic proliferative, neoplastic and inflammatory disorders of dogs and cats. *J. Comp. Pathol.*, 151(4): 347–351.
- Pinello K., Santos M., Dias-Pereira P., Niza-Ribeiro J., De-Matos A. (2023). A retrospective histopathological survey on canine lymphomas subtypes of Porto District. *Open Vet. J.*, 13(4): 443–450.
- Piubelli M. L. M., Clemente L. C., Duarte-Neto A. N. (2019). Gamna-gandy bodies of the spleen in sickle cell disease. *Autops. Case Reports*, 9(2), DOI:10.4322/acr.2018.076.
- Porto V. B. G., Carvalho L. B., Buzo B. F., Litvoc M. N., Santos A. C. S., Rocci R. A., Soares S. R. C., Zampieri R. A., Duarte M. I. S., Lindoso J. A. L. (2022). Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* associated with Hodgkin's lymphoma. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 64, DOI:10.1590/s1678-9946202264051.
- Prymak C., McKee L. J., Goldschmidt M. H., Glickman L. T. (1988). Epidemiologic, clinical, pathologic, and prognostic characteristics of splenic hemangiosarcoma and splenic hematoma in dogs: 217 cases (1985). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193(6): 706–712.
- Rahal S. C., Sampaio G. R., Bandarra E. P. (1996). Splenic fibroma in a dog. *Can. Vet. J.*, 37(12):

- Ramos-Vara J. A., Borst L. B. (2016). Immunohistochemistry. *Tumors Domest. Anim.*, 44–87.
- Van Rooyen L. J., Hooijberg E., Reyers F. (2018). Breed prevalence of canine lymphoma in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 89(0): 1019–9128.
- Sabattini S., Lopparelli R. M., Rigillo A., Giantin M., Renzi A., Matteo C., Capitani O., Dacasto M., Mengoli M., Bettini G. (2018). Canine Splenic Nodular Lymphoid Lesions: Immunophenotyping, Proliferative Activity, and Clonality Assessment. *Vet. Pathol.*, 55(5): 645–653.
- Sarver A. L., Makielski K. M., DePauw T. A., Schulte A. J., Modiano J. F. (2022). Increased risk of cancer in dogs and humans: A consequence of recent extension of lifespan beyond evolutionarily determined limitations? *Aging and Cancer*, 3(1): 3–19.
- Schultheiss P. C. (2004). A retrospective study of visceral and nonvisceral hemangiosarcoma and hemangiomas in domestic animals. *J. Vet. Diagnostic Investig.*, 16(6): 522–526.
- Schulz B., Hrovat A., Neuerer F., Murgia D., Boos H., Hirschberger J., Hartmann K. (2006). Splenic abscess in a dog. A case report. *Tierarztl. Prax. Ausgabe K Kleintiere - Heimtiere*, 34(4): 260–263.
- Smolowitz R. M., Carpenter J. L. (1988). Canine splenic sarcomas with an osteosarcomatous component. *Vet. Pathol.*, 25(3): 246–248.
- Snyder M., Lipitz L., Skorupski K. A., Shofer F. S., Van Winkle T. J. (2008). Secondary intracranial neoplasia in the dog: 177 cases (1986-2003). *J. Vet. Intern. Med.*, 22(1): 172–177.
- Spangler W. L., Culbertson M. R. (1992). Prevalence, type, and importance of splenic diseases in dogs: 1,480 cases (1985-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200(6): 829–834.
- Spangler W. L., Culbertson M. R., Kass P. H. (1994). Primary Mesenchymal (Nonangiomatous/Nonlymphomatous) Neoplasms Occurring in the Canine Spleen: Anatomic Classification, Immunohistochemistry, and Mitotic Activity Correlated with Patient Survival. *Vet. Pathol.*, 31(1): 37–47.
- Spangler W. L., Kass P. H. (1998). Pathologic and Prognostic Characteristics of Splenomegaly in Dogs Due to Fibrohistiocytic Nodules: 98 Cases. *Vet. Pathol.*, 35(6): 488–493.
- Spangler W. L., Kass P. H. (1997). Pathologic factors affecting postsplenectomy survival in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 11(3): 166–171.
- Sprada A. G., Hartmann H. F., Huppes R. R., Brun M. V, Minto B. W. (2015). Splenic abscess in a dog. *Acta Sci. Vet.*, 43(Supplement): 95.
- Spröhnle-Barrera C. H., McGhie J., Allavena R. E., Barnes T. S., Owen H. C., Palmieri C. (2022). Epidemiology and Survival of Dogs Diagnosed with Splenic Lymphoid Hyperplasia, Complex Hyperplasia, Stromal Sarcoma and Histiocytic Sarcoma. *Animals*, 12(8), DOI:10.3390/ani12080960.
- Srebernik N., Appleby E. (1991). Breed prevalence and sites of haemangioma and haemangiosarcoma in dogs, DOI:10.1136/vr.129.18.408.
- van Stee L. L., Boston S. E., Singh A., Romanelli G., Rubio-Guzman A., Scase T. J. (2015). Outcome and Prognostic Factors for Canine Splenic Lymphoma Treated by Splenectomy

- (1995-2011). *Vet. Surg.*, 44(8): 976–982.
- Stefanello D., Valenti P., Zini E., Comazzi S., Gelain M. E., Roccabianca P., Avallone G., Caniatti M., Marconato L. (2011). Splenic Marginal Zone Lymphoma in 5 Dogs (2001–2008). *J. Vet. Intern. Med.*, 25(1): 90–93.
- Stein L., Bacmeister C., Ylaya K., Fetsch P., Wang Z., Hewitt S. M., Kiupel M. (2019). Immunophenotypic Characterization of Canine Splenic Follicular-Derived B-Cell Lymphoma. *Vet. Pathol.*, 56(3): 350–357.
- Takubo K., Miyamoto H., Imamura M., Tobe T. (1986). Morphology of the human and dog spleen with special reference to intrasplenic microcirculation. *Jpn. J. Surg.*, 16(1): 29–35.
- Udroiu I. (2017). Storage of Blood in the Mammalian Spleen: an Evolutionary Perspective. *J. Mamm. Evol.*, 24(3): 243–260.
- Vail D. M., Young K. M. (2006). Hematopoietic Tumors. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, Saunders Elsevier, St Louis, p: 699–784.
- Valli V. E., Bienzle D., Meuten D. J. (2016). Tumors of the Hemolymphatic System. *Tumors Domest. Anim.*; 203–321.
- Vieira T. C., Telles L. F., Nakagaki K. Y. R., Cassali G. D. (2021). Clinic-Pathological Aspects of Spleen Hemophagocytic Histiocytic Sarcoma in a Dog. *Acta Sci. Vet.*, 49.
- Villamil J. A., Henry C. J., Hahn A. W., Bryan J. N., Tyler J. W., Caldwell C. W. (2009). Hormonal and sex impact on the epidemiology of canine lymphoma. *Journal cancer Epidemiol.* 7: 1–7.
- Waters, D. J., Hayden, D. W., Walter, P. A. (1989). Intracranial lesions in dogs with hemangiosarcoma. *Journal of veterinary internal medicine*, 3(4), 222–230.
- Weinstein M. J., Carpenter J. L., Schunk C. J. (1989). Nonangiogenic and nonlymphomatous sarcomas of the canine spleen: 57 cases (1975-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 195(6): 784–788.
- Wendelburg K. M., O'toole T. E., McCobb E., Price L. L., Lyons J. A., Berg J. (2014). Risk factors for perioperative death in dogs undergoing splenectomy for splenic masses: 539 cases (2001–2012). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 245(12): 1382–1390.
- Wittenberns B. M., Thamm D. H., Palmer E. P., Regan D. P. (2021). Canine Non-Angiogenic, Non-Myogenic Splenic Stromal Sarcoma: a Retrospective Clinicopathological Analysis and Investigation of Podoplanin as a Marker of Tumour Histogenesis. *J. Comp. Pathol.*, 188: 1–12.
- Yau P. P. Y., Dhand N. K., Thomson P. C., Taylor R. M. (2017). Retrospective study on the occurrence of canine lymphoma and associated breed risks in a population of dogs in NSW (2001–2009). *Aust. Vet. J.*, 95(5): 149–155.
- Zamokas G., Grigonis A., Babickaitė L., Riškevičienė V., Lasienė K., Juodžiukyniė N. (2016). Extramedullar hematopoiesis (EMH) and other pathological conditions in canine spleens. *Med. Weter.*, 72(12): 768–772.