

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Köpeklerde Sitolojik Muayene ile Transmissible Veneral Tümör
İnsidansının Araştırılması**

Veteriner Hekim Tuğba ÇİNE

**DOĞUM ve JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet UÇAR**

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
Tarafından 17.SAĞ.BİL.05 Proje Numarası ile Desteklenmiştir.**

Tez No: 2018-013

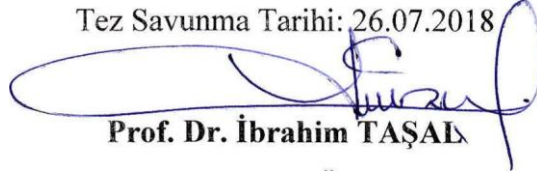
2018-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Doğum ve Jinekoloji Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.07.2018



Prof. Dr. İbrahim TAŞAL

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Mehmet UÇAR
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye, Raportör



Prof. Dr. Hacı Ahmet Çelik
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi
Veteriner Hekim Tuğba ÇİNE "Köpeklerde Sitolojik Muayene ile Transmissible
Veneral Tümör İnsidansının Araştırılması" başlıklı tezi günü saat
.....Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca
değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zülfikar Kadir SARITAŞ
Enstitü Müdür Vekili

ÖNSÖZ

Köpekler insanlarla devamlı birlikte bulunabilen ve sosyolojik olarak çok önemli olan dostlardır. Bu hayvanlarda meydana gelen genital organ tümörleri insan dostu olan köpeklerin yaşam konforunu etkilemektedir. Transmisibile venereal tümör (TVT) tüm bu olguların başında gelmektedir. Sokak hayvanlarının takipleri olmadığı için meydana gelen tümörler hakkında neredeyse bilgi sahibi olmak imkansızdır. Bu gerçek hayvanların sahipli olması durumunda da farklı değildir. Köpek sahipleri hayvanlarda şekillenen tümörlerin farkında olmayabilirler. Ancak bu olumsuzluk ilerleyen genital organ tümörlerinde şekillenen klinik belirtilerle anlaşılabilir. Bu nedenle dişi köpeklerde TVT'nin çok hızlı bir şekilde teşhis edilmesi ve muayenelerde gözlenirse tedaviye de başlanması gerekmektedir. TVT'nin hızlı ve kolay teşhis metodlarından biri ise eksfoliatif sitolojidir. TVT'nin tipik olarak sitolojik görünüme sahip olması eksfoliatif sitolojiyi klinik anlamda ön plana çıkarmaktadır.

Tez çalışmam esnasında şahsıma bilimsel olarak katkıda bulunan Afyon Kocatepe Üniversitesi Doğum ve Jinekoloji Öğretim Üyelerine, benden manevi desteklerini esirgemeyen annem Şerife AKBAŞ ve babam Cayit AKBAŞ'a, materyal temini ve saha çalışmalarında katkıda bulunan meslektaşlarım Vet. Hek. Abdülhamithan ÇAM, Serap YAVUZ, Hamit Cem KÖSE, Evren Fatih MUMCU'ya ve Veteriner Sağlık Teknikeri Serap KILINÇAL'a ve son olarak hep yanımda olan eşim Talat ÇİNE'ye sonsuz teşekkürlerimi iletirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Çizelgeler Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GEREÇ VE YÖNTEM	6
3. BULGULAR	10
4. TARTIŞMA	20
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	24
6. ÖZET	25
7. SUMMARY	26
8. KAYNAKLAR	27
Özgeçmiş	32

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

TVT	Transmisibil venereal tümör
PMN	Polimorf nükleer lökositler
ark	Arkadaşları
CA	Canlı ağırlık
kg	Kilogram
<	Küçük
%	Yüzde
SH	Standart Hata

Şekiller Dizini

Şekil 3.1. Bir dişi köpekte vulvadan dışarıya sarkan TVT lezyonunun kliniksel görünümü	11
Şekil 3.2. Bir dişi köpekte TVT lezyonunun kliniksel görünümü	11
Şekil 3.3. TVT lezyonu olan bir köpekte vulvadan gelen serosanginöz görünüm	11
Şekil 3.4. Bir dişi köpekte TVT lezyonunun kliniksel görünümü ve kanama görüntüsü	12
Şekil 3.5. TVT lezyonu olan ve güç doğum şekillenen dişi bir köpeğin dış genital organlarından görünüm	12
Şekil 3.6. TVT lezyonu olan bir dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücreleri (oklar), polimorf nükleer lökositler (çarpı işareti), eritrositler (yıldızlar) (x100)	13
Şekil 3.7. TVT lezyonu olan bir dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücresi (oklar) ve diğer vajinal epitel hücreleri (x100)	13
Şekil 3.8. TVT lezyonu olmayan bir dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücreleri (oklar) (x100)	14
Şekil 3.9. TVT lezyonu olmayan iki dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücreleri (oklar), polimorf nükleer lökositler (yıldızlar) (x100)	14

Çizelgeler Dizini

Çizelge 3.1. Transmisibil venereal tümör (TVT) lezyonu ve TVT hücreleri belirlenen dişi köpeklerin sayı ve oranları	15
Çizelge 3.2. Çalışmaya dahil edilen dişi köpeklerin siklik dönemlerinin sayı ve oranları	16
Çizelge 3.3. Transmisibil venereal tümör (TVT) lezyonu ve TVT hücreleri oluşumu üzerine mevsimin, yaşın, canlı ağırlığın (CA), hayvan ırklarının ve seksüel siklus dönemlerinin etkisi (En küçük kareler ortalaması \pm SH).	17
Çizelge 3.4. Transmisibil venereal tümörün (TVT Lezyonu) ve TVT hücrelerinin sitolojik olarak preparatlarda belirlenen polimorf nükleer lökositler (PMN) ve eritrositlerin görünümü üzerine etkileri (En küçük kareler ortalaması \pm SH).	18
Çizelge 3.5. Seksüel siklus dönemlerine göre TVT lezyon ve TVT Hücre görünme sayı ve oranları	19

1.GİRİŞ

Köpekler hayvanlar içerisinde kanser oluşumunda ön sıralarda yer almaktadırlar. Transmisibil venereal tümörler (TVT) köpeklerde en sık gözlenen genital kanal tümörlerinden olup, tüm tümör tipleri arasında oldukça yüksek bir orana sahiptirler (Tella ve ark, 2004). Bu tümörler erkek ve dişi köpeklerin çiftleşmeleri esnasında kontrolsüz olarak yayılırken, hayvanların yaşam konforunu bozarlar (Uçar ve Yılmaz, 2016; Uçar, 2016). TVT köpeklerin Sticker sarkomu, venereal granuloması, kontagiyöz venereal sarkoması, kontagiyöz lenfosarkomu, kanin kondiloması, kontagiyöz lenfoması, ve enfeksiyöz sarkoması adlarıyla da bilinmektedir (Rogers, 1997; Smith ve Washbourn, 1998; Gurel ve ark, 2002; Uçar, 2016).

Dünyanın çoğu bölgesinde (Strakova ve Murchison, 2014) dişi ve erkek köpeklerde aynı sıklıkta gözlenmektedir (Smith ve Washbourn1998). Tümörün indensi hayvanın bağışıklık sistemine de bağlıdır. Genel vücut kondisyonu iyi olanlarda benign karakterli seyir gösterdiği ve regrese olabildiği (Yang ve Jones, 1973; Vermooten 1987), genç ve bağışıklık sistemi baskılanmış yaşlı hayvanlarda tümör gelişiminin şiddetli olduğu ve metastaz yapma eğilimi gösterdiği aktarılmaktadır (Yang ve Jones, 1973). TVT ile enfekte olma riskinin özellikle dişi köpeklerin sekseül aktivitesinin arttığı dönemlere denk geldiği bildirilmektedir (Das ve Das, 2000). Bu dönemlerde hayvanların ırkının, yaşının ve erkek veya dişi olmasının önemli olmadığı, bulaşma bakımından hepsinin duyarlı olabileceği aktarılmaktadır (Das ve Das 2000). Ancak Srivastava ve ark. (2013) yaptıkları araştırmada erkek köpeklerde (%68.99) dişilere (%31.01) göre TVT'nin gözlenme oranının yaklaşık iki kat olduğunu bildirmektedirler. Ortega-Pacheco ve ark (2006) yaptıkları araştırmada 318 erkek köpekte %42.5'inde genital organ patolojilerine rastladıklarını aktarırlarken, bu köpeklerin 14'ünde %5.4 oranında TVT gözlediklerini bildirmektedirler. Yapılan bir çalışmada Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen köpeklerde yıl boyu gözlenme oranının %5,42 olduğu aktarılmaktadır (Sarıbay ve ark, 2016).

TVT'nin daha az oranlarda gözlenmesi ülkelerin gelişmişliğine bağlı olsa da (Strakova ve Murchison, 2014), çoğunlukla başıboş gezen, genç ve seksüel yönden aktif olan sokak köpeklerinde, çiftleşmenin kontrol altında olmadığı kentsel alanlarda çok rastlanılmaktadır (Hayes ve ark, 1983; Rogers, 1997; Das ve Das, 2000; Gurel ve ark, 2002; Albanese ve ark, 2002). Buna ek olarak ılıman iklimli (Hayes ve ark, 1983; Rogers, 1997) ve yağışın fazla olduğu nemli bölgelerde sıkça karşılaşılmasına rağmen, her coğrafi koşulda gözlenebilmektedir (Hayes ve ark, 1983). Hindistan'da gözlenme oranlarının %23-43 arasında bulunduğu ve yüksek seyir gösterdiği aktarılmaktadır (Chaudhary ve Rao, 1982; Gandotra ve ark, 1993; Jain ve ark, 2002).

TVT retiküloendotelyal benign bir tümördür. Ancak uzun yıllar içerisinde anlaşılmadan ve yavaş gelişimi olan tümörler malignant hale gelerek %5-17 oranında metastaz yapabilmektedirler (Rogers, 1997). Çoğunlukla eksternal genital organları etkilemektedir. Bazen de hayvanların iç genital organlarında şekillenebilmektedir (Rogers, 1997; Gurel ve ark, 2002; Purohit, 2009). Köpeklerin seksüel yönden aktif olduğu çiftleşme dönemlerinde tümörle enfekte erkek köpeğin penisinin genişlemesi, çiftleşmenin uzun sürmesi gibi nedenlerden ötürü ve çiftleşme sonrasında ayrılırken dişi genital kanalda meydana gelen doku travmaları TVT'nin bulaşmasına yol açmaktadır (Murchison, 2009). Ayrıca köpekler koklama, yalama gibi sosyal davranışlarıyla da tümörü genital bölge dışındaki yerlere bulaştırabilirler (Hayes ve ark, 1983; Rogers, 1997; Das ve Das, 2000; Gurel ve ark, 2002; Uçar, 2016). Gerek çiftleşme, gerek bahsedilen sosyal davranışlar nedeniyle oluşan fiziksel temaslar ile tümör hücrelerinin döküldüğü ve genital kanala, nazal ve oral mukozaya, rektuma, deriye transfer olduğu düşünülmektedir (Albanese ve ark, 2002; Amaral ve ark, 2007). Doğada bulunan kurt, çakal, tilki benzeri karnivorlarda da gözlenebilmektedir (Rogers,1997; Gurel ve ark, 2002; Das ve Das, 2000).

TVT'nin bulaşmasını bazı araştırmalar tarafından viral bir ajanla olabileceği aktarılırken (Cockrill ve Beasly, 1975) bir araştırmacı da (Moulton, 1990) tümör hücrelerinde onkojenik viral partiküllere rastlanmadığını bildirmektedir. Sitolojik ve immünolojik çalışmalar sonrasında elde edilen bulgular bulaşmada etkin TVT'nin hücre transplantasyonu ile taşındığı yönündedir (Higgins, 1966; Mukaratirwa ve

Gruys, 2003; Richardson, 1981; Mozos ve ark, 1996). Adeta neoplastik hücre taşıyıcısına yabancıdır. Çiftleşme esnasında aynı türler ve hatta tilki çakal gibi köpek ailesinin diğer üyeleri arasında major histokompatibiliti kompleks (MHC, ana doku uyumluluk kompleks) bariyerini geçen canlı, bütünlüğünü koruyan hücreler çiftleşmeyle allograft olarak diğer hayvanın genital organına transplante olabilmektedir (Higgins, 1966; Mukaratirwa ve Gruys, 2003; Murgia ve ark, 2006). TVT onkolojik olarak canlı tümör hücrelerinin deneysel yollarla hayvandan hayvana aktarıldığı ilk ve tek tümör tipidir (Das ve Kumar, 2000). Bu nedenle bu tümörler aynı zamanda allogenik hücre transplantları olarak da bilinirler (Richardson, 1981; Mozos ve ark, 1996).

Dişi köpeklerde TVT çoğunlukla vajinanın ön kısmında, vestibulum ile vajinanın birleşme bölgesinde şekillenir (Stockmann ve ark, 2011). Başlangıçta lezyonlar küçük (1-3 mm çaplı), yüzeysel ve pembeden kırmızı renge kadar değişen görünümde (Purohit, 2009). Tümörün daha ileriki dönemlerde karnıbahar şeklinde nodüller tarzda hacmi artar. Kırmızı, hemorajik, gevrek kıvamlı olup, sert fakat çoğunlukla kolay parçalanabilir yapıdadır. Bu kitlenin çapı 5-7 cm'ye ulaşabilir. Multilobüler subkutan lezyonlar halinde mukozanın derin katmanlarına doğru kitlelerin büyüklüğü 10-15 cm'ye ulaşabilir. Tümörde sızıntı tarzında akıntı, basit kanamalar gözlenebileceği gibi ülserasyonlu ve kontamine haldedir (Purohit, 2009). Tüm bunların yanı sıra saplı, nodüller, papiller ve multilobüler yapılar şeklinde de gözlenebilir. Bazen üretra deliğini sararak vulvadan dışarı sarkar (Purohit, 2009). Olgular enfekte olup komplike bir hal alınca dişilerde mekaniksel obstrüksiyonla birlikte urinasyon güçlüğü ve güç doğum oluşabilir (Das ve Kumar, 2000; Girma ve Mersha, 2015).

TVT'li köpekler huysuz halde olup, uzun süren serösanguinöz vajinal akıntı gözlenebilir. Tanı anamneze, kitlenin yerleşim yerine, perineal bölgenin kirli olmasına, kanamalı akıntı ve tümörün tipik görünüşüne göre yapılabilir. Kanamanın fazla şekillendiği olgularda hayvan anemik olabilir (Purohit, 2009).

TVT tipik bir sitolojik görünüme sahiptir. TVT'nin teşhisi için eksfoliatif sitoloji tekniğinin ucuz, basit kolay uygulanabilir ve minimal düzeyde invaziv olmasından dolayı sürme preparatların incelenmesi önerilmektedir. Oluşturulan preparatlardaki hücreler yuvarlak yapıdan ovale veya değişik yüzeyli yapıya kadar değişen şekilde gözlenirler. Genellikle belirgin göze çarpan tek bir nükleusa sahip, solgun mavi veya renksiz sitoplazmaları bulunur. Bununla birlikte küçük, açık, temiz intrastoplazmik vakuoller ve sayısız mikotik yapılar içerir (Hayes, 1983; Rogers, 1997; Purohit, 2009).

TVT'de tedavi yöntemleri olarak operatif, radyoterapi, immunoterapi ve kemoterapi gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Purohit, 2009). Operasyon küçük şeklindeki tümörlerde bazen etkili olabilmekte (De Lorimier ve Fan, 2007) ancak operasyon sonrası TVT hücreleriyle bölgenin kontamine olabilmesiyle birlikte nüks olayları gözlenebilmektedir (De Lorimier ve Fan, 2007; Purohit, 2009). Bu nedenle TVT'de operatif sağaltım etkili bir tedavi yöntemi değildir (Idowu, 1985; Rao ve ark, 1993; Hoque, 1995).

TVT'de radyoterapi uygulamaları kemoterapi tedavisine alternatif olarak, tedaviye direnç gösteren lezyonlarda veya beyin, testis, göz gibi alanlarda oluşan lezyonlar için kullanılabilir (De Lorimier ve Fan, 2007).

Kemoterapi en sık kullanılan ve etkili bir tedavi yöntemidir (Amber ve ark, 1990). Bu amaçla kemoteröpatik ajan olan vinkristinin haftada bir olarak ortalama 3 hafta süreyle $0.5-0.7\text{mg/m}^2$ vücut alanı veya 0.025 mg/kg dozunda serum fizyolojik ile dilue edilip ışıktan korunarak iv yolla çok yavaş infüzyon şeklinde verilmesiyle iyi sonuçlar alınmaktadır (Amber ve ark, 1990; De Lorimier ve Fan, 2007). Lezyonlarda gözlenebilir bir belirti kalmayınca kadar tedaviye devam edilmelidir ve uygulama süresi ortalama 2-6 haftadır. Bu tedavi sonrası %90-95 oranında iyileşme gözlenmektedir (De Lorimier ve Fan, 2007).

Uygulamalar süresince AST ve ALP enzimlerinde önemli bir azalma saptanmasa da, nötropeni, eozinopeni, lenfositosis, monositosis ile birlikte total serum

protein, hemoglobin, total eritrosit sayısı ve total lökosit sayısında önemli bir azalma oluşabilir. Uygulamanın yan etkileri arasında anoreksi, kusma, diyare, miyelosupresyon ve alopesiya bulunmaktadır. Eğer vinkristinden başarılı bir sonuç alınmazsa doksorubisin 1 mg/kg iv haftalık tarzda, maksimum 3 hafta uygulanabilir (Amber ve ark, 1990).

TVT’de diğer bir tedavi girişimi olarak vinkristin (0.0125mg/kg/haftalık, iv) + metoteraksat (0.3-0.5mg/kg/haftalık, iv) + siklofosfamid (1mg/kg/günlük, po) kombinasyonu hastalık belirtileri kayboluncaya kadar uygulanabilir. Uygulama şekli 4-6 haftalık süreler arasındadır (Purohit, 2009). Ayrıca adriamisin (30 mg/m² iv yolla her üç haftada bir kez) de etkili olmakla birlikte, yan etkisi nedeniyle vinkristinin etkili olmadığı olgularda kullanılmalıdır (De Lorimier ve Fan, 2007).

Dişi köpeklerde sıkça karşılaşılan genital organ tümörü olan TVT’nin teşhisi hayvandan alınan vulva, vajina smearları sonrası sitolojik muayenede gözlemlenen tipik TVT hücreleri ile rahatlıkla yapılabilmektedir. Sunulan bu çalışmada öncelikle bu teşhis yöntemi ile Eskişehir bölgesindeki dişi köpeklerden elde edilen smear ile TVT insidansının araştırılması amaçlanmıştır. İnsidansın belirlenmesiyle birlikte bu bölgede pet kliniğinde çalışan Veteriner Hekimi meslektaşlarımıza da hastalığın durumu hakkında bilgi akışı sağlanacağı düşünülmektedir. Ayrıca eksfoliatif sitolojik muayene yöntemiyle hızlı ve kolay bir şekilde klinik olarak TVT lezyonu olmayan ve ancak enfekte olan dişi hayvanların ortaya çıkartılıp çıkartılamayacağını araştırılması düşünülmektedir. Bunun yanı sıra TVT lezyonu ve hücrelerinin hayvanların içinde bulunduğu mevsim, canlı ağırlıkları, yaşları, ırk özellikleri ve seksüel siklus dönemleri gibi faktörlerle ilişkilerinin karşılaştırılması planlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışmada Eskişehir bölgesinde Kasım 2016-Haziran 2017 tarihleri arasında, 1-9 yaş ve 5-44 kg canlı ağırlık (CA) aralığında olan 255 adet dişi köpek kullanıldı.

2.2. Yöntem

Sunulan çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu 03.01.2016 tarihli ve 49533702/08 sayılı 151-16 referans numaralı araştırma onayı alınarak yürütüldü.

Çalışmada değerlendirilen ve seksüel yönden aktif dişi (1 yaşından büyük) köpeklerde öncelikle ırk tespiti yapıldıktan sonra, hayvan sahiplerinden detaylı anamnez ile köpeklerde gözlenen huysuzluk, genel sağlık durumu, son çiftleşme zamanı, anormal akıntı, kanama, bölgede fark edilebilen lezyon gözlenmiş mi, eğer varsa ne zaman, idrar yapma veya yapamama durumları ile bilgiler alındı. Hayvanların yaşları yukarıda bildirildiği şekilde belirlendi. Canlı ağırlıkları belirlenerek kayıt edildi. Daha sonra hayvanlara muayene masasında dört ayak üzerinde normal duruş pozisyonunda detaylı fiziksel, kliniksel muayene yapılarak elde edilebilen bulgular kaydedildi. Bu işlemler sonrasında köpekler muayene masasında sabitlenerek önceden serum fizyolojik ile ıslatılmış svap (pamuklu hazır kulak temizleme çubuğu) baş ve işaret parmağımızla araladığımız vulva dudaklarından vajinanın kaudo-dorsaline ilettilerek, vajina mukozasından kendi eksenini etrafında döndürülerek smear alındı. Daha sonra svaplar lam üzerine yerleştirilerek yuvarlama hareketi ile ince bir tabaka şeklinde sürme yapılarak

havada kurutmaya bırakıldı. Alınan örneklerin boyama ve değerlendirme işlemlerinde ise Giemsa boya solüsyonu (Merck), distile su, etil alkol (%96) ve ışık mikroskobu (Olympus) kullanıldı.

Hazırlanan preparatlar, Giemsa boyama yöntemine göre aşağıda belirtildiği şekilde boyandı. Bu amaçla;

- Havada kurutulmuş preparatlar üzerine %96'lık etil alkol dökülerek, 10 dakika beklemek suretiyle fikzasyonu sağlandı.
 - Fikse olan preparatlar distile su ile yıkandı.
 - Giemsa stok solusyonundan her preparat için 5 damla alınarak 5 ml distile su ile karıştırıldı. Preparatlar bu solüsyon ile boyandı.
 - Preparatlar 30 dakikalık bir boyanma sürecine alındı.
 - Boyama sonunda distile su ile yıkanan preparatlar kurumaya bırakıldı.
- Elde edilen preparatlar, ışık mikroskobunda önce 40'lık büyütmede incelenerek hücre sayımı yapıldı. Gerek görülürse 100'lük büyütmede immersiyon ile detaylı olarak mikroskop sahaları incelendi. Hücreler sayılırken; hücrelerin üst üste gelmemiş, yapılarının bozulmamış olmalarına dikkat edildi. Hücreler;
 - TVT hücreleri, (çekirdek sitoplazma oranı düşük olan, sitoplazma içerisinde daha çok perifere yakın bölgelerde küçük, temiz, parlayan vakuoller olan, sitoplazmaları açık bazofilik karakterde, kullanılan boyanın yapısına uygun olarak çekirdekleri lacivert/mor ve sınırları belirgin karakterde izlenen)
 - Polimorf nükleer lokositler (PMN)
 - Eritrositler,
 - Parabazal,
 - İntermedieyt,

- Nükleer süperfisiyal ve
- Anükleer süperfisiyal hücreler şeklinde ayrıldılar

Özellikle TVT hücreleri, çekirdek sitoplazma oranına ve intrasitoplazmik temiz, parlak vakuollerin durumuna göre değerlendirildi. TVT lezyonlu hayvanlar (pozitif ;1) ve lezyon olmayanlar (negatif;0); TVT lezyonu gözlenmeyip sitolojide tipik TVT hücresi görülen hayvanlar (pozitif;1) ve görülmeyenler (negatif;0) olarak değerlendirildi. Sitolojide gözlenen diğer hücreler preparatta görünme yoğunluğuna göre 0 (Yok); 1 (az); 2 (normal); 3 (yoğun) olarak sınıflandırıldı. Bu şekilde hayvanların seksüel siklus dönemleri tayin edildi.

Çalışmada bulunan 255 köpeğin incelendiği mevsimin, yaşlarının, CA'larının ve ırklarının TVT üzerine etkisini istatistiksel olarak araştırmak için aşağıda belirtilen gruplamalar yapıldı.

Mevsim: Hayvanlar muayene edilen ve numune alınan aylara göre düzenlenerek aşağıdaki şekilde gruplar oluşturuldu.

- (1) Kasım, Aralık (n: 57)
- (2) Ocak, Şubat (n:26)
- (3) Mart (n:78)
- (4) Nisan (n:40)
- (5) Mayıs, Haziran (n:54)

Hayvanların yaşları:

- (1) Yaşları 1,2,3 olanlar, n:190,
- (2) Yaşları 4,5,6 olanlar, n:59,
- (3) 6 yaşından büyük olanlar, n:6.

Hayvanların Canlı Ağırlıkları:

- (1) CA 5-15 kg arası, n:34
- (2) CA 16-30 kg arası, n:153
- (3) CA 30-44 kg arası, n:68

Hayvanların ırkları:

- (1) Yerli ve Melez olanlar (sokak köpekleri, Akbaş, Kangal, Türk Çoban köpeği v.b.)
n:186
- (2) Yabancı ve evde bakılanlar (Golden Retriever, Alman Kurt köpeği, Yorkshire Teriyer, Hunter, Pointer, Setter, Husky, Boxer v.b.) n:69

Hayvanların seksüel siklus dönemleri:

- (1) Pröstrüs,
- (2) Östrüs,
- (3) Diöstrüs,
- (4) Anöstrüs,

İstatistiki analizler: Çalışmada elde edilen tüm verilere Minitab17.0 programıyla, ANOVA, GLM ve Tukey testleri kullanılarak istatistiki analizler yapıldı ve karşılaştırıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada klinik görünüm ve eksfoliatif sitolojik muayene ile dişi köpeklerin genital organlarında (n:255) TVT lezyonu (n:14) %5,49 oranında belirlendi (Çizelge 3.1). Klinik olarak 14'ünün genital organlarında TVT lezyonu gözlenirken (Şekil 3.1, 3.2,3.3, 3.4, 3.5), tüm hayvanların (n:255) incelenen smearlarında sadece TVT hücresi gözlenen hayvan oranı (n:44) %17,25 olarak tespit edildi (Çizelge 3.1, Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9). Buna ek olarak eksfoliatif sitolojik muayenelerde TVT hücresi izlenen ancak lezyonu olmayan 30 dişi köpek (%11,76) olduğu belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.8, 3.9). Çalışmada değerlendirilen hayvanların klinik olarak genital organları dışında vücutlarının başka herhangi bir yerinde tümöral bir lezyon gözlenmedi. Klinik TVT lezyonu belirlenen 14 köpeğin dokuzunda vulvadan serosanguinöz akıntı tespit edildi (Şekil 3.1, 3.3, 3.4)

Hazırlanan smearlarda TVT hücreleri çekirdek sitoplazma oranı düşük olarak belirlendi. Ayrıca hücre sitoplazması içerisinde perifere yakın bölgelerde küçük, temiz, parlayan vakuoller gözlemlendi. Hücrelerin sitoplazmaları açık bazofilik karakterde, kullanılan boya yapısına uygun olarak çekirdekleri lacivert/mor ve sınırları belirgin şekilde görüntülendi (Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9). Bunun yanı sıra eritrositler ve bazı yangı hücreleri de tespit edildi (Şekil 3.6, 3.9). Vajina dokusuna ait normal epitel hücreleri de gözlemlendi (Parabazal, intermedieyt, nükleer süperfisiyal, anükleer süperfisiyal, Şekil 3.7).



Şekil 3.1. Bir dişi köpekte vulvadan dışarıya sarkan TVT lezyonunun kliniksel görünümü



Şekil 3.2. Bir dişi köpekte TVT lezyonunun kliniksel görünümü



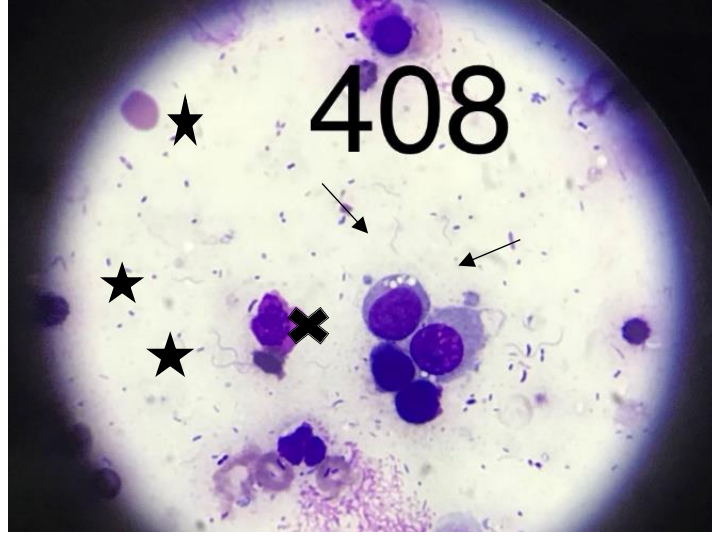
Şekil 3.3. TVT lezyonu olan bir köpekte vulvadan gelen serosanginöz görünüm



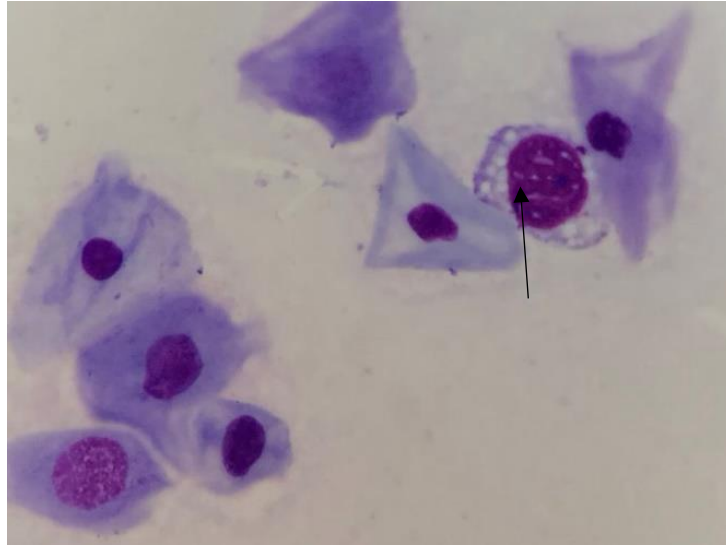
Şekil 3.4. Bir dişi köpekte TVT lezyonunun kliniksel görünümü ve kanama görüntüsü



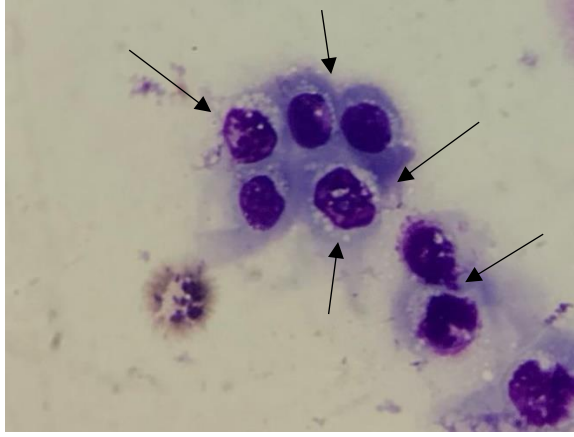
Şekil 3.5. TVT lezyonu olan ve güç doğum şekillenen dişi bir köpeğin dış genital organlarından görünüm



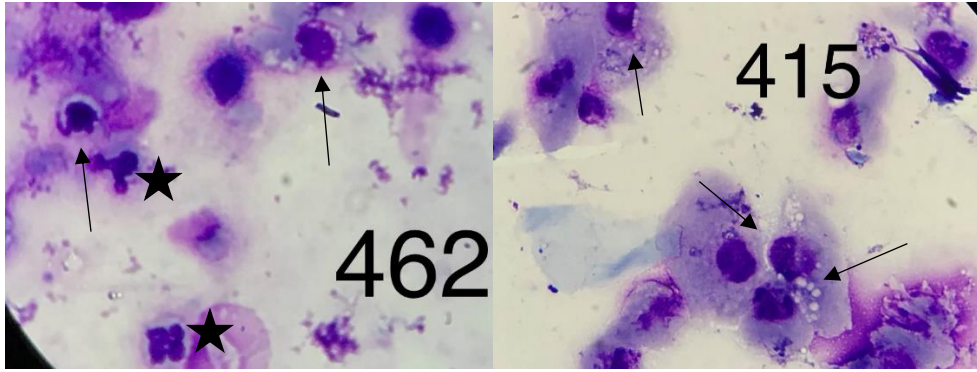
Şekil 3.6. TVT lezyonu olan bir dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücreleri (oklar), polimorf nükleer lökositler (çarpı işareti), eritrositler (yıldızlar) (x40)



Şekil 3.7. TVT lezyonu olan bir dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücresi (oklar) ve diğer vajinal epitel hücreleri (x40)



Şekil 3.8. TVT lezyonu olmayan dişi köpeklerin vajinal smear görüntüleri. TVT hücreleri (oklar) (x40)



Şekil 3.9. TVT lezyonu olmayan iki dişi köpeğin vajinal smear görüntüsü. TVT hücreleri (oklar), polimorf nükleer lökositler (yıldızlar) (x40)

Sunulan çalışmada değerlendirilen hayvanların seksüel siklus dönemleri sayı ve oranları çizelge 2’de sunulmuştur.

Bu araştırmada TVT lezyon ve hücrelerinin oluşumu ile gözlenmesi üzerine çalışmanın yapıldığı mevsimin, köpeklerin yaşlarının, ırk özelliklerin ve buldukları seksüel siklus periyodunun istatistiksel anlamda etkilerinin olmadığı belirlendi (Çizelge 3.3). TVT hücreleri bakımından (Çizelge 3.3), CA’ları 1. grupta ve az olarak belirlenen hayvanların, üçüncü grupta bulunan ve ağır olan hayvanlardan hücre gözlenme oranı yüksek ve istatistiki olarak farklı bulundu ($p < 0.05$, çizelge 3.3). CA’lar bakımından 2.grupta olan hayvanların 1. ve 3. grupta bulunan hayvanlar arasında

istatistiksel fark olmadığı belirlendi (Çizelge 3.3). Bunun yanı sıra TVT hücrelerinin diöstrüs döneminde gözlenmesinin diğer dönemlere göre sayısal olarak yüksek olduğu ancak aradaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edildi (Çizelge 3.3, 3.5).

Sunulan çalışmada TVT lezyonu ve TVT hücrelerinin sitolojik olarak preparatlarda belirlenen PMN'lerin ve eritrositlerin görünümü üzerine etkileri incelendiğinde TVT lezyonu pozitif olan hayvanlarda negatif olanlara göre eritrositlerin yoğunluğunun fazla olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı çıktığı gözlenirken ($p<0.0001$, çizelge 4), PMN'ler bakımından fark gözlenmedi. TVT hücreleri bakımından incelendiğinde gerek pozitif gerekse negatif olan hayvanlarda eritrosit yoğunluğu az ve farksız olarak belirlendi. Ancak TVT hücresi belirlenenlerde PMN yoğunluğu yüksek ve negatif olanlara göre istatistiki anlamda farklı bulundu ($p<0.01$, çizelge 3.4).

Çizelge 3.1. Transmisibil venereal tümör (TVT) lezyonu ve TVT hücreleri belirlenen dişi köpeklerin sayı ve oranları

<i>TVT Lezyonu</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Pozitif	14	5,49
Negatif	241	94,51
<i>TVT hücresi</i>		
Pozitif	44	17,25
Negatif	211	82,75
Toplam	255	100
<i>TVT Lezyonu olmayan ve TVT hücresi belirlenen</i>	30	11,76

Çizelge 3.2. Çalışmaya dahil edilen dişi köpeklerin siklik dönemlerinin sayı ve oranları

<i>Siklus dönemi</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Proöstrüs	37	14,51
Östrüs	18	7,06
Diöstrüs	74	29,02
Anöstrüs	126	49,41
Toplam	255	100

Çizelge 3.3. Transmisibil venereal tümör (TVT) lezyonu ve TVT hücreleri oluşumu üzerine mevsimin, yaşın, canlı ağırlığın (CA), hayvan ırklarının ve seksüel siklus dönemlerinin etkisi (En küçük kareler ortalaması \pm SH).

<i>Faktörler</i>	<i>Faktör Grupları</i>	<i>n</i>	<i>TVT (Lezyon)</i>	<i>TVT hücresi</i>
Mevsim*	1	57	0,0216 \pm 0,0483	0,1184 \pm 0,0796
	2	26	0,0679 \pm 0,0572	0,0694 \pm 0,0943
	3	78	0,0758 \pm 0,0440	0,1192 \pm 0,0726
	4	40	0,0835 \pm 0,0533	0,0455 \pm 0,0879
	5	54	0,0258 \pm 0,0485	0,1614 \pm 0,0799
Yaş**	1	190	0,0430 \pm 0,0248	0,1521 \pm 0,0409
	2	59	0,0938 \pm 0,0345	0,1694 \pm 0,0568
	3	6	0,0280 \pm 0,0977	0,013 \pm 0,161
CA***	1	34	0,0530 \pm 0,0552	0,2153 \pm 0,0910 ^a
	2	153	0,0732 \pm 0,0393	0,0876 \pm 0,0648 ^{ab}
	3	68	0,0385 \pm 0,0458	0,0054 \pm 0,0755 ^b
Irklar****	Yerli, melez ve sokak köpekleri (1)	111	0,0567 \pm 0,0399	0,1311 \pm 0,0658
	Yabancı ve ev köpekleri (2)	34	0,0531 \pm 0,0452	0,0744 \pm 0,0746
Siklus Dönemi*****	Proöstrüs (1)	37	0,0501 \pm 0,0526	0,0855 \pm 0,0867
	Östrüs (2)	18	0,0498 \pm 0,0655	0,015 \pm 0,108
	Diöstrüs (3)	74	0,0995 \pm 0,0430	0,2224 \pm 0,0709
	Anöstrüs (4)	126	0,0203 \pm 0,0374	0,0882 \pm 0,0617

Aynı kolonda yer alan değişik harfler (a,b) arası fark istatistiki olarak önemlidir ($p < 0.05$)

Not: TVT lezyon pozitif 1; negatif 0; TVT hücre pozitif 1, negatif 0 olarak değerlendirildi

*Mevsim: Hayvanlardan numune alınan aylara göre, Kasım, Aralık (1); Ocak, Şubat (2); Mart (3); Nisan (4); Mayıs, Haziran (5) değerlendirildi

**Hayvanların yaşları: Yaşları 1, 2, 3 yaşlılar 1; 4, 5, 6 olanlar 2; 6 yaşından büyük olanlar 3 olarak değerlendirildi.

***Hayvanların ağırlıkları: CA 5-15 kg, ort: 13 olanlar 1; CA 16-30 kg, ort:24,66 olanlar 2; CA 30-50 kg, ort:37,96 olanlar 3 olarak değerlendirildi.

****Hayvanların ırkları: Yerli ve Melez olanlar 1; Yabancı ve evde bakılanlar 2 olarak değerlendirildi

***** Hayvanların seksüel siklus dönemleri Proöstrüs 1; Östrüs 2; Diöstrüs 3; Anöstrüs 4 olarak değerlendirildi

Çizelge 3.4. Transmisibil venereal tümörün (TVT Lezyonu) ve TVT hücrelerinin sitolojik olarak preparatlarda belirlenen polimorf nükleer lökositler (PMN) ve eritrositlerin görünümü üzerine etkileri (En küçük kareler ortalaması±SH).

<i>Faktörler</i>	<i>n</i>	<i>Hücreler</i>	
		<i>PMN</i>	<i>Eritrosit</i>
TVT (Lezyon)			
Negatif (0)	241	0,8171±0,0961	0,6848±0,0616 ^b
Pozitif (1)	14	1,0590±0,243	2,024±0,156 ^a
<i>p</i>			<0.0001
TVT Hücresi			
Negatif (0)	211	0,732±0,151 ^b	1,2984±0,0971
Pozitif (1)	44	1,144±0,146 ^a	1,4107±0,0937
<i>p</i>		<0.01	

Aynı kolonda yer alan değişik harfler (a,b) arası fark istatistiki olarak önemlidir

Not: Sitolojik olarak belirlenen bütün hücreler preparatta görünme yoğunluğuna göre 0 (Yok); 1 (az); 2 (normal); 3 (yoğun) olarak değerlendirildi

Çizelge 3.5. Seksüel siklus dönemlerine göre TVT lezyon ve TVT Hücre görünme sayı ve oranları

<i>Faktörler</i>		<i>Seksüel Siklus Dönemleri</i>			
		Proöstrüs	Östrüs	Diöstrüs	Anöstrüs
TVT (Lezyon)	n	2/37	1/18	8/74	3/126
	%	5,41	5,56	10,81	2,38
TVT Hücresi	n	5/37	1/18	20/74	18/126
	%	13,51	5,56	27,03	14,29

4. TARTIŞMA

Dişi köpeklerde TVT'nin tanısı hayvanlardan alınan vajina smearları sonrası TVT'nin tipik bir sitolojik görünüme sahip olmasından dolayı, eksfoliatif sitolojik incelemede gözlemlenen TVT hücreleri ile kolayca yapılabilmektedir (Erüenal Maral ve ark, 2000; Santiago-Flores ve ark, 2012). Hazırlanan smearların incelenmesi TVT'nin erken teşhisi için hızlı, kolay ve önemlidir (Zinkl, 1999; Erüenal Maral ve ark, 2000; Henson, 2001). Sunulan çalışmada köpeklerde dış bakıda klinik TVT lezyonları ve belirtileri olsun olmasın 255 dişi köpeğin eksfoliatif sitolojik yöntemle yapılan vajinal smearlarında TVT hücresi arandı. Erüenal Maral ve ark (2000)'nin araştırmalarında belirttiği gibi bulunduğu sitoplazmanın yarısından büyük, yuvarlak veya oval büyük bir çekirdek içeren (çekirdek sitoplazma oranı düşük), özellikle hücre membran sınırlarına yakın dizilen temiz, küçük yapıdaki vakuoller bulunan bazofilik karakterli hücreler TVT hücreleri olarak adlandırıldı (Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9) (Batamuzi ve Kessy, 1993; Rogers, 1997; Zinkl, 1999; Henson, 2001) .

TVT'li köpekler huysuz halde olup, vulvalarından serösanguinöz akıntı gözlemlenebilir. Klinik tanı anamneze, kitlenin yerleşim yerine, perineal bölgenin kirli olmasına, kanamalı akıntı ve tümörün tipik görünüşüne göre yapılabilir (Purohit, 2009). Dişi köpeklerde TVT çoğunlukla vajinanın ön kısmında, vestibulum ile vajinanın birleşme bölgesinde şekillenir (Stockmann, 2011). Bu çalışmada 255 dişi köpekten 14'ünde klinik olarak lezyon belirlendi (Çizelge 3.1). Lezyonların bazıları vulvadan dışarıda tespit edilirken, bazı hayvanlarda vulvanın iç kısmı veya vajina içerisinde belirlendi (Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5). Bu hayvanların dokuzunda vulvadan serosanguinöz akıntı tespit edildi (Şekil 3.1, 3.3, 3.4). Klinik olarak belirlenen lezyonların araştırmacılarında (Purohit, 2009) belirttiği gibi yüzeysel ve pembeden kırmızı renge kadar değişen, karnibahar şeklinde ve nodüler tarzda olduğu belirlendi (Şekil 3.1, 3.2, 3.4). Dört hayvanda şekillenen lezyonların vulvadan dışarı sarkarak üretra deliğini sardığı tespit edildi (Purohit, 2009). Araştırmacıların bildirdiğine göre olgular enfekte olup komplike bir hal alınca dişilerde mekaniksel obstrüksiyonla birlikte urinasyon güçlüğü ve güç doğum olabileceği aktarılmaktadır (Das ve Kumar,

2000; Girma ve Mersha, 2015). Bu çalışmada bir dişide şekillenen düç doğum sonrası, güç doğumun vajinal kanalda şekillenen TVT lezyonları olduğu anlaşıldı (Şekil 3.5).

TVT'ye dünyanın birçok ülkesinde dişi ve erkek köpeklerde aynı sıklıkta rastlanıldığı bildirilmektedir (Smith ve Washbourn1998; Strakova ve Murchison, 2014). Sunulan çalışmada klinik görünüm ve eksfoliatif sitolojik muayene ile dişilerde TVT lezyonu %5,49 olarak tespit edildi (Çizelge 3.1, Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5). İncelenen vajinal smearlarında ise TVT hücresi gözlenen dişi köpek oranı %17,25 olarak tespit edildi (Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9). Klinik olarak TVT lezyonu bulunmayan, sitolojik muayenelerde sadece TVT hücresi belirlenen 30 dişi köpek (%11,76) olduğu belirlendi (Şekil 3.8, 3.9). Hindistan'da TVT gözlenmesinin %23-43 oranları arasında yüksek bir şekilde bulunduğu aktarılmaktadır (Chaudhary ve Rao, 1982; Gandotra ve ark, 1993; Jain ve ark, 2002). Ortega-Pacheco ve ark (2006) 318 erkek köpeğin %42.5'inde rastladıkları genital organ patolojilerinden, %5.4 oranında TVT gözlediklerini bildirmektedirler. Yapılan bir çalışmada Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen köpeklerde TVT'nin yıl boyu gözlenme oranının %5,42 olduğu aktarılmaktadır (Sarıbay ve ark, 2016). Sunulan araştırmada TVT lezyonlu köpekler Türkiye'de bildirilen oranlarla aynı, diğer ülkelerle bildirilen oranların bazılarında düşük bulunmuştur. TVT insidansının araştırıldığı Eskişehir'de kontrolsüz hayvan sayısının az olduğu düşünülebileceği gibi, bu düşük gözlenme oranının ülkelerin gelişmişliğine bağlı olabileceğini aktaran araştırmalarla (Strakova ve Murchison, 2014) paralellik göstermektedir. Bunun yanı sıra TVT'nin sadece lezyonlarla seyretmediği, lezyon olmayıp hücre tespit edilen hayvanların da enfekte kabul edilmesi gerektiği düşünülebilir. Ek olarak dişilerden hazırlanan sürme preparatlarda lezyon olmadığı halde TVT hücresi bulunan hayvanların yeni enfekte olabileceği (çiftleşme sonrası dökülen TVT hücrelerinin burda tespit edilmesi), var olan ancak küçük tarzda vajina içinde bulunan kliniksel görünüm vermeyen lezyonlardan kaynaklanabileceği gibi bu hayvanlarda immun sistemin tümöre karşı mücadele verdiği veya olan bir tümörün regrese olup son hücrelerin gözlemesiyle karşı karşıya oldukları söylenebilir (Yang ve Jones, 1973; Vermooten 1987; Liao ve ark, 2003; Mukaratirwa ve Gruys, 2003; Mukaratirwa ve ark, 2006; Stockmann ve ark, 2011).

Gandotra ve ark (1993) TVT'li köpeklerde mevsimin etkisini araştırdıkları çalışmalarında olguların % 57.9 ilkbahar ve yaz aylarında, %42.1'nin ise sonbahar ve kış aylarında gözlendiğini aktarmaktadırlar. Ayrıca ilkbahar ve yaz aylarında gözlenme oranlarının yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel açıdan fark olmadığı bildirmektedirler. Sunulan araştırmada araştırmacıların bildirdiklerine paralel olarak gerek TVT lezyon gerekse TVT hücre gözlenmesi bakımından mevsimler arasında fark olmadığı tespit edildi (Çizelge 3.3).

Çalışmada hayvanların CA'ları dikkate alındığında 1. grupta (CA'ları 5-15 kg arasında olan) ve diğer gruplardan CA'ları az olarak belirlenen hayvanların üçüncü grupta bulunan ve ağır olan hayvanlardan TVT hücre gözlenme oranı yüksek ve istatistiki olarak farklı bulundu ($p<0.05$, çizelge 3). CA'lar bakımından 2.grupta olan hayvanların 1. ve 3. grupta bulunan hayvanlar arasında istatistiksel fark olmadığı belirlendi (Çizelge 3.3). Yukarıda oluşan farkın nedeninin küçük cüsseli hayvanların daha fazla çiftleşmeye zorlanması ve bulaşmanın daha fazla olması olabilir. Tam tersi olarak büyük ve iri yapılı hayvanların çiftleşmeyi reddetmesi ve bulaşmanın daha az olması anlamına gelebilir.

TVT ile köpeklerin yaşları arasındaki ilişkinin incelendiği bir araştırmada 0-2 yaşlar arasında TVT gözlenmediğini, 2-4 yaşlılarda %39.24, 4-6 olanlarda %30.38, 6-8 yaşlar arasında %17.09, 8-10 yaş arasındakilerde %10.13, 10-12 yaşlılarda da %3.16 olduğu aktarılmaktadır (Srivastava ve ark, 2013). Bunun yanı sıra Santiago-Flores ve ark (2012) 3 yaşlı olanların, Gandotra ve ark.(1993) da 1-5 yaş arasında olanların etkileneceğini iletmektedirler. Ayrıca yapılan çalışmalarda (Santiago-Flores ve ark, 2012; Srivastava ve ark, 2013) melez ve sokak köpeklerinde daha da fazla bulaşma riski olduğu bildirilmektedir. Sunulan bu araştırmada hayvanların yaşının ve ırk özelliklerin TVT lezyon ve hücre gözlenmesi üzerine istatistiksel anlamda etkilerinin olmadığı izlendi (Çizelge 3.3). TVT ile enfekte olma riskinin özellikle dişi köpeklerin sekseül aktivitesinin arttığı dönemlere denk geldiği bildirilmektedir (Das ve Das, 2000). Bu dönemlerde hayvanların ırkının, yaşının ve erkek veya dişi olmasının önemli olmadığı, bulaşma bakımından hepsinin duyarlı olabileceği aktarılmaktadır (Das ve Das 2000).

Bu araştırmada TVT lezyonu ve TVT hücrelerinin sitolojik olarak preparatlarda belirlenen polimorf nükleer lökositler (PMN) ve eritrositlerin görünümü üzerine etkileri incelendiğinde (Çizelge 4) eritrositlerin TVT lezyon pozitif olan hayvanlarda negatif olanlara göre istatistiki olarak farklı ve fazla olduğu belirlendi ($p<0.0001$). Bunun nedeninin TVT lezyonlarının kırmızı, hemorajik, gevrek kıvamlı olup, sert fakat çoğunlukla kolay parçalanabilir yapıda olmasından ve tümörlerde sızıntı tarzında akıntı, basit kanamalar olmasından kaynaklandığı ileri sürülebilir. Polimorf nükleer lökositlerin ise TVT hücre pozitif olan hayvanlarda negatiflere oranla yüksek ve istatistiki olarak farklı olduğu ($p<0.01$, Çizelge 4) belirlendi. Dişi köpeklerin çiftleşme eğiliminde olmasından dolayı çiftleşmeler sonrası PMN'lerin yoğunlunun artmış olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra lezyon yokken TVT hücresi tespit edilen köpeklerde PMN'lerin fazla olmasının nedeni hayvanların tümörle yeni enfekte olabileceğini bu esnada yangı hücrelerinin yoğunluğa ulaşmış olabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra araştırmalarda da aktarıldığı gibi tümörlerde immun sistem sayesinde spontan regresyonun olabileceği (Liao ve ark, 2003) gibi TVT'de progresif fazdan regresyona geçişte de savunma sistemi hücrelerinin infiltrasyonunun artacağı aktarılmaktadır (Mukaratirwa ve Gruys, 2003; Mukaratirwa ve ark, 2006; Stockmann ve ark, 2011). Ayrıca deneysel veya doğal yol ile bulaştırılan TVT'nin kendiliğinden regresyonunun lenfositlerin ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu ile birlikte, nekrozis ve apoptozis sayesinde olduğu aktarılmaktadır (Stockmann ve ark, 2011). Bu nedenle TVT lezyonu olmayan ancak TVT hücresi belirlenen hayvanlarında enfekte olabilecekleri düşünülerek dönemsel periyotlarda muayene edilmelerinin gerektiği düşünülmektedir.

Sunulan bu çalışmada hayvanlarda seksüel siklus dönemlerine göre sırasıyla proöstrüs, östrüs, diöstrüs ve anöstrüs olarak, TVT lezyonlarının gözlenme oranları %5.41, 5.56, 10.81 ve 2,38 olarak belirlendi (Çizelge 3.5). TVT hücre gözlenme oranları ise aynı dönemlerde sırasıyla %13.51, %5.56, %27.03 ve %14.29 tespit edildi (Çizelge 3.5). Her ne kadar bu dönemler arasında TVT lezyon ve TVT hücre gözlenme oranları arasında istatistiki olarak fark yoksa da, TVT hücrelerinin gözlenme oranının diöstrüs döneminde fazla olduğu belirlendi. Bunun nedeninin hayvanların seksüel aktivitelerinin başlamasıyla çiftleşmenin yoğunlaşması, bulaşmanın bu dönemde

olması ve diöstrüs döneminde hücrenin ilk varlığının ortaya çıkması olabilir. Bu oranın anöstrüs döneminde de rakamsal olarak düşmesi ise tümörün görülme oranının hayvanın bağışıklık sistemine bağlı ve genel vücut kondisyonu iyi olanlarda benign karakterli seyir gösterdiği ve regrese olabildiğini (Yang ve Jones, 1973; Vermooten 1987) aktaran çalışmaları desteklediği ileri sürülebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye'nin modern ve gelişmiş ili olan Eskişehir'de TVT insidansının klinik görünüm açısından oldukça az olduğu tespit edildi. TVT hücrelerinin tanısında iyi bir yöntem olan eksfoliatif sitoloji ile lezyon olmayan hayvanlarda da TVT hücrelerinin var olabileceği belirlendi. Böylelikle preparatlarında TVT hücresi belirlenen hayvanların yeni enfekte olmuş olabileceği (çiftleşme sonrası dökülen TVT hücrelerinin tespit edilmesi), bu hayvanlarda tümörün immun sistem sayesinde spontan regresyona uğramış ancak hala tümör hücrelerinin bulunabileceği veya var olan ancak küçük tarzda vajina içinde bulunan kliniksel görünüm vermeyen lezyonlardan kaynaklanabileceği söylenebilir. Bundan dolayı TVT'nin sadece lezyonlarla seyretmediği, eksfoliatif sitolojik muayenede TVT hücresi tespit edilen hayvanların da enfekte kabul edilmesi gerektiği ileri sürülebilir. Sonuç olarak sadece kliniksel bulguların yetmediği, dişi hayvanlarda lezyon olsun olmasın belirli periyotlarla eksfoliatif sitolojik muayene ile genital organların kontrol edilmesi gerektiği kanaatine varıldı.

6. ÖZET

Köpeklerde Sitolojik Muayene ile Transmissible Veneral Tümör İnsidansının Araştırılması

Sunulan araştırmada, Eskişehir’de farklı ırk, yaş ve canlı ağırlığında olan 255 dişi köpekte Transmissible Venereal Tümör (TVT) insidansı araştırıldı. Tümör ile çeşitli faktörlerin ilişkileri incelendi. TVT'nin teşhisi tümörün klinik görünümü ve temel olarak eksfoliatif sitolojik sonuçlara bakılarak yapıldı. Vajinadan alınan smearlar Gimsa boyama yöntemi ile boyandı. Gözlenen hücreler tipik TVT hücreleri, polimorf nükleer lökositler (PMN), eritrositler, parabazallar, intermedieytlar, nükleer ve anükleer süperfiyal hücreler şeklinde ayrıldı. Köpekler mevsime, yaşlarına, ırklarına, ağırlıklarına ve siklik dönemlerine göre gruplandırıldı.

Sitolojide TVT hücreleri 44 köpekte (% 17,25) gözlenirken, bunların sadece 14’ünde (%5,49) klinik olarak TVT lezyonları bulundu. Hayvanların 30’unda (%11,76) TVT hücresi belirlenirken, bu köpeklerde TVT lezyonlarına rastlanılmadı. Köpeklerin yaşlarının, ırklarının, siklik periyodunun ve mevsimin TVT lezyonları ve TVT hücreleri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlendi. Canlı ağırlığı az olanların, ağır olanlara göre TVT hücre gözlenme oranı yüksek ve istatistiki olarak farklı bulundu ($p<0.05$). TVT lezyonu pozitif olan hayvanlarda eritrositlerin yoğunluğunun fazla olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı çıktığı gözlemlendi ($p<0.0001$). TVT hücresi belirlenenlerde PMN yoğunluğu yüksek ve negatif olanlara göre istatistiksel anlamda farklı bulundu ($p<0.01$).

Sonuç olarak TVT lezyonu gözlenmeyen köpeklerin de TVT ile enfekte olabileceği, bundan dolayı köpeklerin belirli periyotlarla TVT hücrelerinin var olup olmadığını belirlemek için sadece klinik olarak değil aynı zamanda sitolojik olarak ta incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu yöntem, lezyon içermeyen ama TVT bulaşmış köpekleri erken bir zamanda bulmak ve tedavi etmek için kolay bir yol olabilir.

Anahtar Sözcükler: Köpek, eksfoliatif sitoloji, TVT, TVT hücresi, insidans

7. SUMMARY

Investigation of the Incidence of Transmissible Venereal Tumor in Dogs by Cytological Examination

In the present study, the incidence of Transmissible Venereal Tumor (TVT) was investigated in 255 female dogs with different breeds, ages and weights in Eskisehir. The relationship between tumor and various factors was examined. TVT was diagnosed by the clinical appearance of the tumor and mainly the exfoliative cytological results. Vajinal smears were painted with Gimsa staining. The typical TVT cells, polymorphic nuclear leukocytes (PMN), erythrocytes, parabasal, intermediate, nuclear and nuclear superficial cells were classified. Dogs were grouped according to their ages, breeds, live weights, cyclic period and season.

In cytology, TVT cells were observed in 44 dogs (17.25%), and only 14 (5.49%) of them had clinically TVT lesions. Thirty (11.76 %) of dogs had TVT cells but not having TVT lesions. Dog ages, breeds, cyclic periods and season were found to have no effect on TVT lesions and TVT cells. The dogs with low live weight had a high rate of TVT cell density ($p < 0.05$) than dogs with heavy weight. It was observed that the density of erythrocytes was higher in TVT lesion positive cases ($p < 0.0001$). The intensity of PMNs was found to be higher in TVT cell positive cases than the negative ones ($p < 0.01$).

As a result, the dogs having no lesions could be infected with TVT. Dogs should be examined at certain periods not only clinically, but also cytologically, to determine whether TVT cells are present. This method can be an easy way to find and treat TVT lesion-free but infected dogs at an early time.

Key Words: Dogs, Exfoliative Cytology, TVT, TVT cell, Incidence

8. KAYNAKLAR

- ALBANESE, F., POLI, A., MILLANTA, F., ABRAMO, F. (2002) Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with *Leishmania* laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin. *Vet Dermatol*, 13: 243-246.
- AMARAL, A.S., B.S. SANDRA, F. ISABELLE, L.S. FONSECA, F.H. ANDRADE, L.F. GASPAR AND N.S. ROCHA, 2007. Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *RPCV*, 102: 253-260.
- AMBER EL, HENDERSON RA, ADEYANJU JB, GYAND EO. Single drug chemotherapy of canine transmissible venereal tumour with cyclophosphamide methotrexate or vincristine. *J Vet Int Med* 1990; 4: 144-147.
- BATAMUZI, E.K., KESSY, B.M. (1993) Role of exfoliative cytology in the diagnosis of canine transmissible venereal tumour. *J Small Anim Pract*, 34:399-401.
- CHAUDHARY, C. RAO, M.R.K. (1982) Certain canine neoplasms encountered in Andhra Pradesh. *Indian.Vet.J.*, 59:100-102.
- COCKRILL, J.N., BEASLY, J.N. (1975) Ultra structural characteristics of canine transmissible venereal tumor various stages of growth and regression. *Am. J. Vet. Res.*, 36(5):677-681.
- DAS, U., DAS, A.K. (2000) Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Res Comm*, 24:545-556.
- DAS, U., KUMAR, A.(2000) Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Res Commun.*, 24: 545-556.

- DE LORIMIER, L-P., FAN, T.M. (2007) Canine Transmissible Venereal Tumor. In: Withrow SJ, Vail DM eds. Withrow & MacEwen's *Small animal clinical oncology*. 4 th ed. USA: Saunders Elsevier, pp. 799-804.
- ERÜNAL-MARAL, N., FINDIK, M., ASLAN, S. (2000). Use of exfoliative cytology for diagnosis of transmissible venereal tumor and controlling the recovery period in the bitch. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 5: 175-180.
- GANDOTRA, V.K., CHAUHAN, F.S, SHARMA, R.D. (1993) Occurrence of canine transmissible venereal tumor and evaluation of two treatments. *Indian Vet.J.*,70:854-857.
- GIRMA, B., MERSHA, C. (2015) A Review on Canine Transmissible Venereal Tumor: from Morphologic to Biochemical and Molecular Diagnosis. *Acad. J. Anim. Diseases*, 4(3): 185-195.
- GUREL, A., KUSCU, B., GULANBER, E.G., ARUN, S.S. (2002) Transmissible venereal tumors detected in the extragenital organs of dogs. *Israel J Vet Med*, 57:23-26.
- HAYES, H.M., BIGGAR, R.J., PICKLE, L.W., HOOVER, R., TOFT, J.D. (1983) Canine transmissible venereal tumor: a model for Kaposi's sarcoma? *Am J Epidemiol*, 117:108-109.
- HENSON, K.L. (2001) Reproductive system. In: *Atlas of canine and feline cytology*. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 296-297.
- HIGGINS DA. (1966) Observations on the canine transmissible venereal tumor as seen in the Bahamas. *Vet Rec* 79(3):67-71.
- HOQUE, M (1995). Different modes of therapy for canine transmissible venereal tumor. *Veterinarian*.19:1-2.

- IDOWU, A.L. (1985) Cryosurgery of canine transmissible venereal tumor. *Tropical Vet.*3:74-78.
- JAIN, A., TIWARI, R.P., TIWARI, S.K, AWASTHI, M.K. (2002) Clinical observations in TVT effected dogs treated with vincristine sulfate. *Indian J.Anim.Reprod.*, 23 (1):71-72.
- LIAO, K., HUNG, S., HSIAO, Y., BENNETT, M., CHU, R.M. (2003) Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 92: 149-62.
- MOULTON, J.E. (1990) Tumors of domestic animals.3rd Ed..University of California Press Berkley and Los Angeles.10:498-502.
- MOZOS, E., MENDEZ, A., GOMEZ-VILLAMANDOS, J.C., MARTIN DE LAS MULAS, J., PEREZ, J. (1996) Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. *Vet Pathol*, 33, 257-263.
- MUKARATIRWA, S., CHIWOME, T., CHITANGA, S., BHEBHE, E., (2006) Canine transmissible venereal tumour: assessment of mast cell numbers as indicators of the growth phase. *Vet. Res. Commun*,30: 613-621.
- MUKARATIRWA, S., GRUYS, E. (2003) Canine transmissible venereal tumor: cytogenetic origin, Immunophenotype and immunobiology. A review. *Vet Q.*, 25(3):101-111.
- MURCHISON, E.P., 2009. Clonally Transmissible Cancers in Dogs and Tasmanian Devils. *Oncogene*, 27: 19-30.
- MURGIA, C., PRITCHARD, J.K., KIM S.Y., FASSATI, A., WEISS, R.A. (2006) Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell*, 126: 477-487.

- ORTEGA-PACHECO A, RODRÍGUEZ-BUENFIL JC, SEGURA-CORREA JC, BOLIO-GONZALEZ ME, JIMÉNEZ-COELLO M, LINDE FORSBERG C (2006). Pathological conditions of the reproductive organs of male stray dogs in the tropics: prevalence, risk factors, morphological findings and testosterone concentrations. *Reprod Domest Anim*, 41(5): 429-437
- PUROHIT, G. (2009) Canine Transmissible Venereal Tumor: A Review. *I J Vet Med*, 6(1):1-6.
- RAO, T.M., KUMAR, V.G., RAGHVENDER, K.B.P., JOSHI, M.R AND RAO, R.L.N. (1993) Cryosurgical treatment of transmissible venereal tumors. *J.Vet.Anim.Sci.* 24:149-152.
- RICHARDSON, R.C. (1981) Canine transmissible venereal tumor. *Compend Contin Educ Vet*, 3, 951-959.
- ROGERS, K.S. (1997) Transmissible venereal tumor. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 19:1036-1045.
- SARIBAY MK, DOĞRUER G, ERGÜN Y, KÖSE AM, KOLDAŞ E (2016) Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Kliniği'ne 2010-2015 yılları arasında getirilen hayvanların genel analizi. *Eurasian J Vet Sci*, 32, 3, 156-160.
- SANTIAGO-FLORES, M.L, JARO, M.C., RECUENCO, F.C., REYES, M.F., AMPARO, M.R.G. (2012) Clinical profile of canine transmissible venereal tumor cases. *Philipp J Vet Anim*, 38 (1): 63-72.
- SMITH, G.B., WASHBOURN, J.B. (1998) Infective sarcomata in dogs. *Br Med J*, 2: 1346-1347.

- SRIVASTAVA, A.K., SINGH, B., SRIVASTAVA, A.K., SHARAMA, A.K., SINHA, N. (2013) Canine transmissible venereal tumours (ctvt): A study on occurrence and distribution pattern. *Indian J Canine Practice*, 5(1):65-70.
- STOCKMANN, D., HEITOR, F.F., ALEXANDRE, L.A., RODRIGO, A.L., TEREZA, C.C., MARIA, C.R.L. (2011) Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. *Braz J. Vet Pathol.*, 4: 67-75.
- STRAKOVA, A., MURCHISON, E.P. (2014) The changing global distribution and prevalence of canine transmissible venereal tumour. *Vet Research*, 10:168-
- TELLA, M.A., AJALA, O.O., TAIWO, V.O. (2004) Complete regression of transmissible venereal tumor (TVT) in Nigerian mongrel dogs with vincristine sulfate chemotherapy. *Afr.J.Bio.Med.Res.*,7(3):133-138.
- UÇAR, M. (2016) Transmissible venereal tumor: A Review. *Kocatepe Vet. J.*, 9(3):230-235.
- UÇAR, M., YILMAZ, O (2016) Köpek ve kedilerde genital organ tümörlerinin klinik yönden değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 2(2):40-48.
- VERMOOTEN MI (1987) Canine transmissible venereal tumour (TVT): a review. *J S Afr Vet Assoc*, 58. 147-150.
- YANG, T.J, JONES, J.B. (1973) Canine transmissible venereal sarcoma: transplantation studies in neonatal and adult dogs. *J National Cancer Inst*, 51:1915- 1918.
- ZINKL, J.G. (1999) Cytology of the male reproductive tract. In: *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. St. Louis, Mo: Mosby Inc, 236-237

ÖZGEÇMİŞ

Veteriner Hekim Tuğba Çine 1990 yılında İstanbul’da doğdu. İlk ve orta öğretimini Çanakkale’de tamamladı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesini 2013 yılında bitirdi. 2013 yılında Ankara’da bir pet kliniğinde klinisyen olarak mesleğini icra etmeye başladı. Aynı yıl Eskişehir’de özel bir pet kliniğe geçiş yaptı. Halen bu klinikte çalışmaktadır. 2015 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Eşi Talat Çine ile birlikte Eskişehir’de yaşamaktadır.