T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KÖPEK MEME TÜMÖRÜ DOKUSUNDAKİ BAZI BİYOMARKERLARIN KLİNİK ve PROGNOSTİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çağla Nur KÜÇÜKBEKİR

DANIŞMAN
Prof. Dr. Çağatay TEK

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Zeynep GÜNAY UÇMAK

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

Doğum ve Jinekoloji Programı

Aralık, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Çağla Nur KÜÇÜKBEKİR tarafından, **Prof. Dr. Çağatay TEK** danışmanlığında hazırlanan **"KÖPEK MEME TÜMÖRÜ DOKUSUNDAKİ BAZI BİYOMARKERLARIN KLİNİK ve PROGNOSTİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **09/12/2022** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	**Sonuç**
DANIŞMAN	Prof. Dr. Çağatay TEK İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Melih UÇMAK İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Gülnaz MECİTOĞLU Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Atila ATEŞ İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret

ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Halef DOĞAN Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Desteklerini esirgemeyen aileme ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

KÖPEK MEME TÜMÖRÜ DOKUSUNDAKİ BAZI BİYOMARKERLARIN KLİNİK ve PROGNOSTİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 34419

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen başta aileme, benden bilgi ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Çağatay TEK' e, bütün çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen ikinci danışmanım Doç. Dr. Zeynep GÜNAY UÇMAK' a, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Ragıp KILIÇARSLAN'a, kürsümüzdeki hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma ve çalışmamın istatistik analizlerini yapan Prof. Dr. Bülent EKİZ' e teşekkür ederim.

Aralık 2022 Çağla Nur KÜÇÜKBEKİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **ix**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **x**
ÖZET ..... **xiiiii**
ABSTRACT ..... **xv**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **2**
2.1. MEME BEZİNİN GELİŞİMİ 2
2.2. MEME BEZİNİN LENF DRENAJI 2
2.3. TÜMÖR GELİŞİMİNDE HORMON ETKİSİ 3
2.4. MEME TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNA PREDİSPOZE FAKTÖRLER 5
2.5. MEME TÜMÖRLERİNİN LOKALİZASYONU 8
2.6. MEME TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI 8
2.7. MEME TÜMÖRLERİNDE TANI YÖNTEMLERİ 13
2.8. MEME TÜMÖRLERİNDE PROGNOZ 14
2.9. MEME TÜMÖRLERİNİN TANISINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER 16
3. YÖNTEM **26**
3.1. HAYVAN MATERYALİ 26
3.2. ANESTEZİ VE OPERATİF MÜDAHALE 26
3.3. NUMUNE ALIMI 26
3.4. HİSTOPATOLOJİK ANALİZLER 27
3.5. HOMOJENİZASYON İŞLEMİ 27
3.6. ANALİZ AŞAMASI 27
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 30

4. BULGULAR **31**
4.1. KLİNİK MUAYENE BULGULARI 31
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR 31
4.3. ER, PR, EGFR Ve CA 15-3 MARKERLARINA AİT ELISA SONUÇLARI 33
5. TARTIŞMA **36**
KAYNAKLAR **44**
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI **61**

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2. 1: Normal ve neoplastik meme dokusunun lenf drenajı (Sorenmo ve diğ. 2011…....3

Tablo 2. 2: 2010 Yılı Histolojik Sınıflandırma (Goldschmidt ve diğ. 2011).....10

Tablo 2. 3: Dünya Sağlık Örgütü' nün belirlediği TNM Kısaltmaları (Owen, 1980).....12

Tablo 2. 4: Dünya Sağlık Örgütü' nün Klinik Evre Sınıflandırılması (Owen, 1980).....12

Tablo 4. 1: 2010 yılı malign epitelyal tümör sınıflandırmasının numunelere göre dağılımı.....32

Tablo 4. 2: Gruplarda ölçülen parametrelerin ortalama değer, standart hata ve önemliliği....33

Tablo 4. 3: Parametrelerine ait korrelasyon katsayıları (R) ve önemlilikleri (P)..... 33

Tablo 4. 4: Her bir histopatolojik alt tipte ölçülen parametrelerin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).....34

Tablo 4. 5: Her bir kitle büyüklüğüne ait grupta ölçülen parametrelerin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).....34

Tablo 4. 6: İnvazyon durumuna göre parametrelerin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).....35

Tablo 4. 7: Histopatolojik grade değerlerine göre parametrelerin ortalama değer, standart hata ve önemliliği.....35

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	**Açıklama**
%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
β	: Beta
δ	: Delta
℃	: Derece santigrat

Kısaltmalar	**Açıklama**
BRCA1	: Breast Cancer Type 1 Susceptibility Protein
BRCA2	: Breast Cancer Type 2 Susceptibility Protein
BMT	: Benign meme tümörü
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CA 15-3	: Kanser Antijeni 15-3
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
cm	: Santimetre
COX-1	: Siklooksijenaz 1
COX-2	: Siklooksijenaz 2
CSC	: Kanser Kök Hücreleri
CTC	: Dolaşımdaki Tümör Hücreleri
E-cadherin	: Epitel-cadherin
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER	: Östrojen Reseptörü
ER-	: Östrojen Reseptörü negatif
E2	: 17β-estradiol
GH	: Büyüme hormonu

GnRH	: Gonadotropin Salgılayıcı Hormon
HE	: Hemotoksilen ve eozin
HER	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörleri
HER-2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2
HRP	: Streptavidin-Horse Radish Peroxidase
H&D	: Hiperplazi&displazi
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
iv	: Damar içi
Kg	: Kilogram
kU	: Kilo birim
l	: Litre
LY	: Lenf yumrusu
M	: Uzak organlara metastaz
Mean	: Parametrelerinin ortalama değerleri
MET	: Malign epitelyal tümör
Mg	: Miligram
miRNA	: MikroRNA
Ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
Mm	: Milimetre
MR	: Manyetik rezonans
MUC 1	: Mucin 1
M1	: Ön torakal memeler
M2	: Arka torakal memeler
M3	: Ön abdominal memeler
M4	: Arka abdominal memeler
M5	: İnguinal memeler
N	: Hayvan sayısı
ng	: Nanogram
Nm	: Nanometre
N	: Bölgesel lenf yumrusu metastazı

N0	: Bölgesel lenf yumrusuna yayılma yok
N1	: İpsilateral lenf yumrusu metastazı
P	: Parametrelerin önemlilik değeri
PBS	: Phosphate Buffered Saline
P-cadherin	: Plasental-cadherin
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PGH2	: Prostaglandin H2
PR	: Progesteron reseptörü
PR+	: Progesteron reseptörü pozitif
PRL-R	: Prolaktin reseptörü
R	: Parametrelerin korrelasyon katsayıları
rpm	: Revolutions per minute
sc	: Deri altı
SEM	: Parametrelerin standart hataları
Sn	: Saniye
SO4E1	: Östrojen Sülfat
T	: Primer tümörün büyüklüğü
TIC	: Tümör başlatan hücreler
T_1	: < 3 cm' den küçük tümörler
T_2	: 3-5 cm arası tümörler
T_3	: > 5 cm' den büyük tümörler
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
WHO-AFIP	: Dünya Sağlık Örgütü ve Silahlı Kuvvetler Patoloji Enstitüsü

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KÖPEK MEME TÜMÖRÜ DOKUSUNDAKİ BAZI BİYOMARKERLARIN KLİNİK ve PROGNOSTİK AÇIDAN DEĞERLNEDİRİLMESİ

Çağla Nur KÜÇÜKBEKİR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

Doğum ve Jinekoloji Programı

Danışman : Prof. Dr. Çağatay TEK

II. Danışman : Doç. Dr. Zeynep GÜNAY UÇMAK

Küçükbekir, Ç.N. (2022). Köpek Meme Tümörü Dokusundaki Bazı Biyomarkerların Klinik ve Prognostik Açıdan Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Dişi köpeklerde meme tümörleri en sık teşhis edilen tümörlerdir ve dişi köpeklerdeki tüm tümörlerin %50' sini oluşturmaktadır. Köpek meme tümörlerinin gelişimi birçok faktörden etkilenmektedir. Yaygın olarak abdominal, kaudal ve inguinal loblarda bulunurlar. Tanı amacıyla başlangıçta, anamnez ve klinik muayene yapılmalıdır. Sonrasında metastaz varlığını belirlemek için, radyografi, ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi gibi görüntüleme yöntemleri kullanılmalıdır.

Kanser riskinin tespitinde, erken tanı amacıyla, hastalığın nüksünü ya da ilerleme durumunu belirlemede tümör biyobelirteçleri kullanılabilir. Biyobelirteçler, kanda veya dokuda ölçülen, hastalığın varlığı, tedavi ve prognoz için bilgiler veren biyolojik moleküllerdir. Bir tümöre özgü olabildiği gibi aynı dokudaki farklı tümörler tarafından da üretilebilirler. Kanserli dokuların yanı sıra sağlıklı normal dokularda da bulunabilirler.

Çalışmada, 31 tane meme tümörlü köpek ve toplamda 125 tane meme lobu kullanıldı. Operasyon sonrası alınan kitlelerden, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve kanser antijeni 15-3 (CA 15-3) biyobelirteçlerinin prognoz amacıyla değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, östrojen reseptörü miktarı açısından malign epitelyal meme tümörü ve hiperplazi&displazi grubu arasında önemlilik saptandı ($P<0,05$). Ayrıca, progesteron reseptörü miktarı açısından da

malign epitelyal meme tümörü grubu ve hiperplazi&displazi grubu arasında önemlilik saptandı (P<0,05). Malign epitelyal meme tümörlerinin histolojik alt tipleri, kitle boyutu, tümörlerin lokalizasyonu, invazyon durumu ve histopatolojik grade açısından değerlendirilen parametrelerde ise önemlilik saptanmadı (P>0,05).

Sonuç olarak, bu çalışmayla, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 biyobelirteçleri ile klinik parametreler arasındaki ilişki değerlendirildi. Meme tümörü olan köpeklerde östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü biyobelirteçleri ile benign ile malign ve benign ile H&D ayrımını yapabilmektedir. Ayrıca, CA 15-3 biyobelirteci ile de malign ile H&D ayrımı yapılabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan ER ve PR biyobelirteçlerinin, benign malign ayrımının yapılmasında veya hormonal bir olgu ile tümöral bir olgunun farkının tespitinde ve uygulanacak tedavi planının belirlenmesinde kullanılabileceği seçeneği sunuldu.
Aralık 2022 , 77 sayfa.

Anahtar kelimeler: Meme tümörü, tümör biyobelirteçleri, köpek

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

CLINICAL and PROGNOSTIC EVALUATION of SOME BIOMARKERS IN CANINE MAMMARY TUMOUR TISSUE

Çağla Nur KÜÇÜKBEKİR

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Obstetrics and Gynecology

Obstetrics and Gynecology

Supervisor : Prof. Dr. Çağatay TEK

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zeynep GÜNAY UÇMAK

Küçükbekir, Ç.N. (2022), Clinical and Prognostic Evaluation of Some Biomarkers in Canine Mammary Tumour Tissue. Istanbul University- Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Obstetrics and Gynecology. Phd Thesis. Istanbul.

Mammary tumors in female dogs are the most commonly diagnosed tumors. Breast tumors account for 50% of all tumors. The development of breast tumors is affected by many factors. They are commonly found in the abdominal, caudal, and inguinal lobes. Initially, anamnesis and clinical examination should be performed for diagnosis. Imaging methods such as radiography, ultrasonography and computer tomography should then be used to determine the presence of metastases.

Tumor markers can be used to detect cancer risk, for early diagnosis, to determine the recurrence or progression of the disease. Biomarkers are biological molecules measured in blood or tissue that provide information for the presence of disease, treatment and prognosis. They can be tumor specific as well as produced by different tumors in the same tissue. They can be found in healthy normal tissues as well as cancerous tissues.

In the study, 31 dogs with mammary tumors and a total of 125 mammary lobes were used. It was aimed to evaluate the biomarkers of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), epidermal growth factor receptor (EGFR) and cancer antigen 15-3 (CA 15-3) from the postoperative masses for prognosis. For this purpose, a significant difference was found between malignant epithelial mammary tumor and hyperplasia&dysplasia groups in terms of estrogen receptor amount ($P<0.05$). In addition, a significant difference was found

between the malignant epithelial mammary tumor group and the hyperplasia&dysplasia group in terms of the amount of progesterone receptor ($P<0.05$). There was no significance in the parameters evaluated in terms of histological subtypes, mass size, tumor localization, invasion status and histopathological grade of malignant epithelial mammary tumors ($P>0.05$).

In conclusion, this study evaluated the relationship between ER, PR, EGFR and CA 15-3 biomarkers and clinical parameters. Estrogen receptor and progesterone receptor biomarkers can distinguish benign from malignant, benign from H&D in dogs with mammary tumors. In addition, the CA 15-3 biomarker can distinguish between malignant and H&D. It was presented that the ER and PR biomarkers used in our study can be used to differentiate between benign and malignant or to detect the difference between a hormonal case and a tumoral case and to determine the treatment plan to be applied.
December 2022, 77 pages.

Keywords: Mammary tumor, tumor biomarkers, dog

1. GİRİŞ

Meme tümörleri dişi köpeklerde hem en sık görülen tümör tiplerinden biri hem de en sık görülen malign tümörlerdendir. İnsanlarda olduğu gibi köpeklerde de yaşam standartının artması kanser insidansını arttırmıştır. Kısırlaştırma, ırk yatkınlığı, beslenme, yaş, çevresel etkenler gibi faktörler bu insidansı etkilemektedir. Tümörlerin prognostik değerlendirmesi çoğunlukla klinik evre, lenf yumrularının durumu, tümör boyutu, metastaz varlığı, invazyon ve tümörün histopatolojik olarak incelenmesine dayanmaktadır. Metastaz durumu, mortalite açısından önemli bir faktördür. Köpek meme tümörlerinde metastaz varlığının belirlenmesi için genellikle radyografi kullanılmaktadır. Ancak hücresel düzeyde yayılmalar radyografi ile belirlenemediği için, biyobelirteçler bu durumda önem kazanmaktadır.

Biyobelirteçler, kanda ya da dokularda ölçülen ve bir hastalık varlığı, tedavi sonuçları veya prognoz hakkında bilgiler veren biyolojik moleküllerdir. Bir tümör belirteci; tümöre yanıt olarak tümörün kendisi ya da konak tarafından üretilmektedir.

Çalışmada, meme tümörlü dişi köpeklerin meme dokusunda bulunan Karsinojenik Antijen 15-3 (CA 15-3), Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR), Östrojen Reseptörü (ER) ve Progesteron Reseptörü (PR) biyobelirteçlerinin, malign epitelyal ve benign meme tümörlerindeki farkını göstermek ve belirtilen biyobelirteçlerin malign epitelyal tümörlerde histopatolojik tip, kitle büyüklüğü, metastaz varlığı, tümör derecesi gibi klinik parametreler ile olan ilişkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Konu ile ilgili insanlarda göğüs kanserinde yapılmış çok çeşitli çalışmalar mevcut olup, meme tümörlü köpeklerde tümör dokusunda belirtilen biyobelirteçleri birlikte değerlendiren ve klinik parametreler ile ilişkisini araştıran literatür kısıtlı sayıda bulunmaktadır.

Böylece, malign ve benign meme tümörlerinin, tümör proliferasyonu, anjiyogenezisi, tümörün metastazik potansiyeli ve prognozu açısından değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. MEME BEZİNİN GELİŞİMİ

Meme gelişimi ilk olarak embriyonik gelişme esnasında, ektodermin altında mezoderm bölgelerinde 2 ventral lineer kalınlaşmayla meydana gelmektedir. Aynı zamanda süt çizgileri olarak da adlandırılan bu lineer kalınlaşma, aksillar bölgeden inguinal bölgeye kadar uzanmaktadır. Ektodermal hücreler bütün hat boyunca göç etmekte ve bireysel meme bezlerini oluşturmaktadırlar. Meme bezleri vücudun büyümesiyle gelişir. Ergenlik döneminde ovaryumlardan östrojen salınmasıyla meme gelişimi başlar (Silver, 1966).

Dişi köpeklerde her iki tarafta, torakal, abdominal ve inguinal olmak üzere 5' er tane toplamda 10 tane (bazı durumlarda 8 veya 12 olabilir) meme lobu vardır (Simpson, 1998; Dursun, 1999; Johnston ve diğ. 2001; Sleeckx ve diğ. 2011). Her bir meme lobu korpus mamma adı verilen bez kısım ve papilla mamma adı verilen meme başı kısımlarından oluşur. Meme bezi ise alveoller, bağ doku, kanallar, damarlar ve sinirlerden oluşur. Meme alveolleri basit kübik veya kolumnar sekretorik epitelyum şeklinde olabilir. Bu epitel de sütün indirilmesini sağlayan miyoepitelle çevrilidir ve en dışta bazal lamina bulunur. Loblar arasındaki kanal sistemi laktiferöz kanallara, onlar da laktiferöz sinusa bağlanır. Bu sinuslar ise duktus papillaris aracığıyla meme başı sinusü ile birleşir (Sleeckx ve diğ. 2011). Meme başlarında elek deliklerine benzeyen ostium papillare adı verilen yapılar bulunur (Heidrich ve Renk, 1963; Evans ve Christensen, 1979; Johnston ve diğ. 2001).

2.2. MEME BEZİNİN LENF DRENAJI

Torakal ve kraniyal abdominal meme lobunun lenf akımı lenfonodili aksillaris tarafından sağlanır. Bu lenf yumrusu trunkus jugularise bağlanır. Lenfonodili inguinalis süperfisiyalis iki taraftaki kaudal abdominal ve inguinal meme loblarını ve kısmen de olsa kraniyel abdominal meme lobunun lenf drenajını sağlar. İnguinal lenf yumrusu, lenfonodili ilyasi mediyalis ve lenfonodili lumbalis aorti ile lenf sıvısını trunkus lumbalise taşır (Heidrich ve Renk, 1963; Simpson, 1998; Sleeckx ve diğ. 2011).

Tablo 2. 1: Normal ve neoplastik meme dokusunun lenf drenajı (LY: Lenf yumrusu) (Sorenmo ve diğ. 2011).

MEME BEZİ	NORMAL LENF DRENAJI	NEOPLASTİK LENF DRENAJI
M1/ Kraniyel torakal	Axillar Lenf Yumrusu	Axillar LY, Sternal LY
M2/ Kaudal torakal	Axillar Lenf Yumrusu	Axillar LY, Sternal LY
M3/ Kraniyel abdominal	Axillar LY, Süperfisyal inguinal LY	Axillar LY, Süperfisyal inguinal LY, Median İlliak LY
M4/ Kaudal abdominal	Süperfisyal inguinal LY	Süperfisyal inguinal LY, Axillar LY
M5/ İnguinal	Süperfisyal inguinal LY	Süperfisyal inguinal LY, Popliteal LY

2.3. TÜMÖR GELİŞİMİNDE HORMON ETKİSİ

Bir hormonun fizyolojik gereksinimleri vücut içinde sürekli değiştiğinden dolayı hormon seviyelerinin doğru bir şekilde düzenlenmesi gerekir. Aksi takdirde, hormonal sekresyonda düzensizlik varsa, hücresel homeostaz kaybolur ve kanserojeneze sebep olabilecek değişiklikler ortaya çıkar (Torres ve diğ. 2008). Bu durumda, bazı hormonlar neoplastik değişimin başlatıcıları ya da destekleyicileri olabilir, hücre poliferasyonunu uyarabilir ve genetik değişikliklere predispozisyon meydana getirebilir (Torres, 2009).

Östrojenler ve progesteronlar normal meme bezi gelişiminde önemli rol oynarken aynı zamanda tümör gelişiminde de rol oynarlar (Key ve Pike, 1982; Selman ve diğ. 1994). Östrojenler nükleer proto-onkogenin transkripsiyonunu düzenleme görevi yaparlar (MacMahon ve diğ. 1973; Dubik ve diğ. 1987). İyi huylu ve kötü huylu meme bezi tümörleri, östrojen reseptörlerini (ER) eksprese eder (MacEwen ve diğ. 1982; Donnay ve diğ. 1995). Anti-östrojenler ile yapılan endokrin tedavisi, ER pozitif meme tümörlerinde sık sık kullanılır (Henderson ve diğ. 1988; Fisher ve diğ. 1989; Donnay ve diğ. 1995; Sorenmo, 2003). Steroid hormonlara erken dönemlerde maruz kalma süresi meme tümörü riskini ortaya çıkarır. Yaşamının erken dönemlerinde endojen steroid hormonlara maruz kalma, meme tümörü oluşumunda önemli bir neden ve kaynaktır (Schneider ve diğ. 1969). Böylece meme tümörlerinin oluşumunu yatkın hale getiren önemli durumların, yaşamın erken dönemlerinde geliştiği düşünülür (Brodey ve diğ. 1966; Schneider ve diğ. 1969; Taylor ve diğ. 1976). Bu yüzden ilk iki östrus siklusu arasında steroid hormonlara maruz kalmak en büyük riski teşkil eder (Geil ve Lamar, 1977; Giles ve diğ. 1978; Kwapien ve diğ. 1980; Concannon ve diğ.

1981; Selman ve diğ. 1994). Ayrıca progestin tedavisi de tümör oluşum riskini artırır (Miller ve diğ. 1996; Stovring ve diğ. 1997). Endojen progesteron salgısında artış ya da ekzojen yolla alınan progesteron tümör gelişiminde etkili olabilmektedir. Östrusu engellemek için yapılan progesteron uygulaması, doz ve süreye bağlı olarak tümörleri indükleyebilir. Çeşitli amaçlarla progesteron uygulanan kedi ve köpeklerde meme tümörü riski hiç progesteron uygulanmayanlara göre daha fazladır. Progesteron mekanizmasında görev alan enzimlerin aynı zamanda meme tümörlerinde de görülmesi, progesteronun tümör oluşumunda etkisi olduğunun başka bir kanıtıdır (Gobello ve Corrada, 2001; Momont ve Barber, 2003; Munson ve Moresco, 2007). Siklus düzensizlikleri, ovaryum kistleri, korpus luteum, kistik endometriyal hiperplazi ve pyometra gibi hastalıkların da meme tümörü gelişmesinde etkisi olduğu görülmüştür. Uzun süreli östrojen, progesteron ve prolaktin hormonlarına maruz kalma tümör insidensini attırır (Olschewski, 1987; Bostedt, 1990).

Progesteron kaynaklı tümörlerin oluşum mekanizması, meme bezindeki büyüme hormonu (GH) üretiminin gen ekspresyonunun artışına dayanmaktadır (Mol ve diğ. 1997; Mol ve diğ. 1999). Büyüme hormonu direkt olarak ya da insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) aracılığıyla indirekt olarak meme dokusuna etkiyerek, büyümeyi stimüle etmektedir. Aynı zamanda vasıtasıyla dolaylı olarak da etkisi vardır (Selman ve diğ. 1994; Mol ve diğ. 1999). İnsülin büyüme faktörleri normal hücre proliferasyonunun yanında malign transformasyonda da önemli bir rol oynar. İnsülin benzeri büyüme faktörü I' in meme bezi tümörleriyle birlikte farklı tümör tiplerinde de tümörojenezde rol oynadığı görülmüştür (Khandwala ve diğ. 2000; Zumkeller, 2001). İnsülin büyüme faktörü, apoptoza müdahele eder ve bazı meme tümörü hücreleri için güçlü bir mitojen etki gösterir (Hasdell ve Bonnette, 2000; Hasdell ve diğ. 2000).

Prolaktin (PRL), alveol hücrelerinin salgı yapıcı hücrelere dönüşümüne katkı sağlar ve laktasyonu uyarır. Büyüme hormonunun ve prolaktinin bazal seviyeleri, tümör taşıyan köpeklerde ve aynı yaştaki kontrollerinde benzer bulunduğu rapor edilmiştir (Rutteman ve Misdorp, 1993). Bununla birlikte, iyi ve kötü huylu meme tümörlerinde prolaktin seviyesinin, normal meme dokusuna göre daha yüksek olmasının lokal olarak üretilen PRL' den kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Queiroga ve diğ. 2005). Başka bir çalışmada (Enginler ve diğ. 2014), meme tümörlü köpeklerde serum PRL seviyesinin, sağlıklı olanlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Gonadotropin Salgılayıcı Hormon (GnRH) normal şartlarda hipotalamik nöronlarda sentezlenir (Vickery ve Nestor, 1987). Gonadotropin salgılayıcı hormon reseptörleri meme,

ovaryum, prostat, pankreas ve endometriyum kanserlerinde de görülür (Emons ve Scally, 1994; Schally ve diğ. 2001). İnsan prostat kanseri örneklerinde yüksek affiniteli GnRH bağlanma bölgelerine rastlanılmıştır (Schally ve diğ. 2000). Buna ek olarak, lokal üretilen GnRH benzeri peptidlerin prostat ve ovaryum kanserlerindeki varlıkları ileri sürülmüştür (Emons ve Schally, 1994). Tümör hücrelerinde saptanan GnRH reseptörleri, GnRH analoglarının doğrudan etkilerini düzenleyebilir (Schally ve diğ. 2001). Kanser hücrelerinde GnRH agonistlerinin devamlı eksprese edildiği GnRH reseptörlerine bağlanma yoluyla antimitojenik aktivite gösterdiği görülmektedir. İnsan meme, prostat, endometriyum ve ovaryum kanserlerinde, GnRH ve/ veya GnRH benzeri peptid üretimi için mRNA ekspresyonu gösterilmiştir. Bu durum lokal GnRH' ın bu gibi tümörlerin oluşumunda etkili olabileceğinin göstergesidir (Emons ve Schally, 1994).

2.4. MEME TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNA PREDİSPOZE FAKTÖRLER

Meme bezleri, dişi köpeklerde en sık neoplazi görülen bölgedir ve bu hayvanlarda ölümün başlıca sebeplerindendir (Dobson ve diğ. 2002; Bravo ve diğ. 2010). Meme tümörleri, morfoloji ve biyolojik davranış ile birlikte heterojen bir hastalıktır (Devarathnam ve diğ. 2021). Dişi köpeklerde meme tümörleri en çok teşhis edilen tümörlerdir (Saba ve diğ. 2007; Zuchi ve diğ. 2021). Bu tümörler, bütün tümörlerin %50' sini oluşturmaktadır (Zatloukal ve diğ. 2005; Zuchi ve diğ. 2021). Bunların da %45' ini kötü huylu tümörler oluşturur (Salas ve diğ. 2015). Evcil hayvanlardaki yüksek tümör prevalansı, uzun ömür ile bağlantılıdır. Bir hayvan ne kadar uzun süre yaşarsa kanserojenlere o kadar uzun süre maruz kalır (Sonnenschein ve diğ. 1991).

Meme tümörlerinin meydana gelmesinde multifaktöriyel bir durum vardır. Kısırlaştırma, ırk yatkınlığı, beslenme, yaş, çevresel etkenler, hayali gebelik ve radyasyon bu faktörlerdendir (Marquardt, 2003).

Kısırlaştırmanın meme tümörü oluşumunda önleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir (Salas ve diğ. 2015). Kedi ve köpeklerde erken yaşta kısırlaştırmanın, iyi huylu ve kötü huylu tümörlerin her ikisine karşı koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Prepubertal dönemde kısırlaştırılan hayvanlarda meme tümörü oluşma sıklığı %0,5' dir. Östrus siklus sayısı arttıkça tümör oluşum riski de artar. İlk östrustan sonra kısırlaştırmada bu oran %8, ikinci östrustan sonra kısırlaştırmalarda ise %26' dır (Kessler ve von Bomhard, 1997; Simpson, 1998; Gobello ve Corrada, 2001; Johnston ve diğ. 2001; Momont ve Barber, 2003;

Egenvall ve diğ. 2005; Sleeckx ve diğ. 2011). Meme bezi tümörleri, köpekler kısırlaştırılmamış veya daha geç yaşta kısırlaştırılmış, yaklaşık 9 ila 11 yaşlarındaki yaşlı köpeklerde daha sık rastlanır (Sorenmo 2003).

Genel olarak, meme tümörleri daha küçük ırklarda daha yaygın olma eğilimindedir. Safkan köpekler daha yaygın olarak etkilenir Ancak, daha büyük ırkların bazıları da yüksek risk altındadır (Sorenmo ve diğ. 2013). Yüksek riskli ırklar, coğrafi konuma göre farklılıklar göstermektedir. İngiliz Springer Spaniel, Cocker Spaniel, İngiliz Setter, Pointer, Alman Çoban, Maltese, Yorkshire Terrier, Dachshund, Pulis, Toy Poodle ve minyatür Poodle ırkları meme tümörü riski bakımından en yüksek olanlardır (Moe, 2001). Yapılan bir çalışmada (Jitpean ve diğ. 2012), küçük ırkların büyük ırklara göre meme tümörü oluşumunun daha az olduğu bildirilmiştir. Chihuahua' lar ise meme tümörü rastlanan en nadir ırklardır. Ayrıca saf ırk köpekler, melez ırklara göre meme tümörüne daha yatkındır (Kessler ve von Bomhard, 1997; Gobello ve Corrada, 2001; Hahn, 2002; Novosad, 2003; Egenvall ve diğ. 2005; Munson ve Moresco, 2007). Tümör riski yüksek olan ırklarda genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir (Haga ve diğ. 2001). Bu genetik faktörlerin, belli ırkların bazı soy veya ailelerinde diğerlerine göre daha fazla etkili olduğu yapılan bazı çalışmalarda vurgulanmıştır (Priester ve Mantel, 1971; Brodey ve diğ. 1983; Goldschmidt ve diğ. 2001; Moe, 2001; Richards ve diğ. 2001; Bronden ve diğ. 2010).

Meme tümörüne predispoze faktörler arasında beslenme önemli rol oynamaktadır. Yağlı diyetle beslenme bu riski arttırır. Kırmızı et yönünden zengin diyetle beslenen ve 1 yaşında obez olan köpeklerde meme tümörü gelişme olasılığı (Perez Alenza ve diğ. 1998), 9-12 aylıkken zayıf olanlara göre daha yüksektir (Sonnenschein ve diğ. 1991). Bir yaşından büyük obez köpekler ileri yaşlarda tümör oluşması açısından risk altındadır (Perez Alenza ve diğ. 1998). Bu durum, meme tümörü oluşumunda bir köpeğin yaşamının erken dönemlerinde obezite etkisinin güçlü olduğu hipotezi ile tutarlıdır (Hankinson ve diğ. 1998; Wu ve diğ. 1999; Tymchuk ve diğ. 2001; Cleary ve Grossmann, 2009). Tümör gelişiminde beslenmeyle ilgili başka bir faktör ise yüksek oranda sığır veya domuz etiyle beslenme ve düşük oranda tavuk eti ile beslenmedir. Bunun gibi yüksek kolesterole sahip proteinle beslenme tümör oluşumunu hızlandırmaktadır (Perez Alenza ve diğ. 2001). Düşük yağ oranı ve proteinden zengin beslenen tümörlü köpeklerin, düşük yağ ve protein oranı içeren diyetle beslenenlere göre uzun yaşadığı yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (Shofer ve diğ. 1989).

Meme tümörlerinin gelişmesinde etkili faktörlerden biri de yaştır (Stranberg ve Goddman, 1974). Köpekler ve insanların popülasyon dağılımı düşünüldüğünde, yaşa bağlı

tümör görülme insidensi dişi köpeklerde kadınlara göre 3 kat daha fazladır (D'arville ve diğ. 1980; Misdorp, 2002). İlerleyen yaş ile beraber tümör insidansında artış görülmüştür. Bu insidans en yüksek 9-11 yaş arasında iken (Dorn ve diğ. 1968), 1-4 yaş arasında %4, 4-8 yaşlı köpeklerde %29, 8 yaş ve üzeri olanlarda ise %67' dir (Boldizsar ve diğ. 1992). Ayrıca başlangıç yaşı, köpeğin doğal yaşam süresi gibi etkenlere de bağlı olarak değişebilmekle birlikte, birçok araştırmacı bu durumun orta yaşlı ya da daha yaşlı köpeklerde ortalama 8-11 yaş aralığı olduğunu bildirmiştir (Schneider, 1970; Priester ve Mantel, 1971; Brodey ve diğ. 1983; Shofer ve diğ. 1989; Hellmen ve diğ. 1993; Korsching ve diğ. 2005). Tümör gelişim hızı, tümör karakteri ile ilgilidir ve 4-8 yaş arasında fazladır (Baştan ve Zonturlu, 2002). Genç köpeklerde, yaşlı köpeklere göre iyi huylu tümör gelişme olasılığı daha fazladır (Taylor ve diğ. 1976; Moulton ve diğ. 1986; Misdorp, 1988; Goldschmidt ve diğ. 2001). Benign meme tümörü görülme yaşı ortalama 8-9 yaş aralığıdır (Zatloukal ve diğ. 2005).

Meme tümörü gelişme olasılığı şehirde yaşayan köpeklerde, doğada yaşayanlara göre daha fazladır. Doğada yaşayanlarla karşılaştırıldığında evde veya hayvanat bahçelerinde yaşayan köpeklerde tümör prevalansı daha yüksektir (Munson ve Moresco, 2007). Ayrıca, ortam ışığına duyarlı olan melatoninin, birçok kanser türüyle birlikte özellikle meme tümörlerinin gelişmesinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Bunun, melatoninin gece salgılanma düzeninin bozulmasından kaynaklandığını gösteren veriler mevcuttur (Reiter, 1991; Brzezinski, 1997; Hansen, 2006; Figueiro ve diğ. 2006; Topal ve diğ. 2009).

Melatonin hormonunun, insanlarda meme bezi gelişimini kontrol ettiği ve hormon kaynaklı meme tümörlerinin oluşumundan sorumlu bazı hipofiz ve gonadal hormonları aşağı regüle ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, melatoninin direkt tümör hücrelerine etki ederek, çoğalma hızlarını etkileyebildiği görülmüştür (Cos ve Sanchez-Barcelo, 2000). Yapılan çalışmalar (Hansen, 2006; Davis ve Mirick, 2006; Moser ve diğ. 2006; Figueiro ve diğ. 2006), gece çalışan kadınlarda kanser riskinin arttığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte ışığın yoğunluğu ile tümör büyüme hızı arasında doğru orantının olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Dolayısıyla çevresel faktörlerin de meme tümörü gelişmesinde risk faktörü olduğu görülmektedir.

Hayali gebeliklerin agresif seyretmesi de meme tümörü gelişmesi riskini arttıran bir başka nedendir. Meme tümörlü köpeklerin %51' inde hayali gebelik olduğu, %41' inin ise semptomsuz hayali gebelik gösterdiği belirlenmiştir. Doğum yapmamış köpeklerde meme tümörü gelişme oranı %52,6' dır ve daha sık rastlanır. Sonuç olarak gebelik, meme tümörü

gelişiminde koruyucu etki sağlarken hayali gebelik, etkin rol oynamaktadır (Überreiter, 1966; Karayannopoulou ve diğ. 1990).

Meme tümörlerinin oluşumunda radyasyonun da etkisi olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada (Book ve diğ. 1983), yüksek dozlarda radyasyona maruz bırakılan dişi köpeklerin meme dokusunda hiperplazi ve neoplazi görüldüğü bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da (Andersen ve Rosenblatt, 1969; Moulton ve diğ. 1986), radyasyon verilen dişi köpeklerde erken yaşlarda meme tümörleri görüldüğü bildirilmiştir.

2.5. MEME TÜMÖRLERİNİN LOKALİZASYONU

Meme tümörlerinin loblara dağılımı heterojen değildir. Meme tümörlerinin %47-80' i abdominal, kaudal ve inguinal loblarda belirlenmiştir. Siklus sırasında büyük morfolojik değişikliklerin bu loblarda daha fazla olmasından dolayı, abdominal, kaudal ve inguinal loblarda meme tümörlerine daha sık rastlanır. Bununla birlikte meme dokusunun miktarı, laktasyon volümü ve süresi aksillar bölgeden inguinal bölgeye doğru arttığından dolayı prolifere olmuş bez dokusunda kalan süt, tümör oluşumunu uyarıcı etkiye sahip olabilmektedir (Karayannopoulou ve diğ. 1990; Wey, 1998; Kırşan ve diğ. 2005).

2.6. MEME TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Meme tümörleri köpeklerde deri tümörlerinden sonra en yaygın görülen tümör tipidir ve malign tümörler içinde en sık rastlananıdır (Misdorp, 2002; Hellmen, 2005). Veteriner hekimlikte, tümörün tanısında, tümörün köken aldığı dokuyu belirlemede zorluklarla karşılaşılmıştır. Bu yüzden doğru bir tanı için sınıflandırmanın yapılması önem kazanmıştır (Misdorp, 2002; Aydoğan ve Metin, 2013).

Meme tümörleri, prognoza ilişkin bilgiler vermek ve tedavi planının yapılabilmesi amacıyla sınıflandırılmıştır (Sorenmo, 2003). Meme tümörlerine ait ilk sınıflandırma 1974 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılmıştır. Köpek malign meme tümörlerinin sınıflandırılması, tanımlayıcı morfoloji temeline dayanır. Önce çeşitli sınıflandırmalar önerilmiştir (Moulton ve diğ. 1970; Monlux ve diğ. 1977). İlk önerilen bu sınıflandırmada, karsinom, sarkom, malign miks tümör, benign tümörler, displaziler ve diğer tümör tipleri yer almaktaydı. Sonraki dönemlerde farklı sınıflandırmalar yapılmış ancak 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü ve Silahlı Kuvvetler Patoloji Enstitüsü (WHO-AFIP) tarafından

kullanılan ve prognoza dayalı sınıflandırma kabul edilerek uzun süre kullanılmıştır (Misdorp, 2002). Bu sınıflandırmada ise malign tümörler, benign tümörler, meme bezi hiperplazileri ve displazileri ve sınıflandırılmayan tümörler olarak 4 ana başlık yer almaktadır (Misdorp ve diğ. 1999).

Köpek meme tümörlerini değerlendirirken en büyük problem, gerçekten malign olanları belirlemektir. Çoğunlukla hastalığın tanısı, genişlemiş çekirdekler ve belirgin nükleoller ile koyulur. 2010 yılında, tümör tipi, nükleer ve hücresel pleomorfizm, mitotik indeks, tümörde rastgele dağılmış nekrotik alanların varlığı, tümör içinde peritümöral ve lenfatik invazyon alanları ile bölgesel lenf nodu metastazı olarak belirtilen malignite kriterleri temelinde yeni bir sınıflandırma önerildi. Malign epitelyal tümörler, malign epitelyal tümörlerin özel tipleri, malign mezenşimal tümörler, malign miks tümörler, benign neoplazmalar, hiperplazi ve displazi, meme başının tümörleri, meme başının hiperplazisi ve displazisi olarak 8 ana başlıkta sınıflandırıldı (Tablo 2. 2) (Goldschmidt ve diğ. 2011). Yayımlanan bu sınıflandırma temel alınarak, ilerleyen yıllarda yeni histolojik sınıflandırmalar da rapor edildi (Goldschmidt ve diğ. 2017).

Tablo 2. 2: 2010 Yılı Histolojik Sınıflandırma (Goldschmidt ve diğ. 2011).

A. Malign Epitelyal Tümörler 1- Karsinom- in situ 2- Karsinom- basit a) Tubuler b) Tubulopapiller c) Kistik papiller d) Kribriform 3- Karsinom- mikropapiller invaziv 4- Karsinom- solid 5- Komedokarsinom 6- Karsinom- anaplastik 7- Kompleks adenom/ miks tümörün içinde gelişen karsinom 8- Karsinom- kompleks tip 9- Karsinom ve malign miyoepitelyom 10- Karsinom- miks tip 11- Duktal karsinom 12- İntraduktal papiller karsinom	**E. Benign Tümörler** 1- Adenom 2- İntraduktal papiller adenom 3- Duktal adenom 4- Fibroadenom 5- Miyoepitelyom 6- Kompleks adenom 7- Benign miks tümör
B. Malign Epitelyal Tümörler- Özel Tipler 1- Skuamöz (yassı) hücreli karsinom 2- Adenoskuamöz karsinom 3- Musinöz karsinom 4- Yağ hücreli (sekretörik) karsinom 5- Mekik hücreli karsinom 6- Yangısal karsinom	**F. Hiperplazi/ Displazi** 1- Duktal ektazi 2- Lobuler hiperplazi (Adenozis) 3- Epitelyozis 4- Papillomatozis 5- Fibroadenomatöz değişiklikler 6- Jinekomasti
C. Malign Mezenşimal Tümörler (Sarkomlar) 1- Osteosarkom 2- Kondrosarkom 3- Fibrosarkom 4- Hemanjiosarkom 5- Diğer sarkomlar	**G. Meme başı tümörler** 1- Adenom 2- Karsinom 3- Epitel infiltrasyonlu karsinom
D. Karsinosarkomlar- Malign Miks Tümörler	**H. Meme başının hiperplazisi/ displazisi** 1- Meme başı derisinin melanozu

Meme tümörlerinin birçoğu epitelyal kökenlidir. Bazıları hem epitelyal hem miyoepitelyal kökenli olabilir. Bunun dışında mezenşimal kökenli olanlara daha az rastlanır (Sorenmo, 2003). Epitelyal tümörler, histopatolojik sınırlarına ve değişikliklerine göre sınıflandırılır ve karsinomlar ve alt tiplerinden meydana gelir. Mezenşimal tümörler ise sarkomlardır ve sık görülmezler. Daha önceden var olan benign tümörlerin malign değişimiyle veya intralobüler stromadan meydana geldikleri düşünülmektedir (Goldschmidt ve diğ. 2011). Dişi köpeklerde meme bezi karsinomları malign tümörler içinde en sık rastlananıdır (Misdorp, 2002; Argyle ve diğ. 2008). Bütün meme bezi tümörlerinin %50' si malign olanlardan oluşmaktadır (Argyle ve diğ. 2008). Kompleks karsinom, köpeklerde sıkça görülen, lobüler yapıda bir tümördür. Hem epitelyum hem de miyoepitel bileşenler içerir (Martins ve diğ. 2002; Monteros ve diğ. 2002). Solid karsinomlara da oldukça sık rastlanmaktadır. Atipik kübik ve kolumnar epitel hücrelerinin tubulus ya da lümen oluşturmayan, solid yapılar şeklindeki proliferasyon ile karakterizedir (Taniyama ve diğ. 2000; Gama ve diğ. 2003; Polton, 2009; Rezaie ve diğ. 2009). Meme bezi sarkomları, tüm meme bezi tümörleri içerisinde yaklaşık %10-15 kadardır. En sık fibrosarkomlar ve osteosarkomlara, nadir olarak ise kondrosarkomlara rastlanır (Misdorp, 2002; Serin ve Aydoğan, 2009). Sarkomlar, nükse yatkındır. Özellikle osteosarkomlar bölgesel lenf yumrularına ve akciğerlere metastazı dolayısıyla kötü prognozlu olarak değerlendirilirler (Langenbach ve diğ. 1998).

Köpeklerde benign meme bezi tümörlerine de sıkça rastlanır. Benign meme bezi tümörlerinin malignlere oranı 30/ 70' dir (Misdorp, 2002). Benign tümörler arasında kompleks adenom ve fibroadenom oldukça yaygındır (Tateyama ve diğ. 2001; Gama ve diğ. 2003). Benign tümörler arasında miks tümörler de oldukça yaygın olan bir başka tümör tipidir. Bu tümörler, glandular ve mezenşimal yapıların benign proliferasyonu ile karakterizedir (Moulton, 1990; Gama ve diğ. 2003). Farklı mezenşimal bileşenlerin bir arada olmasıyla benign miks tümörler, fibroadenom ve kompleks adenomdan ayrılır (Benjamin ve diğ. 1999).

Meme tümörleri, Dünya Sağlık Örgütü' nün belirlediği tümör, lenf nodu, metastaz (TNM) sistemine göre sınıflandırılmaktadır. (Tablo 2. 3).

Tablo 2. 3: Dünya Sağlık Örgütü' nün belirlediği TNM Kısaltmaları (Owen, 1980).

T: Tümör (a: fikse değil, b: deriye fikse, c: kasa fikse)	T_o: Tümör yok T_1: < 3 cm (a,b,c) T_2: 3-5 cm (a,b,c) T_3: > 5 cm (a,b,c) T_4: Her boyutta tümör, yangısal karsinom
N: Bölgesel lenf yumrusu metastazı (a: fikse değil, b: fikse)	N_o: Bölgesel lenf yumrusuna yayılma yok N_1: İpsilateral lenf yumrusu metastazı (a,b) N_2: Bilateral lenf yumrusu metastazı (a,b)
M: Uzak organlara metastaz	M_o: Uzak metastaz yok M_1: Uzak metastaz var

Bu sisteme göre sınıflandırılmada tümörün boyutu, lenf yumrularının durumu ve metastaz varlığı göz önüne alınır. Derecelendirme yapılırken boyutu en büyük olan tümör kullanılır. 'T' primer tümörün büyüklüğünü, 'N' bölgesel lenf yumruları metastazı ve 'M' ise uzak organlara metastazı ifade eder (Tablo 2. 4) (Owen, 1980).

Tablo 2. 4: Dünya Sağlık Örgütü' nün Klinik Evre Sınıflandırılması (Owen, 1980).

Evre I	T_1 (a,b,c)	N_o	M_o
Evre II	T_o T_1 (a,b,c) T_2 (a,b,c)	N_1 N_1 N_o veya N_1 (a)	M_o
Evre III	T_2 (a,b,c) Tüm T' ler	Tüm N' ler Tüm N (b)' ler	M_o
Evre IV	Tüm T' ler	Tüm N' ler	M_1

a: fikse değil.

b: deriye fikse.

c: kasa fikse.

2.7. MEME TÜMÖRLERİNDE TANI YÖNTEMLERİ

Tanı amacıyla başlangıçta kapsamlı tam bir anamnez alınmalı, fiziksel muayene yapılmalı ve ortaya çıkabilecek başka hastalıkları belirlemede klinik muayene yapılmalıdır. Bütün meme lobları dikkatle kontrol edilmeli, tümör veya tümörlerin büyüklüğü, deri ya da derin dokulara invazyonu, yangı-ülserasyon durumu belirlenmelidir. Bölgesel lenf yumruları mutlaka kontrol edilmelidir (Gobello ve Corrada, 2001; Simon ve diğ. 2001).

Meme tümörlü dişi köpeklerin birçoğu, ilk dönemlerde klinik açıdan sağlıklıdır. Klinik belirtilerin süresi birkaç günden birkaç aya kadar değişebilmektedir (Fowler ve diğ. 1974; Concannon ve diğ. 1981; Perez Alenza ve diğ. 2001). Tümörün tipine ve erken tespit edilmesine bağlı olarak tümörler, küçük, büyük, ülsere, sınırlı veya bir ya da birden fazla meme lobunda meydana gelebilir (Misdorp ve Hart, 1976; Hellmen ve diğ. 1993). Farklı loblarda birden fazla tümör bulunabilir ve vakaların %60' ından fazlasında birden fazla tümör vardır (Fowler ve diğ. 1974; Benjamin ve diğ. 1999). Bölgesel lenf yumruları hiperplazik olabilir. Yapılan çalışmalarda, meme tümörü olan köpeklerin %10-50' sinde lenf yumrularının hiperplazik olduğu saptanmıştır (Yamagami ve diğ. 1996; Misdorp, 2002; Perez Alenza ve diğ. 2001). İlerlemiş durumlarda, yorgunluk, uyuşukluk, kilo kaybı gibi meme tümörlerine özgü olmayan, sistemik hastalık belirtileri görülebilir. Belirtilerin şiddeti, metastazların kapsamına ve konumuna göre farklılık gösterir (Fidler ve diğ. 1967; Schneider ve diğ. 1969).

Meme tümörlerinin klinik görünümü, kitlenin benignite veya malignitesi hakkında fikir verebilir (Gobello ve Corrada, 2001; Momont ve Barber, 2003; Sleeckx ve diğ. 2011). Ancak, klinik görünüm ile tespit edilebilecek kasa invazyon durumu, boyutu, yangı ve ülserasyon gibi bulgular malignitenin belirtileri olmasına karşın, sadece bu bulgulara bakarak benign veya malign ayrımı yapmak doğru değildir. Meme bezi hiperplazileri, displazileri, adenomları, karsinomları değişken morfolojik yapıya sahip olduğundan dolayı zaman zaman bu ayrımı yapmakta zorluk çekilmektedir (Allen ve diğ. 1986; Perez Alenza ve diğ. 1998; Aydoğan, 2010).

Meme tümörlerinde sık sık doku ve damar invazyonları görülür. Bazal membranlardaki bozulmalar veya tamamen yıkılma, köpek meme tümörlerinde malignitede önemli bir kriterdir (Benazzi ve diğ. 1993). Yumuşak doku ve deriye infiltrasyon ve

damarlara invazyon, malign tümörlerin davranışları bakımından en önemli kriterlerdir. Artan damarlaşma da malignite kriterlerinden biridir. Doppler ultrasonografide B-mod bulgularında homojenite ve gri değer açısından fark bulunan çalışmalar vardır (Mülazımoğlu ve diğ. 2016). Benign tümörlere göre malignlerde nekrozlar daha sık görülür (Misdorp, 2002; Yamagami ve diğ. 1996). Meme tümörü olan köpeklere tanı amaçlı yaklaşımda anamnez ve detaylı fiziksel muayeneden sonra cerrahi biyopsi, tipik olarak eksizyonel biyopsi önerilebilir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi de bu amaçla kullanılabilir. Biyopsi, histopatolojik tanı için doku sağlar ancak cerrahi müdahale yöntemini değiştirmeyeceği için histopatolojik değerlendirmenin operasyondan sonra yapılması daha uygun olmaktadır (Momont ve Barber, 2003; Sorenmo, 2003).

Meme tümörlü bütün köpeklerin metastaz varlığını değerlendirmek için, radyografi, bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) gibi diagnostik görüntüleme yöntemlerinden yararlanılmalıdır. Akciğer metastazlarının belirlenmesi için üç görüntülü toraks radyografisi günümüzde en sık kullanılan görüntüleme yöntemidir. Radyografide, çapı 6-8 mm arasındaki akciğer odakları belirlenebilir. Dört mm kadar küçük çapta olan metastazları belirlemek için BT gereklidir (Glasspool ve Evans, 2000). Ancak çapı 0,5 cm' den az olan küçük metastazlar bu yöntemler ile tespit edilemez (Gobello ve Corrada, 2001; Momont ve Barber, 2003). Akciğerler, meme tümörü olan köpeklerde uzak metastaz bakımından en yaygın organdır (Fidler ve diğ. 1967; Fidler ve Brodey, 1967). Eğer metastaz için şüpheli başka bölgeler belirlenir ise, abdominal ultrasonografiden yararlanılabilinir (Sorenmo ve diğ. 2011). Ultrasonografi verilerine göre, benign/ malign ayrımındaki doğruluk payı %45,7' dir (Wehrend ve diğ. 2003; Marquardt, 2003). Ultrasonografik muayenede, meme dokusunun homojenliği, kitlenin sınırının düzenli olup olmaması, ekojenitesi gibi kriterler değerlendirilir (Hitzer, 2000; Severin, 2001; Marquardt, 2003).

2.8. MEME TÜMÖRLERİNDE PROGNOZ

Meme bezi tümöründe prognoz, yaş, tümörün büyüklüğü ve evresi, tümörün klinik görünümü, histopatolojik tipi, derecesi, mikrodamar yoğunluğu, genetik değişiklikler gibi birçok faktörden etkilenir (Schneider ve diğ. 1969; Hellmen ve diğ. 1993). Ancak en doğru sonuçlar, tümör boyutu, lenf yumrusu durumu ve klinik evre üzerine olmuştur (Sorenmo ve diğ. 2011).

İleri yaşın olumsuz bir prognostik faktör olduğu düşünülmekle birlikte, daha fazla maligniteyle ilişkilendirilmemiş ve kendi başına olumsuz bir faktör olmayabileceği anlaşılmıştır. Yapılan çalışmaların çoğu yaşı, tümör evresi ve tedavisiyle bağdaştıramamış ve yaşlı köpeklerin gençlere göre kanser dışı nedenlerle ölme olasılığının daha fazla olabileceğini göstermiştir (Goodwin ve diğ. 1996). Ancak diğer bir yandan, dişi köpeklerde benign tümörlerin sıklıkla 8-9 yaş aralığında, malign tümörlerin ise 10 yaş aralığında görülmesi, meme tümörü ile yaşın bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir (Zatloukal ve diğ. 2005).

Tümör boyutunun farklı çalışmalarda prognoz açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (Misdorp ve Hart, 1976; Bostock, 1986; Kurzman ve Gilbertson, 1986; Yamagami ve diğ. 1996). Üç cm çapından küçük olan tümörler, büyük olanlara göre daha iyi prognoz ile ilişkilidir. Yapılan birçok çalışmada (Yamagami ve diğ. 1996; Philibert ve diğ. 2003; Chang ve diğ. 2005), tümör boyutu 5 cm' den büyük olan köpeklerin prognozunun önemli oranda kötü olduğu bulunmuştur. Hastalığın evresi de prognoz için önemli bilgiler sağlar. Birçok tümörde olduğu gibi, meme tümörlerinde de ilerlemiş evre kötü prognozu işaret eder (Kurzman ve Gilbertson, 1986; Yamagami ve diğ. 1996). Hastalığın erken evresindeki köpeklerin, evresi daha ileri olanlarla karşılaştırıldığında daha uzun yaşadığı bulunmuştur (Philibert ve diğ. 2003). Basit karsinomu olan köpeklerin prognozu, diğer karsinomu olanlara kıyasla daha kötüdür ancak ikisinin de kötü prognozlu olan evre 2 ve 3 vakaları arasında hayatta kalım açısından önemli bir farkı yoktur (Chang ve diğ. 2005). Lenf yumrusu metastazlı köpeklerin, metastazı olmayanlara göre daha kısa hayatta kalma olasılığı vardır. Ayrıca uzak metastazlı köpeklerin, evreleme negatif ya da sadece bölgesel lenf yumrusu metastazı olanlara göre prognozu daha kötüdür (Sorenmo, 2003).

Tümör tipi, histolojik değişim ve derece gibi faktörlerin de prognostik önemi olduğu bildirilmiştir. Sarkomu olan köpekler, malign epitelyal tümörü olanlara göre daha kötü prognozludur (Misdorp ve Hart, 1976; Hellmen ve diğ. 1993; Langenbach ve diğ. 1998). Malign epitelyal tümörler, lenf yoluyla bölgesel lenf yumrularına ve akciğerlere metastaz yapma eğilimindeyken, mezenşimal tümörler, hematojen yolla direkt olarak akciğerlere metastaz yaparlar (Goldschmidt ve diğ. 2001). Benign meme tümörleri ise malign meme tümörlerine oranla daha iyi bir prognoza sahiptir (Misdorp, 2002). Tümörlerin dereceleri, hastalığın seyri bakımından oldukça önemlidir. Tümör kaynaklı ölümler, histopatolojik grade 1' de %41,6, Grade 2' de %70,3 ve Grade 3' te ise %100 olarak bildirilmiştir (Millanta ve diğ. 2006).

Biyopsi örneklerinde tümörün sınırları iyi değerlendirilmelidir. Primer tümör ne kadar büyük ve geniş yayılımlı ise prognozu o kadar kötüdür (Karayannopoulou ve diğ. 2005). Meme tümörlerinde özellikle tümörün çevresinden başlayan ödem, kötü prognozun bir işaretidir (Chang ve diğ. 2005; Karayannopoulou ve diğ. 2005).

Meme tümörlerinde prognoz genellikle birinci mastektomi operasyonundan sonra hastanın yaşam oranının yüzde olarak ifade edilmesidir. Farklı çalışmalarda bu oranın, %25-40 arasında değişim gösterdiği görülmüştür (Chang ve diğ. 2005; Karayannopoulou ve diğ. 2005). Mastektomiden sonra ölüm sebebinin asıl nedeni metastazlardır ve metastazlar en fazla torasik bölge ve akciğerlerde görülür (Tiemessen, 1989; Simon ve diğ. 2006).

2.9. MEME TÜMÖRLERİNİN TANISINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER

Biyobelirteçler, kanda ya da dokularda ölçülebilen, bir hastalığın varlığı, tedavi sonucu ve prognoz için bilgi veren biyolojik moleküllerdir (Henry, 2010; Mobasheri ve Cassidy, 2010). Kanser riskini belirlemek, erken teşhis, tanı, hastalığın tekrarlanması veya ilerleme durumunu gözlemlemek için tümör biyobelirteçleri kullanılır (Schrohl ve diğ. 2003; Sturgeon ve diğ. 2009). Bu biyobelirteçler, onkofetal proteinler, hormonlar, tümör antijenleri, enzimler ve diğerleri olarak sınıflandırılırlar (Küçükusta, 1992). Kanser hücrelerinin her biri, tümör ile ilişkili antijenler olarak isimlendirilen spesifik proteinleri ifade eder. Bu antijenler, tümörlü hastalarda, diğer dokularda, serumda ya da idrarda normal konsantrasyonundan farklı bir konsantrasyonda saptanırsa biyobelirteç olarak adlandırılır (Henry, 2010; Mobasheri ve Cassidy, 2010). Bir tümör belirteci, tümöre yanıt olarak tümörün kendisi veya konak tarafından üretilir (Kilpatrick ve Lind, 2009). İdeal tümör belirteci erken tanıya ve taramaya yardımcı olmak için spesifik ve duyarlı olmalıdır (Amayo ve Kuria, 2009). Bu duyarlılık ve özgüllük biyobelirteçlerin klinik yararlarını belirler (Schrohl ve diğ. 2003; Sturgeon ve diğ. 2009).

Birkaç biyobelirteç tek bir tümöre spesifik olabildiği gibi çoğu biyobelirteç aynı doku tipindeki farklı tümörler tarafından üretilebilir. Kanserli hastaların kanında veya kanser dokusunda daha yüksek oranda olsa da sağlıklı hücrelerde de bulunabilirler ve kanda düşük seviyelerde bile olsa ölçülebilirler (Amayo ve Kuria, 2009). Biyobelirteçlerden bazıları ise benign tümörlerde, tümör olmayan yangısal hastalık durumlarında artış gösterir (Küçükusta, 1992).

2.9.1. Kanser Hücre Proliferasyonu ve Apoptosis İle İlgili Biyobelirteçler

2.9.1.1. Ki-67

Tümör proliferasyonu ve apoptoz ile ilgili yaygın kullanılan Ki-67, farklı tümör tiplerinde tespit edilir. Prognozu belirlemede sık kullanılan bir biyobelirteçtir. Ki-67, sadece hücre bölünmesinin interfaz evresinde ve mitoz bölünme sırasında hücre çekirdeğinde belirlenebilmektedir. Hücre döngüsünün G1 fazında saptanır, S ve G2 fazlarında ise miktarı artar. En yüksek miktarlara M fazında ulaşır ve mitoz bölünme bitiminin ardından ortadan kalkar (Queiroga ve diğ. 2011; Tokuda ve diğ. 2017). Tümörlü köpeklerde serum seviyeleri tümör dereceleri ile pozitif korelasyon gösterirken, sağlıklı köpeklerin serumunda bulunmazlar (Nowak ve diğ. 2007). Benign tümörlerdeki miktarı, malign tümörlere göre daha azdır. Yüksek Ki-67 seviyesi, metastaz, kötü prognoz ve kötü hayatta kalım ile ilişkilidir (Gizinski ve diğ. 2003; Queiroga ve diğ. 2011; Nowak ve diğ. 2015). Büyük tümör boyutu, inflamasyon ve ülserasyon, invazyon ve lenf yumruları metastazı olan tümörler, en yüksek Ki-67 miktarlarına sahiptir (Lohr ve diğ. 1997; Nowak ve diğ. 2015; Rodrigues ve diğ. 2016). Genç köpeklerin Ki-67 seviyeleri, yaşlı köpeklerin tümör proliferasyon sürecinin daha yavaş olmasından dolayı daha yüksektir (Nowak ve diğ. 2015).

2.9.1.2. Çoğalan Hücre Nükleer Antijeni (Proliferating Cell Nuclear Antigen-PCNA)

Yardımcı DNA polimeraz δ (Delta) proteini olan PCNA, hücre bölünme döngüsünün DNA sentezi sırasında hücre çekirdeğinde belirlenir. Hücre döngüsü kontrolü, DNA onarımı, kromatin montajı, RNA transkripsiyonu ve hücre döngüsünün korunması gibi görevleri vardır (Peňa ve diğ. 2014; Jurikovaa ve ark. 2016). Miktarı geç G1 fazında artar, S fazında en yüksek seviyeye ulaşır ve G ve M fazları boyunca yüksek kalmaya devam eder (Peňa ve diğ. 1998; Zacchetti ve diğ. 2003). Tümörün tipi ve boyutu, malignite derecesi, farklılaşma derecesi, nükleer derece, mitotik indeks ve lenf yumrusu metastazı ile PCNA miktarları arasında pozitif korelasyon vardır. Miktarı, yüksek malignitesi olan, boyutu büyük, ülserasyonlu, evresi II veya III ve bölgesel lenf yumrusu metastazı olan tümörlerde daha yüksektir. Ayrıca, miktarının yüksek olması, kötü bir prognozu ve düşük hayatta kalımı düşündürmektedir (Carvalho ve diğ. 2016).

2.9.1.3. Protein p53 (p53)

Hücre neoplastik transformasyon, hücre bölünmesi ve apoptozun bir biyobelirteci olan protein p53, hücre döngüsünden ve apoptozun kontrolünden sorumludur (Rodo ve Malicka, 2008; Peňa ve diğ. 2014; Dileepkumar ve diğ. 2016). Bununla birlikte, tümör oluşumunu baskılayıcı etkisi olduğu da bilinmektedir. Tümörlü dokuda birikerek, onkogen görevi görür (Sorenmo, 2003). Kötü prognoz ve düşük hayatta kalım, artan miktarlar ile ilişkilidir (Klopfleisch ve Gruber, 2009).

2.9.2. Tümörün Metastazik Potansiyeli İle İlgili Biyobelirteçler

2.9.2.1. Epitel-kadherin (E-kadherin)

Epitel-kadherin, kalsiyuma bağımlı transmembran glikoproteinidir, hücre-hücre adezyonundan sorumludur (Matos ve diğ. 2006) ve herhangi bir dokunun normal yapısını korur. Kadherinler içinde, E-, P- ve N- kadherinler bulunmaktadır. Miyoepitelyal hücrelerde Plasental-kadherin (P-kadherin) bulunur ve yüksek dereceli tümörlerdeki fazla miktarı tümör agresifliğini ve kötü prognozu işaret eder. Epitelyal hücresel adezyonda yer alan E-kadherin, en sık değerlendirilen kadherindir. Düşük miktarlı E-kadherin, köpek meme tümörlerinin birçoğu epitelyal kökenli olduğu için, tümör gelişiminin artması ve hastalık progresyonu, malignite, metastazların agresifliği ve hayatta kalım ile ilişkilidir (Matos ve diğ. 2006; Nowak ve diğ. 2007; Peňa ve diğ. 2014). Epitel-kadherin ile β-kadherin, kateninler olarak adlandırılan bir grup proteine bağlanır. Sitoplazmik bir protein olan β-kadherin, neoplastik süreçte parçalanır ve tümör hücrelerinin sitoplazmasında ve çekirdeğinde birikir. Miktarı, tümör progresyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Kandefer-Gola ve diğ. 2016). Düşük miktarlı E-kadherin, daha kötü prognoz olarak düşünülür ancak Ki-67 gibi diğer biyobelirteçler ile birlikte değerlendirilmelidir (Kaszak ve diğ. 2018).

2.9.2.2. Karsinoembriyonik Antijen (Carcinoembryonic antigen-CEA)

Karsinoembriyonik antijen (CEA), hücre yüzeyi glikoproetinleri ailesine ait olan, klinik uygulamasında en sık tercih edilen biyobelirteçtir (Shao ve diğ. 2015). Hücre içi yapışmada yer alır. Gastrointestinal mukozada üretilen, epitelyum hücre zarlarında az miktarda lokalize olan, kolon, meme ve akciğer kanseri hücrelerinde fazla miktarda bulunan bir glikoproteindir. Sürekli olarak yükselen CEA seviyesi, hastalığın tedaviye yanıt vermediğini ya da tedaviden sonraki nüksü açıklayabilir (Guadagni ve diğ. 2001). Bununla birlikte hastalığı ilerlemiş ve metastazik olanlarda, lokalize hastalıkları olanlara göre daha yüksek CEA seviyesi vardır (Shao ve diğ. 2015). Ayrıca, CEA seviyesinin yüksek olması

metastazik hastalık ile ilişkilidir. Operasyon öncesi CEA ölçümlerinin tümörün boyutu ve patolojik evre ile alakalı olduğu ortaya koyulmuştur (Kabel, 2017). Meme tümörlü köpeklerde sağlıklı olanlara göre serum CEA seviyesi daha yüksek olup (Campos ve diğ. 2012), bu seviye birincil ve metastazik tümörün boyutuna direkt olarak bağlıdır (Kabel, 2017). Düşük hassasiyeti ve spesifitesinden dolayı erken tanıda kullanılabilirliği şüphelidir. Bu yüzden Kanser Antijeni 15-3 (CA 15-3) ile birlikte kullanıldığında erken tanıda daha yararlı olabilmektedir (Manuali ve diğ. 2012; Shao ve diğ. 2015).

2.9.2.3. Karbonhidrat Antijeni 15-3 (Carbohydrate Antigen-CA 15-3)

Mucin 1 veya MUC 1 olarak da adlandırılan CA 15-3, apikal plazma membranından eksprese edilen müsin 1 geninin ürünü olan, büyük bir transmembran glikoproteinidir (Manuali ve diğ. 2012). Malign transformasyon esnasında sitoplazmayla birlikte membran yüzeyinden de eksprese edilebilir (Duffy ve diğ. 2010). Mucin 1 geni, birkaç farklı dokuda bulunmaktadır. Fizyolojik görevleri tam olarak bilinmese de hücre-hücre etkileşimini azalttığı ve tümör hücresinin lizizini engellediği bilinmektedir (David ve diğ. 2016). Mucin 1, malignite süreci sırasında yapışma önleyici molekül gibi davranıp malign hücrelerin ayrılmasını sağlar ve tümör hücrelerinin metastazını artırır. Tümör derecesiyle pozitif korelasyonu olan CA 15-3, yüksek seviyelerde kötü klinik evre ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Serum CA 15-3 seviyelerinin, histopatolojik grade II ve grade III karsinomlu köpeklerde grade I karsinomlu olanlara kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür (Manuali ve diğ. 2012). Bunların dışında ilk nüksün de bağımsız bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Berruti ve diğ. 1994). Ayrıca normal meme dokusunun yanı sıra benign meme tümörlerinde de eksprese edilir (Manuali ve diğ. 2012).

2.9.3. Anjiogenezis ile İlgili Biyobelirteçler

2.9.3.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü, anjiyogenezi kontrol ettiğinden dolayı insan tıbbında çok sık kullanılır. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D olmak üzere 4 gen tarafından kodlanırlar. Anjiyogenezden VEGF-A ve VEGF-B, lenfanjiyogenezden ise VEGF-C ve VEGF-D sorumludur (Milanta ve diğ. 2010). Sağlıklı olan dokularda VEGF, yeni damarların yapımını sağlar ve işlevlerini düzenler. Hücre göçünü ve endotelyal proliferasyonu uyarır, hücrelerin kan damarlarından uzaklaşmasını sağlar. Uzak metastaza izin veren mikrovasküler geçirgenliği artırır, yeni damarların

gerilemesini engeller, yeni damarların yapımı için endotel hücre istilasını uyarır ve apoptozu inhibe eder (Milanta ve diğ. 2010; Santos ve diğ. 2010; Moschetta ve diğ. 2015). Yüksek seviyeleri, kötü bir klinik evre, kötü prognoz ve düşük hayatta kalım ile pozitif korelasyon gösterir. Ayrıca infiltratif büyümeli daha malign tümörlerde ve nekrozlu tümörlerde de VEGF seviyeleri artar. Bundan dolayı tümör gelişimi ve metastazın bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Queiroga ve diğ. 2011).

2.9.3.2. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (Epidermal Growth Factor Receptor-EGFR/ HER-1)

Epidermal büyüme faktörü reseptörü, transmembran tirozin kinaz reseptörüdür ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörleri (HER) ailesine aittir (Kim ve diğ. 2011). Malign tümörlerde EGFR' nin kanser hücresi göçünün destekleyicisi olduğu düşünülmektedir (Masuda ve diğ. 2012). Tümör hücrelerinin büyümesinde, farklılaşmasında, çoğalmasında ve anabolizmasında rol oynar (Tang ve diğ. 2012; Kaszak ve diğ. 2018). Anjiyogenezi ve metastazı arttırdığından dolayı kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (Carvalho ve diğ. 2013). Yapılan bazı çalışmalarda, köpeklerdeki meme tümörlerinin gelişmesinde ve ilerlemesinde EGFR' nin rolü ortaya konulmuştur (Gama ve diğ. 2009; Carvalho ve diğ. 2013). Yüksek miktarları, tümör boyutunun büyüklüğü, tümör nekrozu, yüksek mitotik indeks, tümörün malignitesinin histolojik derecesi, lenf yumrularının durumu ve kötü klinik evre ile ilişkilidir (Carvalho ve diğ. 2013; Guimarães ve diğ. 2014). Tümörü 10 cm' den küçük olan köpeklerin, sağlıklı olanlara göre kandaki EGFR seviyeleri daha yüksektir. Kısırlaştırılan ve kısırlaştırılmayan meme tümörlü köpeklerde ise kısırlaştırılmayanların kandaki EGFR seviyelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Günay Uçmak ve diğ. 2021).

2.9.3.3. İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-HER-2)

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2, önemli bir tümör belirteci olarak görülmektedir. Tümör büyümesini, tümörün hayatta kalmasını ve farklılaşmasını düzenler (Singer ve diğ. 2012; Campos ve diğ. 2015). Normal şartlarda hücrelerin epitelyum hücrelerinden eksprese edilen HER-2, akciğer, idrar kesesi, pankreas, meme ve prostat dahil organlardan ve kanser hücrelerinden fazlasıyla eksprese edilir (English ve diğ. 2013). Reix ve diğ. (2016), HER-2' nin nükslerin erken tanısında ve metastazların durumunun görülmesinde yararlı bir biyobelirteç olabileceğini bildirmiştir (Reix ve diğ. 2016). Kemiğe metastaz yapan meme tümörlerinde HER-2 miktarı aşırı yüksek değilken, HER-2' nin yüksek olduğu meme

tümörleri genellikle akciğer, karaciğer ve beyin gibi iç organlara metastaz yapar (Savci-Heijink ve diğ. 2015). Kötü prognozun bir belirteci olarak kabul edilmekle birlikte, bütün çalışmalar bunu doğrulamamıştır (Dutra ve diğ. 2004; Hsu ve diğ. 2009; Kim ve diğ. 2011; Ressel ve diğ. 2013; Guimarães ve diğ. 2014; Campos ve diğ. 2015). Benign ve malign tümörlerde HER-2 miktarları arasında, yapılan bazı çalışmalarda bir fark görülmemiştir (Kim ve diğ. 2011; Ressel ve diğ. 2013; Campos ve diğ. 2015). Başka bir çalışmada (Hsu ve diğ. 2009), HER-2 saptanan malign tümörlü köpeklerin, HER-2 negatif olanlara göre daha uzun hayatta kalma oranı olduğu gösterilmiştir. Bu gibi durumlardan dolayı HER-2, tümörün oluşmasına katılabilir ancak malign transformasyonda olması gerekli değildir veya en azından malignitenin iyi bir belirteci değildir (Kaszak ve diğ. 2018).

2.9.4. Hormon Reseptörleri

2.9.4.1. Östrojen Reseptörü (Estrogen Receptor-ER)

Östrojen reseptörü, meme bezi tümörlerinde kullanılan başarılı biyobelirteçlerden biridir (Kabel ve diğ. 2016). Prognostik değerinden başka, meme tümörlerinde tedaviye verilen yanıtın en önemli biyolojik belirtecidir. Nükleer steroid reseptörleri ailesine aittir ve 17 beta östradiol (E2) hormonu tarafından kontrol edilir (Zwart ve diğ. 2011). Hücresel büyüme, çoğalma ve farklılaşma için östrojen gereklidir (Kabel ve diğ. 2016). Östrojenin tümör gelişiminde etkisi olduğu düşünülmektedir (Kim ve diğ. 2014). Tümörlü meme dokusundaki ER ölçümü, hormonal dirençli meme tümörü olasılığının belirlenmesine katkı sağlar (Lumachi ve diğ. 2013). Tümördeki ER içeriği ne kadar fazla ise, endokrin tedaviye yanıt verme olasılığı o kadar yüksektir (Bae ve diğ. 2015). Yapılan bazı çalışmalarda, benign tümörlerde ER ekspresyonunun daha çok olduğu görülmüşken, diğer çalışmalarda, malign tümörlü hastalarda artan östrojen seviyeleri görülmüştür (Queiroga ve diğ. 2015; Caceres ve diğ. 2016). Başka bir çalışmada (Queiroga ve diğ. 2015), kötü prognozlu ve malign tümörlü olanlarda serum ve doku steroid hormon miktarının arttığı bildirilmiştir.

2.9.4.2. Progesteron Reseptörü (Progesterone Receptor-PR)

Progesteron reseptörü, meme tümörlerindeki hormonal yanıtı etkili bir şekilde tahmin eden biyobelirteçlerden biridir (Shah ve diğ. 2014). Hedef genlerden gelen PR protein ürünleri, transkripsiyon, steroid ve lipid metabolizması, hücre büyümesi ve apoptoz gibi hücresel aktivitelerde görev almaktadır ve bu proteinlerden bazıları meme tümörü gelişimi ile ilişkilidir (Mc Cormack ve diğ. 2007). Adları PR-A ve PR-B olan ve farklı aktivitelere sahip iki tane izoformu vardır. Farklı hücre çeşitlerindeki bazı promotörlerin güçlü transkripsiyonel

akvitörü PR-B iken, PR-A, PR-B' nin östrojen reseptörlerinin ve diğer steroid reseptörlerin baskılayıcısıdır (Jacobsen ve Horwitz, 2012). Meme bezi tümörlerinde, bazı genler iki izoform ile düzenlense de, çoğunlukla PR-B tarafından bir veya diğer izoform ile düzenlenir (Mc Cormack ve diğ. 2007). Yapılan bir çalışmada (Kim ve diğ. 2014), östrojen negatif (ER-) ve progesteron pozitif (PR+) olan tümörlerin, ER+ ve PR+ olanlardan daha kötü klinik sonuçlu olduğu, bir diğer yandan ER- ve PR- olanların ise en kötü prognoza sahip olduğu görülmüştür.

2.9.4.3. Prolaktin Reseptörü (Prolactin Receptor-PRL-R)

Prolaktin, ön hipofiz bezi tarafından sentezlenen bir hormondur ve birçok biyolojik etkisi vardır (Freeman ve diğ. 2000). Laktojenik aktivitenin yanı sıra kemik, beyin, lenfositler, plasentanın desidual hücreleri, meme epitelyum hücreleri gibi insan ekstrahipofiz dokularında büyüme faktörü, nörotransmitter ya da immun sistem düzenleyici olarak da görev alır (Ben-Jonathan ve diğ. 1996; Llovera ve diğ. 2000). Meme epitel gelişimi için önemli olmakla birlikte dışarıdan uygulanan prolaktinin farklı çalışmalarda, meme tümörü gelişim oranını arttırdığı gösterilmiştir (Wenbo ve diğ. 1997; Hankinson ve diğ. 1999). Yapılan çalışmalar sonucunda, meme tümörlü köpeklerdeki serum PRL seviylerinin sağlıklı olanlara göre daha yüksek olduğu, malign tümörlerin de benign tümörlerle karşılaştırıldığında daha yüksek serum PRL seviyelerine sahip olduğu görülmüştür (Queiroga ve diğ. 2015).

2.9.4.4. Östrojen Sülfat (Estrogen Sulfatase-SO4E1)

Serum östrojen sülfat konsantrasyonunun, malign tümörlerde, benign tümörlere ve sağlıklı dokuya göre daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Malign tümörlerdeki yüksek SO4E1 seviyesi, tümörün nüksü veya uzak metastaz ile önemli oranda ilişkili olduğu bildirilmektedir (Queiroga ve diğ. 2015).

2.9.5. Yangı ile İlgili Biyobelirteçler

Siklooksijenaz enzimi, araşidonik asitten prostaglandin biyosentezini katalize eder. Prostaglandinlerin tümör gelişmesinde etkili rolünün olduğu belirtilmiştir. Prostaglandin E2 oluşumundaki enzimatik yolda meydana gelen düzensizliğin, tümörlerin ilerlemesi ile güçlü bir ilişkisi vardır (Queiroga ve diğ. 2010). Siklooksijenaz 1 (COX-1) ve siklooksijenaz 2 (COX-2) olmak üzere iki izoformu olmasına rağmen her ikisinin farklı biyolojik görevleri vardır (Brunelle ve diğ. 2006; Queiroga ve diğ. 2011; Benavente ve diğ. 2016; Carvalho ve diğ. 2016).

2.9.5.1. Siklooksijenaz 1 (Cyclooxygenase-1-COX-1)

Siklooksijenaz 1, normal dokulardan eksprese edilir ve böbrek fonksiyonunun kontrolü, üreme ve midenin hücre kontrolü gibi işlevi vardır (Brunelle ve diğ. 2006; Queiroga ve diğ. 2011; Benavente ve diğ. 2016; Carvalho ve diğ. 2016).

2.9.5.2. Siklooksijenaz 2 (Cyclooxygenase-2-COX-2)

Siklooksijenaz 2, araşidonik asidin, prostaglandinler (PG), prostasiklinler ve tromboksanları içeren çeşitli moleküllerin öncüsü olan prostaglandine (PGH2) dönüşmesini kontrol eden bir enzimdir (Smith ve diğ. 2000). Artan COX-2 sonucunda oluşan PG' nin aşırı üretimi, tümör anjiyogenezinin uyarılması, tümör apoptozunun azalması, artan metastaz, immun sistemin baskılanması ve tümör ile ilgili yangıya sebep olur (Tamura ve diğ. 2002; Heller ve diğ. 2005; Lavalle ve diğ. 2009; Araújo ve diğ. 2016). Siklooksijenaz 2, normal dokularda bulunmaz. İnflamatuar reaksiyonlar, büyüme faktörleri, tümör promotörleri ve onkogenler sebebiyle dokulardan eksprese edilir. Meme tümörleriyle birlikte bazı normal meme bezi dokularında da COX-2 varlığı görülmüştür (Brunelle ve diğ. 2006; Queiroga ve diğ. 2011; Benavente ve diğ. 2016; Carvalho ve diğ. 2016). Malign meme tümörlerinde benign meme tümörlerine göre COX-2 oranı daha yüksektir (Queiroga ve diğ. 2010; Benavente ve diğ. 2016). Yapılan bazı çalışmalarda, COX-2 ekspresyonu ile anjiyogenez, uzak metastazlar, kötü prognoz ve kısa hayatta kalım arasında bir ilişki olduğu görülmüştür (Queiroga ve diğ. 2005; Millanta ve diğ. 2006; Lavalle ve diğ. 2009; Queiroga ve diğ. 2011; Araújo ve diğ. 2016).

2.9.6. Gen Mutasyonları

2.9.6.1. Meme Kanseri Duyarlılık Proteini Tip 1 ve Tip 2 (Breast Cancer Type 1 ve Type 2 Susceptibility Protein-BRCA1/ BRCA2)

Köpek meme tümörlerinin oluşumu birçok faktöre bağlı olmakla birlikte bazı köpek ırklarında genetik faktörlerin rolü daha yüksektir (Borge ve diğ. 2011). Köpek meme tümörleriyle, BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN, CHEK2, TOX3, ERBB2, BRIP1, STK11 gibi genler ilişkilendirilmiştir (Rivera ve diğ. 2009; Borge ve diğ. 2011). Çoklu gen mutasyonlarında BRCA1 ve BRCA2' nin, köpek ve insan meme tümörlerinin gelişiminde önemli rol oynadığı görülmektedir. İnsan kromozomu 17q21' de bulunan BRCA1, birçok dokudan eksprese edilir ve kaybı kusurlu DNA onarımı, anormal hücre döngüsü, apoptozda artma ve tümörojeneze sebep olur (Yoshikawa ve diğ. 2015). Hücrelerde meydana gelen BRCA1 eksikliği, radyasyona karşı aşırı duyarlılığa ve oksidatif DNA hasarının giderilmesindeki hatalarla

birlikte kromozomal çift zincir kusurlarına neden olur (Gowen ve diğ. 1998). Ayrıca BRCA1' in tümör baskılayıcı bir gen olduğu da bulunmuştur (Yoshikawa ve diğ. 2015). Hücrelerdeki BRCA2 DNA rekombinasyonunun sabit kalmasında önemli bir role sahiptir. Eksikliğinde ise genomik kararsızlık, tümör baskılama görevine işaret edilir (Scully ve Livingston, 2000; Ventikaraman, 2002; Enginler ve diğ. 2014; Torres ve diğ. 2021).

Özellikle malign tümörler ile BRCA1 ilişkilendirilirken, benign ve malign tümörler arasında BRCA2 miktarlarında fark yoktur (Nieto ve diğ. 2003; Rivera ve diğ. 2009). Bununla birlikte yapılan bir çalışmada (Yoshikawa ve diğ. 2015), normal meme dokularına göre tümörlü dokularda BRCA2' nin azalmış olduğu bulunmuştur.

2.9.7. MikroRNA (miRNA)

MikroRNA' lar, gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası negatif düzenlenmesinde yer alan küçük moleküllerdir. Farklı kanser çeşitlerinde, aynı tümör dokusu içerisinde dahi miRNA miktarının değiştiği görülmüştür. Ayrıca kanserin çeşitli evrelerinde farklı miRNA ekspresyonları görülebilir. Hücre proliferasyonunda, farklılaşmasında, anjiyogenezde, göç ve apoptozda miRNA rolü vardır (Boggs ve diğ. 2008). MikroRNA' ların onkogenler ya da tümör baskılayıcı genler gibi davrandığına dair olgular vardır (Boggs ve diğ. 2008; Bulkowska ve diğ. 2017). Farklı tümörlerde farklı miRNA' lar görülmüştür. Örneğin, köpek duktal karsinomlarında miR-15a ve miR-16 aşağı regülasyon gösterirken, köpek tubuler papiller karsinomlarda miRlet-7f, miR-181b, miR-21, miR-29b ve yukarı regülasyon göstermiştir (Boggs ve diğ. 2008). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, miRNA miktarının metastazik olan ve metastazik olmayanlar karşılaştırıldığında aralarında önemli bir fark olduğu görülmüş ve bu farkın miRNA' yı önemli bir metastaz biyobelirteci haline getirdiği saptanmıştır (Bulkowska ve diğ. 2017).

2.9.8. Kanser Kök Hücreleri (Cancer Stem Cells-CSC)

Kanser kök hücreleri, tümör başlatan hücreler (TIC) olarak da adlandırılırlar. Kendisini yenileme ve farklı kanserlerde hücrelerde farklılaşma yeteneği olan, küçük tümör hücresi alt topluluğudur (Pang ve Argyle, 2010). Nüks ve metastazdan sorumlu oldukları düşünülmekle birlikte (Pang ve Argyle, 2010; Im ve diğ. 2015), kökeni belirsizliğini korumaktadır. Tümör kök hücreleri oluşumunun, normal kök hücrelerin malign transformasyonundan, olgun kanser hücrelerinin farklılaşmasından ya da kendini

yenileyebilen ve başka hücrelere dönüşebilen kanser hücrelerinin uyarılmasından dolayı meydana geldiği düşünülmektedir (Rybicka ve Krol, 2016).

2.9.9. Dolaşımdaki Tümör Hücreleri (Circulating Tumor Cells-CTC)

Dolaşımdaki tümör hücreleri, primer tümörden veya metastazlarından oluşan ve periferik kanda bulunan hücrelerdir. Bundan dolayı spesifik tümör çeşitlerinin antijenik veya genetik özelliklerini gösterirler (Da Costa ve diğ. 2013). Uzak metastazların oluşumunda görev aldıklarından dolayı, metastazik biyobelirteç olarak sayılabilirler. Altı tane spesifik genin ekspresyonu ile belirtilir. Bunlar: AGR2, ATP8B1, CRYAB, F3 IRX3, ve SLC1A1 DNA mikrodizileridir (Da Costa ve diğ. 2012). Bu genler arasında en fazla özgüllüğe ve orta duyarlılığa sahip olan ise, CRYAB' dir (Da Costa ve diğ. 2013).

3. YÖNTEM

3.1. HAYVAN MATERYALİ

Hayvan materyalini İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji kliniğine getirilen 6-14 yaş aralığında, 6-40 kg arası, 31 adet meme tümörlü köpekten alınan toplam 125 tane tümörlü meme lobu oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen tümörler; malign epitelyal tümörler grubu (MET), hiperplazi&displazi (H&D) grubu ve benign meme tümörü (BMT) grubu olmak üzere 3 grupta incelendi. Kliniğe gelen ve çalışmaya dahil edilen bütün meme tümörlü köpeklerin klinik ve jinekolojik genel muayeneleri yapıldı. Kitlelerin lokalizasyonu belirlendi ve anamnez bilgileri ile birlikte kayıt edildi. Operasyona karar verilmeden önce hastaların hemogram, kan biyokimya analiz sonuçları ve üç yönlü toraks radyografisi değerlendirildi.

3.2. ANESTEZİ VE OPERATİF MÜDAHALE

Operasyon öncesi ilk olarak hastanın damar yolu açıldı. Preanestezik olarak 0,02-0,04 mg/ kg canlı ağırlığa, sc Atropin (Atropin, Vetaş, Türkiye) uygulandı. Köpekler öncelikle 6-8 mg/ kg dozda, iv yolla Propofol (Propofol-PF %1, Polifarma İlaç, Türkiye) ile indüklendi ve ardından entübe edildi. Genel anestezinin devamı %3-3,5 oranında isofloran (Forane, Baxter, Mısır) ve %2-3 oksijen ile sağlandı. Hastaların gerekli tıraş ve dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra bilateral total mastektomi ile tüm meme lobları ve bölgesel lenf yumruları alındı. Kitlelerin uzaklaştırılmasının ardından operasyon alanı emilebilir monocryl 2/0 veya 0 (Katsan, Katsan Sanayi, Türkiye) dikiş materyalleriyle kapatıldı.

3.3. NUMUNE ALIMI

Total mastektomi operasyonu sırasında çıkarılan doku örneklerinden numuneler alındı. Her bir meme lobundan, 0,5-1 cm boyutunda alınan kesitler ependorf tüplerine koyularak, homojenizasyon uygulaması yapılıncaya dek -86°C' de (Hanier, Çin) saklandı.

3.4. HİSTOPATOLOJİK ANALİZLER

Operasyon ile alınan meme tümörleri histopatolojik inceleme yapılmak üzere İ.Ü.C. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı' na gönderildi. Köpeklerden alınan meme tümörlü doku örnekleri %10 nötr tamponlu formalin içinde sabitlendi, parafine gömüldü ve kesitler alındı. Hemotoksilen ve eozin (HE) ile boyandıktan sonra histopatolojik inceleme ışık mikroskobu altında gerçekleştirildi (Meme tümörlerinin skorlaması, tümör-lenf nodu-metastaz (TNM) sistemine göre belirlendi (Owen, 1980)). Histopatolojik sınıflandırma ve histolojik malignite evreleri Goldschmidt ve ark. (2011) belirlediği şekilde yapıldı.

3.5. HOMOJENİZASYON İŞLEMİ

Öncelikle doku numuneleri, her biri en fazla 500 mg olacak şekilde küçük parçalara ayrıldı. Her 100 mg örneğe 1 ml +4°C' de soğutulmuş Phosphate Buffered Saline (PBS), (0,01M, pH= 7. 4) eklendi. Homojenizasyon işlemi ultraturaks (Miccra-D1) kullanılarak buz içerisinde gerçekleştirildi. Uygulama sonrasında homojenize olan numuneler santrifüj işlemine kadar 8°C' de saklandı. Homojenatlar soğutmalı santrifüj (Sigma 3K30) kullanılarak 3000 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüje edildi. Süpernatantlar 4 parçaya porsiyonlanarak, -25°C' de analiz yapılana kadar saklandı.

3.6. ANALİZ AŞAMASI

Ölçümler için -25°C' de tutulan numuneler oda sıcaklığına çıkarıldı. Dört ayrı marker bakılacağından ötürü her bir marker için ayrı ayrı hazırlık ve ölçüm yapıldı. Analizler için MicroQuant ELISA sistemi (Bio-Tek, USA) ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda ticari olarak temin edilen köpeklere özgü ELISA kitleri kullanıldı (ER Katalog no: E0414Ca, PR Katalog no: E0058Ca, EGFR Katalog no: E0301Ca, CA 15-3 Katalog no: E0156Ca Bioassay Technology Laboratory, Shangai, China). Test içi ve testler arası varyans katsayılarını belirlemek amacıyla 3'er örnek tekrarlı ölçüldü. Test içi varyans katsayları ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri için sırasıyla, %3,2 , %2,1 , %3,7 ve % 5,2 olarak belirlendi. Testler arası varyans katsayılarının ise %10'dan küçük olduğu saptandı.

3.6.1. Progesteron Reseptör Tayini

Progesteron resptörü (PR) ölçümleri için öncelikle numuneler oda sıcaklığına getirildi. Yıkama solüsyonundan 500 ml elde etmek için, 20 ml' lik yıkama solüsyonu 25 kere (25x) sulandırılarak 480 ml distile su eklendi ve soğuk zincire konuldu. Standart stok solüsyonundan 64 ng/ ml oluşturmak için 120 µl standart (128 ng/ ml), 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Sulandırılmadan önce standart hafif çalkalandı ve 15 dakika bekletildi. Çözeltileri 32 ng/ ml, 16 ng/ ml, 8 ng/ ml ve 4 ng/ ml elde etmek için standart stok solüsyonu (64 ng/ ml) 1: 2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift standart noktaları hazırlandı. Tüm solüsyonların ve numunelerin hazırlanmasının ardından tabla üzerinde standart kuyuya 50 µl standart, 40 µl numune eklenerek, yalnızca numune kuyucuklarına 10' ar µl antikor eklendi. Ardından hem numune hem de standart kuyucuklarına 50' şer µl streptavidin-Horse Radish Peroxidase (HRP) eklendi. Tablanın üzeri kapatılarak, 37°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Bir saatin ardından tablanın üzeri açılarak önceden hazırlanan yıkama solüsyonu (500 ml) ile 5 kez yıkandı. Her bir yıkama, 60 sn gecikmeli olarak 350 µl yıkama solüsyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Tabla, kuyucuklarının içinde solüsyon artığını uzaklaştırmak için havlu kağıt üzerine vuruldu. Kurulandıktan sonra her kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu ve 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Tablanın üzeri tekrardan kapatılarak 37°C' de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan alındıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve mavi olan renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm' ye ayarlı okuyucuda okunarak yoğunluklar belirlendi.

3.6.2. Östrojen Reseptör Tayini

Östrojen reseptörü (ER) ölçümleri için numuneler oda sıcaklığına getirildi. Yıkama solüsyonundan 500 ml elde etmek için 20 ml' lik yıkama solüsyonu 25 kere (25x) sulandırılarak 480 ml distile su eklendi ve soğuk zincire konuldu. Standart stok solüsyonundan 40 ng/ ml oluşturmak için 120 µl standart (80 ng/ ml), 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Sulandırılmadan önce standart hafif çalkalandı ve 15 dakika bekletildi. Çözeltileri 20 ng/ ml, 10 ng/ ml, 5 ng/ ml ve 2,5 ng/ ml oluşturmak için standart stok solüsyonu (40 ng/ ml) 1: 2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift standart noktaları hazırlandı. Tüm solüsyonların ve numunelerin hazırlanmasının ardından tabla üzerinde standart kuyuya 50 µl standart, 40 µl numune eklenerek, yalnızca numune kuyucuklarına 10' ar µl antikor eklendi. Ardından hem numune hem de standart

kuyucuklarına 50’ şer µl streptavidin-HRP eklendi. Tablanın üzeri kapatılarak, 37°C’ de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Bir saatin ardından tablanın üzeri açılarak önceden hazırlanan yıkama solüsyonu (500 ml) ile 5 kez yıkandı. Her bir yıkama, 60 sn gecikmeli olarak 350 µl yıkama solüsyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Tabla, kuyucuklarının içinde solüsyon artığını uzaklaştırmak için havlu kağıt üzerine vuruldu. Kurulandıktan sonra her kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu ve 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Tablanın üzeri tekrardan kapatılarak 37°C’ de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan alındıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve mavi olan renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ ye ayarlı okuyucuda okunarak yoğunluklar belirlendi.

3.6.3. Epidermal Growth Faktör Reseptör Tayini

Epidermal Growth Faktör Reseptör (EGFR) ölçümleri için numuneler oda sıcaklığına getirildi. Yıkama solüsyonundan 500 ml elde etmek için 20 ml’ lik yıkama solüsyonu 25 kere (25x) sulandırılarak 480 ml distile su eklendi ve soğuk zincire konuldu. Standart stok solüsyonundan 48 ng/ ml oluşturmak için 120 µl standart (96 ng/ ml), 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Sulandırılmadan önce standart hafif çalkalandı ve 15 dakika bekletildi. Çözeltileri 24 ng/ ml, 12 ng/ ml, 6 ng/ ml ve 3 ng/ ml oluşturmak için standart stok solüsyonu (48 ng/ ml) 1: 2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift standart noktalar hazırlandı. Tüm solüsyonların ve numunelerin hazırlanmasının ardından tabla üzerinde standart kuyuya 50 µl standart, 40 µl numune eklenerek, yalnızca numune kuyucuklarına 10’ ar µl antikor eklendi. Ardından hem numune hem de standart kuyucuklarına 50’ şer µl streptavidin-HRP eklendi. Tablanın üzeri kapatılarak, 37°C’ de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Bir saatin ardından tablanın üzeri açılarak önceden hazırlanan yıkama solüsyonu (500 ml) ile 5 kez yıkandı. Her bir yıkama, 60 sn gecikmeli olarak 350 µl yıkama solüsyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Tabla, kuyucuklarının içinde solüsyon artığını uzaklaştırmak için havlu kağıt üzerine vuruldu. Kurulandıktan sonra her kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu ve 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Tablanın üzeri tekrardan kapatılarak 37°C’ de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan alındıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve mavi olan renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ ye ayarlı okuyucuda okunarak yoğunluklar belirlendi.

3.6.4. Carbonhidrat Antijeni 15-3 Tayini

Carbonhidrat Antijeni 15-3 (CA 15-3) ölçümü için numuneler oda sıcaklığına getirildi. Yıkama solüsyonundan 500 ml elde etmek için 20 ml' lik yıkama solüsyonu 25 kere (25x) sulandırılarak 480 ml distile su eklendi ve soğuk zincire konuldu. Standart stok solüsyonundan 9,6 kU/ L oluşturmak için 120 µl standart (19,2 kU/ L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Sulandırılmadan önce standart hafif çalkalandı ve 15 dakika bekletildi. Çözeltileri 4,8 kU/ L, 2,4 kU/ L, 1,2 kU/ L ve 0,6 kU/ L oluşturmak için standart stok solüsyonu (9,6 kU/ L) 1: 2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift standart noktalar hazırlandı. Tüm solüsyonların ve numunelerin hazırlanmasının ardından tabla üzerinde standart kuyuya 50 µl standart, 40 µl numune eklenerek, yalnızca numune kuyucuklarına 10' ar µl antikor eklendi. Ardından hem numune hem de standart kuyucuklarına 50' şer µl streptavidin-HRP eklendi. Tablanın üzeri kapatılarak, 37°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Bir saatin ardından tablanın üzeri açılarak önceden hazırlanan yıkama solüsyonu (500 ml) ile 5 kez yıkandı. Her bir yıkama, 60 sn gecikmeli olarak 350 µl yıkama solüsyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Tabla, kuyucuklarının içinde solüsyon artığını uzaklaştırmak için havlu kağıt üzerine vuruldu. Kurulandıktan sonra her kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu ve 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Tablanın üzeri tekrardan kapatılarak 37°C' de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan alındıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve mavi olan renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm' ye ayarlı okuyucuda okunarak yoğunluklar belirlendi.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS 13.0 programı kullanıldı. Öncelikle verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro Wilk testi ile analiz edildi. Parametreler (ER, PR, EGFR, CA 15-3) arasındaki ilişki Pearson korrelasyon testi ile değerlendirildi. Çalışma grupları arasındaki farkları belirlemek için Oneway Anova ve Duncan testleri kullanıldı. Grup MET' deki kitlelerin invazyon durumları arasındaki farkı belirlemek için t-test uygulandı. Grup MET' e ait histopatolojik alt tipler, histopatolojik evreler, kitle büyükleri arasındaki farkları belirlemek için Oneway Anova ve Duncan testleri kullanıldı. Ayrıca MET grubunda histopatolojik evrelerin meme loblarına dağılımı açısından önemliliği Kruskall Wallis testi ile değerlendirildi. Önemlilik düzeyi $P< 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK MUAYENE BULGULARI

Kliniğe getirilen ve meme tümörü saptanan hastalardan, çalışma grubuna 31 tane meme tümörlü dişi köpekten alınan toplamda 125 adet meme lobu dahil edildi. Bu köpeklerin 25 tanesinin kısırlaştırılmamış olduğu tespit edildi. Çalışmadaki köpeklerin malign tümörlerinin 37 tanesi 3 cm' den küçük, 13 tanesi 3-5 cm arasında ve 16 tanesinin de 5 cm' den büyük olduğu saptandı. Kitlelerin dağılımı bütün loblarda mevcutken, kaudo-abdominal ve inguinal loblara dağılımın daha çok olduğu görüldü. Akciğer radyografisi ve aksillar ve süperfisyal inguinal lenf yumruları palpasyon ile muayenesinde köpeklerin meme tümörlerinden 7 tanesinin metastazik olduğu tanısı koyuldu. Makroskobik muayene ve patoloji raporlarının sonucunda meme tümörlerinin 3 tanesinde ülserasyon, 1 tanesinde de yangı tespit edildi. Palpasyonda ise meme tümörlerinin 18 tanesinin kaslara veya inguinal lenf yumrularına invaze olduğu, inguinal lenf yumrularından 6 tanesinin ise hiperplazik olduğu gözlemlendi.

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Operasyon sonrası patolojik muayeneye gönderilen tümör dokularından yapılan histopatolojik inceleme sonucu 66 meme lobunda malign epitelyal tip tümör, 16 meme lobunun benign tümör ve 43 meme lobunun hiperplazi ve displazi olduğu tespit edildi. Malign epitelyal tümörlerin numune sayıları, Dünya Sağlık Örgütü' nün 2010 yılında önerdiği sınıflandırmaya göre Tablo 4. 1' de belirtilmiştir.

Tablo 4. 1: Dünya Sağlık Örgütü' nün 2010 yılı malign epitelyal tümör sınıflandırmasının numunelere göre dağılımı.

Malign Epitelyal Tümörler	**Numune Sayısı**
A- Karsinom-in situ	1
B- Karsinom-basit	31
a- Tubuler	-
b- Tubulopapiller	-
c- Kistik papiller	-
d- Kribriform	-
C- Karsinom-Mikropapiller invaziv	-
D- Karsinom-solid	5
E- Komedokarsinom	-
F- Anaplastik karsinom	-
G- Kompleks adenom	-
H- Karsinom-kompleks tip	13
I- Karsinom ve malign miyoepitelyom	2
J- Karsinom- miks tip	7
K- Duktal karsinom	1
L- İntra duktal papiller karsinom	1
Özel Tipler	
A. Yassı (squamoz) hücreli karsinom	1
B. Adenosquamoz karsinom	3
C. Musinöz karsinom	-
D. Yağ hücreli karsinom	-
E. Mekik hücreli karsinom	1
F. Yangısal karsinom	-
Karsinosarkomlar- Malign Miks Tümörler	
A. Karsinosarkom	-
B. Malign miks tümör	-

4.3. ER, PR, EGFR Ve CA 15-3 MARKERLARINA AİT ELISA SONUÇLARI

Çalışmadaki her bir gruba ait (MET, H&D, BT) tümörlü lob sayısı (n sayısı), her bir grupta ölçülen ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri (mean), ortalamanın standard hata değeri (SEM) ve önemlilikler (P değeri) Tablo 4. 2' de belirtildi.

Tablo 4. 2: Her bir grupta ölçülen ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).

	MET (n=66)	H&D (n=43)	BMT (n=16)	Total (n=125)	P değeri
ER	8,43± 0,30[a]	8,53± 0,32[a]	10,33± 0,76[b]	8,71± 0,22	,021
PR	13,81± 0,55[a]	13,69± 0,61[a]	17,53± 1,68[b]	14,25± 0,43	,013
EGFR	7,56± 0,44[a]	6,48± 0,37[a]	8,08± 1,01[a]	7,26± 0,30	,154
CA 15-3	1,27± 0,07[a]	0,91± 0,08[b]	1,19± 0,15[ab]	1,14± 0,05	,010

MET: Malign epitelyal tümör.

H&D: Hiperplazi& Displazi.

BMT: Benign meme tümörü.

Çalışmamızda ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen korrelasyon katsayıları ve önem değerleri Tablo 4. 3' te belirtildi.

Tablo 4. 3: ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerine ait korrelasyon katsayıları (R) ve önemlilikleri (P).

		ER	PR	EGFR	CA 15-3
ER	**R**	1	,383**	,223*	,139
	P		,000	,012	,134
PR	**R**	,383**	1	,167	,216*
	P	,000		,064	,019
EGFR	**R**	,223*	,164	1	,376**
	P	,012	,064		,000
CA 15-3	**R**	,139	,216*	,376**	1
	P	,134	,019	,000	

**. Korelasyon 0,01 düzeyinde önemlidir.

*. Korelasyon 0,05 düzeyinde önemlidir.

Malign epitelyal meme tümörlerinin histopatolojik alt tiplerinin, kitle büyüklüğünün, tümör lokalizasyonunun, histopatolojik grade ve invazyon durumunun, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri üzerine etkisi değerlendirildi.

Malign epitelyal tip tümörler, histopatolojik alt tiplerine ayrıldı. Bunlar; basit karsinom (n=31), solid karsinom (n=5), karsinoma kompleks tip (n=13), karsinoma miks tip (n=7), karsinoma özel tip (n=7), karsinoma in- situ (n=1), duktal karsinom (n=1) ve intraduktal papiller karsinom (n=1) olarak tespit edildi. Histopatolojik alt tiplere göre, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri, ortalamanın standart hata değerleri ve önemlilikleri Tablo 4. 4' de belirtildi. Değerlendirilen ER, PR, EGFR ve CA15-3 parametrelerinde histopatolojik alt tiplere göre önemli fark saptanmadı (P> 0,05).

Tablo 4. 4: Her bir histopatolojik alt tipte ölçülen ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).

	Basit Karsinom (n=31)	Karsinoma Solid (n=5)	Karsinoma Kompleks (n=13)	Karsinoma Miks Tip (n=7)	Karsinoma Özel Tip (n=7)	Total (n=63*)	P değeri
ER	8,79± 0,55	7,34± 0,48	8,48± 0,61	7,81± 0,34	7,87± 0,67	8,40± 0,31	,685
PR	13,16± 0,78	15,33± 1,02	14,59± 1,18	14,85± 0,76	13,24± 2,65	13,82± 0,55	,705
EGFR	7,55± 0,78	7,56± 2,45	8,17± 0,80	7,04± 1,03	7,38± 0,59	7,60± 0,46	,977
CA 15-3	1,27± 0,09	1,43± 0,18	1,37± 0,27	1,18± 0,21	1,07± 0,11	1,27± 0,07	,833

* 3 farklı histolojik alt tipten 1' er tane olduğundan istatistiksel analize alınmadı.

Malign epitelyal tümör (MET) grubunda kitle büyüklüğünü değerlendirmek için kitleler, 0-3 cm (T1, n=37), 3-5 cm (T2, n=13) ve 5 cm' den büyük (T3, n=16) olarak gruplandırıldı. Kitle büyüklüğünün, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri üzerindeki ortalama değerleri ve standart hata değerleri, Tablo 4. 5' te belirtildi. Değerlendirilen ER, PR, EGFR ve CA15-3 parametrelerinde kitle büyüklüğüne göre önemli fark saptanmadı (P> 0,05).

Tablo 4. 5: Her bir kitle büyüklüğüne ait grupta ölçülen ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).

	T1 (n=37)	T2 (n=13)	T3 (n=16)	Total (n=66)	P değeri
ER	8,35± 0,31	7,85± 0,54	9,08± 0,95	8,43± 0,30	,409
PR	14,08± 0,77	14,46± 1,07	12,68± 1,16	13,81± 0,55	,507
EGFR	6,85± 0,33	6,43± 0,47	8,13± 0,87	7,04± 0,29	,115
CA 15-3	1,25± 0,11	1,21± 0,12	1,38± 0,12	1,27± 0,07	,718

Malign epitelyal tümör grubunda invazyon durumuna göre, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri değerlendirildi. İnvazyon durumunun bu parametreler üzerindeki ortalama değerleri, standart hata değerleri ve önemlilikleri Tablo 4. 6' da belirtildi. Malign epitelyal tümör grubundaki kitlelerin invazyon durumuna göre ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri açısından fark saptanmadı (P> 0,05).

Tablo 4. 6: İnvazyon durumuna göre ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametrelerinin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).

	İnvaze (n=18)	**Non-invaze (n=48)**	**P değeri**
ER	8,96± 0,85	8,22± 0,27	,421
PR	13,07± 0,84	14,09± 0,70	,358
EGFR	6,97± 0,90	7,78± 0,51	,446
CA 15-3	1,34± 0,12	1,24± 0,09	,538

Malign epitelyal tümör grubundaki kitleler, histopatolojik dereceye göre Grade 1 (n=23), Grade 2 (n=30) ve Grade 3 (n=13) olarak belirlendi. Tümörlerin histopatolojik grade değerleriyle, ER, PR, EGFR ve CA 15-3 parametreleri arasındaki önemlilik, ortalama değerler ve standart hata değerleri Tablo 4. 7' de belirtildi. Malign epitelyal tümör grubundaki kitlelere ait histopatolojik grade değerleri ile ER, PR, EGFR ve CA15-3 parametreleri arasındaki anlamlı fark saptanmadı (P> 0,05).

Tablo 4. 7: Tümörlerin histopatolojik Grade değerlerine göre parametrelerin ortalama değerleri (mean), standart hataları (SEM) ve önemlilikleri (P değeri).

	Grade 1 (n=23)	**Grade 2 (n=30)**	**Grade 3 (n=13)**	**Total (n=66)**	**P değeri**
ER	8,66± 0,37	7,85± 0,29	9,33± 1,16	8,43± 0,29	,156
PR	13,71± 0,94	14,71± 0,84	11,92± 1,09	13,81± 0,55	,180
EGFR	8,39± 0,87	6,90± 0,39	7,84± 1,34	7,60± 0,44	,316
CA 15-3	1,16± 0,11	1,31± 0,12	1,36± 0,14	1,27± 0,07	,580

Malign epitelyal tümör grubundaki kitlelerin ilgili meme loblarındaki lokalizasyonu aksillar lob (n=5), torakal lob (n=6), kraniyo abdominal lob (n=16), kaudo abdominal lob (n=21) ve inguinal lob (n=19) olarak belirlendi. Malign epitelyal tümör grubunda tümör lokalizasyonunun histopatolojik grade üzerine etkisi değerlendirildi. Çalışmamızda tümörler meme zincirinin son 3 lobunda daha çok lokalize olmuş olsa da, histopatolojik grade değeri ile tümör lokalizasyonu arasında önemli fark saptanmadı (P> 0,05).

5. TARTIŞMA

Köpek meme tümörü etiyolojisinde, hormonlar, yaş ve genetik faktörler etkilidir ve genç köpeklerde daha az görülür (Egenvall ve diğ. 2005). Ortalama görülme sıklığı 8-13 yaş aralığındadır (Vascellari ve diğ. 2016). Çalışmamızdaki meme tümörlü köpeklerin yaş aralığı 6-14 yaş olarak saptandı. Çoğunlukla ileri yaşlarda malign epitelyal tip tümörlerin saptanmış olması araştırmacıların bildirileriyle uyumludur (Egenvall ve diğ. 2005; Vasceralli ve diğ. 2006). Vascellari ve diğ. (2016)' in aksine, çalışmamızdaki yaş aralığının alt sınırının 6 yaştan başlıyor olması, çalışma gruplarında benign meme tümörlü ve hiperplazi&displazili köpeklerin de çalışmamıza dahil edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Köpeklerin normal meme dokuları %95 oranda östrojen ve progesteron reseptörlerini veya her ikisini birden içerir ve köpek meme tümörlerinin yarısından fazlasında östrojen ve progesteron reseptörleri bulunur (Thuroczy ve diğ. 2007). Östrojen reseptörleri, meme bezinin gelişimi ve işlevi için oldukça önemlidir. Meme bezi tümörlerinin gelişimine ve ilerlemesine de sebep olmaktadır (Diaz ve Sneige, 2005). Östrojen reseptörü pozitif tümörlere sahip köpeklerin hayatta kalımı, östrojen reseptörü negatif tümörlere göre daha yüksektir (Brunetti ve diğ. 2021; Kovalenko ve diğ. 2021). Normal meme bezi dokusu, displazi ve benign meme tümörlerinde ER seviyeleri, malign meme tümörlerine göre daha yüksektir (Inaba ve diğ. 1984; Mialot ve diğ. 1982a; 1982b). Köpek meme tümörlerinde ER varlığı, streroid hormonlarının rolünü gösterir (Nieto ve diğ. 2000). Ancak, sağlıklı meme dokusundan neoplastik lezyonlara doğru ER seviyeleri azalır. Bu azalma, köpek meme tümörlerinin, östrojen bağımlılığının olmadığını düşündürür (Hamilton ve diğ. 1976). Ayrıca, ER' nin saptanamadığı tümörler kötü bir prognoz ile ilişkilendirilir (Millanta ve diğ. 2006). Çalışmamızda, ER miktarları bakımından, benign tümörlerde, malign epitelyal tümörler ($P<0,05$) ve hiperplazi&displazi (H&D) gruplarına göre ($P<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu saptandı. Çalışmamızdaki veriler, benign tümörlerin daha yüksek ER seviyelerine sahip olduğu araştırmacılarla uyumludur (De Las Mulas ve diğ. 2000). Bir diğer yandan, çalışmamız ile bazı araştırmacıların elde ettiği sonuçlar birbirine uymamaktadır (Millanta ve diğ. 2006). Bu durum, östrojen reseptör seviyelerinin düşük olduğu kısırlaştırma ve düzensiz östrus siklusu gibi hormonal sebepler ile açıklanabilir. Maligniteye doğru gidildikçe östrojen hormon miktarları artar. Hormon miktarı arttıkça reseptörlerin yıkım hızı yapım hızına erişemez ve östrojen miktarı fazla olduğunda ER' de

down regülasyon meydana gelir. Çalışmamızdaki malign tümörde ER seviyelerinin düşüklüğünün down regülasyon şekillendiğinden ötürü olduğu düşünülmektedir.

Araştırmacılar, EGFR'nin (veya benzer reseptörlerin) insanlarda meme kanserinde hücre menbranından gelen estrojen sinyali için önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Bu temel hücresel faktörler arasındaki çift yönlü sinyalleşme, bireysel steroid ve büyüme proteininin hareketlerini artırdığı rapor edilmiştir (Levin 2003). Köpeklerde ise malign meme tümörlerinde EGFR ve ER konsantrasyonları arasındaki doğrudan korelasyon varlığının sebebi olarak, EGFR'nin östrojene bağlı bir ekspresyonu veya reseptörlerin benzer bir düzenleme modeli ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Donnay ve diğ. 1996). Çalışmamızda da araştırmacılarla (Donnay ve diğ. 1996, Levin 2003) uyumlu olarak ER ve EGFR arasında pozitif korelasyon mevcuttur. Bu durumun hem insanlarda hem de köpeklerde yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi meme tümörlerinde ER ve EGFR'nin sinerjik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Köpeklerin normal meme bezi dokusu, östrojen reseptörünün yanı sıra progesteron reseptörü de içermektedir (Rutteman ve diğ. 1988). Meme bezi gelişimi ve büyümesi için progesteron önemli bir hormon olmasına karşın, meme tümörleri oluşma riskini de arttırmaktadır (Sorenmo, 2003). Steroid reseptörlerinin miktarları, önemli prognostik faktörlerdendir (De Las Mulas ve diğ. 2005). Araştırmacılarla uyumlu olarak, çalışmamızda, ER ve PR arasında pozitif korelasyon saptanması ve steroid reseptörlerin köpek meme tümörlerinde prognostik açıdan kullanılabileceğini destekler niteliktedir. Progesteron reseptörleri, meme bezi tümörlerinde hormonal yanıt ve prognozu belirlemede kullanılan bir biyobelirteçtir. Progesteron reseptörü negatif tümörler, pozitif olanlar ile karşılaştırıldığında daha kötü prognozludur (Graham ve diğ. 1999; Geraldes ve diğ. 2000; Nieto ve diğ. 2000; Cork ve diğ. 2008). Hiperplazi, fibroadenomatöz değişiklik ve in-situ karsinomlarda progesteron reseptörü oranları, malign tümörlere göre daha yüksektir. Ayrıca, benign tümörlerde, normal meme dokusuna göre daha yüksek miktarlarda PR bulunur (Millanta ve diğ. 2006). Çalışmamızda, PR miktarı açısından, benign tümörlerde, H&D ve malign epitelyal tümörlere göre miktar, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($P<0,05$). Millanta ve diğ. (2005), çalışmamıza uyumlu olarak, hiperplazi/displazi, benign ve malign köpek meme tümörlerinde PR tespit etse de, malign karsinomalarda düşük seviyelerde olduğunu bulmuşlardır. Düşük PR oranının, ovariektomiye bağlı olabileceği düşünülmektedir. Port Louis ve diğ. (2012) çalışmasında, PR açısından benign ve malign tümörler arasında

önemli fark saptanmamış olsa da, bu durum araştırmacının çalışmasındaki az sayıda meme tümörlü vakanın varlığına bağlanabilir.

Malign meme tümörlerinde EGFR' nin tümörün destekleyicisi olduğu düşünülmektedir (Masuda ve diğ. 2012). Hücre farklılaşması, anjiyogenez ve metastaz gibi tümörün büyümesi ile ilgili aşamalara EGFR katkıda bulunur (Shien ve diğ. 2005). Benign ve malign tümörlerde EGFR oranı, normal meme dokusuna göre daha yüksektir. Malign tümörlerde ise EGFR oranı, displazilere göre daha yüksektir (Queiroga ve diğ. 2015). Malign tümörlerde %42,2 olan EGFR oranı, benign tümörlerde %19,6' dır (Gama ve diğ. 2009). Araştırmamızda, önceki çalışmaların aksine (Gama ve diğ. 2009; Tse ve diğ. 2009), benign tümörler, malign epitelyal tümörler ve H&D gruplarında EGFR açısından istatistiksek olarak önemli bir fark saptanmadı (P>0,05). Çalışmamızda sağlıklı meme dokusu ile karşılaştırma yapılmayıp, patolojik meme dokusu gruplandırılmıştır. Hiperplazi&displazi ve benign tümörlü meme dokularında, malign epitelyal meme tümörlerinde olduğu gibi dokulardaki büyümenin devam ettiği ve EGFR' nin de bu büyümenin parçası olmasından dolayı gruplar arasında herhangi bir fark saptanmadığı düşünülmektedir.

Dokulardaki neoplastik değişiklikler ve hücre yapısındaki değişikliklerin sonucunda kanser antijeni 15-3 (CA 15-3) dolaşıma katılır ve meme tümörlerini tespit etmede biyobelirteç olarak görev yapar (Kaušitz ve diğ. 2003; Valencakova-Agyagosova ve diğ. 2012). Meme tümörlerinde CA 15-3 en sık kullanılan biyobelirteçlerden biridir (Campos ve diğ. 2012). Meme tümörlü köpeklerde CA 15-3 oranı, sağlıklı köpeklere göre daha yüksektir (Manuali ve diğ. 2012; Campos ve diğ. 2012). Normal meme dokusunun yanı sıra benign meme tümörlerinde de CA 15-3 bulunur (Manuali ve diğ. 2012). Sağlıklı dişi köpeklerde CA 15-3 seviyesi en düşük, benign tümörlerde daha yüksek, malign tümörlerde ise en yüksek seviyelerdedir (Jain ve diğ. 2021). Çalışmamızda, malign epitelyal tümörde CA 15-3 seviyesi H&D grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmekte, Jain ve diğ. (2021) bildirisine uyumlu olarak, malignite arttıkça CA 15-3 miktarının da arttığı hipotezini doğrulamaktadır. Ancak çalışmamız, Ramadan ve diğ. (2021) köpek meme tümörlerinde yüksek CA 15-3 seviyeleri bulduğu çalışmayla ile birbirini desteklememektedir. Aynı hayvan üzerinde benign ve malign tümörler bir arada bulunabilmektedir. Çalışmamız lob bazında olduğundan ötürü birbirine yakın loblarda benign ve malign karakterli tümörler olabilir. CA 15-3 biyobelirteçi kan serumundan da ölçülen bir biyobelirteç olduğu için hematojen yol ile bir lobtan diğerine geçebilir. Bundan dolayı benign ve malign tümörler arasında önemlilik saptanmadığı düşünülmektedir.

İnsanlarda meme kanseri olgularında CA 15-3'ün sürekli yükselmesi, Her2/neu pozitifliği ile ilişkilendirilmiştir (Hashim 2014). Araştırmacılarla uygumlu olarak, çalışmamızda da CA15-3 ve EGFR arasında pozitif korelasyon saptanması, her iki parametrenin de tümör patogenezisindeki önemli rolünden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Malign meme tümörlerinde, basit, kompleks ve miks olarak sınıflandırma, kompleks karsinom, basit karsinom ve sonra en malign tip sarkoma kadar maligniteyi içeren çalışmalara dayanır (De Las Mulas ve diğ. 2005). Meme tümörlerinin sınıflandırması, 2010 yılındaki histolojik sınıflandırmaya göre yapılmıştır (Goldschmidt ve diğ. 2011). Basit ve kompleks adenokarsinomların ER seviyeleri, solid karsinomlar ya da sarkomlara kıyasla daha yüksektir (Nieto ve diğ. 2000). Çalışmamızda, ER miktarları açısından histolojik alt tipler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmaması ile Millanta ve diğ. (2006) ER miktarları açısından histolojik tipler arasında korelasyon bulamadığı çalışma ile uyumludur. Ancak çalışmamızdaki sonuçlar ile De Las Mulas ve diğ. (2005) ER seviyelerinin, kompleks ve miks tümörlerde daha yüksek bulunduğu çalışma ile birbirini desteklememektedir. Çalışmamızda kullanılan miks ve kompleks tümör vaka sayılarının, De Las Mulas (2005) tarafından yapılan çalışmadaki vaka sayılarından daha az olduğundan dolayı uyumsuzluk olduğu düşünülmektedir.

Progesteron reseptör seviyesi, sağlıklı ve displastik lezyonlardan neoplastik lezyonlara doğru artar ve in-situ karsinomlarda daha yüksek seviyelerdedir (Millanta ve diğ. 2005). Kompleks ve miks tümörlerde ise PR seviyeleri daha yüksektir (De Las Mulas ve diğ. 2005). Progesteron reseptörleri, non-invaziv karsinomlarda, normal meme bezi dokusuna kıyasla daha yüksek, invaziv karsinomlara göre ise daha düşüktür (Millanta ve diğ. 2006). Nieto ve diğ. (2000), invaziv karsinomlarda PR'nin oranını %61 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda, PR bakımından histolojik alt tipler arasında istatistiksel bir önem bulunmaması, geçmiş çalışmalardaki miks ve kompleks tümörlerin heterojenliği ile açıklanabilir.

Solid karsinom ve karsinosarkom gibi daha agresif tümör tiplerinde EGFR seviyeleri daha yüksektir (Queiroga ve diğ. 2015). Günay Uçmak ve diğ. (2021), malign meme tümörlü köpeklerde dolaşımdaki EGFR ekspresyonu bakımından farklı tümör tipleri arasında fark saptamamışlardır. Gama ve diğ. (2009), meme dokusu ile yaptıkları çalışmada, histolojik alt tipler ile EGFR arasında önem saptamamıştır. Buna uyumlu olarak, Carvalho ve diğ. (2013), köpek meme dokusu ile yaptıkları çalışmada EGFR açısından histolojik tipler arasında önem bulmamıştır. Uçmak ve diğ. (2021) kandaki EGFR miktarını değerlendirmiş olsa da, çalışmamızda tümör dokudaki EGFR miktarı açısından histolojik alt tipler arasında önemli

fark saptanmamış olması araştırmacılarla uyumludur (Gama ve diğ. 2009; Carvalho ve diğ. 2013). Önceki çalışmalar ile çalışmamızdaki solid karsinom ve karsinosarkomların EGFR seviyelerinin farkının, çalışılan dokuların sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kanser Antijeni 15-3 (CA 15-3), MUC-1 geninden gelir (Hayes ve diğ. 1985; Perey ve diğ. 1992). Yüksek CA 15-3 seviyeleri, kötü sonuç ile ilişkilendirilir (Park ve diğ. 2008). Çalışmamızda, CA 15-3 miktarı bakımından histolojik alt tipler arasında önemli bir fark saptanmaması ile Manuali ve diğ. (2012) tarafından yapılan ve tümörün histolojik tipleri ile CA 15-3 arasındaki önemi araştırdığı çalışma ile birbirine uyumludur.

Malign meme tümörlerinde en önemli prognostik faktörlerden biri tümörün evresidir (De Las Mulas ve diğ. 2005). Çoğunlukla, yüksek evreli tümörler daha kötü prognozludur (Kim ve diğ. 2016). Köpek meme tümörlerinde derecelendirmenin belirlenmesi için ana faktör, histolojik incelemedir (Canadas ve diğ. 2019). Tümörün malignite derecesi arttıkça, ER değerleri azalmaktadır (Rutteman ve diğ. 1988). Çalışmamızda, ER miktarı bakımından tümörün evresi arasında önem saptanmaması araştırmacıların (Mohammed ve diğ. 1986; Stierer ve diğ. 1993; Nieto ve diğ. 2000; Zafrani ve diğ. 2000; Anderson ve diğ. 2001; Almasri ve Hamad, 2005; Millanta ve diğ. 2006), çalışmalarıyla uyumludur.

Tümörün histolojik derecesi ile PR arasında korelasyon yoktur (Millanta ve diğ. 2006). Çalışmamızda, PR açısından tümörün histolojik dereceleri arasında istatistiksel açıdan bir önem saptanmaması, daha önceki çalışmaları destekler niteliktedir (Mohammed ve diğ. 1986; Stierer ve diğ. 1993; Zafrani ve diğ. 2000; Anderson ve diğ. 2001).

Meme tümörlerinin derecesi ile EGFR miktarları doğrudan ilişkilidir (Carvalho ve diğ. 2013; Guimarães ve diğ. 2014). Günay Uçmak ve diğ. (2021) dolaşımdaki EGFR miktarının histopatolojik grade 2 tümörlerde grade 1 tümörlerden daha fazla olduğunu saptamıştır. Gama ve diğ. (2009) ise meme dokularındaki EGFR miktarının histopatolojik grade derecesi ile alakalı olmadığını bildirmiştir. Günay Uçmak ve diğ. (2021) aksine, Gama ve diğ. (2009) ile uyumlu olarak çalışmamızda, EGFR miktarı bakımından histopatolojik grade arasında önemli fark saptanmadı. Günay Uçmak ve diğ. (2021) ile zıt, Gama ve diğ. (2009) ile benzer sonuçlar elde edilmesi, çalışma materyalimizin doku olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tümörün derecesi ile CA 15-3 seviyeleri artma eğilimindedir (Shao ve diğ. 2015). Tümör derecesi ile CA 15-3 seviyeleri arasında pozitif korelasyon vardır. Tümörün derecesi arttıkça CA 15-3 seviyeleri de artar. Histopatolojik grade II ve III karsinomlarda CA 15-3 miktarı, grade I karsinomlara oranla daha yüksektir (Manuali ve diğ. 2012; Kazsak ve diğ. 2018). Çalışmamızda, CA 15-3 miktarları açısından tümörün derecelendirilmesi arasında bir

önem saptanmaması, karşılaştırılan çalışmalarda CA 15-3' ün serumdan tayin edilmesi ve malignite dereceleri kullanılan vakaların sayılarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tümör boyutu, malign meme tümörlerindeki önemli prognostik faktörlerdendir (De Las Mulas ve diğ. 2005). Östrojen reseptörü pozitif karsinomlar, negatif olanlara oranla 1,6 cm daha küçüktür. Ayrıca, T_2 tümörlerinin (2-5 cm) %57' si, T_3 tümörlerinin (> 5 cm) ise %30' unun ER pozitif olduğu tespit edilmiştir (Almasri ve Hamad, 2005). Çalışmamızda, ER açısından tümör boyutu arasında önemli fark saptanmadı. Yüksek hormon reseptörleri seviyeleri daha küçük tümör boyutlarıyla ilişkilidir. Çalışmalardaki verilerin benzer olmaması, vakaların tümör boyutlarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Progesteron reseptörleri pozitif tümörler daha küçük boyutludur. Mulas ve diğ. (2005) çalışmasının aksine çalışmamızda, PR miktarları açısından tümörlerin boyutları arasında korelasyon bulunmadı. Önceki çalışmalarda kullanılan küçük boyutlu tümörler ile karşılaştırıldığında çalışmamızdaki tümörler daha az sayıdadır ve bu durumun sebebi olduğu düşünülmektedir.

Büyük tümör boyutu ile EGFR miktarları birbirlerine bağlıdır (Carvalho ve diğ. 2013; Guimarães ve diğ. 2014). Artan EGFR seviyeleri, tümör boyutu ile koreledir (Queiroga ve diğ. 2015). Tümör boyutu arttıkça EGFR miktarları da artar (Vogl ve diğ. 2006; Kallel ve diğ. 2012). Çalışmamızda T_1 (< 3 cm) tümörlerinin sayısının daha fazla olması, EGFR açısından tümör boyutları arasında herhangi bir önem saptanmamasının nedeni olarak düşünülmektedir.

Tümör boyutu arttıkça CA 15-3 seviyeleri de artmaktadır (Shao ve diğ. 2015). Yüksek CA 15-3 seviyeleri, büyük tümör boyutu ve malignite ile ilişkili olduğundan dolayı tümörün malignitesi, ölçülen CA 15-3 miktarları ile değerlendirilir (Kazsak ve diğ. 2018). Çalışmamızda, CA 15-3 miktarı bakımından kitle büyüklükleri arasında istatistiksel olarak bir önem saptanmaması önceki bazı çalışmaları desteklemektedir (Mauali ve diğ. 2012).

Tümörün invazyonu prognostik öneme sahip bir olgudur (Williams, 2003; Tavasoly ve diğ. 2013). Lenfatik invazyon da, hayatta kalım açısından önemli bir prognostik faktördür (De Las Mulas ve diğ. 2005). Lenfatik invazyon, malignitenin histolojik olarak değerlendirilmesinin başka bir bulgusudur. Tümör hücreleri genellikle lenfatik yolla metastaz yaparlar ve lenfatik invazyon, uzak metastazın bir göstergesi olabilir (Galea ve diğ. 1992). Bu yüzden lenfatik invazyon, malignitenin belirlenmesinde olduğu kadar prognozda da önemlidir (Kim ve diğ. 2016). Komedokarsinom, anaplastik karsinom ve inflamatuar karsinomlar gibi histolojik tiplerde lenfatik invazyon daha yüksektir (Im ve diğ. 2014). Östrojen reseptörleri

pozitif meme tümörlerinde invazyon olmadığı ve malignitesinin düşük olduğu ancak ER negatif tümörlerin hem invazyon hem de yüksek maligniteye sahip olduğu görülmüştür (Pastor ve diğ. 2020). Lenf yumrusu invazyonlu bölgesel evre N_1' in primer neoplazisi, bölgesel evre N_0' a göre daha az ER miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir (Nieto ve diğ. 2000). Çalışmamızda, ER bakımından invazyon durumu ile arasında önem saptanmaması ve ER negatif tümörlerin invazivliği arasındaki uyumsuzluk, değerlendirilen vakaların histolojk derecelerindeki farklılık ile açıklanabilir.

Progesteron reseptörleri negatif meme tümörlerinde yüksek malignite, ileri derece ve invazyon görülürken, PR pozitif tümörlerde invazyon olmadığı ve daha düşük malignite görülmüştür (Pastor ve diğ. 2020). Millanta ve diğ. (2006) ise yaptıkları çalışmada, invazyon ve PR arasında önem saptamamıştır. Çalışmamızda, PR miktarlarının tümörün invazyon durumuna göre fark göstermemesi Millanta ve diğ. (2006) verileri ile birbirine uyumludur. Pasor ve diğ. (2020) ile olan uyumsuzluk, PR pozitif tümörlerin sayısının daha yüksek oranda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Deriye ve alttaki dokulara yapışma EGFR seviyelerini artırmaktadır. Lenf yumrusu invazyonu olan köpeklerde EGFR seviyeleri daha yüksektir (Queiroga ve diğ. 2015). Queiroga ve diğ. (2015) aksine, Gama ve diğ. (2009) ile uyumlu olarak, çalışmamızda EGFR seviyeleri tümör invazyonu durumuna göre önemli bir fark göstermedi. Miktar bakımından EGFR' deki uyumsuzlukların, çalışılan invaziv tümör dokularındaki sayı farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bölgesel lenf yumrusu ve uzak metastazı olan meme tümörlü köpeklerde lenfatik invazyon ile birlikte CA 15-3 seviyeleri de artar (Campos ve diğ. 2012) ancak çalışmamızda, CA 15-3 miktarı bakımından tümörün invazyon durumu arasında istatistiksel bir önem saptanmadı. Önceki çalışmalar ile bu çelişki, artan metastaz ve derece ile birlikte CA 15-3 seviyelerinin de artması ile açıklanabilir.

Köpek meme tümörleri lokalizasyon olarak daha fazla oranda inguinal loblarda bulunur (Baştan ve Zonturlu, 2002; Günay Uçmak ve Güvenç, 2019). İnguinal lobları kaudoabdominal loblar takip eder (Günay Uçmak ve Güvenç, 2019). Tümörlerin yüksek oranda arka loblarda olması, laktasyon dönemindeki yüksek meme bezi hacmi ve bol salgı ile ilgilidir (O'Keefe, 1995). Ayrıca, inguinal loblardaki tümörlerin diğer loblarda olan tümörlere kıyasla daha yüksek maligniteye sahip olduğu bildirilmiştir (Baştan ve Zonturlu, 2002). De Las Mulas ve diğ. (2005), hormon reseptörleri bakımından tümörlerin lokalizasyonu arasında önem saptamamıştır. Çalışmamız ile De Las Mulas ve diğ. (2005) çalışması birbirini

desteklemektedir. Alaçam (2008) ve Baba ve Câtoi (2007)' nin çalışmalarında kitlelerin, sırasıyla %65 kaudoabdominal ve inguinal loblarda ve %40 inguinal loblarda lokalize olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızdaki kitlelerin de inguinal loblarda daha fazla olması, geçmiş çalışmalarla uyumludur (Baba ve Câtoi, 2007; Alaçam, 2008; Jain ve diğ. 2021).

Sonuç olarak, ER ve PR biyobelirteçleri, benign ile malign ve benign ile H&D ayrımını yapabilmektedir. Ayrıca, CA 15-3 biyobelirteci ile de malign ile H&D ayrımı yapılabilmektedir. Bu biyobelirteçlerin, malign tümörlerde klinik ve patolojik bulgular (histolojik alt tipleri, histolojik dereceleri, tümörün boyutu, invazyon durumu ve lokalizasyonu) açısından herhangi bir ayrım yapamamış olmalarına rağmen, tümörogenezisin varlığını ortaya koyabilecek kapasitede oldukları sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

Alaçam, E., 2008, *Köpek Ve Kedilerde Üreme Süreci ve Sorunları*, Medisan, Ankara.

Allen, S.W., Prasse, K.W., Mahaffey, E.A., 1986, Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors, *Veterinary Pathology*, 23 (6): 649-655.

Almasri, N.M. ve Al Hamad, M., 2005, Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan, *Breast Cancer Research*, 7: R598-R604.

Amayo, A. ve Kuria, J.G., 2009, Clinical Applicatıon of Tumour Markers: A Review, *East African Medical Journal*, Vol. 86 No. 12.

Andersen, A.C., ve Rosenblatt, L.S., 1969, The effect of whole body X radiation on the median life span of female dogs (beagles), *Radiation Research*, 39: 177-200.

Anderson, W.F., Chu, K.C., Chatterjee, N., Brawley, O., Brinton, L.A., 2001, Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database, *Journal of Clinical Oncology*, 19: 18-27.

Araújo, M.R., Campos, L.C., Damasceno, K.A., Gamba, C.O., Ferreira, E., Cassali, G.D., 2016, HER-2, EGFR, Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of canine mammary carcinomas: Association with clinical-pathological parameters and overall survival, *Research in Veterinary Science*, Volume 106, 121-130.

Argyle, D.J., Turek, M.M., Mac Donald, V., 2008, *Canine and Feline Mammary Tumors, Decision Making in Small Animal Oncology*, In: Argyle D.J., Brearley M.J., Turek M.M. (eds.), Wiley-Blackwell, Iowa, 327.

Aydoğan, A., 2010, *Köpek Meme Tümörlerinin Tanısında Histopatolojik Ve İmmunohistokimyasal İncelemeler* (Ph.D. Thesis), Adnan Menderes Üniversitesi.

Aydoğan, A. ve Metin, N., 2013, Detection of cell origin by immunohistochemistry in canine mammary tumours, *Revue De Medecine Veterinare*, 164, 7, 395-399.

Baba, A.I. ve Câtoi, C., 2007, *Comparative Oncology*, The Publishing House of the Romanian Academy, Bükreş.

Bae, S.Y., Kim, S., Lee, J.H., Lee, H., Lee, S.K., Kil, W.H., Kim, S.W., Lee, J.E., Nam, S.J., 2015, Poor prognosis of single hormone receptor- positive breast cancer: similar outcome as triple-negative breast cancer, *BMC Cancer*, 15: 138.

Baştan, A. ve Zonturlu, A., 2002, Köpek meme tümörlerinde yaş, ırk, tümör tipi ve yerleşim yeri arasındaki ilişkinin araştırılması, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 49, 203-206.

Benavente, M.A., Bianchi, C.P., Aba, M.A., 2016, Canine Mammary Tumors: Risk Factors, Prognosis and Treatments, *Journal of Veterinary Advances*, 6(8): 1291-1300.

Benazzi, C., Sarli, G., Galeotti, M., Marcato, P.S., 1993, Basement membrane components in mammary tumours of the dog and cat, *Journal of Comparative Pathology*, 109 (3): 241-252.

Benjamin, S.A., Lee, A.C., Saunders, W.J., 1999, Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles, *Veterinary Pathology*, 36: 423-436.

Ben-Jonathan, N., Mershon, J.L., Allen, D.L., Steinmetz, R.W., 1996, Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, clinical aspects, *Endocrine Reviews*, 17: 639–669.

Berruti, A., Tampellini, M., Torta, M., Buniva, T., Gorzegno, G., Dogliotti, L., 1994, Prognostic value in predicting overall survival of two mucinous markers: CA 15-3 and CA 125 in breast cancer patients at first relapse of disease, *European Journal of Cancer*, 30A: 2082–2084.

Boggs, R.M., Wright, Z.M., Stickney, M.J., 2008, MicroRNA expression in canine mammary cancer, *Mammalian Genome*, 19:561–9.

Boldizsar, H., Szenci, O., Muray, T., Cscnki, J., 1992, Studies on Canine Mammary Tumors. I.Age, seasonal, breed distribution, *Acta Veterinaria Hungarica*, 40, 75-87.

Borge, K.S., Børresen-Dale, A.L., Lingaas, F., 2011, Identification of genetic variation in 11 candidate genes of canine mammary tumour, *Veterinary and Comparative Oncology*, 9(4):241–250.

Book, S.A., Culbertson, M.R., Goldman, M., Parks, J., Rosenblatt, L.S., Spangler, W.L., 1983, *Strontium-90 and radium- 226 toxicity in beagle dogs: current status*, Laboratory for Energy-related Health Research, Annual Report, p. 2.

Bostedt, H., 1990, *Hormonanalytische befunde von hündinnen mit lactatio sine graviditate unter berücksichtigung der therapiekontrolle nach einsatz von antiprolactin*, Heidelberg XIX, Colloquium Endocrinologicum.

Bostock, D.E., 1986, Canine and feline mammary neoplasms, *British Veterinary Journal*, 142:506–15.

Bravo, D., Casallas, P.E.C., Amaya, J.O., 2010, Prevalencia de neoplasias en caninos en la universidad de los Llanos, durante 2004 a 2007, *Revista MVZ Córdoba*, 15(1):1925-1937.

Brodey, R.S., Fidler, I.J., Howson, A.E., 1966, The relationship of estrus cycle irregularity, pseudo-pregnancy, and pregnancy to the development of canine mammary neoplasms, *Journal of the American Animal Hospital Association*, 149:1047–1049.

Brodey, R.S., Goldschmidt, M.H., Roszel, J.R., 1983, Canine mammary gland neoplasms, *Journal of the American Animal Hospital Association*, 19: 61-90.

Bronden, L.B., Nielsen, S.S., Toft, N., Kristensen, A.T., 2010, Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in *Denmark, Veterinary Record*, 166:586–590.

Brunelle, M., Sartin, E.A., Wolfe, L.G., 2006, Cyclooxygenase-2 expression in normal and neoplastic canine mammary cell lines, *Veterinary Pathology*, 43:656–66.

Brunetti, B., Bacci, B., Angeli, C., Benazzi, C. ve Muscatello, L.V., 2021, p53, ER, and Ki67 Expression in Canine Mammary Carcinomas and Correlation With Pathological Variables and Prognosis, *Veterinary Pathology*, 58(2) 325-331.

Brzezinski, A., 1997, Melatonin in humans, *The New England Journal of Medicine*, 336:186-95.

Bulkowska, M., Rybicka, A., Senses, K.M., Ulewicz, K., Witt, K., Szymanska, J., Taciak, B., Klopfleisch, R., Hellmén, E., Dolka, I., Gure, A.O., Mucha, J., Mikow, M., Gizinski, S., Krol, M., 2017, MicroRNA expression patterns in canine mammary cancer show significant differences between metastatic and non-metastatic tumours, *BMC Cancer*, 17:728.

Caceres, S., Peña, L., Silvan, G., Illera, M.J., Woodward, W.A., Reuben, J.M., Illera, J.C., 2016, Steroid tumor environment in male and female mice model of canine and human inflammatory breast cancer, *Biomed Research International*, Volume 2016, Article ID 8909878.

Campos, L.C., Lavalle, G.E., Estrela-Lima, A., Melgaco de Faria, J.C., Guimarães, J.E., Dutra, A.P., Ferreira, E., de Sousa, L.P., Rabelo, E.M.L., Vieira da Costa, A.F.D., Cassali, G.D., 2012, CA15.3, CEA, and LDH in Dogs with Malignant Mammary Tumors, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26: 1383–1388.

Campos, L.C., Silva, J.O., Santos, F.S., Araujo, M.R., Lavalle, G.E., Ferreira, E., Cassali, G.D., 2015, Prognostic significance of tissue and serum HER2 and MUC1 in canine mammary cancer, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27: 531–5.

Canadas, A., França, M., Pereira, C., Vilaça, R., Vilhena, H., Tinoco, F., Silva, M.J., Ribeiro, J., Medeiros, R., Oliveira, P., Dias-Pereira, P., Santos, M., 2019, Canine mammary tumors: comparison of classification and grading methods in a survival study, *Veterinary Pathology*, 56:208–219.

Carvalho, M.I., Guimarães, M.J., Pires, I., Prada, J., Silva-Carvalho, R., Lopes, C., Queiroga, F.L., 2013, EGFR and microvessel density in canine malignant mammary tumours, *Research in Veterinary Science*, 95: 1094–1099.

Carvalho, M.I., Pires, I., Prada, J., 2016, Ki-67 and PCNA expression in canine mammary tumors and adjacent nonneoplastic mammary glands: prognostic impact by a multivariate survival analysis, *Veterinary Pathology*, 53:1138–46.

Chang, S.C., Chang, C.C., Chang, T.J., Wong, M.L., 2005, Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002), *Journal of American Veterinary Medical Association*, 227: 1625-1629.

Cleary, M.P. ve Grossmann, M.E., 2009, Minireview: obesity and breast cancer: the estrogen connection, *Endocrinology*, 150: 2537–2542.

Concannon, P.W., Spraker, T.R., Casey, H.W., Hansel, W., 1981, Gross and histopathologic effects of medroxyprogesterone acetate and progesterone on the mammary glands of adult beagle bitches, *Fertility and Sterility*, 36: 373-387.

Cork, D.M.W., Lennard, T.W.J., Tyson-Capper, A.J., 2008, Alternative splicing and the progesterone receptor in breast cancer, *Breast Cancer Research*, 10:207.

Cos, S. ve Sanchez-Barcelo, E.J., 2000, Melatonin and mammary pathological growth, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21:133–170.

D'arville, C.N., Evans, B.A.J., Borthwick, G., Pierrepoint, C.G., 1980, Aspects of steroid metabolism in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch, *Journal of Steroid Biochemistry*, 13: 1407-1411.

Da Costa, A., Lenze, D., Hummel, M., 2012, Identification of six potential markers for the detection of circulating canine mammary tumour cells in the peripheral blood identified by microarray analysis, *Journal of Comparative Pathology*, 146:143–51.

Da Costa, A., Kohn, B., Gruber, A.D., 2013, Multiple RT-PCR markers for the detection of circulating tumour cells of metastatic canine mammary tumours, *The Veterinary Journal*, 196:34–9.

David, J.M., Hamilton, D.H., Palena, C., 2016, MUC1 upregulation promotes immune resistance in tumor cells undergoing brachyury-mediated epithelial-mesenchymal transition, *Oncoimmunology*, 5(4): e1117738.

Davis, S. ve Mirick, D.K., 2006, Circadian disruption, shift work and the risk of cancer: A summary of the evidence and studies in Seattle, *Cancer Causes & Control*, 17:539–45.

De Las Mulas, J.M., Van Niel, M., Millán, Y., Blankenstein, M.A., Van Mil, F., Misdorp, W., 2000, Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay, *Domestic Animal Endocrinology*, 18, 111-125.

De Las Mulas, J.M., Millán, Y., Dios, R., 2005, A Prospective Analysis of Immunohistochemically Determined Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Expression and Host and Tumor Factors as Predictors of Disease-free Period in Mammary Tumors of the Dog, *Veterinary Pathology*, 42: 200–212.

Devarathnam, J., Suresh Kumar, R.V., Bharathi, S., Anand Kumar, A., Jagapathi Ramayya, P., 2021, Epidemiological studies of canine mammary gland tumors, *The Pharma Innovation Journal*, 10(7): 13-17.

Diaz, L.K. ve Sneige, N., 2005, Estrogen receptor analysis for breast cancer: current issues and keys to increasing testing accuracy, *Advances in Anatomic Pathology*, 12: 10-19.

Dileepkumar, K.M., Maiti, S.K., Naveen, K., 2016, Expression of p-53 and Cox-2 genes as tumour markers in spontaneous canine mammary tumours, *Advances in Animal and Veterinary Science*, 4:294–300.

Dobson, J.M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood, J.L.N., 2002, Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs, *Journal of Small Animal Practice*, 43(6), 240–246.

Donnay, I., Rauis, J., Devleeschouwer, N., Wouters-Ballman, P., Leclercq, G., Verstegen, J., 1995, Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mammary tissues from dogs, *American Journal of Veterinary Research*, 56(9): 1188–94.

Donnay, I., Devleeschouwer, N., Wouters-Ballman, P., Leclercq, G., Verstegen, J., 1996, Relationship between receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues, *Research in Veterinary Science*, 60(3), 251–254.

Dorn, C.R., Taylor, D.O., Schneider, R., Hibbard, H.H., Klauber, M.R., 1968, Survey of animal neoplasms in Albeda and Contra Costa counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Almeda county, *Journal of the National Cancer Institute*, 40: 307-18.

Dubik, D., Dembinski, T.C., Shiu, R.P.C., 1987, Stimulation of C-myc oncogene expression associated with estrogen-induced proliferation of human breast cancer, *Cancer Research*, 47: 6517–21.

Duffy, M.J., Evoy, D., McDermott, E.W., 2010, CA 15-3: uses and limitation as a biomarker for breast cancer, *Clinica Chimica Acta*, 411: 1869–74.

Dursun, N., 1999, *Veteriner Anatomi*, Medisan yayınevi, Ulus-Ankara.

Dutra, A.P., Granja, N.V.M., Schmitt, F.C., Cassali, G.D., 2004, C-erb-B-2 expression and nuclear pleomorphism in canine mammary tumors, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37: 1673-1681.

Egenvall, A., Bonnett, B.N., Ohagen, P., Olson, P., Hedhammar, A., von Euler, H., 2005, Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002, *Preventive Veterinary Medicine*, 69: 109–127.

Emons, G. ve Schally, A.V., 1994, The use of luteinizing hormone releasing hormone agonists and antagonists in gynecological cancers, *Human Reproduction*, 9, 1364-1379.

Enginler, S.Ö., Toydemir, T.S.F., Ateş, A., Akış, I., Armağan, H., Öztabak, K., Kırşan, İ., Gündüz, M.C., Fırat, İ., 2014, Assessment of Prolactin, Steroid Hormone Levels in Tissue Homogenate, Serum and Receptor Distributions in Canine Mammary Tumours, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (4): 553-559.

Enginler, S.O., Akis, I., Toydemir, T.S., Oztabak, K., Haktanir, D., Gunduz, M.C., Kirsan, I., Firat, I., 2014, Genetic variations of BRCA1 and BRCA2 genes in dogs with mammary tumours, *Veterinary Research Communications*, 38, 21–27.

English, D.P., Roque, D.M., Santin, A.D., 2013, HER2 expression beyond breast cancer: therapeutic implications for gynecologic malignancies, *Molecular Diagnosis & Therapy*, 17(2): 85e99.

Evans, E.H. ve Christensen, G., 1979, *Miller's anatomy of the dog*, W.B. Saunders Company, Philadelphia-London-Toronto.

Fidler, I.J., Abt, D.A., Brody, R.S., 1967, The biological behavior of canine mammary neoplasms, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 151(10): 1311–8.

Fidler, I.J. ve Brodey, R.S., 1967, A necropsy study of canine malignant mammary neoplasms, *Journal of American Veterinary Medical Association*, 151: 710-715.
Figueiro, M.G., Rea, M.S., Bullough, J.D., 2006, Does architectural lighting contribute to reast cancer?, *Journal of Carcinogenesis*, 5: 20.
Fisher, B., Constantino, J., Redmond, C., Poisson, R., Bowman, D., Couture, J., Dimitrov, N.V., Wolmark, N., Lawrence Wickerham, D., Fisher, E.R., Margolese, R., Robidoux, A., Shibata, H., Terz, J., Paterson, A.H.G., Feldman, M.I., Farrar, W., Evans, J., Lickley, L., Ketner, M., 1989, A randomized trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptorpositive tumors, *The New England Journal of Medicine*, 320(8): 479–84.
Fowler, E.H., Wilson, G.P., Koestner, A., 1974, Biologic behavior of canine mammary neoplasms based on a histological classification, *Veterinary Pathology*, 11: 212-29.
Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G., 2000, Prolactin: structure, function, and regulation of secretion, *Physiological Reviews*, 1523–1631.
Galea, M.H., Blamey, R.W., Elston, C.E., Ellis, I.O., 1992, The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer, *Breast Cancer Research and Treatment*, 22: 207-219.
Gama, A., Alves, A., Gärtner, F., Schmitt, F., 2003, P63: a novel myoepithelial cell marker in canine mammary tissues, *Veterinary Pathology*, 40: 412-420.
Gama, A., Gärtner, F., Alves, A., Schmitt, F., 2009, Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in canine mammary tissues, *Research in Veterinary Science*, 87: 432–437.
Geil, R.G. ve Lamar, J.K., 1977, FDA studies of estrogen, progesterons, and estrogen/progesterone combinations in the dog and monkey, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 3: 179–193.
Geraldes, M., Gärtner, F., Schmitt, F., 2000, Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours, *Veterinary Record*, 146: 403–406.
Giles, R.C., Kwapien, R.P., Geil, R.G., Casey, H.W., 1978, Mammary nodules in beagle dogs administered investigational oral contraceptive steroids, *Journal of the National Cancer Institute*, 60(6): 1351–64.
Gizinski, S., Boryczko, Z., Katkiewicz, M., 2003, Ki-67 protein as a prognostic factor in mammary gland tumors in female dogs, *Medycyna Weterynaryjna*, 59: 888–91.
Glasspool, R.M. ve Evans, T.R.J., 2000, Clinical imaging of cancer metastasis, *European Journal of Cancer*, 36(13): 1661–70.
Gobello, C. ve Corrada, Y., 2001, Canine mammary tumors: an endocrine clinical approach, *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 23: 705-710.
Goldschmidt, M.H., Shofer, F.S., Smelstoys, J.A., 2001, Neoplastic lesions of the mammary gland, *Pathobiology of the aging dog*, In: Mohr U. (ed.), Iowa State University Press, Ames, IA, 168–78.
Goldschmidt, M., Peňa, L., Rasotto, R., Zappulli, V., 2011, Classification and Grading of Canine Mammary Tumors, *Veterinary Pathology*, 48(1) 117-131.
Goldschmidt, M.H., Peña, L., Zappulli, V., 2017, Tumors of the Mammary Gland, *Tumors in Domestic Animals*, In: Meuten D.J. (ed.), Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 723-765.
Goodwin, J.S., Samet, J.S., Hunt, W.C., 1996, Determinants of survival in older cancer patients, *Journal of the National Cancer Institute*, 88(15): 1031–8.
Gowen, L.C., Avrutskaya, A.V., Latour, A.M., Koller, B.H., Leadon, S.A., 1998, BRCA1 required for transcription-coupled repair of oxidative DNA damage, *Science*, 281:1009–1012.

Graham, J.C., O'Keefe, D.A., Gelberg, H.B., 1999, Immunohistochemical assay for detecting estrogen receptors in canine mammary tumors, *American Journal of Veterinary Research*, 60: 627–630.

Guadagni, F., Ferroni, P., Carlini, S., Mariotti, S., Spila, A., Aloe, S., D' Alessandro, R., Carone, M.D., Cicchetti, A., Ricciotti, A., Venturo, I., Perri, P., Di Filippo, F., Cognetti, F., Botti, C., Roselli, M., 2001, A re-evaluation of carcinoembryonic antigen (CEA) as a serum marker for breast cancer: a prospective longitudinal study, *Clinical Cancer Research*, 7(8): 2357-2362.

Guimarães, M.J., Carvalho, M.I., Pires, I., Prada, J., Gil, A.G., Lopes, C., Queiroga, F.L., 2014, Concurrent expression of cyclo-oxygenase-2 and epidermal growth factor receptor in canine malignant mammary tumours, *Journal of Comparative Pathology*, 150: 27–34.

Günay Uçmak, Z. ve Güvenç, K., 2019, Malign Meme Tümörlü Dişi Köpeklerde Klinik ve Bazı Hematolojik Parametreler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi, *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10 (2): 45-52.

Günay Uçmak, Z., Timirci Kahraman, Ö., İnal Gültekin, G., Değirmencioğlu, S., Yaylım, İ., Güvenç, K., 2021, Determining the expression levels of circulating tumour cell markers in canine mammary tumours, *Acta Veterinaria Brno*, 90: 191–200.

Haga, S., Nakayama, M., Tatsumi, K., Maeda, M., Imai, S., Umesako, S., Yamamoto, H., Hilgers, J., Sarkar, N.H., 2001, Overexpression of the p53 gene product in canine mammary tumors, *Oncology Reports*, 8: 1215-1219.

Hahn, K.L., 2002, *Veterinary Oncology*, 4th ed., Butterworh, Heinemann.

Hamilton, J.M., Else, R.W., Forshaw, P., 1976, Oestrogen receptors in feline mammary carcinomas, *The Veterinary Record*, 99, 477-479.

Hankinson, S.E., Wilett, W.C., Manson, J.E., 1998, Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women, *Journal of the National Cancer Institute*, 90: 1292–1299.

Hankinson, S.E., Willett, W.C., Michaud, D.S., Manson, J.E., Colditz, G.A., Longcope, C., Rosner, B., Speizer, F.E., 1999, Plasma prolactin levels and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women, *Journal of the National Cancer Institute*, 629–634.

Hansen, J., 2006, Risk of breast cancer after night- and shift work: Current evidence and ongoing studies in Denmark, *Cancer Causes & Control*, 17: 531–37.

Hasdell, D.L. ve Bonnette, S.G., 2000, IGF and insulin action in the mammary gland: lessons from transgenic and knockout models, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5(1): 19–30.

Hasdell, D.L., Murphy, K.L., Bonnette, S.G., Reece, N., Laucirica, R., Rosen, J.M., 2000, Cooperative interaction between mutant p53 and des(1–3)IGF accelerates mammary tumorigenesis, *Oncogene*, 19(7): 889–98.

Hashim, Z.M., 2014, The significance of CA15-3 in breast cancer patients and its relationship to HER-2 receptor status, *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 27(1), 45–51.

Hayes, D.F., Sekine, H., Ohno, T., Abe, M., Keefe, K., Kufe, D.W., 1985, Use of a murine monoclonal antibody for detection of circulating plasma DF3 antigen levels in breast cancer patients, *Journal of Clinical Investigation*, 75: 1671–1678.

Heidrich, H.J. ve Renk, W., 1963, *Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren*, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

Hellmen, E., Bergstrom, R., Holmberg, L., 1993, Prognostic factors in canine mammary gland tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases, *Veterinary Pathology*, 30: 20–7.

Hellmen, E., 2005, Complex mammary tumours in the female dog: A review, *Journal of Dairy Research*, 72: 90-97.

Heller, D.A., Clifford, C.A., Goldschmidt, M.H., Holt, D.E., Shofer, F.S., Smith, A., Sorenmo, K.U., 2005, Cyclooxygenase-2 Expression is Associated with Histologic Tumor Type in Canine Mammary Carcinoma, *Veterinary Pathology*, 42:776–780.

Henderson, B.E., Ross, R., Bernstein, L., 1988, Estrogens as a cause of human cancer: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award lecture, *Cancer Research*, 48: 246–53.

Henry, J.C., 2010, Biomarkers in veterinary cancer screening: applications, limitations and expectations, *The Veterinary Journal*, 185: 10–4.

Hitzer, U., 2000, *Untersuchungen zur sonographischen Darstellung der primären Multiplizität von caninen Mammatumoren* (Ph.D. Thesis), Vet Med Diss, Berlin.

Hsu, W.L., Huang, H.M., Liao, J.W., 2009, Increased survival in dogs with malignant mammary tumours overexpressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene, *The Veterinary Journal*, 180: 116–23.

Im, K.S., Kim, N.H., Lim, H.Y., Kim, H.W., Shin, J.I., Sur, J.H., 2014, Analysis of a New Histological and Molecular-Based Classification of Canine Mammary Neoplasia, *Veterinary Pathology*, 51(3) 549-559.

Im, K.S., Jang, J.G., Shin, J.I., Kim, N.H., Lim, H.Y., Lee, S.M., Kim, J.H., Sur, J.H., 2015, CD44+/CD24– cancer stem cells are associated with higher grade of canine mammary carcinomas, *Veterinary Pathology*, 52: 1041–4.

Inaba, T., Takahashi, N., Matsuda, H., Imori, T., 1984, Estrogen and progesterone receptors and progesterone metabolism in canine mammary tumours, *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 46, 797.

Jacobsen, B.M. ve Horwitz, K.B., 2012, Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 357(1-2): 18-29.

Jain, M., Ingole, S.D., Deshmukh, R.S., Bharucha, S.V., Nagvekar, A.S., Gaikwad, R.V., Kharde, S.D., 2021, CEA, CA 15-3, and miRNA expression as potential biomarkers in canine mammary tumors, *Chromosome Research*, 29: 175–188.

Johnston, D., Root Kustritz, M.V., Olson, P.N.S., 2001, *Canine and Feline Theriogenology*, WB Saunders, Philadelphia.

Jitpean, S., Hagman, R., Ström Holst, B., Höglund, O.V., Pettersson, A., Egenvall, A., 2012, Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs, *Reproduction in Domestic Animals*, 47(6): 347-350.

Jurikovaa, M., Danihelb, L., Polaka, S., 2016, Ki67, PCNA, and MCM proteins: markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer, *Acta Histochemica*, 118: 544–52.

Kabel, A.M., El-Rashidy, M.A., Omar, M.S., 2016, Ameliorative potential of tamoxifen/ thymoquinone combination in patients with breast cancer: a biochemical and immunohistochemical study, *Journal of Cancer Science and Research*, 1: 102.

Kabel, A.M., 2017, Tumor markers of breast cancer: New prospectives, *Journal of Oncological Sciences*, 3, 5-11.

Kallel, I., Khabir, A., Boujelbene, N., Abdennadher, R., Daoud, J., Frikha, M., Aifa, S., Sallemi-Boudawara, T., Rebaï, A., 2012, EGFR overexpression relates to triple negative profile and poor prognosis in breast cancer patients in Tunisia, *Journal of Receptors and Signal Transduction Research*, 32: 142–149.

Kandefer-Gola, M., Nowak, M., Ciaputa, R., 2016, Usefulness of immunohistochemical indicators for diagnosis and prognosis of poorly differentiated tumours, *Journal of Veterinary Research*, 60: 323–30.

Karayannopoulou, M., Kaldrimidou, E., Dessiris, A., 1990, Some epidemiological aspects of canine mammary tumors, treatment and prognosis, *European Journal of Companion Animal Practice*, 1: 41-47.

Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T.C., Dessiris, A., 2005, Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: Application of a human grading method, *Journal of Comparative Pathology*, 133: 246-252.

Kaszak, I., Ruszczak, A., Kanafa, S., Kacprzak, K., Król, M., Jurka, P., 2018, Current biomarkers of canine mammary tumors, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60: 66.

Kaušitz, J., Altaner, C., Boljesikova, E., Spanik, S., 2003, Tumor markers, *Oncology*, In: VEDA (eds.), Slovak Academy of Science Publishing, Bratislava, 119–124.

Kessler, M. ve von Bomhard, D., 1997, *Mammatumoren bei katzen-eine auswertung von 2386 fällen (1990-1995)*, Kleintierpraxis, 42: 459-465.

Key, T.J.A. ve Pike, M.C., 1982, The role of oestrogens and prostagens in the epidemiology and prevention of breast cancer, *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 24(1): 29–43.

Khandwala, H.M., McCutcheon, I.E., Flyvbjerg, A., Friend, K.E., 2000, The effects of insulin-like growth factor on tumorigenesis and neoplastic growth, *Endocrine Reviews*, 21(3): 215–44.

Kırşan, İ., Uçmak, M., Apaydın, S., 2005, A clinical evaluation of thecomplications found in bitches after total bilateral mastectomy operations, *Medycyna Weterynaryjna*, 61: 507-509.

Kilpatrick, E.S. ve Lind, M.J., 2009, Appropriate requesting of serum tumour markers, *BMJ Journals*, 339: b3111.

Kim, J.H., Im, K.S., Kim, N.H., 2011, Expression of HER-2 and nuclear localization of HER-3 protein in canine mammary tumors: histopathological and immunohistochemical study, *The Veterinary Journal*, 189: 318–22.

Kim, N.H., Lim, K.Y., Im, K.S., 2014, Evaluation of clinicopathological characteristics and oestrogen receptor gene expression in oestrogen receptor-negative, progesterone receptor-positive canine mammary carcinomas, *Journal of Comparative Pathology*, 151: 42–50.

Kim, H.W., Jang, Y.G., Shin, J.I., Seung, B.J., Ju, J.H., Lee, S.M., Sur, J.H., 2016, Evaluation of Tumor Prognostic Markers in Malignant Canine Mammary Carcinoma, *Pakistan Veterinary Journal*, 36(3): 332-337.

Klopfleisch, R. ve Gruber, A.D., 2009, Differential expression of cell cycle regulators p21, p27 and p53 in metastasizing canine mammary adenocarcinomas versus normal mammary glands, *Research in Veterinary Science*, 87: 91–6.

Korsching, E., Packeisen, J., Liedtke, C., Hungermann, D., Wülfing, P., van Diest, P.J., Brandt, B., Boecker, W., Buerger, H., 2005, The origin of vimentin expression in invasive breast cancer: epithelialmesenchymal transition, myoepithelial histogenesis or histogenesis from progenitor cells with bilinear differentiation potential?, *The Journal of Pathology*, 206: 451–457.

Kovalenko, M.S., Bilyi, D.D., Skliarov, P.M., Maslikov, S.N., Suslova, N.I., Spitsyna, T.L., Yevtushenko, I.D., 2021, Prognostic markers of canine mammary tumours: Retrospective study of 142 cases, *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(4), 649–654.

Kurzman, I.D. ve Gilbertson, S.R., 1986, Prognostic factors in canine mammary tumors, *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery*, 1(1): 25–32.

Küçükusta, A.R., 1992, Tümör markerleri, *Endoskopi Dergisi*, 1, 50-52.

Kwapien, R.P., Giles, R.C., Geil, R.G., Casey, H.W., 1980, Malignant mammary tumors in beagle dogs dosed with investigational oral contraceptives, *Journal of the National Cancer Institute*, 65: 137–144.

Langenbach, A., Anderson, M., Dambach, D.M., 1998, Extraskeletal osteosarcoma in dogs: a retrospective study of 169 cases (1986–1996), *Journal of American Animal Hospital Association*, 34: 113–20.

Lavalle, G.E., Bertagnolli, A.C., Tavares, W.L.F., Cassali, G.D., 2009, COX-2 expression in canine mammary carcinomas correlation with angiogenesis and overall survival, *Veterinary Pathology*, 46, 1275-1280.
Levin, E.R., 2003, Bidirectional signaling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor, *Molecular Endocrinology*, 17(3), 309–317.
Llovera, M., Touraine, P., Kelly, P., Goffin, V., 2000, Involvement of prolactin in breast cancer: redefining the molecular targets, *Experimental Gerontology*, 41–51.
Lohr, C.V., Teifke, J.P., Failing, K., 1997, Characterization of the proliferative state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA, *Veterinary Pathology*, 34: 212–21.
Lumachi, F., Brunello, A., Maruzzo, M., Basso, U., Basso, S.M., 2013, Treatment of estrogen receptor-positive breast cancer, *Current Medicinal Chemistry*, 20(5): 596-604.
MacEwen, E.G., Patnaik, A.K., Harvey, H.J., Panko, W.B., 1982, Estrogen receptors in canine mammary tumors, *Cancer Research*, 42(6): 2255–9.
MacMahon, B., Cole, P., Brown, J., 1973, Etiology of human breast cancer: a review, *Journal of the National Cancer Institute*, 50(1): 21–41.
Mainenti, M., Rasotto, R., Carnier, P., Zappulli, V., 2014, Oestrogen and progesterone receptor expression in subtypes of canine mammary tumours in intact and ovariectomised dogs, *The Veterinary Journal*, 202(1): 62–68.
Manuali, E., De Giuseppe, A., Feliziani, F., Forti, K., Casciari, C., Marchesi, M.C., Pacifico, E., Pawlowski, K.M., Majchrzak, K., Król, M., 2012, CA 15-3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade, *BMC Veterinary Research*, 8: 86-98.
Marquardt, C., 2003, *Untersuchungen zur präoperativen Dignität serfassung kaniner mama tumoren mittels ultraschall und nadelbiopsie* (Ph.D. Thesis), Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen.
Martins, A.M.C.R.P.F., Tamaso, E., Guerra, J.L., 2002, Retrospective review and systematic study of mammary tumors in dogs and characteristics of the extracellular matrix, *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 39 (1): 38-42.
Masuda, H., Zhang, D., Bartholomeusz, C., 2012, Role of epidermal growth factor receptor in breast cancer, *Breast Cancer Research and Treatment*, 136: 331–45.
Matos, A.J.F., Lopes, C., Carvalheira, J., Santos, M., Rutteman, G.R., Gärtner, F., 2006, E-cadherin expression in canine malignant mammary tumors: relationship to other clinicopathological variables, *Journal of Comperative Pathology*, 134(2-3): 182-189.
Mc Cormack, O., Harrison, M., Kerin, M.J., McCann, A., 2007, Role of the progesterone receptor (PR) and the PR isoforms in breast cancer, *Critical Reviews in Oncogenesis*, 13(4): 283-301.
Mialot, J.P., André, F, Martin, P.M., Cotard, D.M., Raynaud, J.P., 1982, Etude de récepteurs des hormones stéroides dans les tumeurs mammaries de la chienne I. Mise en évidence, caracterisation et relation avec le type histologique, *Recueil Médicine Vétérinaire*, 158: 215–221.
Mialot, J.P., André, F, Martin, P.M., Cotard, D.M., Raynaud, J.P., 1982, Etude de récepteurs des hormones stéroides dans les tumeurs mammaries de la chienne II. Corrélations avec quelques caractéristiques cliniques, *Recueil Médicine Vétérinaire*, 158: 513–521.
Millanta, F., Calandrella, M., Bari, G., Niccolini, M., Vannozzi, I., Poli, A., 2005, Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues, *Research in Veterinary Science*, 79: 225-232.

Millanta, F., Calandrella, M., Vannozzi, I., Poli, A., 2006, Steroid hormone receptors in normal, dysplastic and neoplastic feline mammary tissues and their prognostic significance, *Veterinary Record*, 158, 821-824.
Millanta, F., Caneschi, V., Ressel, L., 2010, Expression of vascular endothelial growth factor in canine inflammatory and non-inflammatory mammary carcinoma, *Journal of Comperative Pathology*, 142: 36–42.
Miller, B.A., Kolonel, L.N., Bernstein, L., Young Jr, J.L., Swanson, G.M., West, D., Key, C.R., Liff, J.M., Glover, C.S., Alexander, G.A., 1996, *Racial/ethnic patterns of cancer in the United States 1988–1992*. SEER Monograph, Bethesda.
Misdorp, W. ve Hart, A.A.M., 1976, Prognostic factors in canine mammary cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 56: 779–86.
Misdorp, W., 1988, Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effects of progestins, *Veterinary Quarterly*, 10: 26-33.
Misdorp, W., Else, R.W., Hellmen, E., Lipscomb, T.P., 1999, Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat, *Armed Forces Institute of Pathology*, 3-29.
Misdorp, W., 2002, Tumors of the Mammary Gland, *Tumors in Domestic Animals*, In: Meuten D.J. (ed.), Iowa State Press, Iowa, 575-599.
Mobasheri, A. ve Cassidy, J., 2010, Biomarkers in veterinary medicine: towards targeted, individualised therapies for companion animals, *The Veterinary Journal*, 185: 1–3.
Moe, L., 2001, Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds, *Journal of Reproduction and Fertility*, 57, 439–443.
Mohammed, R.H., Lakatua, D.J., Haus, E., Yasmineh, W.J., 1986, Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. Correlation with histologic subtype and degree of differentiation, *Cancer*, 58: 1076-1081.
Mol, J.A., Selman, P.J., Sprang, E.P.M., 1997, The role of progestins, insulin-like growth factors (IGF) and IGF-binding proteins in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch: a review, *Journal of Reproduction and Fertility*, 51: 339–44.
Mol, J.A., Lantinga-van Leeuwen, I.S., van Garderen, E., Selman, P.J., Oosterlaken-Dijksterhuis, M.A., Schalken, JA., Rijnberk, A., 1999, Mammary growth hormone and tumorigenesis—lessons from the dog, *Veterinary Quarterly*, 21(4): 111–5.
Momont, H. ve Barber, J.A., 2003, Mammary Disordes, *Small Animal Theriogenology*, In: Kustritz M.V.R. (ed.), Butterworth Heinemann, Missouri, USA.
Monlux, A.W., Roszel, J.F., MacVean, D.W., Palmer, T.W., 1977, Classification of epithelial canine mammary tumors in a defined population, *Veterinary Pathology*, 14: 194–217.
Monteros, A.E.L., Millan, M.Y., Ordas, J., Carrasco, L., Reymundo, C., Las Mulas, J.M., 2002, Immunolocalization of the smooth muscle-specific protein calponin in complex and mixed tumors of the mammary gland of the dog: Assessment of the morphogenetic role of the myoepithelium, *Veterinary Pathology*, 39: 247-256.
Moschetta, M.G., Maschio, L.B., Jardim-Perassi, B.V., Gelaleti, G.B., Lopes, J.R., Leonel, C., Gonçalves, N.D.N., Ferreira, L.C., Martins, G.R., Borin, T.F., Zuccari, D.A.P.D.C., 2015, Prognostic value of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor 1α in canine malignant mammary tumors, *Oncology Reports*, 33: 2345–53.
Moser, M., Schaumberger, K., Schernhammer, E., Stevens, R.G., 2006, Cancer and rhythm, *Cancer Causes & Control*, 17:483–87.
Moulton, J.E., Taylor, D.O.N., Dorn, C.R., Andersen, A.C., 1970, Canine mammary tumors, *Veterinary Pathology*, 7: 289–320.
Moulton, J.E., Rosenblatt, L.S., Goldman, M., 1986, Mammary tumors in a colony of beagle dogs, *Veterinary Pathology*, 23: 741-749.

Moulton, J.E., 1990, Tumors of the Mammary Gland, *Tumors in Domestic Animals*, In: Moulton J.E. (ed.), University of California Press, California, 518.
Munson, L., ve Moresco, A., 2007, Comparative pathology of mammary gland cancers in domestic and wild animals, *Breast Disease*, 28: 7-21.
Mülazımoğlu, S.B., Beceriklisoy, H.B., Schäfer-Somi, S., Kaya, M., Bumin, A., Özenç, E., Gültiken, N., Kanca, H., Günen, M.Z., Kutsal, O., Emre, B., Evangelos, K., Aslan, S., 2016, B-mode Echotexture Analysis and Color Doppler Sonography in Canine Mammary Tumors, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(6): 961-969.
Nieto, A., Peña, L., Pérez-Alenza, M.D., Sánchez, M.A., Flores, J.M., Castaño, M., 2000, Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance, *Veterinary Pathology*, 37, 239-247.
Nieto, A., Perez-Alenza, M.D., Del Castillo, N., 2003, BRCA1 Expression in canine mammary dysplasias and tumours: relationship with prognostic variables, *Journal of Comparative Pathology*, 128: 260–8.
Novosad, C.A., 2003, Principles of treatment for mammary gland tumors, *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18: 107-109.
Nowak, M., Madej, J.A., Dziegiel, P., 2007, Expression of E-cadherin, β-catenin and Ki-67 antigen and their reciprocal relationships in mammary adenocarcinomas in bitches, *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 45: 233–8.
Nowak, M., Madej, J.A., Pula, B., Dziegiel, P., Ciaputa, R., 2015, Expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), E-cadherin and Ki-67 in metastatic and non-metastatic canine mammary carcinomas, *Irish Veterinary Journal*, 69: 9.
O'Keefe, D.A., 1995, Tumors of the genital system and mammary glands, *Veterinary Internal Medicine*, In: Ettinger S.G., Feldman E.C. (Eds.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2: 1699– 1704.
Olschewski, C., 1987, *Die Lactatio falsa der Hündin, Klinische und hormonanalytische Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung einiger Therapieverfahren*, Inaugural Dissertation, Justus-Liebig University Giessen.
Owen, L.N., 1980, *TNM Classification of tumors in Domestic Animals*, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
Pang, L.Y. ve Argyle, D., 2010, Cancer stem cells and telomerase as potential biomarkers in veterinary oncology, *The Veterinary Journal*, 185: 15–22.
Park, B.W., Oh, J.W., Kim, J.H., Park, S.H., Kim, K.S., Kim, J.H., Lee, K.S., 2008, Preoperative CA 15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes, *Annals of Oncology*, 19: 675–681.
Pastor, N., Ezquerra, L.J., Santella, M., Caballé, N.C., Tarazona, R., Durán, M.E., 2020, Prognostic significance of immunohistochemical markers and histological classification in malignant canine mammary tumours, *Veterinary and Comparative Oncology*, 18: 753–762.
Peňa, L., Nieto, A., Perez-Alenza, D., 1998, Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathologic variables, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10: 237–46.
Peňa, L., Gama, A., Goldschmidt, M.H., Abadie, J., Benazzi, C., Castagnaro, M., Díez, L., Gärtner, F., Hellmén, E., Kiupel, M., Millán, Y., Miller, M.A., Nguyen, F., Poli, A., Sarli, G., Zappulli, V., De Las Mulas, J.M., 2014, Canine mammary tumors: a review and consensus of standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER2, and hormone receptor assessment using immunohistochemistry, *Veterinary Pathology*, 51: 127–45.
Perey, L., Hayes, D.F., Maimonis, P., Abe, M., O'Hara, C., Kufe, D.W., 1992, Tumor selective reactivity of a monoclonal antibody prepared against a recombinant peptide derived from the DF3 human breast carcinoma-associated antigen, *Cancer Research*, 52: 2563–2568.

Perez Alenza, M.D., Rutteman, G.R., Peňa, L., Beynen, A.C., Cuestaa, P, 1998, Relation between habitual diet and canine mammary tumours in a casecontrol study, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12, 132-139.

Perez Alenza, M.D., Tabanera, E., Peňa, L., 2001, Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995–1999), *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(8): 1110–4.

Philibert, J.C., Snyder, P.W., Glickman, N., Glickman, L., Knapp, D., Waters, D., 2003, Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17: 102–106.

Polton, G., 2009, Mammary tumours in dogs, *Irish Veterinary Journal*, 62(1): 50-56.

Port Louis, L.R., Varshney, K.C., Nair, M.G., 2012, An Immunohistochemical Study on the Expression of Sex Steroid Receptors in Canine Mammary Tumors, *International Scholarly Research Network Veterinary Science*, 2012: 378607.

Priester, W.A. ve Mantel, N., 1971, Occurrence of tumors in domestic animals: data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine, *Journal of the National Cancer Institute*, 47: 1333–1344.

Queiroga, F.L., Pérez-Alenza, M.D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., Illera, J.C., 2005, Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 94, 181–187.

Queiroga, F.L., Pires, I., Lobo, L., 2010, The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours, *Research in Veterinary Science*, 88: 441–5.

Queiroga, F.L., Raposo, T., Carvalho, M.I., Prada, J., Pires, I., 2011, Canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: most recent findings, *In Vivo*, 25(3): 455–466.

Queiroga, F.L., Perez-Alenza, D., Gonzalez-Gil, A., Silvan, G., Peňa, L., Illera, J.C., 2015, Serum and Tissue Steroid Hormone Levels in Canine Mammary Tumours: Clinical and Prognostic Implications, *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 858–865.

Queiroga, F.L., Perez-Alenza, M.D., González-Gil, A., Silván, G., Peña, L., Illera, J.C., 2015, Quantification of epidermal growth factor receptor (EGFR) in canine mammary tumours by ELISA assay: clinical and prognostic implications, *Veterinary and Comparative Oncology*, 15, 2, 383–390.

Ramadan, E.S., Salem, N.Y., Emam, I.A., AbdElKader, N.A., Farghali, H.A., Khattab, M.S., 2021, MicroRNA-21 expression, serum tumor markers, and immunohistochemistry in canine mammary tumors, *Veterinary Research Communications*.

Reiter, R.J., 1991, Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions, *Endocrine Reviews*, 12: 151-80.

Reix, N., Malina, C., Chenard, M-P., Bellocq, J-P., Delpous, S., Molière, S., Sevrin, A., Neuberger, K., Tomasetto, C., Mathelin, C., 2016, A prospective study to assess the clinical utility of serum HER2 extracellular domain in breast cancer with HER2 overexpression, *Breast Cancer Research and Treatment*, 160(2): 249-259.

Ressel, L., Puleio, R., Loria, G.R., Vannozzi, I., Millanta, F., Caracappa, S., Poli, A., 2013, HER-2 expression in canine morphologically normal, hyperplastic and neoplastic mammary tissues and its correlation with the clinical outcome, *Research in Veterinary Science*, 94: 299–305.

Rezaie, A., Tavasoli, A., Bahonar, A., Mehrazma, M., 2009, Grading in canine mammary gland carcinoma, *Journal of Biological Sciences*, 9: 333-338.

Richards, H.G., McNeil, P.E., Thompson, H., Reid, S.W.J., 2001, An epidemiological analysis of a canine-biopsies database compiled by a diagnostic histopathology service, *Preventive Veterinary Medicine*, 51(1-2), 125–136.

Rivera, P., Melin, M., Biagi, T., Fall, T., Haggstrom, J., Lindblad-Toh, K., von Euler, H., 2009, Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2, *Cancer Research*, 69: 8770–4.

Rodo, A. ve Malicka, E., 2008, Immunohistochemical expression of protein p53 in neoplasms of the mammary gland in bitches, *Polish Journal of Veterinary Science*, 11: 89–95.

Rodrigues, H., Carvalho, M.I., Pires, I., 2016, Clinicopathological significance of caspase-3 and ki-67 expression in canine mammary gland tumours, *Acta Veterinaria Hungarica*, 64: 78–89.

Rutteman, G.R., Misdorp, W., Blankenstein, M.A., van den Brom, W.E., 1988, Oestrogen (ER), and progestin receptors (PR) in mammary tissue of the female dog: different receptor profile in non-malignant and malignant states, *British Journal of Cancer*, 58: 594–9.

Rutteman, G.R. ve Misdorp, W., 1993, Hormonal background of canine and feline mammary tumours, *Journal of Reproduction & Fertility*, 47, 483-487.

Rybicka, A. ve Krol, M., 2016, Identification and characterization of cancer stem cells in canine mammary tumors, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 58: 86.

Saba, C.F., Rogers, K.S., Newman, S., Mauldin, G.E., Vail, D.M., 2007, Biologic behavior and clinical characteristics of mammary gland tumors in male dogs, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (5): 1056-1059.

Salas, Y., Márquez, A., Diaz, D., Romero, L., 2015, Epidemiological Study of Mammary Tumors in Female Dogs Diagnosed during the Period 2002–2012: A Growing Animal Health Problem, *Plos One*, 10(5), e0127381.

Santos, A.A.F., Oliveira, J.T., Lopes, C.C.C., Amorim, I.F., Vincente, C.M.F.B., Gartner, F.R.M., Matos, A.J.F., 2010, Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor in canine mammary tumours, *Journal of Comparative Pathology*, 143: 268–75.

Savci-Heijink, C.D., Halfwerk, H., Hooijer, G.K.J., Horlings, H.M., Wesseling, J., van de Vijver, M.J., 2015, Retrospective analysis of metastatic behaviour of breast cancer subtypes, *Breast Cancer Research and Treatment*, 150(3): 547-557.

Schally, A.V., Comaru-Schally, A.M., Plonowski, A., Nagy, A., Halmos, G., Rekasi, Z., 2000, Peptide analogs in the therapy of prostate cancer, *The prostate*, 45, 158-166.

Schally, A.V., Halmos, G., Rekasi, Z., Arencibia, J.M., 2001, The actions of LH-RH agonists, antagonists, and cytotoxic analogs on the LH-RH receptors on the pituitary and tumors, *Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America*, In: Devroey P. (ed.), Philadelphia: Saunders, 12: 17–44.

Scully, R. ve Livingston, D.M., 2000, In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2, *Nature*, 408: 429–432.

Schneider, R., 1970, Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer, *Cancer*, 26: 419–426.

Schneider, R., Dorn, C.R., Taylor, D.O., 1969, Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival, *Journal of the National Cancer Institute*, 43, 1249-1261.

Schrohl, A.S., Holten-Andersen, M., Sweep, F., Foekens, J., 2003, Tumour markers review, *Molecular & Cellular Proteomics*, 2: 378-387.

Selman, P.J., Mol, J.A., Rutteman, G.R., van Garderen, E., Rijnberk, A., 1994, Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland, *Endocrinology*, 134: 287–292.

Serin, G. ve Aydoğan, A., 2009, Chondrosarcoma in the mammary gland of a bitch: A case report, *Veterinarni Medicina*, 54 (11): 543-546.

Severin, S., 2001, *Sonographische und Histologische Untersuchung des unveränderten sowie desnichtneoplastisch veränderten Gewebes der Mamma des Hundes*, Vet Med Diss Berlin.

Shah, R., Rosso, K., Nathanson, S.D., 2014, Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer, *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3): 283-298.
Shao, Y., Sun, X., He, Y., Liu, C., Liu, H., 2015, Elevated levels of serum tumor markers CEA and CA15-3 are prognostic parameters for different molecular subtypes of breast cancer, *Plos One*, 10(7): 1–11.
Shien, T., Tashiro, T., Omatsu, T., Masuda, T., Furuta, K., Sato, N., Akashi-Tanaka, S., Uehara, M., Iwamoto, E., Kinoshita, T., Fukutomi, T., Tsuda, H., Hasegawa, T., 2005, Frequent overexpression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in mammary high grade ductal carcinomas with myoepithelial differentiation, *Journal of Clinical Pathology*, 58, 1299–1304.
Shofer, F.S., Sonnenschein, E.G., Goldschmidt, M.H., Laster, L.L., Glickman, L.T., 1989, Histopathologic and dietary prognostic factors for canine mammary carcinoma, *Breast Cancer Research and Treatment*, 13: 49–60.
Silver, I.A., 1966, The anatomy of the mammary gland of the dog and cat, *Journal of Small Animal Practice*, 7: 689-696.
Simon, D.K., Knebel, J.W., Baumgartner, W., Aufderheide, M., Meyer-Lindenberg, A., Nolte, I., 2001, In vitro efficacy of chemotherapeutics as determined by 50% inhibitory concentration in cell cultures of mammary gland tumors obtained from dogs, *American Journal of Veterinary Research*, 62(11): 1825–30.
Simon, D., Schoenrock, D., Baumgartner, W., Nolte, I., 2006, Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumors in dog with doxorubicin and docetaxel, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20: 1184-1190.
Simpson, G.M., 1998, *BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*, Gloucester, UK.
Singer, J., Weichselbaumer, M., Stockner, T., Mechtcheriakova, D., Sobanov, Y., Bajna, E., Wrba, F., Horvat, R., Thalhammer, J.G., Willmann, M., Jensen-Jarolim, E., 2012, Comparative oncology: ErbB-1 and ErbB-2 homologues in canine cancer are susceptible to cetuximab and trastuzumab targeting, *Molecular Immunology*, 50: 200–9.
Sleeckx, N., de Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E.J., Van Ginneken, C., Van Brantegem, L., 2011, Canine mammary tumors, an overview, *Reproduction in Domestic Animals*, 46: 1112-1131.
Smith, W.L., DeWitt, D.L., Garavito, R.M., 2000, Cyclooxygenases: Structural, Cellular, and Molecular Biology, *Annual Review of Biochemistry*, 69: 145–82.
Sonnenschein, E.G., Glickman, L.T., Goldschmidt, M.H., McKee, L.J., 1991, Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study, *American Journal of Epidemiology*, 133: 694-703.
Sorenmo, K., 2003, Canine mammary gland tumors, *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33: 573–596.
Sorenmo, K.U., Rasotto, R., Zappulli, V., Goldschmidt, M.H., 2011, Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms, *Veterinary Pathology*, 48, 85–97.
Sorenmo, K.U., Worley, D.R., Goldschmidt, M.H., 2013, Tumors of the mammary gland, *Withrow&MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, In: Saunders D.V. (ed.), Philadelphia, PA: Saunders, 538–556.
Stierer, M., Rosen, H., Weber, R., Hanak, H., Spona, J., Tüchler, H., 1993, Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer: Correlation of histopathology and prognostic factors, *Annals of Surgery*, 218: 13–21.

Stovring, M., Moe, L., Glattre, E., 1997, A population based case-control study of canine mammary tumors and clinical use of medroxyprogesterone acetate, *APMIS*, 105(8): 590–6.
Stranberg, J.D. ve Goodman, D.G., 1974, Animal model of human disease: canine mammary neoplasia, *The American Journal of Pathology*, 75(1), 225-228.
Sturgeon, C.M., Lai, L.C., Duffy, M.J., 2009, Serum tumour markers: how to order and interpret them, *British Medical Journal*, 339: B3527.
Tamura, M., Sebastian, S., Gurates, B., Yang, S., Fang, Z., Bulun, S.E., 2002, Vascular Endothelial Growth Factor Up-Regulates Cyclooxygenase-2 Expression in Human Endothelial Cells, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(7): 3504-3507.
Tang, Y., Zhu, L., Li, Y., Ji, J., Li, J., Yuan, F., Wang, D., Chen, W., Huang, O., Chen, X., Wu, J., Shen, K., Loo, W.T.Y., Chow, L.W.C., 2012, Overexpression of epitethelial growth factor receptor (EGFR) predicts better response to neo-adjuvant chemotheraphy in patients with triple-negative breast cancer, *Journal of Translational Medicine*, 10: 1-7.
Taniyama, H., Kitamura, A., Kagawa, Y., Hirayama, K., Yoshino, T., Kamiya, S., 2000, Localized amyloidosis in canine mammary tumors, *Veterinary Pathology*, 37: 104-107.
Tateyama, S., Uchida, K., Hidaka, T., Hirao, M., Yamaguchi, R., 2001, Expression of bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumor, *Veterinary Pathology*, 38: 703-709.
Tavasoly, A., Golshahi, H., Rezaie, A., Farhadi, M., 2013, Classification and grading of canine malignant mammary tumors, *Veterinary Research Forum*, 4 (1) 25 – 30.
Taylor, G.N., Shabestari, L., Williams, J., Mays, C.W., Angus, W., McFarland, S., 1976, Mammary neoplasia in a closed Beagle colony, *Cancer Research*, 36: 2740–2743.
Thuroczy, J., Reisvaag, G.J.K., Perge, E., Tibold, A., Szilagyi, J., Balogh, L., 2007, Immunohistochemical detection of Progesterone and Cellular Proliferation in Canine Mammary Tumors, *Journal of Comparative Pathology*, 137: 122-129.
Tiemessen, I., 1989, Thoracic metastases of canine mammary gland tumors, *Veterinary Radiology*, 30 (6): 249-252.
Tokuda, E., Horimoto, Y., Arakawa, A., Himuro, T., Senuma, K., Nakai, K., Saito, M., 2017, Differences in Ki67 expressions between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy specimens might predict early recurrence of breast cancer, *Human Pathology*, 63 :40–5.
Topal, T., Öter, Ş., Korkmaz, A., 2009, Melatonin ve kanserle ilişkisi, *Genel Tıp Dergisi*, 19(3): 137-143.
Torres, C., Antileo, E., Epuñan, M.J., Pino, A.M., Valladares, L.E., Sierralta, W.D., 2008, A cyclic peptide derived from alpha fetoprotein inhibits the proliferative effects of EGF and estradiol in MCF7 cells, *Oncology Reports*, 19, 1597–1604.
Torres, C.G., 2009, *Antiproliferative Effect of a Cyclopeptide Derived from α-Fetoprotein on Canine Mammary Tumor Cells* (Ph.D. Thesis), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
Torres, C.G., Iturriaga, M.P., Cruz, P., 2021, Hormonal Carcinogenesis in Canine Mammary Cancer: Molecular Mechanisms of Estradiol Involved in Malignant Progression, *Animals*, 11(3), 608.
Tse, G.M.K., Lui, P.C.W., Vong, J.S.L., Lau, K.M., Putti, T.C., Karim, R., Scolyer, R.A., Lee, C.S., Yu, A.M.C., Ng, D.C.H., Tse, A.K.Y., Tan, P.H., 2009, Increased epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in malignant mammary phyllodes tumors, *Breast Cancer Research and Treatment*, 114: 441–448.
Tymchuk, C.N., Tessler, S.B., Barnard, R.J., 2001, Changes in sex hormonebinding globulin, insulin, and serum lipids in postmenopausal women on a low-fat high-fiber diet combined with exercise, *Nutrition and Cancer*, 38: 158–162.

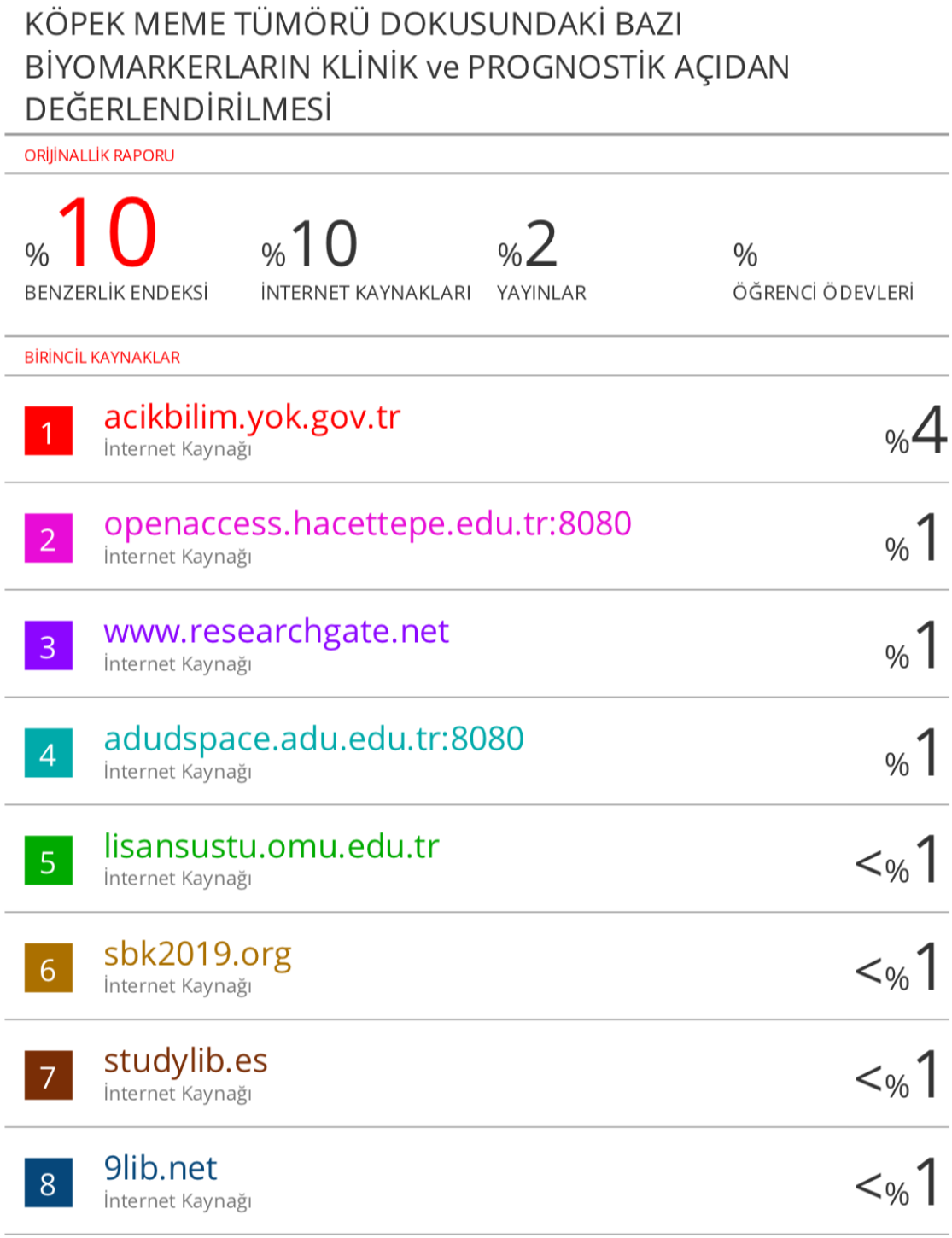
Überreiter, O., 1966, Einfluß von trächtigkeit und scheinträchtigkeit auf die entstehung von mammatumoren bei der hündin, *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 23: 451-456.
Valencakova-Agyagosova, A., Frischova, Z., Sevcikova, Z., Hajurka, J., Lepej, J., Szakallova, I., Kredatusova, G., Nagy, V., Ledecky, V., 2012, Determination of carcinoembryonic antigen and cancer antigen (CA 15-3) in bitches with tumours on mammary gland: preliminary report, *Veterinary and Comparative Oncology*, 12(3): 205-214.
Vascellari, M., Capello, K., Carminato, A., Zanardello, C., Baioni, E., Mutinelli, F., 2016, Incidence of mammary tumors in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy): Risk factors and similarities to human breast cancer, *Preventive Veterinary Medicine*, 126: 183–189.
Ventikaraman, A.R., 2002, Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2, *Cell*, 108: 171–182.
Vickery, B.H. ve Nestor, J.J., 1987, LHRH analogues: development and mechanism of action, *Seminars in Reproductive Endocrinology*, 5, 353-370.
Vogl, G., Bartel, H., Dietze, O., Hauser-Kronberger, C., 2006, HER2 is unlikely to be involved in directly regulating angiogenesis in human breast cancer, *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 14: 138–145.
Wehrend, A., Trasch, K., Marquardt, C., Bostedt, C., 2003, Früherkennung und präoperative Dignitätseinschätzung, *Kleintier Konkret*, 2: 14-18.
Wenbo, H., Gebre-Medhin, M., Gritli-Linde, A., Ohlsson, C., Isaksson, O.G., Tornell, J., 1997, Activation of the prolactin receptor but not the growth hormone receptor is important for induction of mammary tumours in transgenic mice, *Journal of Clinical Investigation*, 100(11): 2744–2751.
Wey, N., 1998, *Mammatumore bei der Hündin: kinische Verlaufsstudie (1995-1997) und hormonelle abhängigkeit unter besonderer berücksichtigung von 17b-östradiol und progesteron* (Ph.D. Thesis), Vet Med Diss Giessen.
Williams, L., 2003, Predictors of tumor response, *Proceedings North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, USA, 679-681.
Wu, A.H., Pike, M.C., Stram, D.O., 1999, Meta-analysis: dietary fat intake, serum estrogen levels, and the risk of breast cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 91: 529–534.
Yamagami, T., Kobayashi, T., Takahashi, K., Sugiyama, M., 1996, Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification, *Journal of Veterinary Medical Science*, 58 (11): 1079-1083.
Yoshikawa, Y., Morimatsu, M., Ochiai, K., Ishiguro-Oonuma, T., Wada, S., Orino, K., Watanabe, K., 2015, Reduced canine BRCA2 expression levels in mammary gland tumors, *BMC Veterinary Research*, 11: 159.
Zacchetti, A., Van Garderen, E., Teske, E., Nederbragt, H., Dierendonck, J.H., Rutteman, G.R., 2003, Validation of the use of proliferation markers in canine neoplastic and non-neoplastic tissues: comparison of Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression versus in vivo bromodeoxyuridine labelling by immunohistochemistry, *APMIS*, 111: 430–8.
Zafrani, B., Aubriot, M.H., Mouret, E., De Cremoux, P., De Rycke, Y., Nicolas, A., Boudou, E., Vincent-Salomon, A., Magdelénat, H., Sastre-Garau, X., 2000, High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases, *Histopathology*, 37: 536-545.
Zatloukal, J., Lorenzova, J., Tichy, F., Necas, A., Kecova, H., Kohout, P., 2005, Breed and age as risk factors for canine mammary tumours, *Acta Veterinaria Brno*, 74: 103-109.

Zuchi, T.L.V.L., Lopatini, C.L., Faria, J.L.M., 2021, Veterinary approaches to canine mammary tumors and knowledge of the consensus statement in Brazil, *Brazilian Journal of Veterinay Pathology*, 14(1), 24 – 28.

Zumkeller, W., 2001, IGFs and IGFBPs: surrogate markers for diagnosis and surveillance of tumor growth?, *Journal of Clinical and Molecular Pathology*, 54: 285–8.

Zwart, W., Theodorou, V., Carroll, J.S., 2011, Estrogen receptor-positive breast cancer: a multidisciplinary challenge, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 3(2):216-230.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



KÖPEK MEME TÜMÖRÜ DOKUSUNDAKİ BAZI BİYOMARKERLARIN KLİNİK ve PROGNOSTİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORİJİNALLİK RAPORU

%10	%10	%2	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%4
2	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
3	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	%1
4	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
5	lisansustu.omu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	sbk2019.org İnternet Kaynağı	<%1
7	studylib.es İnternet Kaynağı	<%1
8	9lib.net İnternet Kaynağı	<%1