



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZİ

KÖPEKLERDE MELANOSİTİK TÜMÖRLERİN HİSTOPATOLOJİK VE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ

MÜNCİ UTANCAK

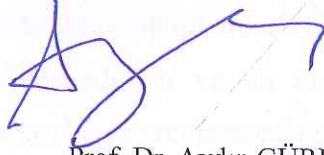
DANIŞMAN
PROF. DR. AYDIN GÜREL

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

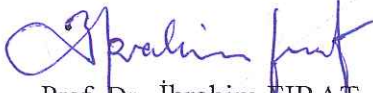
İSTANBUL-2019

Bu çalışma 31.05.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Patoloji Anabilim Dalı,
Patoloji Doktora Programı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

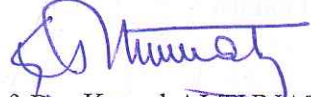
TEZ JÜRİSİ



Prof. Dr. Aydın GÜREL
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı



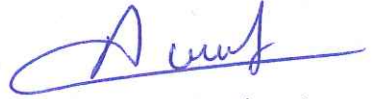
Prof. Dr. İbrahim FIRAT
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi Patoloji Abd.



Prof. Dr. Kemal ALTUNATMAZ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi Cerrahi Abd.



Prof. Dr. Gürsel SÖNMEZ
Uludağ Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji Abd.



Doç. Dr. Alper SEVİMLİ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji Abd.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Münci Utancak

İTHAF

Canım Anne'me...



TEŞEKKÜR

Sonsuz destekleri için tez danışmanım Prof. Dr. Aydın Gürel'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İbrahim Fırat'a, özellikle laboratuvar çalışmalarında ve her aşamada göstermiş olduğu yardımlardan dolayı Doç. Dr. Kıvılcım Sönmez'e, Prof. Dr. Ahmet Gülçubuk'a, Doç. Dr. Funda Yıldırım'a, Doç. Dr. Gülbin Şehnazlı'ya, Dr. Damla Haktanır'a, Dr. Gülay Yüzbaşıoğlu Öztürk'e, Dr. Özge Erdoğan Yamaç'a, Dr. Hazal Öztürk Bamaç'a ve Patoloji Anabilim Dalı Laborantı Sevgi Eren'e ve içten gelen desteklerini esirgemeyen diğer tüm Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, ve yol göstericiliğinden dolayı Prof. Dr. Tahsin Yeşildere'ye, Eşim Şenel Utancak'a ve tez yazım aşamasında hep yanımda olan Oğlum Berk Utancak'a yürekten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XİV
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DERİ	3
2.1.1. Epidermis	3
2.1.2. Melanosit.....	4
2.1.3. Melanin	5
2.2. DERİNİN NEOPLASTİK HASTALIKLARI	6
2.2.1. DERİNİN EKTODERMAL KÖKENLİ TÜMÖRLERİ.....	8
2.2.1.1. Epidermis Tümörleri	9
2.2.1.2. Epidermis Oluşumlarının Tümörleri	10
2.2.2. MEZODERMDEN KÖKEN ALAN TÜMÖRLER	11
2.2.2.1. Fibröz (lif) doku tümörleri	11
2.2.2.2. Düz kas ve iskelet kası tümörleri	12
2.2.2.3. Nöral ve perinöral tümörler.....	12
2.3. KÖPEKLERDE MELANOSİTİK TÜMÖRLER	13
2.3.1. Derinin Melanositik tümörleri	14
2.3.1.1. Melanositoma.....	15
2.3.1.2. Melanositoma-Akantoma	18
2.3.1.3. Melanoma (Malign Melanoma)	18
2.3.2. Melanositik Hiperplaziler- Lentigo.....	23

2.3.3. DERİ DIŞI MELANOSİTİK TÜMÖRLER	23
2.3.3.1. Ağız Melanomaları (Oral Melanoma).....	23
2.3.3.2. Göz ve Göz Kapağı Melanoması (Okuler melanoma).....	24
2.3.3.3. Subungual Malign Melanoma	25
2.3.4. MELANOSİTİK TÜMÖRLERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	26
2.3.5. MELANOSİTİK TÜMÖRLERDE IMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR.....	29
2.3.6. TANI.....	36
2.3.6.1. Sitopatolojik Yöntemler:.....	37
2.3.6.2. Histopatolojik yöntemler:.....	37
2.3.6.3. Immunohistokimyasal Yöntemler:.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Gereç	40
3.2. Yöntem.....	40
3.2.1. Doku Takibi ve Parafin Kesit Hazırlanışı	40
3.3. Immunohistokimyasal Boyama (İHK B).....	42
3.3.1. Kontrol Dokularının Boyanması	44
Pozitif Kontrol.....	44
Negatif Kontrol	44
3.3.2. İmmunreaksiyonların Değerlendirilmesi:.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Klinik Bulgular:	45
4.2. Hispatolojik Bulgular	48
4.2.1. Histopatolojik Bulgular ile ilgili Şekiller.....	55
4.3. İmmunhistokimyasal Bulgular:.....	66
4.3.1. İmmunohistokimyasal (Labelled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Boyama...71	
5. TARTIŞMA	93
KAYNAKLAR	103
HAM VERİLER	116
FORMLAR	117
ETİK KURUL KARARI	118
PATENT HAKKI İZİNİ	119
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	120

ÖZGEÇMİŞ.....121



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4.2-1 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Hispatolojik ve İHK- (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri	85
Tablo 4.2-2 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Hispatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri	86
Tablo 4.2-3 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Hispatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri	87
Tablo 4.2-4 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Hispatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri	88
Tablo 4.2-5 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Hispatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri	89
Tablo 4.2-6 Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonuçları	90
Tablo 4.2-7 Melanositik Tümörlerin İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Boyanması Sonuçları	91
Tablo 4.2-8 İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonucu Nonmelanositik Tümör Olarak Teşhis Edilen Olgular.....	92
Tablo 4.2-9 İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonucu Melanositik Tümör Olarak Teşhis Edilen Olgular.....	92

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.2-1 Kökenlerine göre deri tümörlerinin dağılımı	7
Şekil 2.2.1-1 Derinin Ektodermal Kökenli Tümörleri.....	8
Şekil 2.2.2-1 Mezodermden Köken Alan Tümörler	11
Şekil 2.3-1 Köpeklerde Melanositik Tümörler	14
Şekil 4.1-1 Melanositik Tümörlerin Cinsiyetlere Göre Dağılımı.....	46
Şekil 4.1-2 Melanositik Tümörlerin Yaşa Göre Dağılımı	46
Şekil 4.1-3 Melanositik Tümörlerin Lokalizasyonu	47
Şekil 4.1-4 Melanositik Tümörlerin Irklara Göre Dağılımı.....	48
Şekil 4.2.1-1 Tarsal Diz eklemi bölgesi deriden kitle, Melanositoma Tablo-4.3-3/23, H.E. 40x, Bar 50 µm . Epidermis dermis sınırında melanin taşıyan hücre birikimi – Junktional Melanositoma.....	55
Şekil 4.2.1-2 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/6, H.E. 20x, Bar: 100 µm. Mukozada kalınlaşma ve Submukozada bazıları melanin taşıyan atipik melanositik hücre yığılı.	55
Şekil 4.2.1-3 Ağız içi Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-4/40, H.E., 40x, Bar:50µm. Submukozada Fibrokollajenez doku içinde yaygın ve yoğun melanin pigmenti taşıyan veya taşımayan epiteloid ve spindle şekilli melanositik hücreler.	56
Şekil 4.2.1-4 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/4, H.E., 40x, Bar: 50µm. Submukozayı tamamen doldurmuş bazıları melanin pigmenti taşıyan epiteloid hücre odağı.....	56
Şekil 4.2.1-5 Ağız içi kitle , Amelanotik Melanoma, Tablo- 4.3-4/31. H.E, 40x, Bar: 20 µm. Epiteloid ve spindle melanositik hücre odağı ve içinde yaygın durumda nötrofil lökosit tipinde yangı hücreleri.	57
Şekil 4.2.1-6 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/6 H.E, 20x, 50µm Submukozada bazıları melanin pigmenti taşıyan epiteloid tipte melanositik hücreler. .	57
Şekil 4.2.1-7 Göz kapağından kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-4/37 H.E. 40x, Bar:20 µm. Çoğunun sitoplazmasında veya serbest olarak melanin bulunan yuvarlak veya spindle hücreli melanositler.	58
Şekil 4.2.1-8 Deriden alınan kitle, Subdermal Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/2, H.E. 20x, Bar: 50 µm. Atipik melanositik hücrelerin dermis kollegenini parçalaması.	58

Şekil 4.2.1-9 Deriden alınan Kitle, Subdermal Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/2, H.E. 10x, Bar: 100µm. Dermis içinde atipik hücreler diffuz olarak yayılmış, sağlam doku ile arasında bir sınır yok.....	59
Şekil 4.2.1-10 Subungual Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-5/42.H.E. 40x: Bar: 20µm. Çoğunluğu epiteloid yer yerde spindle şekilli atipik melanositik hücre yığını ve çok sayıda mitoz.	59
Şekil 4.2.1-11 Ağız mukozasından kitle, Amelanotik melanoma, Tablo-4.3-5/49. H.E. 40x, Bar: 20µm. Çoğunluğu spindle şekilli yoğun atipik melanositik hücreler , melanin pigmentasyonu yok.	60
Şekil 4.2.1-12 Diş Etinden Kitle, Amelanotik Melanoma,Tablo-4.3-2/18. H.E.40x, Bar: 20µm. Çoğunluğu yuvarlak şekilli atipik melanositik hücreler.	60
Şekil 4.2.1-13 Bacak Derisinden Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-2/19. H.E. 40x, Bar: 20µm. Ökromatik görünümde ve bazıları melanin taşıyan epiteloid tipte atipik melanositik hücreler.....	61
Şekil 4.2.1-14 Göz Kapağından Kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-4/37. H.E. 40x, Bar: 20 µm. Bazıları pigment taşıyan spindle ağırlıklı atipik hiperkromatik melanositik hücreler.	61
Şekil 4.2.1-15 Ağızdan kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/6, H.E. 40x, Bar: 20µm. Epiteloid hücrelerin çoğunlukta olduğu atipik melanositik hücreler ve çok sayıda sayıda mitoz yapıları	62
Şekil 4.2.1-16 Ağız içi kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-5/45. H.E. 100 x, Bar: 10µm. Epiteloid tipte melanositik hücreler ve mitoz.....	62
Şekil 4.2.1-17 Dudaktan Kitle, Undifferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-1/8. H.E. 20x, Bar: 50 µm. Spindle şekilli yoğun hücre yığınları. İHK sonucu; Amelanotik Melanoma	63
Şekil 4.2.1-18 Çene Altından Deriden kitle, Undifferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-1/10, H.E. 40x, Bar:20µm. Spindle-Oval şekilli yoğun hücre yığınları İHK; Amelanotik Melanom	63
Şekil 4.2.1-19 Deriden Kitle, Undifferansiye Karsinom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-2/14, H.E. 40x, 20µm. Atipik undifferansiye hücre yığını, İHK; Amelanotik Melanoma	64
Şekil 4.2.1-20 Göz kapağından alınan kitle, Sebasiyöz Epitelyoma-Malign Melanoma, Tablo-4.3-4/37. H.E. 20x, Bar: 50µm. Melanin içeren epitel benzeri hücreler.....	64

Şekil 4.2.1-21 Deriden Kitle, Malign Melanoma ,Tablo- 4.3-1/2. H.E: 10x, Bar: 100µm. Subdermal yerleşimli Nekroz alanları içeren yoğun pigment taşıyan atipik melanositik hücre yığına	65
Şekil 4.2.1-22 Deriden Kitle, Bazal Hücreli Karsinoma –Melanositoma, Tablo-4.3-2/15 H.E., Pigmentli, Pigmente Oval - Spindle şekilli undifferansiye hücreler. İHK; 40x, Bar: 20µm. Bazal Hücreli Karsinom	65
Şekil 4.3.1-1 Tarsal eklem hizası deriden kitle, Melanositoma, Tablo 4.3-3/23, Vimentin Ekspresyonu (+3), intrastoplazmik yerleşimli, Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP. 40x, Bar: 20 µm.	71
Şekil 4.3.1-2 Burun üstü deriden, Melanositoma,Tablo-4.3-4/35, Vimentin Ekspresyonu (+2), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20 µm.	71
Şekil 4.3.1-3 Deriden Kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-3/29, Vimentin ekspresyonu (+2). Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm. ...	72
Şekil 4.3.1-4 Deri altı kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/26, Vimentin Ekspresyonu (+1) Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz DAP 40x, Bar: 20µm	72
Şekil 4.3.1-5 Falanksdan kitle, Nörofibrosarkoma, Tablo-4.3-2/12,Vimentin ekspresyonu (-), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	73
Şekil 4.3.1-8 Diş Eti, Malign Melanoma Tablo 4.3-1/4, S-100 Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	74
Şekil 4.3.1-9 Arka bacak tarsal eklem deri kitle. Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/19, S-100 (+3), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm	75
Şekil 4.3.1-10 Ağız içinden kitle, Malign Melanoma. Tablo 4.3-2/16, S-100 (+2), Labeled Sreptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.	75
Şekil 4.3.1-11 Şekil 4.3.1 11 Alt dudak kenarı kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/24, S-100 (+1), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz DAP, 40x, Bar:20µm.....	76
Şekil 4.3.1-12 Göz skleradan, Melanositoma, Tablo 4.3-2/11 S-100 Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biyotin peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.	76
Şekil 4.3.1-13 Deriden kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-2/14, S-100 (+1), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	77
Şekil 4.3.1-14 Arka bacak sol falankstan kitle, Nörofibrosarkoma Tablo 4.3-2/12, S-100 (+3), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	77
Şekil 4.3.1-15 Sağ olekranon-deriden kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/2, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	78

Şekil 4.3.1-16 Diş etinden Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-2/18, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	78
Şekil 4.3.1-17 Göz kapağından kitle, Malign Melanoma Tablo 4.3-4/37, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	79
Şekil 4.3.1-18 Meme bölgesi deriden kitle, Melanositoma Tablo-4.3-3/22, MelanA (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	79
Şekil 4.3.1-19 Diş eti, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-5/45, MelanA (+1) sitoplazmik ve granuler MelanA ekspresyonu. Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 100x, Bar: 10µm.	80
Şekil 4.3.1-20 Ağız içi kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-5/50 MelanA (-), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 10x, Bar: 100µm.	80
Şekil 4.3.1-21 Gözden alınan kitle. Malign Melanoma, Tablo- 4.3-2/13, PNL2 (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.	81
Şekil 4.3.1-22 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/6, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	81
Şekil 4.3.1-23 Göz kapağı kitle. Malign Melanom, Tablo 4.3-4/37, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 20x, Bar: 50µm.	82
Şekil 4.3.1-24 Deriden kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/26, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.	82
Şekil 4.3.1-25 Diş etinden alınan kitle. Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/18, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.	83
Şekil 4.3.1-26 Ağız içi Kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/16, PNL2, (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.	83
Şekil 4.3.1-27 Alt Dudak Kenarı Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-3/24, PNL2 (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.	84
Şekil 4.3.1-28 Deriden kitle, Melanositoma, Tablo 4.3-2/20, PNL2, (+1), labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.	84

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AE: Akantamöz Epulis

AK: Adeno Karsinoma

AMM: Amelanotik Melanoma

BHK: Basal Hücreli Karsinoma

DM: Desmoplastik Melanoma

FOE: Fibromatöz Ossifiye Epulis

FS: FibroSarkom

H.E: Hematoksilen Eozin

İHK: İmmunohistokimya

KDET: Kötü diferansiye Epitelyal Tümör

M: Melanositoma

MM: Malign Melanoma

NFS: Neurofibrosarkom

MTE: Malign Trikoepiteliyoma

SK: Sebasiyöz Karsinoma

US: Undiferansiye Sarkom

ÜD: Ülseratif Dermatit

ÖZET

Utancak M. (2019). Köpeklerde Melanositik Tümörlerin Histopatolojik Ve Immunohistokimyasal Yöntemlerle Teşhisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Patoloji ABD. Doktora Tezi İstanbul.

Melanositik tümörler son yıllarda hayvanlarda en sık rastlanan kötü huylu tümörlerdendir. Köpeklerdeki melanositik tümörlerin histopatolojik olarak kesin tanısı, pigmentasyon durumu ve hücrelerin değişik yapıları nedeniyle zordur. Bu tümörler histopatolojik olarak karsinomalara, sarkomalara ve lenfoma gibi yuvarlak hücreli kötü differansiye tümörlere benzeyebilir. Melanomaları diğer tümörlerden ayırt etmede ve pigmentasyondan yoksun olan amelanotik tümörleri saptamak için günümüzde uygun antikor seçilerek yapılan immunohistokimyasal (İHK) boyama yöntemleri sıkça kullanılmaktadır. Bu kötü huylu ve agresif tümörlerin bir an önce teşhis edilmesi ve tedavisine başlanması için İHK antikorlara gereksinim vardır. Ülkemizde de bir çok immunohistokimyasal antikorlar değişik tümörlerin ayırıcı teşhisinde veteriner hekimlikte kullanılmaya başlamıştır. Bu çalışmada Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2'den oluşan İHK antikorları, melanositik tümörlerin teşhisinde kullandık. Amacımız; bu dört antikoru kullanarak melanomaların teşhisi için en duyarlı ve spesifik antikoru belirlemektir. Çalışmamızda 50 değişik yaş, cinsiyet ve ırktan köpeklerden alınan biyopsi ve nekropsi sonucu elde edilen melanositik ve nonmelanositik tümör ve tümör benzeri lezyonlardan alınmış dokular; histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemle (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) değerlendirildi. Bu incelemeler sonucunda saptanan 36 melanositik tümörün 18'i malign melanoma, 7'si melanositoma ve 11 tanesi de amelanotik melanoma olarak değerlendirildi. Bu melanositik tümörlere uygulanan İHK boyamaları sonucunda ise, Vimentin ile 36 melanositik tümörün 33'ünde ekspresyon saptandı, % 91,6 oranında pozitif sonuç verdi. Ancak çalışmada kullanılan hemen hemen tüm melanositik olmayan tümör ve lezyonlarında da ekspresyon olduğu için spesifik olarak değerlendirilmedi. S-100, 36 melanositik tümörün 30'unda eksprese oldu % 83,3 oranla bu çalışmada teşhisde kullanılan en düşük ekspresyon gösteren antikordu ve aynı zamanda melanositik olmayan tümörlerde de eksprese oldu. MelanA ise 36 melanositik tümörün 34'ünde ekspresyon saptandı % 94,4 gibi yüksek bir oranda pozitif etiketlemede bulundu. PNL2 antikoru ise, 36 melanositik tümörün 35'inde ekspresyon gerçekleştirdi, % 97,2 oranında diğer antikorlara nazaran duyarlılıkta ve spesifik açıdan daha başarılı bulundu. PNL2, bu kullanılan diğer antikorlara göre melanositik tümörleri teşhisde ve diğer melanositik olmayan tümörlerde ise negatif sonuç vermesi açısından, melanositik tümörler için önemli bir İHK antikoru ve markır olduğu saptandı. MelanA da aynı şekilde başarılı olarak bulundu. Spesifik olarak S-100'ün diğer antikorlara göre melanomaların teşhisinde, tek başına yeterli olmadığı görüldü. Vimentin ise nonmelanositik tümör ve lezyonlarında da eksprese olduğu için melanomaların tanısında yine tek başına başarısız bulundu.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Histopatoloji, İmmunohistokimya, Köpek, Melanoma.

ABSTRACT

Utancak M. (2019) The Diagnosis Of Melanocytic Tumors In Dogs With Histopathologic And Immunohistochemical Methods. Istanbul University Cerrahpaşa, Institute of Postgraduate Education. Department of Pathology. PhD Thesis. İstanbul

Melanocytic tumors are one of the most common malignant tumors in animals recently. The definitive diagnosis of melanocytic tumors in dogs is difficult due to the different structures of pigmentation and cells. These tumors may be histopathologically similar to carcinomas, sarcomas and badly differentiated round-cell tumors such as lymphoma. In order to distinguish melanomas from other tumors and detect amelanotic tumors that lack pigmentation, immunohistochemical (IHC) staining methods are frequently used. IHC antibodies are needed to diagnose and treat these malignant and aggressive tumors as soon as possible. That being said, many IHC antibodies have been used for the differential diagnosis of different species in veterinary medicine in Turkey. In this study; we used IHC antibodies Vimentin, S-100, MelanA and PNL2 for the diagnosis of melanocytic tumors. Our aim was to determine the most sensitive and specific antibody among these four antibodies for the diagnosis of melanomas. In our study, tissues from melanocytic, non-melanocytic tumors and tumor-like lesions obtained from biopsy and necropsy from 50 dogs with different age, sex and breed were evaluated with histopathological and IHC (Lab. StrA. Bio. Per.) methods. Among the 36 melanocytic tumors identified by the examinations mentioned, 18 were malignant melanoma, 7 were melanocytoma and 11 were amelanotic melanoma. As a result of IHC staining to these melanocytic tumors, vimentin produced a positive result of 91,6% by labeling 33 of 36 melanocytic tumors. However; it was not specific because it labeled almost all non-melanocytic tumors and lesions used in the study. S-100 had the lowest specificity among IHC antibodies used for diagnosis in this study, with a rate of 83,3%, expressing 30 of the melanocytic tumors; and at the same time, S-100 expressed non-melanocytic tumors as well. MelanA was positive in 34 of 36 melanocytic tumors and was found to be positive in 94,4%. PNL2 antibody performed positive immunostaining in 36 of 35 melanocytic tumors and was found to be 97,2% as more sensitive and more specific than the other antibodies. PNL2 was found as an important IHC antibody for melanomas in terms of recognizing melanomas compared to other markers and showing negative results in other non-melanocytic tumors. MelanA was also found to be successful. Specifically, S-100 was found to be the lowest rate in the diagnosis of melanomas compared to other markers, it was inadequate per se. Vimentin was unsuccessful in diagnosis of melanomas because it labeled non-melanocytic tumors and lesions as well.

Keywords: Antibody, Dog, Histopathology, Immunohistochemistry, Melanoma.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, bir doku ve organdaki hasarlı hücrelerin kontrolsüz olarak büyümesi ve çoğalmasıyla gelişen kitle veya tümör oluşumudur. Canlı vücudundaki herhangi bir hücrenin yaşamın bir döneminde, vücudun kontrolünden bağımsız olarak çoğalmasıyla ortaya çıkan, canlılık tarihi kadar eski bir hastalıktır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de insan ve hayvanlarda ölüm nedenlerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Günümüzde sanayileşmenin artışı ile beraber artan ve yoğunlaşan çevresel zararlı etkiler, gıdalarda katkı madde kullanımı ve yoğunluğun artması, artan ultraviyole, vb. zararlı etkenler, olaylar vb. sebepler ve yaşam sürelerinin uzamasına bağlı olarak gerek insanlarda gerekse onlarla aynı ortamlarda yaşayan hayvanlarda kanser insidansının arttığı bilimsel olarak kabul edilen bir gerçektir. Kanser insidansının artışı ile buna bağlı ölüm olayları da insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da önemli derecede artmıştır ve artmaktadır. İstatiksel çalışma sonuçlarına göre günümüzde insanlarda ölüm sebepleri olarak kalp hastalıklarından sonra ikinci sırayı kanserler almaktadır. Hayvanlarda bu konuda net bir istatiksel sonuca ulaşılmasına rağmen, bilimsel deneyimler ve literatür belgelerine dayalı olarak kansere bağlı hastalık, ekonomik kayıp ve ölüm insidansının oldukça yüksek olduğunu söylemek yanlış olmaz. İnsanlarla aynı ortamlarda yaşayan kedi, köpek başta olmak üzere tüm pet hayvanlarında hem yukardaki sebeplere hemde yaşam sürelerinin uzamasına bağlı olarak, bunlarda ölüm insidansında kanser vakalarının önemli bir yer tuttuğu söylenebilir (Kardinal ve Yarbrow 1979; Diamandopoulos 1996; Cullen ve ark. 2002; Gülçubuk ve Gürel 2003; Yumuşak 2012).

Genel olarak incelendiğinde evcil hayvanlar arasında tümör görülme oranı en yüksek hayvanlar köpek ve kedilerdir. Bununla beraber köpekler evcil hayvanlar içerisinde en çok tümör görülen hayvan grubunu oluşturur (Cotchin 1972; Gülçubuk ve Gürel 2003; Goldschmidt ve Hendrick 2008; Jasik ve ark. 2009).

Melanositik kökenli neoplaziler, başlıca deri olmak üzere ağız boşluğu, subungual bölge, göz-göz kapağı çoğunlukla olmak üzere, vücudun değişik bölgelerinde gelişen ve çoğunlukla malign karakterde olan ve prognozları çok iyi olmayan kanser türleridir. Bunlar melanin pigmenti yapan melanositik hücrelerden köken alan ayrı bir kanser grubunu oluştururlar. Kendi içinde farklı alt gruplara ayrılan bu tip neoplazilerin teşhisinde histopatolojik incelemeler çoğu zaman yeterli olmaktadır. Ancak melanositik tümörlerin bazı malign tipleri ve özellikle melanin pigmenti üretmeyen ve amelanotik

melanoma olarak isimlendirilen melanoma tipi ve bazı diğer melanoma tipleri ayırımında histopatolojik teşhis yeterli olmamaktadır. Bu tip tümörler bazı mezenşimal veya epiteliyal kökenli tümörler yada melanosit yoğunluğu fazla olan diğer patolojik lezyonlar ile karıştırılabilmektedir (Banerjee ve Harris 2000; Goldschmidt ve Hendrick 2008). Bu tür vakalarda ayırım için melanomaları ayırıcı özelliğe sahip bazı antikorlar kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapılması gerekmektedir (Berrington ve ark. 1994; Busam ve ark. 1998; Ramos-Vara 2000; ve Rochaix ve ark. 2003). Bu nedenle sunulan bu doktora tez çalışmasında fakülte kliniklerinde ve çevre kliniklerde köpeklerde deriden, ağız boşluğu, göz ve subungual bölgeden alınan ve teşhis amacıyla gönderilen 50 farklı tümör materyallerinin histopatolojik olarak incelenmesi yapıldı. Histopatolojik inceleme sonucunda melanositik kökenli olduğu veya olabileceği düşünülen 50 vaka, ayrıca daha önce insanlarda ve bazı hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda değişik melanositik tümörlerin ayırıcı tanısında kullanılabileceği belirtilen, Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 tümör markırları kullanılarak immunohistokimyasal (İHK) yöntemler ile (Labeled) Streptavidin Biotin Peroksidaz Kompleks Tekniği ile boyanmıştır. Bu yolla gönderilen materyallerin histopatolojik tanısı yapılacak, ayrıca histopatolojik yöntemle kesin melanoma tanısı konulan veya melanositik kökenli tümör olabileceği düşünülen aynı tümöral materyaller Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 tümör markırları ile İHK yöntemle boyanarak, tümörlerin, bu markırlarla boyanma özelliğine göre kesin teşhis yapılacaktır. Ayrıca kullanılan tümör markırlarının boyanma özelliklerine göre bu markırların melanositik tümörlerin ayırıcı ve kesin teşhisinde, belirleyici bir markır olup olmadığı araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Çalışmamızın ana konusunu oluşturan melanositik tümörlerin en fazla geliştiği organ deri olduğu için ve köpeklerde deri ve eklenti bezlerinde farklı yapıda bazı hem epitelyal hemde mezenşimal kökenli tümörler histopatolojik teşhiste melanositik kökenli tümörler ile karıştırılabileceği için, deri ve deride gelişebilen diğer tümör vakaları hakkında da kısa bir genel bilgi verilme gereği duyulmuştur.

2.1. DERİ

2.1.1. Epidermis

Epidermis, epidermisin ana hücre tipi olan keratinosit'in morfolojisi temelinde tabakalara ayrılır. Tüylü deri epidermisi 4 ana tabakadan oluşur: *stratum corneum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* ve *stratum basale*. Tüysüz deri epidermisi ise; 5 tabakadan oluşur, beşinci tabaka *stratum granulosum* ve *stratum corneum* arasında bulunan *stratum lucidum*'dur (Zachary ve McGavin 2013). Keratinositler epidermiste *stratum basale* deki germinal hücrelerden meydana gelirler, epidermisin tabakalarından yukarı çıkarlar, ve *stratum corneum* ulaşarak tamamiyle keratinleşip ölü keratinositler olana kadar her tabakada görünüşleri ve diğer karakteristik özellikleri değişir (Zappi ve Zappi 2012). Keratinositler sürekli olarak *stratum corneumdan* akarlar. Bir keratinositin *stratum basaleden stratum corneum* akmasının süresi ortalama olarak 1 aydır, buna karşın bu zaman birincil sebore (klinik olarak dökülme özellikli) gibi hastalıklar nedeniyle hızlanabilir (Zachary ve McGavin 2013).

Epidermisin en dışındaki tabakası *stratum corneum*'dur, bu tabaka çok sayıda düz, keratinize olmuş, (saç dokusu) hücreleri yani keratinositleri içerir. Keratin; epidermisin sertliğinden sorumlu, epidermiste bir çeşit bariyer yapan hücre içi fibroz proteindir. Bir sonraki tabaka *stratum granulosum*'dur, bu tabaka basofilik keratohyalin granüllü hücrelerden oluşur. Tüysüz derilerde *stratum corneum* ve *stratum granulosum* tamamiyle keratinize edilmiş, sıkıştırılmış hücrelerden oluşan *stratum lucidum* tarafından ikiye bölünür, bu bölüm en iyi pati altında görülür (Zachary ve McGavin). *Stratum granulosumun* altında *stratum spinosum* bulunur, polihedral biçimli hücrelerin dezmozomlar tarafından birbirine bağlanarak oluşturduğu bir tabakadır. Fiksasyon ve mikroskopik inceleme sırasında *stratum spinosum* hücreleri, dezmozomal bağlantı haricinde, daralır. Bu bağlantılar hücreler arası köprü görüntüsünü oluşturur ve bu tabakaya adını verir. Bu köprülerin görülebilme olasılığı, epidermiste hücrelerarası bir

ödem oluştuğunda artar. Tüylü bölgelerdeki *stratum sponuzum* köpeklerde ve kedilerde daha ince, atlarda, büyükbaşlarda ve domuzlarda daha kalındır (Zachary ve Mc Gavin 2013). En içteki tabaka germinal tabaka ya da *stratum basale*dir, burası küp şeklindeki hücrelerin zemin zarına dağıldığı tek bir tabakadan oluşur. Bazal hücre tabakasında birbirine karışan melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücreleri bulunur. Epidermiste normal melanositlerin ortalaması, 40 bazal hücrede 1 dir (Baba ve Catoi 2007).

Embriyolojik olarak nöral krest hücrelerinden köken alan melanositler, *stratum spinosumun* alt tabakalarında da görülebilirler, ve deriye, saç rengini veren melanin pigmentini üretirler (Zachary ve McGavin 2013). Melanositik granüller, hücre çekirdeğini UV ışınlarından ve uyarılmış yaralanmalardan korumak için çekirdek ve derinin dış yüzeyi arasında şapka benzeri salkım granüller biçimindeki keratinositlere, dönüştürler ve yayılırlar (Aleksic ve ark. 2005; Baba ve Catoi 2007; Ragnarsson 2011). Langerhans hücreleri hassaslaştırılmış T lenfositlerinde, antijenleri işleyen ve gösteren ve bu sayede derinin immunolojik tepkilerini hafifleten, kemik iliğinden de üretilen hücrelerdir. Langerhans hücreleri epidermisen bazal, spinöz ve granüler tabakalarında görülürler ama suprabazal pozisyonu tercih ederler. Merkel hücreleri bazal tabakadadır ve keratinositlere dezmozomal bileşiklere katılırlar. Merkel hücreleri tüylü ve tüysüz deride özellikle dokusal hassaslığın yüksek olduğu vücut bölümlerinde (dil) ve tüy foliküllerinin dış bölümünde bulunurlar (Zappi ve Zappi 2012).

2.1.2. Melanosit

Embriyolojik sinir krest hücrelerinden elde edilen melanositler, epidermisen bazalında veya kıl folliküllerinde, *stratum basale*de bulunur (Raskin ve Meyer 2015). Melanositler derinin ve saçların rengini veren melanin pigmentinin sentezlendiği hücrelerdir. Melanositler fenotipik olarak belirgindir ancak histolojik olarak göze çarpmayan cilt hücreleridir. Derinin ve saçın pigmentasyonundan sorumludurlar ve böylece cildin görünümüne katkıda bulunurlar. UV ışın radyasyonu, insanlardaki melanositik tümörlerin gelişmesinde önemli bir rol oynar. Ancak kedi ve köpekleri bu ışınların zararından tüy örtüsü koruduğu için UV ışınından dolayı melanositik tümör bu hayvanlarda görülmez. Melanin, pigmentli deride çok sayıda bulunur (Gross ve ark. 2008). Pigmentli olmayan deride ise ya çok azdır yada hiç yoktur. Melanositler beyaz renkli olmayan hayvanların kıl folliküllerinde de çok fazla sayıda görülür. Bu pigment siyaha çalan koyu kahverengindedir (Lin ve Fischer 2007). Melanositler nöroektodermal hücrelerdir, cenin gelişirken, melanoblastlar nörokresten epidermis ve

saç haznesine göç ederler ki burada olgun hücelere dönüşürler. Bu olayın oluşması henüz tanımlanmamıştır (Sulaimon ve Kitchell 2003). Bu göç esnasında bazı melanoblastlar dermiste kalarak dermal melanositlere dönüşürler. Bundan dolayı melanositik tümörler epidermisteki, dermisteki veya adneksadaki melanositlerden meydana gelebilirler (Gross ve ark. 2008).

İntraepidermal neoplastik melanositlerden E-cadherinin ekspresyonu yapılırken dermal tümör hücrelerinde bu ekspresyon yoktur. Bundan dolayı E-cadherin immunohistokimyasal olarak dermal melanositik tümörlerin tanısında kullanılamaz. Melanositler, melanosomes (melanozom), melanin granülleri ve tirozinase içerirler. Bunlar ayrıca S-100, T hücreleri tarafından tanınan melanoma-ortaklı MelanA- Mart-1, Mitf-m, Tirozinaz enzimi, gp100, HMB-45 immunohistokimyasal antikorları tarafından da eksprese edilirler (Busam ve ark. 1998; Jungbluth ve ark. 1998; Orchard 2000). Dermal melanositleri, melanofajlar olarak adlandırılan melanin-fagositize edici histiyositlerden ayırmak gerekir. Melanofajlar genellikle hızla çoğalan melanositlerle karışır. Melanositler ince dağılmış melanin granülleri içerirken, melanofajlar değişik boyutlarda fagositlenmiş kaba melanin granülleri ile tanınır. (Gross ve ark. 2008). Dermisteki tümör melanositleri sıklıkla damarlar veya sinirler etrafında, fibroblast ve histiyositleri olan bir kollajen kütlesi halinde gruplanır. Melanositlerin lenfatik ve intravasküler varlığı, yüksek malignite belirtisidir (Goldschmidt ve ark. 1998; Baba ve Catoi 2007).

2.1.3. Melanin

Melanin pigmentleri, koyu kahve veya siyah renkte olup saçın, derinin ve gözlerin renklenmesinden sorumludurlar. Ayrıca foto koruma açısından önemli bir role sahiptirler. Melanin; nöral krestteki melanoblastlardan oluşmuş dentrik hücreler olan melanositlerden sentezlenir (Zachary ve McGavin 2013). Melanoblastlar nöral krestte gelişir ve epidermin bazal ve alt spinöz tabakaları, kıl folikülleri ve dermis dahil olmak üzere periferik bölgelere göç ederler. Melanoblastlar melanositlere dönüşürler, melanozom ve melaninle sentezlenirler. Bakır içeren bir enzim olan tirozinaz, melanin sentezinde kritik bir rol oynar (Zachary ve McGavin 2013). Melaninin oluşumunda herhangi bir aşamada meydana gelecek bir genetik mutasyon kalıtsal hipopigmentasyona neden olabilir. İltihap, UVR, endokrinopatiler, otoimmün hastalıklar ve beslenme durumu gibi dış kaynaklı etkiler, derideki melanositleri etkileyebilir; bunun sonucunda sonradan kazanılan hipopigmentasyon ya da hiperpigmentasyon olabilir. Bunları *Chediak-Higsaki Sendromu*, *Renk Mutant*

(seyreltme), alopesi, kedilerde *Maltese Seyrelmesi*, *Doberman Pincher* ve *Rotweillerlar'da lökoderma veya lökotricha*, siyam kedilerinde *perioküler lökotricha*, ve *Arabian Fading Sendromu* gibi bazı hastalıklarla örnekleyebiliriz. Depigmentasyonlu immun aracılı hastalıklar, lupus eritamosus ve uvea dermatolojik sendromu benzer hastalıkları içerir. Melaninin tek üretim yeri melanositlerdir ama derideki komşu bazal hücreler (örneğin çillerde) ve dermal makrofajlar da bu pigmenti biriktirebilir (Sulaimon ve Kitchell 2003; Baba ve Catoi 2007; Zachary ve McGavin 2013).

2.2. DERİNİN NEOPLASTİK HASTALIKLARI

Deri tümörleri köpek, kedi at ve sığırlarda sıklıkla görülen (Baba ve Catoi 2007; Gross ve ark. 2008; Nishiya ve ark. 2016), köpeklerde ise fazla rastlanan tümörlerdir (Goldschmidt ve ark. 1998). Deri tümörlerinin sınıflandırılması, hayvan türleri, ırkları, derinin yapısal ve fizyolojik özelliklerine göre yapılır. Primer deri tümörleri ektodermal ve mezodermal kökenli olur. Ektodermal kökenli tümörler, epidermisin ve epidermal oluşumların tümörleri olarak ikiye ayrılır. Mezodermal kökenli tümörler ise dermisin yapısını oluşturan, fibroz doku, kas, yağ, damar ve dermisteki histiyositler, mast hücreleri, lenfositlere ait tümörler olarak gruplandırılırlar (Goldschmidt ve Shofer 1992; Baba ve Catoi 2007). Melanositik tümörler ise bunlardan ayrı olarak değerlendirilir (Şekil 2.3-1). Ektodermal ve epidermal tümörler genellikle iyi huyludurlar. Mezodermal tümörler ise aksine kötü huylu infiltratif olarak büyürler ve metastaz yaparlar (Baba ve Catoi 2007).

Köpeklerde gelişen tümör tiplerine ilgili çok sayıda istatistiksel çalışmalar yapılmıştır (Goldschmidt ve ark 1998; Baba ve Catoi 2007). Bu çalışmalarda sistem, organ, dokular yanında hastanın yaşı, cinsiyeti ve ırkı gibi değişik özelliklerde dikkate alınmıştır. Tüm canlılarda olduğu gibi, köpeklerde de her yaşta tümör gelişebilmesine rağmen, bu türlerde de yaşın ilerlemesiyle tümör gelişme oranı artar. Genç yaşlarda daha çok iyi huylu tümörler (benign) gelişirken, yaşın ilerlemesiyle beraber kötü huylu (malign) tümör oluşum oranı artar (Cotchin 1972; Bolon ve ark 1990; Ramos-Vara ve ark 2000; Cullen ve ark. 2002; Sanchez ve ark. 2007; Smedley ve ark. 2011).

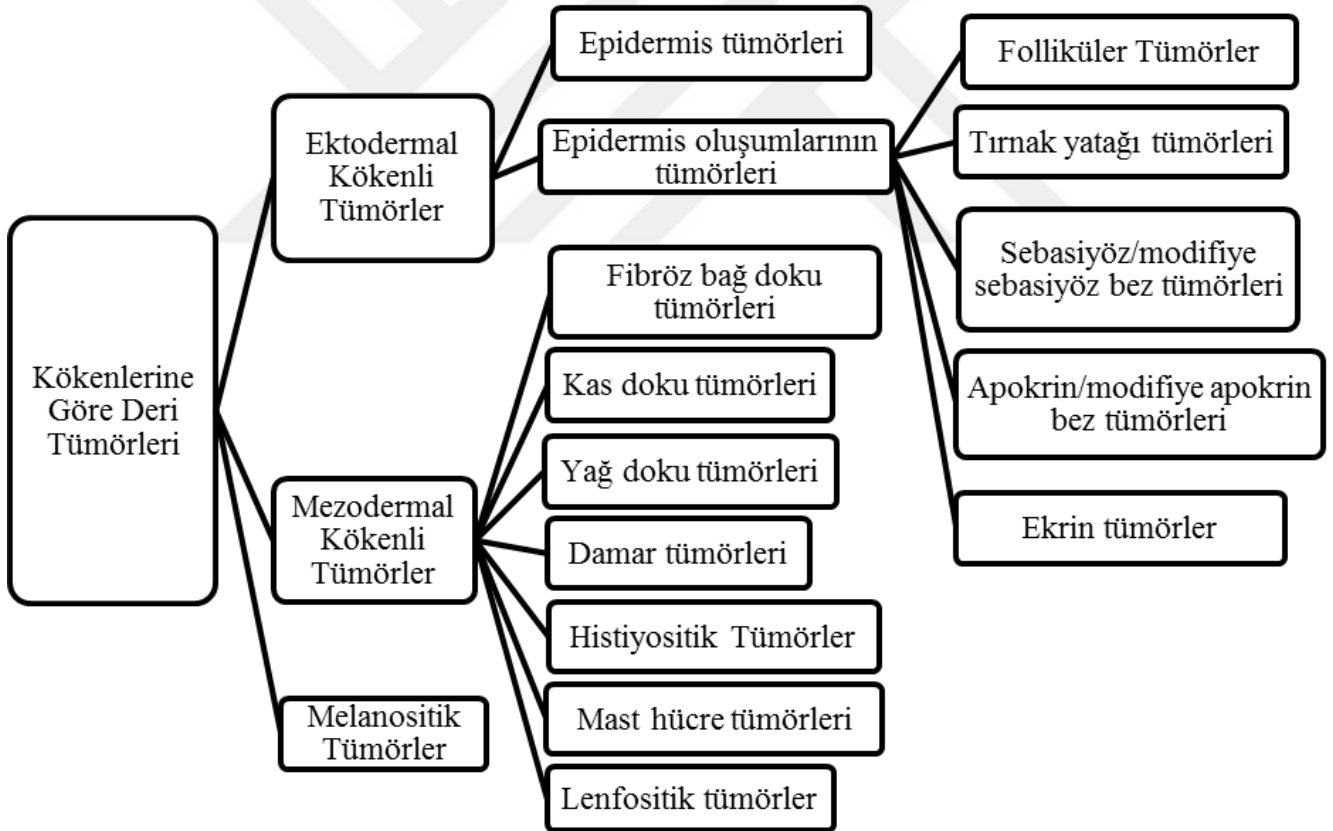
Köpeklerde sistem ve organlara göre tümör gelişimine ilgili istatistiksel çalışmalarda, bu türlerde en fazla tümörün meme ve genital organlarda, ikinci sırada ise deri ve eklenti bezlerinde geliştiği saptanmıştır. Bu konuda Sönmez ve Özmen (1996), 1988-1996 yılları arasında Bursa yöresinde 89 köpekte tespit ettikleri tümör olgularının % 47,2 sinin meme ve dişi genital sistemde, % 20,3'ünü deri ve eklenti bezlerinde, % 19,1 ini ise erkek genital sistemde, % 5,6 sını sindirim sisteminde saptadıklarını

bildirmişlerdir. Gülçubuk ve Gürel (2003) tarafından yapılan İstanbul bölgesinde yaşayan 182 köpeği içeren bir çalışmada ise, en fazla tümör gelişiminin % 40,10' da meme ve dişi genital sistemde saptandığını, bunu % 31,34' ile deri ve eklentilerinin ve % 7,14 ile sindirim sisteminin izlediğini bildirmişlerdir. Yukarıda verilen örneklerden de anlaşılacağı gibi köpeklerde, deri ve eklenti bezleri en sık tümör gelişen ikinci organ sistemini oluşturmaktadır.

Köpeklerde Deri ve Eklenti bezlerinde gelişen tümör tipleri kökenlerine göre farklı gruplara ayrılır . Bunlar şematik olarak Şekil 2.2-1 de verilmiştir.

Kökenlerine göre deri tümörlerinin dağılımı

Şekil 2.1.3-1 Kökenlerine göre deri tümörlerinin dağılımı



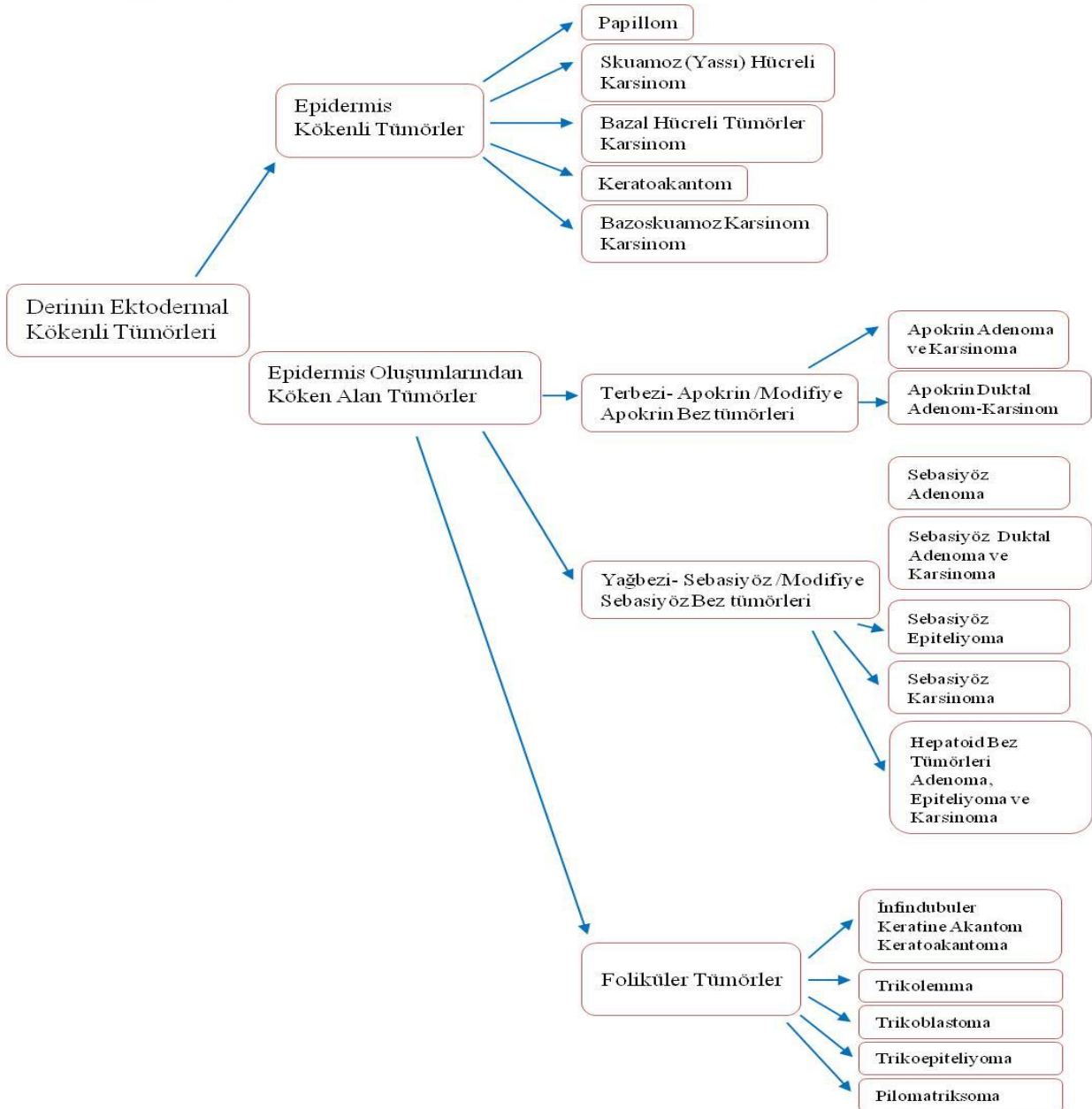
Deriden köken alan Ektodermal ve Mezodermal kökenli tümöral gelişimler de kökenlerine göre çok sayıda alt gruba ayrılırlar (Goldschmidt ve Shofer 1992; Baba ve Catoi 2007). Bu gruplara giren tümörleri tek tek açıklamanın çok yer kaplayacağı ve çalışma ile direkt ilişkisi olmadığı için şematik olarak verip, sadece histopatolojik değerlendirme sırasında melanositik tümörlerle karıştırılabilme olasılığı olan, deride

gelişen bazı tümörler hakkında başlıklar halinde kısa bilgiler vermenin daha doğru olacağını düşündük.

2.2.1. DERİNİN EKTODERMAL KÖKENLİ TÜMÖRLERİ

Bu grup içinde derinin ektoderm katında bulunan histolojik yapılardan köken alan tümörler yer alır. Bu da kendi içinde epidermis tümörleri ve epidermis oluşumlarından köken alan tümörler olarak iki ana grupta incelenir. Şekil 2.2.1-1 de detaylı bir şekilde verilmiştir.

Şekil 2.2.1-1 Derinin Ektodermal Kökenli Tümörleri



2.2.1.1. Epidermis Tümörleri

Papilloma

Papillom çok katlı yassı epitel hücrelerden köken alan iyi huylu bir tümördür. Köpeklerde genellikle deride, ağız içinde ve çevresinde bulunmaktadır. Genç köpeklerde çok sayıda oral papillom, her yaşta köpekte gözlenen soliter kutan papillomlar, göz kapağı ya da konjunktival papillomlar ve sarkoid benzeri fibropapillomlar görülmektedir (Campbell ve ark. 1988; Gross ve ark. 2008). Papillomların özellikle ağız içinde ve göz kapaklarında gelişen ve fazla melanin pigmenti kapsayan tipleri mikroskopik incelemelerde melanositik tümörle karıştırılabilir (Gross ve ark. 2008).

Yassı Hücreli Karsinoma

Yassı hücre karsinomu evcil hayvanlarda özellikle köpeklerde sıkça görülen, yersel invaziv ve bazende metastaz yapan bir tümördür (Hnilica 2001). Çok katlı yassı epitelin stratum spinosum hücrelerinden köken alan kötü huylu bir tümördür. Bu tümörlere neden olan en önemli karsinojen, güneş ışığıdır. Uzun süre güneş ışığına maruz kalan köpeklerin tüysüz deri bölgelerinde özellikle pigmentsiz kısımlarında yassı hücre karsinomuna rastlanmaktadır. Bunlarda da özellikle iyi differansiye bazı tiplerinde içerdikleri melanin oranı yüksek olduğu durumlarda, kutanöz melanomalar ile karıştırılabilir (Gross ve ark. 2008).

Bazal Hücre Tümörü (Epitelyoma)

Normal epidermisin bazal hücre tabakasını oluşturan hücrelerin iyi huylu neoplastik yayılmasıdır ve köpek ve kedilerde yaygın şekilde rastlanmaktadır (Miller ve ark. 2013). Bazal hücre tümörü kısmen fibröz stromadan ve bazal tümör hücrelerinden oluşan dermal bir kütledir. Bu dermal tümör bazen üst epidermisle bağlantı içinde olabilir. Neoplastik hücreler hem küçük ve yuvarlak hemde polyhedral olabilirler, az sitoplazmaya ve oval çekirdeğe sahiptirler az ölçüde çekirdeksel pleomorfizm ve çeşitli mitotik aktivite gösterir. Melonafajlar stromada ve tümörün ortasında, melanin pigmenti de tümör hücrelerinin sitoplazmaları içinde görülebilir (Gross ve Ark. 2008).

Bazal hücreli karsinoma

Normal epidermisin veya eklenti bezlerinin bazal hücre tabakasındaki bazal hücrelerinden köken alan kötü huylu, kedi ve köpeklerde sıkça görülen tümörlere dendir. Köpeklerde tüm tümörler içersinde oranı % 5-10'dur (Memije ve ark. 2014). Bu tip karsinomlarda bazı durumlarda tümöral hücreler içerisinde melanin taşıyan melanositik hücreler ve serbest melanin pigment birikimleri fazlaca görülür ve bu yönüyle

histopatolojik incelemelerde melanositik tümörlerle karıştırılabilirler (Banerjee ve Harris 2000).

Bazoskuamoz karsinoma

Odaksal veya folliküler skuamoz differensiyasyon odakları içeren bazal hücrelerden oluşan düşük gradeli bir tümördür (Miller ve ark. 2013). Tümör dermise invaze olur ve işgal eder ve epidermis ile bağlantılı olabilir. Çevrede bazaloid hücreler vardır ama lobüllerin merkezindeki hücreler keratinizasyon gösterirler. Keratinize hücreler atipik özellik gösterebilir. Periferik (çevrede) bazaloid hücrelerde melanin bulunabilir (Gross ve ark. 2008).

2.2.1.2. Epidermis Oluşumlarının Tümörleri

Ter (Apokrin) bezi tümörleri

Ter bezleri geleneksel olarak apokrin ya da ekrin (merokrin) olarak ayrılmışlardır bunun temelinde de salgılama modu, morfolojileri ve anatomik dağılımları vardır (Goldschmidt ve Shofer 1992).

Apokrin adenokarsinoma

Apokrin bezlerin duktal epiteline differensiyasyon izlenen tümör hücrelerinden oluşmuş malign karakterde ter bezi tümörüdür. Bu tip tümörlerin özellikle malignitesi yüksek olanlar hücresel yapı ve görünümleri itibarıyla amelanotik melanomalar ile karıştırılabilir (Banerjee ve Harris 2000).

Kompleks ve miks apokrin karsinoma

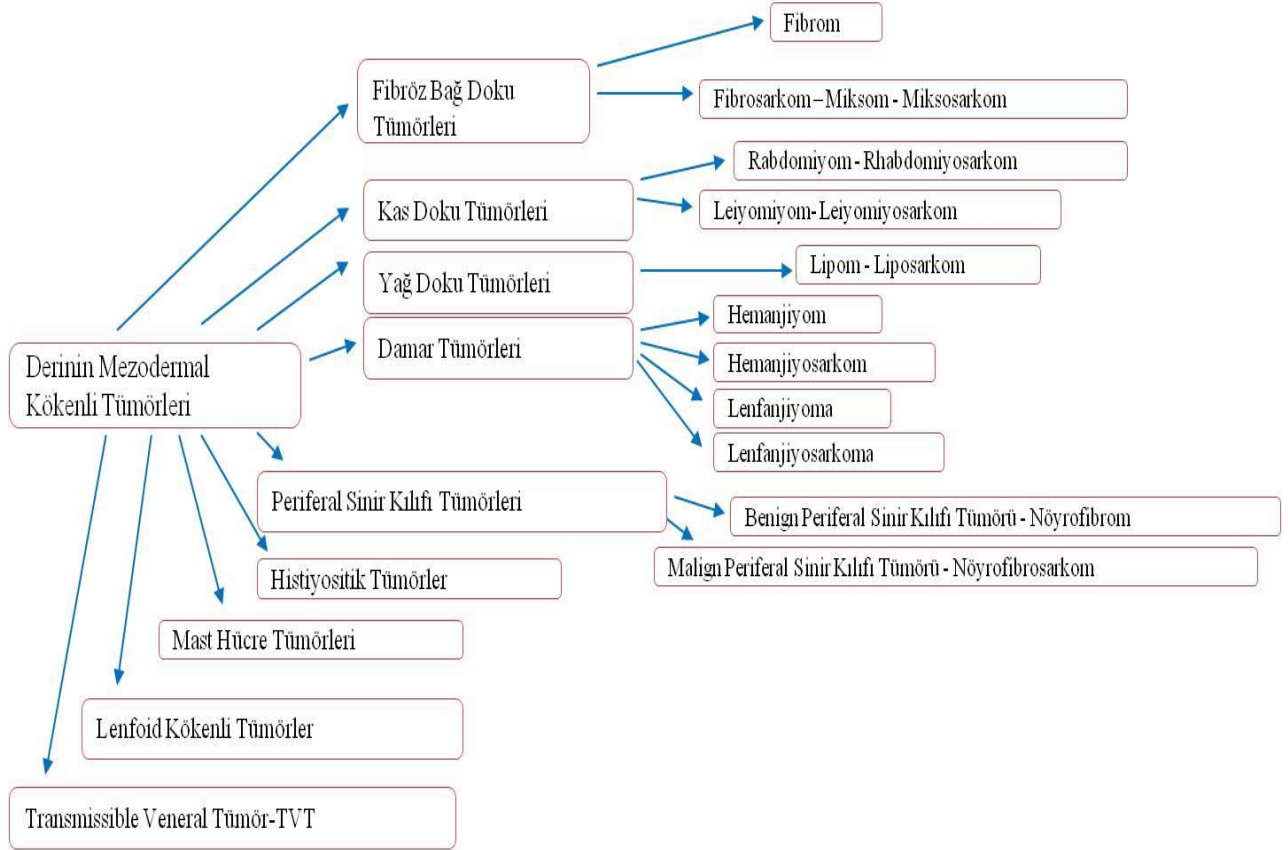
Kompleks (birleşik) apokrin tümörlerinde glandular ve miyoepitelial hücrelerde malign karakterde proliferasyon izlenir. Bu tip apokrin tümörlerde miyoepitel kökenli kıkırdak veya kemiğe metaplazi gelişebilir (Gross ve ark 2008).

Ekrin karsinoma

Ekrin bezlerin salgı epitellerinin differensiyasyonu ile oluşan kötü huylu tümörlerdir. Bunların anatomik dağılımı köpeklerde patilerle sınırlıdır. Bu bölgede gelişen bu tip tümörler gerek hücresel kriterler, gerekse melanin pigmenti içermesi yönüyle, patilerde sık gelişen melanositik kökenli tümörler ile histopatolojik incelemelerde karıştırılabilir (Tong ve ark. 2009).

2.2.2. MEZODERMDEN KÖKEN ALAN TÜMÖRLER

Şekil 2.2.2-1 Mezodermden Köken Alan Tümörler



2.2.2.1. Fibröz (lif) doku tümörleri

Köpeklerde ve Kedilerde deri ve değişik organlarda sıklıkla gelişen ve görülen iyi ve kötü huylu tümörlerdir. Fibröz konnektif dokular fibrosit, fibroblastlar ve hücrel matriks'ten oluşur. Bu grup içerisinde bir çok tümör histopatolojik incelemelerde, hücrel kriterler açısından özellikle amelanotik melanomalar ile karıştırılabilir (Gross ve ark. 2008).

Fibrosarkom

Fibrosarkom, fibrosit ve fibroblastlardan gelişen kötü huylu neoplazmadır, değişen miktarlarda kollagen içerirler. Kedilerde ve köpeklerde sıklıkla meydana gelirler, değişik biçimleri foliküler, papiller kökenli fibrosarkom, keloidal fibrosarkom ve myofibroblastik sarkomalar dahil olmak üzere değişik tipleri tanımlanmıştır. Kedilerde aşı yeri sarkomu sıkça izlenen tiplerindendir, bu tümör oldukça agresiftir ve sıkça nüks eder (Baba ve Catoi 2007).

Malign Fibröz Histiyositoma

Çoğunlukla köpek ve kedilerde görülen bir tümördür. Bunlar *post vaccinal sarkoma* olarak bilinir. Çoğunlukla primitif mezenşimal hücrelerden köken olan fibroblastik/miyofibroblastik fenotipte çok sayıda hücre içeren kötü huylu tümördür. Storiform/pleomorfik, yangısal ve dev hücreli tipleri vardır. Bu tip tümörlerde özellikle deride gelişen ve epitelooid veya spindle hücreli amelanotik melanomlar ile karıştırılabilir (Goldschmidt ve Hendrick 2008).

2.2.2.2. Düz kas ve iskelet kası tümörleri

Derideki kas tümörleri genellikle düz kaslardan oluşurlar, ve leiomyoma ve leiomyosarkoma olarak tanımlanmıştır. İskelet kas kökenli yayılmaları ise, iskelet kas hamartoma, rhabdomyoma ve rhabdomyosarkomadır. Rhabdomyoma hariç bu tümörlerin hepsi kedilerde ve/veya köpeklerde gözlemlenmiştir (Gross ve ark. 2008).

Leiomyoma ve Leiomyosarkoma

Leyomyoma düz kasların iyi huylu, leyomyosarkomada kötü huylu tümörleridir (Gross ve ark. 2008).

Rabdomiyosarkoma

Çizgili kasın malign karakterde tümörleridir. Rabdomiyosarkomalar özellikle kedilerde görülür Gross ve ark. 2008 ()).

2.2.2.3. Nöral ve perinöral tümörler

Sinirler ve sinir kılıf hücreleri nöroektoderm ve nöral krestten oluşurlar. Periferik sinir kılıflarını şekillendiren hücreler kolajen üretebilirler ve fibroblastlara benzeyen karakteristiklere sahiptirler (Gross ve ark. 2008). Periferik sinir kılıf hücreleri, özellikle schwann hücreleri, elektron mikroskobu ya da immunhistokimya ile gösterilebilen bazal lamina ile sarılmıştır. Nöral ve perinöral tümörler; travmatik nöroma ve iyi ve kötü huylu periferik sinir kılıf tümörleridir (Coltchin 1972; Goldschmidt ve Hendrick 2008).

Merkel hücre tümörleri

Merkel hücre tümörleri; ayrıca merkel hücre karsinoma, nöroendokrin karsinoma ya da trabeküler karsinoma olarak da tanımlanır. Merkel hücre tümörleri ayrıca derinin küçük hücreli ayrılaşmamış karsinomları olarak da isimlendirilir (Zappi

ve Zappi 2012). Merkel hücre tümörleri köpeklerde, sinirle yakın temasta olan, oral mukozada bildirilmiştir, amelanotik melanomalarla karışabilir (Tong ve ark. 2009).

Kötü huylu periferik sinir kılıf tümörü

Schwann hücreleri, perinöyral fibroblastlar ve her ikisinden birden kaynaklanan malign karakterde bir tümördür. İyi huylu periferik sinir kılıf tümörlerinin kötü huyluya dönüşümü insanlarda tanımlanmıştır (Gross ve ark. 2008) .

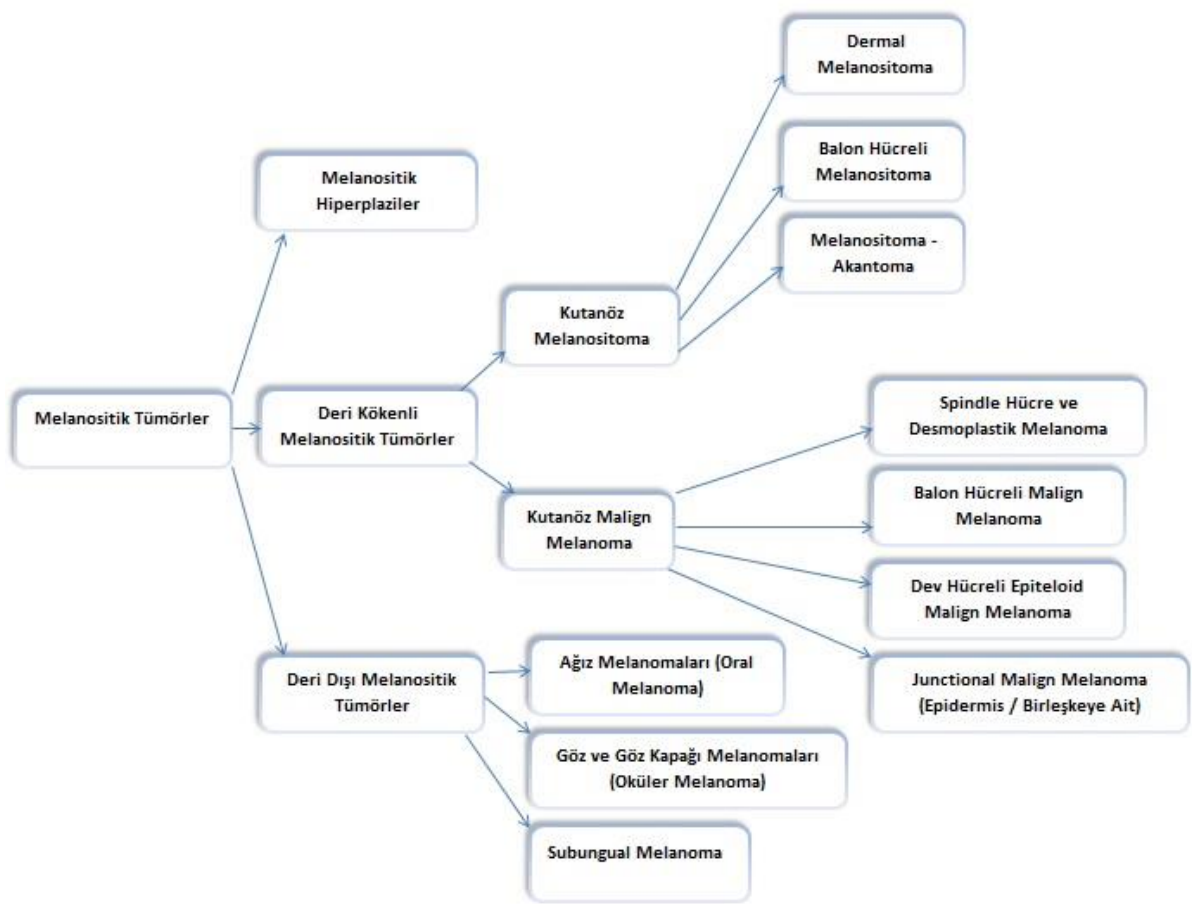
Yukarıda kısaca morfolojileri açıklanan kas ve sinir doku orjinli mezenşimal kökenli tümörlerin histopatolojik incelemelerinde, özellikle melanin pigmenti az olan , spindle veya epiteloid hücre ağırlıklı, melanomalarla karıştırılabilir (Banerjee ve Harris 2000; Tong ve ark. 2009).

2.3. KÖPEKLERDE MELANOSİTİK TÜMÖRLER

Melanositik tümörler için kullanılan terminoloji kompleks ve akıl karıştırıcıdır (Miller ve ark. 2001) Melanoma, malignant melanoma, melanosarkom, melanositoma, benign melanosit, melanosit çoğalmasından oluşan pigmentli ben, edinsel ve kongenital benler gibi kesin durumlara özgü, çok da kesin manalar taşımayan terimler mevcuttur (Goldschmidt ve ark. 1998; Miller ve ark. 2001; Baba ve Catoi 2007). Nevüs hücreleri insanlarda pigmentli benleri oluşturur. Melanositler fenotipik olarak belirgindir fakat histolojik olarak göze çarpmayan cilt hücreleridir. Cildin ve saçın pigmentasyonundan sorumludurlar ve böylece cildin görünümüne katkıda bulunurlar ve ultraviyole radyasyon ile hasara karşı koruma sağlarlar (Zachary ve McGavin, 2013). Melanositlerin edinsel olarak proliferasyonuna (çoğalmasına) melanositoma denir (Goldschmidt ve ark. 1998; Miller ve ark. 2001). Melanoma, melanositlerin kötü huylu üretmesi ile eş anlamda kullanılır. Köpeklerde kutanöz melanositik tümörlerin çoğu iyi huylu iken kedilerde iyi ve kötü huylu tümörlerin oranı eşittir (Miller ve ark 2001). Melanositik tümörler sırasıyla en fazla köpeklerde, daha sonra atlarda, daha az olarak da domuzlarda bildirilmiştir (Baba ve Catoi 2007). Melanositik tümörler genelde deride, ağız boşluğunda, mukoz membranlarda, göz kapakları ve gözde ve patide parmak aralarında rastlanır (Henry ve ark. 2005; Manley ve ark. 2011; Campagne ve ark. 2013). Metastatik bölgeler değişiklik gösterebilir. Bunların içinde lenf sistemi, akciğer, karaciğer, beyin omurilik zarı, böbrek üstü bezleri ve diğer çeşitli bölgeler vardır (Hoyt 1984; Aronsohn ve Carpenter 1990; Nasiell ve Ark. 1991; Manley ve Ark. 2011; Simons 2015).

Eskiden, kedi ve köpek melanositik neoplazma çeşitleri için çeşitli sınıflandırılma sistemleri kullanılmıştır. "Melanoma" terimi veteriner terminoloji sisteminde yaygınca kullanılmıştır. Bazı sınıflandırmalar "melanoma" terimini hem iyi hemde kötü huylu neoplazmalar için tanımlamışlardır (Goldschmidt ve Shofer 1992). Fakat bazı yazarlar kötü huylu olarak sınıflandırmışlardır (Stannard ve Pulley 1978). Veteriner Dermatopatoloji Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflandırma sistemine göre; yazarlar "melanositoma" terimini tüm doğuştan ve sonradan edinilen melanositlerden oluşan iyi huylu tümörler için kullanırken, "melanoma" ise kötü huylu melanomanın eş anlamlısı sayılmıştır (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998).

Şekil 2.2.2-1 Köpeklerde Melanositik Tümörler



2.3.1. Derinin Melanositik tümörleri

Melanositik tümörler sadece köpek ve atta sıkça rastlanır, kedide daha az rastlanırken melanositik tümörlerin izlendiği çeşitli domuz türleri dışında diğer hayvanlarda nadiren rastlanır (Smith ve ark. 2002; Baba ve Catoi 2007). Domuzlarda

izlenen lezyonlar yeni yeni araştırılmaktadır ve insanların kutanöz melanomu ile benzerlik göstermektedir (Smith ve ark. 2002).

2.3.1.1. Melanositoma

Melanositik hücrelerin aşırı şekilde üremesine melanositoma denir (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998). Kıl follikülünün dış kılıfından köken alan epidermis, dermis ve adneks'da melanositler tarafından oluşan benign tümördür (Goldschmidt ve ark. 1998). Deri melanositomaları, melanositlerden meydana gelen tüm doğuştan ve sonradan oluşan iyi huylu neoplasma çeşitlerini içerir. Melanositomalar; derideki yayılma konumlarına göre insanlarda geleneksel intraepidermal, epidermal ve dermal olarak çeşitlere ayrılır (Elder ve ark. 1997). Melanositomalar köpeklerde deri tümörlerinin % 3-4 ünü kapsar ve ortalama 9-10 yaşlarda cinsiyet ayrımı olmadan ortaya çıkar (Conroy 1983; Goldschmidt ve ark. 1998). Bu araştırmalarda dermal melanositomalarının kötü huylu melanomalara oranı 2:1 (Conroy, 1983) ve 4:1 (Goldschmidt ve Shofer 1992) olarak rapor edilmiştir. Dermal melanositomalar iyi huylu tümörlerdir. İnsanlardaki dermal melanositomalar; hücrel mavi nevus (ben) veya yaygın mavi nevus (ben) köpeklerde de yaygındır. Melanositomalar kedilerde yaygın değildir. İntraepidermal melanositomalar kedi ve köpeklerde nadir görülür. Epidermal ve dermal melanositomalar köpeklerde görülen en fazla çeşididir (Gross ve ark. 2008).

Melanositomaya Predispoze köpek ırkları: *Scottish Terrier, Airdales, Boston Terriers, Miniature and Standart Schnauzers, Doberman Pincers, Chihuahua, Golden Retrievers, Irish Setters, Cocker Spaniels, Springer Spaniels, Boxers, Irish Terriers*, olarak bildirilmiştir (Bolon ve ark. 1990; Goldschmidt ve ark. 1998; Miller ve ark. 2001). Lezyonlar genelde soliter özellikte, çoğunlukta kafada (göz kapağı, ağız, burun) gövdede ve patilerde (özellikle interdigital bölgelerde) görülür. Melanositomalar genellikle sınırları belli, kıvamı yumuşaktan serte kadar, rengi, kahverenginden siyaha, genişliği 0,5 cm.den 5 cm'ye kadar değişebilen alopesik yapılardır (Miller ve ark. 2001).

Tümörlü kitleyi oluşturan hücreler değişkenlik gösterebilir. Değişik tipte hücreler bir tümöral kitlede birarada bulunabilir. Bunlar spindle (iğsi), yuvarlak ve çok köşeli, epitelooid (poligonal), dentrik yada balon hücreli ve bu hücrelerin tekli yada çoklu kombinasyonundan oluşabilir. Hücre sitoplazmasındaki pigment miktarında da

faklılık gözlenebilir. Bazı hücreler melanin granüllerinden tamamen yoksun, bazı hücrelerin sitoplazmasındaki melanin miktarı hücre çekirdeğini kaplayacak kadar çok artmış olabilir (Goldschmidt ve ark. 1998).

Melanositomanın ender görünen şekli olan balon hücreli melanositoma büyük yuvarlak ve epiteloid hücrelerden oluşur (Goldschmidt ve ark. 1998; Ramos-Vara ve ark. 2000). Sitoplazması çok mattır ve melanin granülleri sitoplazmanın içinde çok zor bulunur. Melanositoma ve malignant melanoma (melanoma) arasındaki farkı bulmak çok zordur (Goldschmidt ve ark. 1998). Köpeklerde 40x lik büyütmede yüksek aktiveteye sahip 10 tane farklı alanda saptanan mitoz sayısı 3 veya fazla ise malignant melanoma diyebiliriz. Lenfatik ve vasküler invazyon malignant oluşumun en iyi göstergesidir (Chenier ve Dore 1999; Smith ve ark. 2002; Lacroux ve ark 2012).

Hücre morfolojisinde baskın hücre tipi olarak spindle (iğsi) hücre olan melanositik neoplaziler, yapılan çoğu araştırmaya göre iyi huylu tümörler olarak değerlendirilmişlerdir (Goldschmidt ve ark. 1998). Köpek melanositomaların ortalama üçte ikisi spindle (iğsi) ile epiteloid karışık morfolojiye sahiptir. Spindle hücreli melanositomalar solgun ve az sitoplazmalara sahiptir (Goldschmidt ve ark. 1998; Gross ve ark. 2008). Bu iğ şeklindeki hücreler küçük odaklar halinde ya da sarmal şekilde ve yılan biçimindeki yığınlar halinde sinirsel yapıları taklit ederek biçimlenirler. Bu yığınlar embriyolojik olarak melanositlerden oluşurlar. Yuvarlak, çok köşeli hücreler genellikle tabakalar veya yoğun solid odaklar halinde dizilirler. Bu odaklar az miktarda olan stroma ile ayrılırlar. Epiteloid hücreler yuvarlaktır, büyük miktarda solgun eozinofilik sitoplazma içerirler, tabakalar ve yaygın olarak dizilirler. Epiteloid melanositlerin hücre sınırlarını ayırt etmek zor olabilir. Dentrik melanositler bazen uzun sitoplazmalı oldukça köşeli bir şekle sahiptir ve bunlar genellikle küçük sınırlı odaklar oluştururlar (Weiss ve Frese 1974; Gross ve ark. 2008). Melanositoma hücreleri çoğunlukla hafifçe büyümüş kabarcık şeklinde çekirdeklere ve küçük veya fark edilmeyen çekirdekçiklere sahiptirler. Balon tipi melanositler bol, çok solgun sitoplazmaya sahip büyük ve yuvarlak hücrelerdir. Balon hücre çekirdeği daha küçüktür ve oval şekildedir. Mitozla ilgili figürlere bütün hücre tiplerinde az rastlanır, bunlarda mitoz atipisi çok gözlenmez (Smith ve ark. 2002; Gross ve Ark. 2008).

Tümör hücrelerindeki melanin miktarı çeşitlilik gösterir; bazı tümör hücresindeki granüller küçük ve boyut olarak aynıdır. Spindle, yuvarlak, çokgen ve balon hücreler genellikle seyrek dağılmış melanin pigmentasyonuna sahiptir. Büyük epiteloid tümör hücreleri ve dentrik hücreler yoğun pigmentli olmaya eğilim gösterirler.

Fontana-masson boyama ile genellikle zayıf pigmentli tümörlerin sitoplazmasındaki yetersiz melanin pigmenti saptanır. Melanin granüllerinin bolluğu çekirdeksel özellikleri engelleyebilir, ve gizleyebilir. Bu yüzden tümörün gizlenen sitolojik özelliğini ortaya çıkarmak için, potasyum permanganat yada oksalik asitle melanin ağartma işlemi yapılarak hücrel morfoloji ortaya çıkartılır (Kligora ve ark. 1999; Rochaix ve ark. 2003).

Dermal Melanositoma

Bu tümörler tam anlamıyla deri içinde konumlanırlar. Dermal melanositomaların çoğu spindle hücrelerin solid odaklar halinde ve sarmal şekilde dizilmelerinden oluşur. Dermal melanositomalar az çok hücrelidirler ve genellikle stromal kollajenden yoksundurlar. Melanofajlar genellikle tümör içinde dağılırlar ya da gruplar halinde toplanarak dizilirler. Bu tümörlerde mitotik figürler azdır ancak atipi gözlenmez (Gross ve Ark. 2008).

Epiteloid ya da dentrik hücrelerden oluşmuş bazı dermal melanositomalar yoğun pigmentlidir. Bu tümör nodülleri az miktarda stromal kolajen içerirler. Nükleus morfolojisi aşırı pigment sonucu net olarak görülmeyebilir. Eğer kötü huylu tümör olup olmadığı araştırılıyorsa melanin ağartma işlemi yapılmalıdır. Yani potasyum permanganat veya oksalik asitle doku bölümü beyazlaştırılırsa hücrel morfolojiyi görebiliriz (Kligora ve ark. 1999; Sulaimon ve ark. 2002).

Bazı vakalarda melanositamanın kötü huylu melanomadan ayırımı zor olabilir. Bu gibi durumlarda vakayı hücre tipi, mitotik oran ve pigmentasyon derecesi gibi, sitolojik kritere göre kategorize etmek gerekir (Goldschmidt ve ark. 1998; Smedley ve ark. 2011); Spangler ve ark. 2011). Çoğu gözlemlerde belirli bir hücre tipinin varlığı ile melanositik tümörün davranışları arasındaki direkt bağlantıyı bildirmek zor olur. Tümör kitlesinin büyük olduğu durumlarda bile, tümörün sınırlarının düzgünlüğü ve simetrisi bu tümörün iyi huylu olduğunun bir göstergesidir. Mitotik indeks (MI) 40x'lık büyütmede alan başına ortalama iki mitotik rakamdan daha az ise bu, bir melanositoma ile tutarlıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) Evcil Hayvanların Epitelial ve Melanositik Deri Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırılması başlıklı kitabında, 40x'lık büyütmede 10 alan başına üç veya daha fazla mitotik rakamın maligniteyi gösterdiğini açıklamışlardır (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998).

Balon Hücreli Melanositoma

Balon hücreli melanositomalar genellikle dermaldır. Bunlar; az sayıdaki küçük iğ biçimli ya da çok köşeli melanositlerin varlığına rağmen, baskın olarak büyük

yuvarlak hücrelerden meydana gelirler. Balon hücrelerin bol ve solgun sitoplazmaları genellikle ince biçimde granüler görünüme sahiptirler. Toz benzeri melanin granülleri az sayıda da olsa, genellikle uygun boyama ile saptanabilirler. Balon hücreli melanositomalar genellikle kolay görülebilen pigmentasyondan yoksundurlar ve immunohistokimya bunların tanımlanmasına yardımcı olabilir (Gross ve ark. 2008).

2.3.1.2. Melanositoma-Akantoma

Bu tümörün insanda benzeri yoktur. İnsanlardaki seboreik keratosis, ki bu çok odaklı intraepidermal melanositlerin birleşimini içeren ve çoğalan epidermis ile karakterize bir lezyondur ve genellikle melano-akantoma olarak adlandırılır. Melanositomaların özelliklerine sahip iyi huylu epitelyal tümörlerdir (De Los Monteros ve ark. 2000; Park ve Cho 2010).

Köpek melanositoma-akantomalar; iyi huylu melanositik çoğalmalardan oluşan karışık ve nadir görülen bir tümördür. Dermal bir melanositoma-akantoma vakası Alman Çoban köpeğinde (*German Shepherd Dog*) saptanmış ve immunohistokimyasal olarak teşhis edilmiş, keratinositlerin ve melanositlerin varlığı tanımlanmıştır (De Los Monteros ve ark. 2000). Köpek melanositoma-akantomanın patogenezi bilinmemektedir. Bileşenli her iki hücrenin de gerçekten tümöral olup olmadığı açık değildir (Gross ve ark. 2008).

2.3.1.3. Melanoma (Malign Melanoma)

Melanoma köpeklerde yaygın olarak saptanır (Withrow ve ark. 2013), genellikle squamous cell karsinomalarından sonra en yaygın olarak görülen tümörlerin ikinci sırasında yer alır (Goldschmidt ve ark. 1998; Ramos-Vara ve ark 2000; Miller ve ark 2001; Smith ve ark. 2002; Baba ve Catoi 2007). Melanoma, köpeklerde yaygındır, ve tüm neoplazmaların % 3'ünü ve tüm malign tümörlerin % 7'sini oluşturur (Smith ve ark. 2002; Campagne ve ark. 2013). Gri atlarda melanoma, oldukça yaygındır (Smith ve ark. 2002). Küçük boy köpeklerde sıklıkla görülür (Ramos-Vara ve ark. 2000). Genetik predispozisyon olarak *Miniature Schnauzers*, *Doberman Pincers*, *Scottish Terriers*, *Boston Terriers*, *Boxers*, *Airadales*, *Terriers Irish and Gordon Setters*, *Cocker Spaniels*, *Golden Retrievers* bildirilmiştir (Goldschmidt ve ark. 1998; Modiano ve ark. 1999; Smith ve ark. 2002; Schultheiss 2006). Özellikle önemli derecede deri pigmentasyonu olanlarda görülür. Kedilerde melanomaya daha nadir olarak rastlanmaktadır (Ramos-Vara ark. 2002; Smith ve ark. 2002). Köpek kötü huylu melanomaların en yaygın olduğu bölge tüylü deridir, burada yoğun şekilde küçük kahverengi siyah noktalar

olarak, bazen de büyük, düz veya karışık biçimde görülürler. Melanositik neoplazmalar, köpek ağız boşluğunun en sık saptanan neoplazmalarından biridir ve bunların çoğu maligndir (Hoyt 1984; Hahn ve ark 1994; Chenier ve Dore 1999; Oyamada ve ark. 2007). Melanomalar ağız boşluğunda, tırnak yatağında, patilerin altında, gözde, mide barsak sisteminde gelişebilirler (Ramos-Vara ve ark. 2000; Henry ve ark. 2005; Spugnini ve ark. 2005). Kedi ve köpeklerde sıkça görülen göz ve göz çevresi melanomaları farklı bir klinik sendromu temsil eder (Wilcock ve Peiffer 1986; Minami ve Patnaik 1992; Yi ve ark. 2006; Gelatt 2013). Melanomalar yerel emici lenf ağları ile akciğer, karaciğer, meninksler (beyin omurilik zarı) böbreküstü bezleri ve diğer çeşitli bölgelere metastaz yaparlar (Cangiarella ve ark. 1998; Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002). İnsanlarda deri melanoması UV ışığına yoğun ve sık sık maruz kalma sonucu meydana gelen mutasyon sonucunda ortaya çıkar. Köpek türlerinin çoğu kendilerini güneş ışığından korumaya yetecek tüy örtüsüne sahip olduğu için UV bağlantılı melanoma öncelikli bir etken değildir. Buna karşı sürekli travma varsa ya da pigment hücreleri her bölündüğünde deride bir yara oluyorsa melanoma oluşma riski daha fazladır (Gross ve ark. 2008). Tırnak ve tırnak yataklarında (subungual) olanlar genelde kötü huyludur (Smith ve ark. 2002; Schultheiss 2006). Köpeklerde de iyi huylu melanositik çoğalmaların sonradan kötü huyluya dönüştüğü bildirilmiştir (Conroy 1983). Melanoma, gri veya kahverengiden siyaha, kırmızıya ve hatta koyu maviye kadar değişen herhangi bir renkte olabilir (Gross ve ark. 2008).

Malign melanomalar; genellikle epidermis ve dermis veya sadece dermisi kapsayan, açıkça belli sınırları olan ama kapsülsüz tümörlerdir, büyük tümör kitleleri alt kutise kadar uzayabilir. Üstteki epidermis, neoplastik melanositlerin intraepidermal yuvalarının ve kümelerinin olup olmamasından bağımsız olarak hiperpigmentli olabilir (Gross ve ark. 2008). Melanomalar asimetrik olma eğilimindedirler. Asimetri en kolay intraepidermal tümörlerin epidermal bileşeninde teşhis edilebilirler. Gangren ve ülser genel özelliklerdir. Özellikle büyük kitlelerde görülür. Tümör hücre gangreninde pigment inkontinansı yaygındır ve çok sayıda melanofajlar neoplazmanın her tarafında dağılırlar (Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002). Tümörün genişliği, kalınlığı ve invazyonu malignite açısından önemlidir (Breslow 1970).

Malign melanoma hücreleri sitolojik özellik olarak çeşitlilik gösterirler, bunu nedeni aynı embriyolojik kökünde ve hem nöral (sinir) hem epitel dokuların bulunmasıdır (Goldshmidt ve ark. 1998). Melanositomada olduğu gibi incelenen hücre tipleri spindle (iğsi), epiteloïd/poligonal, yuvarlaktan çokgen dentrik, karışık ve balon

hücrelerdir. Gangliyon (lenf bezi) ve çok hücreli dev hücre formları da gözlenebilir (Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002; Baba ve Catoi 2007; Sanchez ve ark. 2007). Çoğu köpek melanoması çeşitli oranda spindle ve epiteloid/poligonal hücre karışımından oluşurlar (Ramos-Vara ve ark. 2000). Bazı eski araştırmalarda köpek ve kedide farklı hücre tiplerinin tümörün prognozunda önemli olmadığı bildirilmiştir (Bostock 1979; Conroy 1983; Bolon ve ark. 1990; Miller ve ark 2001). Genel olarak, köpek melanositik neoplazmalarında bulunan en baskın hücre tipi epiteloid hücreler olmuştur (Smedley ve ark.2011).

Spindle (iğsi) melanositlerin sitoplazmaları azdır. Bu iğ biçimli hücreler genellikle birbirine geçen tomarlar, kısmi sarmallar ve odaklar halinde sıralanırlar. Bu morfolojik özellikler nöral (sinir) yapıları andırır. Çekirdek dolgun ve iğ biçimlidir nükleer pleomorfizm belirgin olarak görülür. Hücrelerdeki Kromatin yoğunluğu tümörden tümöre farklılık gösterir ve genellikle tümörün belli alanlarında daha fazladır. Çekirdekçikler vardır ve belirgin olabilirler (Gross ve ark. 2008). Odaklar çokgen hücreler tabakaları ve yoğun hücre paketleri halinde dizilmiştir; paketler halindeki hücreler az bir stroma ile birbirinden ayrılırlar. Dentrik hücreler bir yıldız biçiminde görülürler, genellikle uzun sitoplazmaya ve dolgun, uzatılmış oval gibi bir çekirdeğe sahiptirler (Ramos-Vara ve ark. 2000). Epiteloid hücreler geniş solgun eozinofilik sitoplazmaya sahiptirler, genellikle belirsiz hücre duvarları vardır; hücreler tabakalar veya daha büyük odaklar halinde dizilirler. Hem yuvarlak çokgen hemde epiteloid hücreler büyük oval şekilli çekirdeğe sahiptirler. Spindle (iğsi) şekilli benzerleri gibi, bunlarda da anisokaryozis, değişken kromatin yoğunluğu ve belirgin çekirdekçikler içerirler (Sanchez ve ark. 2007). Balon melanoma hücreleri açık renkli bir sitoplazmaya sahiptir ve büyüktürler (Sondergaard ve ark 1980; Cangul ve ark. 2001). Tümörler genellikle; bol ve köşeli şekilli sitoplazmaları ile karakterize edilmiş, lenf bezi hücrelerine benzer hücreleri ve büyük, eksantrik yerleşimli genellikle de hiperkromatik olan çekirdekleri içerirler. Mitotik aktivite genellikle 40x'lık büyütmede 10 farklı yoğun hücreli alanda ortalama 3 ten fazladır ve mitotik atipi vardır (Gross ve ark. 2008).

Çoğu melanoma hücrelerinin sitoplazması soluktur ve pigmentasyon yoğunluğu belirgindir, bazende belirgin olmayabilir. Belirli bir melanomada tutarlı bir melanin pigmentasyonu derecesi ya da motifi yoktur (Ramos-Vara ve ark. 2000; Smedley ve ark. 2011). Bazı melanomalardaki melanin granülü bolluğu çekirdeksel (nükleer) özellikleri engelleme eğilimine yol açar, bu nedenle hücresel ve çekirdeksel morfolojiyi saptamak için potasyum permanganat veya oksalik asit ile doku parçasını beyazlatma

işlemi gerekebilir (Kligora ve ark. 1999; Sulaimon ve ark. 2002). Amelanotik melanomaların sitoplazmaları genellikle grimsi granüler yapılara sahiptirler ve pigmentten fakirdir ve açık renklidir. Fontana-masson boyaması ile bazı zayıf pigmentli tümörlerde sitoplazmik melaninin varlığı doğrulanabilir (Gross ve ark. 2008).

Kutanöz Melanoma (Kutanöz Malign Melanoma)

Bu tümör kitleleri epidermis/dermis birleşme aktivitesinden yoksundur fakat genellikle deri altındaki dokuya derinlemesine uzayabilirler (Smedley ve ark. 2011). Belirli bir hücre tipinin baskın olmasına rağmen tümörlerin çoğu spindle (iğsi), veya epitelooid (oval) hücrelerin karışımından oluşur. Çoğunlukla spindle hücreler zayıf pigmentlidirler. Fakat tümörü oluşturan Spindle (iğsi) ve epitelooid (oval) hücreler zaman zaman az veya yoğun melanin pigmentasyonuna sahip olma eğilimindedirler. Fakat amelanotik formlarda bu pigment içeriği az olabilir veya hiç olmayabilir (Kobayashi ve Cobb 2000; Choi ve Kusewitt 2003).

Küçük tümörlerde kutanöz melanoma ile melanositoma birbirine karışabilir. Ayırıcı tanı olarak, orta oranda çekirdeksel pleomorfizm, çekirdekçiksel kriterler, 40x'lık büyütmede 10 alanda ortalama 3 mitotik oran, hücresel atipi ve mitozların varlığı, tümör nodülünün asimetrisi ve lenfoplazmasitik yangı hücrelerinin bulunması malign melanoma teşhisini destekler özelliklerdir (Bostock, 1979; Bolon ve ark. 1990; Goldschmidt ve ark. 1993; Miller ve ark. 2001). Proliferasyon indeksinin ve büyüme fraksiyonunun tanımlanması aynı zamanda melanositomalar ve melanomalar arasında ayırım yapılmasına yardımcı olur, ve bu ayırmada mutlaka İHK kullanılmalıdır (Smedley ve ark. 2011)

Yuvarlak hücrelerden meydana gelen dermal amelanotik melanomalar lenfositik yuvarlak hücre tümörlerinden ayrılmalıdırlar. Bunların içinde epitelyotropik olmayan lenfomalar, plazma hücre tümörleri, zayıf granüllü mast hücre tümörleri, bulaşıcı olan veneral tümörler ve Merkel hücre tümörleri vardır. Özellikle plazma hücre tümörleri ve Merkel hücre tümörleri amelanotik melanomaları en iyi şekilde taklit eden hücrelerdir. Amelanotik epitelooid (oval) kutanöz melanomalar, karsinomaları taklit edebilirler (Banerjee ve Harris 2000; Tong ve ark. 2009). Eğer çeşitli boyama yöntemleri melanini ortaya çıkarmakta başarısız olursa İHK gerekli olabilir (Ramos-Vara ve ark. 2000).

Spindle (iğsi) Hücre ve Desmoplastik Melanomalar

Dermal melanomaların alt grubunu oluşturan bu tip melanomalar baskın olarak spindle (iğsi) melanositik hücrelerden meydana gelir. Büyük çoğunluğu amelanotiktir ve hücreler tomarlar ya da çitler şeklinde dizilmişlerdir, nöral (sinir) kökenli tümörleri

taklit ederler (Tong ve ark. 2009). Karışık olanlar yıldız şeklinde (dentrük) hücrelerdir. İğsi melanositler sıkı hücre yığınları ya da bol miktarda solgun görünümde stromada gevşekçe dizilmiş hücrelerden oluşmuş olabilirler. Taşıdığı melanin granülleri oldukça seyrek oldukları için bunların varlığını saptamak için çeşitli boyama teknikleri gerekebilir. Nodüler nedbe dokuları ya da fibromları andırabilen bu lezyonlar, insan hekimliğinde “desmoplastik melanoma” (DM) olarak isimlendirilir (Ramos-Vara ve Miller 2011).

Balon Hücreli Malign Melanoma

Balon hücre değişimi, tümör hücrelerindeki, anormal melanogenez ile birlikte melanozomların neden olduğu dejeneratif bir değişim olarak nitelendirilir. Kutanoz melanomanın alt tipini oluşturan bu tip melanomaların mikroskopik olarak, çok lobüllü bir şekile sahiptir ve intraepidermal bileşene sahip değildir. Hücreler büyüktür ve şeffaf veya hafifçe eosinofilik sitoplazmaya sahiptirler. Hücrelerin büyük çoğunluğu epitelooid (oval) şekillidir. Fakat tümör içinde zayıf ve uzun olan hücrelerden oluşan küçük alanlarda görülebilir. Çekirdekler büyük ve kabarık şekildedir ve belirgin çekirdekçiklere sahiptirler (Gross ve ark. 2008). Mitotik aktivite göreceli olarak azdır. Çoğu balon hücre melanoması amelanotiktir (Wilkerson ve ark. 2003). Fakat bu hücreler içerisinde melanositomaldakine benzer şekilde toz gibi melanin granülleri içeren birkaç tümör hücresi olabilir ve bunların görülebilmesi için çeşitli boyama yöntemleri veya İHK yöntemleri kullanılması gerekebilir (Blanchard ve ark. 2001).

Dev Epiteloid Hücreli Malign Melanoma

Kedilerdeki melanomalar genelde epitelooid hücrelerden oluşur ve bazı durumlarda dev epitheloid (oval) şekilli hücreler görülür. Dermal melanomanın bu alt tipi, camsı eozinofilik sitoplazmalı büyük hücrelerden oluşur. Bunlar şekilleri ovalden iğsiye kadar değişen büyük çekirdeklerden ve büyük çekirdekçiklerden oluşan hücreler içerebilirler. Bu hücrelerde az oranda anisokaryozis görülür ve kromatin yoğunluğu tümörler arasında ve belirli tümör kütleleri içinde değişiklik gösterir. Kromatin dağılımı nokta nokta şeklindedir ve bunlar koyu boyanmıştır. Mitotik aktivite 40x’lık büyütmede 10 alan da ortalama 3 şeklindedir ve mitotik atipi vardır (Smith ve ark. 2002; Gross ve ark. 2008).

Junctional (epidermis/dermis birleşmeye ait) Malign Melanomalar

Özellikle tırnak yatağında ve dudakta gelişen bazı melanomalar bu tiptedir. Bunlarda dermal-epidermal birleşim yerindedir ve epiderminin içinde tümör hücrelerinin varlığı belirgindir. İntraepidermal bölgede, baskın olarak tek tek ya da

odaklar veya kümeler tarzında dizilen epiteloid melanositlerden meydana gelir. Sayısız melanositin epidermisin bütün seviyelerinde dağılması ‘‘pagetoid’’ deseni olarak anılır (Smith ve ark. 2002). Çok sayıda atipik melanosit sadece bazal tabaka içinde bulunur. Ayrıca bu da ‘‘atipikal desenli sızıntı’’ olarak anılan melanomalarda görülebilen bir başka özelliktir. İntraepidermal melanositler genellikle dermal bileşenden daha fazla melanin pigmenti içerirler (Gross ve ark. 2008).

2.3.2. Melanositik Hiperplaziler- Lentigo

Lentigo, melanositik hiperplazi, benek anlamına gelir ve iyi ayrılmış melanositlerin intraepidermal melanositik hiperplazisi olarak yorumlanmış, epidermisin bazal tabakasında, neoplastik olmayan melanositlerin çoğalmasından oluşan, melanositik yaygınlaşmadır (Gross ve ark. 2008).

İnsanlardaki lentigo simpleksi birkaç küçük, dağınık lekelerden karakterize edilmiştir, buna karşın lentiginosis fazla sayıda küçük lekeler içerir. Güneş lentijenleri çoğunlukla yaşlı insanlarda gelişme gösterirler ve yaşlı lentijenleri olarak isimlendirirler (Gross ve ark. 2008). İnsanlardaki lentigo simpleksine benzer lezyonlar kedilerde ve köpeklerde de oluşur. Bu durum kedilerde ‘‘lentiginosis profusa’’ olarak bilinir ve kediler bundan daha çok etkilenirler ve bu lezyonların oluşumuna papillomavirüsün etken olduğu düşünülmektedir. (Gross ve ark. 2008). Bu tip lekeler köpeklerde meme başında ve dudaklarda, kedilerde en çok dudaklarda ve daha az olarak göz kapağı ve kulak kepçesinde görülür. Özellikle sarı kedilerde bu tip lekeler çok sık, krem ve gümüş renkli kedilerde de zaman zaman rastlanabilmektedir (Simith ve ark. 2002; Gross ve ark.).

2.3.3. DERİ DIŞI MELANOSİTİK TÜMÖRLER

2.3.3.1. Ağız Melanomaları (Oral Melanoma)

Köpeklerde en çok görülen oral kötü huylu tümör melanomadır (Hahn ve ark. 1994; Ballinari ve ark. 1998; Bergman 2007; Bergin ve ark. 2011; Frank Verstraete ve Milinda 2012). Bu kötü huylu tümörler amelanotik olabilir (Aina ve ark. 2011). Oral melanoma, ırk olarak en çok *Scottish Terriers*, *Golden Retrievers*, *Podlle*, *Dachshund* ve *Cockerlerde* teşhis edilmiştir. Oral melanoma cinsiyetten bağımsız olarak çoğunlukla yaşlı köpeklerde görülen bir neoplazidir ve ortalama 9-10 yaşlarından sonra görülür (Ramos-Vara ve ark. 2000; Baba ve Catoi 2007; Nishiya ve ark. 2016). Nadir olsa da genç köpeklerde görülebilir. Köpeklerde ağız boşluğunda görülen melanomalar sırasıyla, diş eti, dudaklar, dil ve ön damakta gelişir. Bu tümör ağız boşluğunun

herhangibir yerinde bulunabilir, ama daha çok diş etinde görülür (Ellis ve ark 2010). Ağız melanomaları doğal davranış olarak bölgesel lenf düğümlerine infiltre olurlar ve daha sıklıkla akciğer ve diğer organlara metastaz yaparlar (Nasiell ve ark. 1991; Bergin ve ark. 2011). Diş eti melanomalarında pigmentsiz varyasyonlar olabilir. Dolayısıyla diş eti melanomalarının histopatolojik tanısı zor olabilir. Bir diğer faktör ise; diş eti melanomaların mikroskobik görünümü komplikedir, karsinom, sarkom, lenfoma ve osteojenik tümörlerle benzerlik gösterir dolayısıyla mikroskopik incelemelerde karıştırılır (Ramos-Vara ve ark 2000). Ayrıca bu tip neoplaziler ağızda görülen squamöz hücre karsinomu, fibrosarkoma, diş etinden kök alan epulis gibi tümörlerden de ayırt etmek gerekir (Yosida ve ark.1999). Kedi oral melanomaları nadir görülür ve çoğu vakada kötü huyludur (Nishiya ve ark. 2016). Çoğu ağız melanomasında hücre içi melanin pigment yoğunluğu fazladır, bu nedenle bunlar makroskopik olarak siyah renkte grnrlr.

2.3.3.2. Gz ve Göz Kapağı Melanoması (Okuler melanoma)

Köpeklerde göz kapağı tümörleri oldukça yaygındır ve çok farklı ırk köpeklerde rastlanan ve tedaviye yanıt veren fazlaca yayılma eğilimi göstermeyen, tümörlerdir. Cerrahi müdahaleden sonra nksler görülmez, fakat zaman zaman uzak metastazlara rastlanmıştır. Köpeklerde göz kapağı bölgesinde rastlanış oranı olarak ikinci sırada yer alan tümörler, göz kapağı melanomalarıdır (Smith ve ark. 2002;). İki farklı tipi vardır: ilk tipi göz kapağı derisinden köken alır ve bir kitle halinde gelişir. İkinci tipi ise göz kapağının kenarının pigmentli kısmından köken alır ve her iki yöne doğru büyür (Gelatt 2013).

Oldukça az görülen konjktiva tümörleri ise, göz kapağı tümörlerine oranla daha kötü huylu tümörlerdir ve bunlardan bir tanesinde melanomalardır. Konjktiva melanomalarına çoğunlukla 3. göz kapağında rastlanır. Ancak st göz kapağına yerleşmiş melanomalar da oluşabilmektedir. Konjktiva melanomaları genelde kötü huyludur ve metastaz yapabilir. Aynı zamanda cerrahi müdahaleden sonra nksler görülebilir. *Weimaraner* ırkı köpekler bu tip melanomalara predispozedir (Wilcock ve Peiffer 1986).

çnc göz kapağı bölgesinde gelişen tümörler içinde en çok rastlanan tümörlerden biri de adenokarsinomlar ve papillomalardan sonra, melanomalardır (bunlarda operasyonlardan sonra nksler görülebilmektedir). çnc göz kapağı melanomaları yüksek oranda metastaz yapmaktadır (Dubielzig ve ark. 2010).

Limbal veya epibulbar bölgede oluşan melanositik kökenli tümörler genellikle iyi huylu tümörlerdir. Ancak korneaya yayılma eğilimi gösterirler (Diters ve ark. 1983). Çok düzgün yüzeyli bir kitle halinde beliren melanomalar genellikle pigmentlidir. Fakat nadir de olsa pigment içermeyen melanomalara (amelanotik) da rastlanır (Yi ve ark. 2006). Köpekler arasında genellikle genç yaşlarda (2-4 yaş arası dönemde) rastlanan limbal melanomalar, (2-4 yaş arası dönemde) invaziv karakterdedir ve çok hızlı bir gelişim gösterirler. Yaşlılık dönemi limbal melanomaları ise (8-11 yaş) durağan karakterlidir. Limbal melanomalar en çok dorsolateral limbus bölgesinden köken alırlar, ve *Germany Shepperd* ve *Labrador Retrievers* ırkı köpekler limbal melanomaya predispoze ırklardır (Friedman ve ark. 1989).

Köpeklerde primer en çok rastlanan intraoküler tümör türü melanositik tümörlerdir. Anterior uvea limbus ve koroide yerleşen iyi huylu melanomalar, melanositoma olarak değerlendirilir. İntraoküler melanositik tümörler, yaşlı köpeklerde (9 yaş) ve üzerinde görülür. *Germany Shepperd* ve *Labrador Retrievers* ırk olarak yatkınlık vardır (Zarfoss ve ark. 2007). Köpek melanomaları, kedi ve insanlarda olduğunun aksine diffuz infiltrasyon yerine nodüllü bir büyüme eğilimine sahiptirler. Uveal melanomalar malign ve agresiv tümörlerdir, bölgesel lenf bezlerine ve akciğerlere metastaz yapar (Modiano ve ark. 1999). Bir vakada prostat metastazı bildirilmiştir (Delgado ve ark. 2016).

2.3.3.3. Subungual Malign Melanoma

Subungual Malign Melanoma, köpeklerde oldukça yaygın görülen digital tümörlerdendir. Bu tip tümörler tırnak ve tırnak yatağına yerleşir son derece kötü huylu tümörlerdir ve kondroid veya osseus metaplazilere neden olur ve Subungual Malign Melanomaların bir bölümünde intradermal komponent bulunabilir (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998). Melanomaların bu kötü huylu tümöründe: tümör hücreleri büyük ve mitoz bölünmeler daha çoktur. 40x lik büyütmede 10 farklı sahada atipik hücreler 3'ten fazladır (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998). Ağız boşluğu, subungual bölge ve mukokutanöz kavşakları içeren metastaz yapan bu neoplaziler, başka hiçbir özelliğe bakılmaksızın malign kabul edilir (Smith ve ark. 2002).

Köpeklerdeki melanomalar birçok faktöre bağlı olarak değişik biyolojik davranışlar gösterir. Bu faktörleri eksiksiz bir şekilde anlamak, klinik uzmanına,

evrelere ayırmada, prognoz ve tedavi konularını planlamada çok önemli ipuçları verebilir. Köpeklerdeki melanomanın biyolojik davranışlarını belirleyen öncelikli faktörler; geliştiği lokalizasyon, büyüklüğü, evresi ve histolojik parametrelerdir. Bütün bu faktörler kapsamlı bir şekilde öğrenilse bile, bazı vakalarda beklenmeyen biyolojik davranışlara sahip melanomalar da olabilir. Bu yüzden bu göreceli yaygın, heterojen ve çok sık ve aşırı derecede kötü huylu tümörün teşhis edilmesi için immunohistokimyasal (İHK) gibi ilave bir teşhis yöntemine gerek vardır (Sandusky ve ark. 1985; Smith ve ark. 2002; Rochaix ve ark. 2003; Idikio 2010; Ramos-Vara ve Miller 2011)

Melanomaların bazı durumlarda histopatolojik olarak teşhis edilmesi zor olabilir. Özellikle anaplastik hücrelerden oluşan veya amelanotik melanomalar ki, bunları çoğunlukla yumuşak doku sarkomalarını, karsinomaları ve yuvarlak hücreli tümörleri taklit ederler (Banerjee ve Harris 2000; Tong ve ark. 2009; Ramos-Vara ve Miller 2011). Bu nedenle çok sayıda araştırmacı ağırlıklı olarak immunohistokimyasal anlamda melanomaların tanımlanmasındaki hassasiyeti arttırmak için girişimde bulunmuştur. Bu tanımlamada: şüpheli melanoma dokuları üzerinde çoklu immunohistokimyasal tahlillerin kullanımıyla ya da antikörlerin immunohistokimyasal kokteyllerinin kullanımıyla başarılı olunabilmektedir. (Sandusky ve ark. 1985; Ramos-Vara ve Beissenherz 2000; Cangül ve ark. 2001; Sanchez ve ark. 2007; Giudice ve ark. 2010; Sevastre ve ark. 2012).

2.3.4. MELANOSİTİK TÜMÖRLERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da vücudun değişik bölümlerinde gelişen neoplastik üremelerin teşhisi ayırıcı tanısında histopatolojik incelemeler altın standart olarak kabul edilir ve çoğunlukla bu neoplastik üremelerin teşhisi histopatolojik incelemelerle yapılır. Melanositik tümörlerin özellikle melanin pigmentasyonun belirgin olan tiplerinde, teşhisde histopatolojik muayeneler çoğunlukla yeterli olur. Fakat özellikle melanin pigmentasyonu yetersiz olan amelanotik melanoma olarak isimlendirilen tipleri veya melanin pigmentasyonu az olan melanositik tümörler için histopatolojik incelemeler her zaman yeterli olmaz. Çünkü bu tip melanositik tümörler histopatolojik incelemede çoğu mezenşimal, epitelyal kökenli neoplastik üremeler hatta bazı pigmentasyon içeren yapısal üremelerle karıştırılabilir (Banerjee ve Harris 2000; Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002). Bu durumlarda histopatolojik incelemeler yetersiz kalır ve teşhis için ek olarak İHK boyamaları içeren incelemeler yapılmalıdır. Bunlara rağmen başlangıçta belirtildiği gibi histopatolojik incelemelerin

özellikle melanin içeren değişik melanositik tümörleri teşhisde yeterli olabildiği, bu konuda değişik çalışmalarda (Schultheiss 2006; Baba ve Catoi 2007; Yang ve ark. 2011; Teixeira ve ark. 2014) açıklanmıştır. Bu çalışmalarda bu tip tümörlerin teşhisinde yeterli olabilecek ve öne çıkan bir çok mikroskopik bulgular bildirilmiştir.

Bu konuda yapılan çalışmalarda önemli ve ayırıcı histopatolojik bulgularından birisinin tümörü meydana getiren hücrelerin, morfolojik yapılarının olduğu bildirilmiştir ve melanositik tümörlerin değişik morfolojide hücrelerden oluştuğu belirtilmiştir (Nakhleh ve ark. 1990; Smith ve ark. 2002). Bununla ilgili olarak Ramos-Vara ve arkadaşları (2000) 129 melanositik kökenli tümörü içeren çalışmaları sonucunda, mikroskopik incelemede bu tümörleri oluşturan baskın hücreleri 3 grupta toplamıştır. Buna göre 27 vakada (% 20,9) baskın hücre tipinin epiteloid (poligonal) hücreler, 44 vakada (% 34,1) iğsi (spindle) hücreler ve 54 vakada (% 44,9) karışık (epiteloid-spindle) hücreleri olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak 3 vakada (% 2,3) ise büyük-berrak hücrelerden oluşmakta ve bir vakasında adematöz- papiller görünüm oluşturan (Ramos-Vara ve ark. 2000), çokgen hücrelerden oluştuğunu açıklamışlardır. Aynı çalışmada incelenen 6 oral melanomun metastazında primerlerine benzediği ve bunların üçünün spindle (iğsi) hücrelerden, ikisinin epiteloid ve birinin karışık hücrelerden oluştuğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada histopatolojik muayenede önemli kriterlerden birisinde çekirdek-sitoplazma oranı ve yapısı olduğu belirtilmiştir. Tümöral kitlelerin parankimini oluşturan melanositik hücrelerin sitoplazmalarının genellikle bol ve eozinofilikten-bazofiliye kadar değişen renklerde olduğu, bu hücrelerin bir veya birden fazla çekirdekçi yapılarına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Histopatolojik ayırıcı başka önemli bir bulguda sitoplazmadaki pigmentasyon yoğunluğudur. Bu çalışmada (Ramos-Vara ve ark. 2000) bu melanositik hücrelerin 41 (%32) vakada pigmentasyona sahip olmadığı, 32 (%24,5) vakada yetersiz pigmentasyon, 26 vakada (%19,5) orta düzeyde pigment içerdikleri ve 30 vakada (%24) ise bol miktarda pigment içerdiklerini saptamışlardır.

Melanositik Tümörlerin histopatolojik tanısında önemli kriterlerden birisinde hücrelerde saptanan mitoz sayısı ve mitotik indeks olduğu bu konudaki çalışmalarda ve yayınlarda bildirilmiştir (Wilcock ve Peiffer 1986; Goldschmidt ve ark 1998; Giuliano ve ark. 1999; Bergin ve ark. 2011; Sevastre ve ark. 2012).

Ramos-Vara ve arkadaşları (2000) 129 melanositik tümörü içeren çalışmalarında 10 farklı, yoğun hücre alanında, 9 vakada 0 mitoz (% 6,9), 29 vakada 1-10 arası mitoz (% 22,5), 41 vakada 11-30 mitoz (% 31,7) 24 vakada 31-50 mitoz (% 18,6), 17 vakada

51-70 mitoz (% 13,2), 4 vakada 71-90 mitoz (% 3,1) ve 5 vakada 90' dan fazla mitoz (% 3,9) saptadıkları ve ortalama mitotik indeks 31,4 olduğunu açıklamışlardır. Köpeklerde ve diğer hayvanlarda deride, gözde gelişen melanositik tümörlerin malign benign ayırımında en güvenilir histopatolojik bulgunun mitotik indeks olduğu belirtilmiştir (Wilcock ve Peiffer 1986; Goldschmidt ve ark 1998; Giuliano ve ark. 1999; Bergin ve ark. 2011; Sevastre ve ark. 2012). Dünya sağlık örgütü evcil hayvanların melanositik tümörlerine ilgili kitabında (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998) 40x'lık büyütme alanında 3 veya daha fazla mitoz saptanmasının o melanositik tümörün malign olduğunu gösterdiğini bildirmiştir. Mitoz sayısı ile melanositik tümörler arasındaki korelasyonun incelendiği başka bir çalışmada (Sanchez ve ark. 2007) intradermal melanomalarda mitotik oran 40x'lık büyütme alanında ortalama 4 den fazla olduğu melanositomalarda ise bu oranın 2 den az olduğu belirtilmiştir. Değişik çalışma sonuçlarında belirtildiği gibi (Smith ve ark. 2002; Ramos-Vara ve Miller 2011) histopatolojik incelemelerde mitoz sayısının belirlenmesi malignite açısından önemli bir kriterdir. Burada dikkat edilmesi gereken, neoplazi içindeki mitoz sayısının bölgeden bölgeye değişebileceğinden, bu durumlarda mitoz sayımı, mitoz konsantrasyonunun en fazla olduğu bölümlerde yapılmalıdır (Smith ve ark. 2002). Bazı çalışmalarda neoplazide mitotik indeks artışı ile metastaz oranı arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Wilcock ve Peiffer 1986). Bazı çalışmalarda ise (Ramos-Vara ve ark. 2002) mitotik indeksle pigmentasyon ve yaşam süresi arasında belirgin bir bağlantı olmadığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada, (incelenen 126 tümör vakasının 80'ninde (% 64,5) junctional (kavşak) aktivitesi saptadıklarını 20 vakada da (% 16,1) bunu görmediklerini ve biyopsi boyutunun küçüklüğünden veya ülserasyon derecesine bağlı olarak 22 vakada bu özelliği değerlendiremediklerini bildirmişlerdir.

Histopatolojik incelemelerde neoplastik üremelerin stromal dokusunun yoğunluğuda önemli bir kriterdir. Bu konuda yapılan çalışmaların bazılarında (Ramos-Vara ve ark.2000) tümörün stroma dokusunun 67 vakada (% 51,8) yetersiz olduğu, 48 vakada (% 37,2) orta derecede, 14 vakada (% 11) ise bol olduğu bildirilmiştir.

Melanositik tümörlerin histopatolojik teşhisinde, hücre şekilleri yanında tek fakat büyük bir çekirdekçik, veya birden fazla çekirdekçik bulunması, hiperkromatik görünüm ve atipik mitotik figürler gibi hücre morfolojisine ilgili kriterlerinde önemli olduğunu vurgulanmıştır (Goldschmidt ve ark. 1998). Ayrıca epidermis içinde tek veya gruplar halinde neoplastik hücrelerin bulunmasında maligniteyi destekleyen bir özellik olduğu belirtilmiştir (Smith ve ark. 2002).

2.3.5. MELANOSİTİK TÜMÖRLERDE IMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Melanositik tümörlerinin tanısının genel olarak histopatolojik değerlendirmelerle yapılabildiği kabul edilebilirdese, özellikle amelanotik veya melanin pigmenti az içeren melanositik tümörlerin tanısı için histopatolojik değerlendirme her zaman yeterli olmamaktadır. Bu durumlarda ayırıcı veya kesin tanı için immunohistokimyasal (İHK) boyamalar yapılarak bu yönlü değerlendirilmelerin yapılması gerekmektedir (Busam ve ark 1998; De Wit ve ark.2004; Kurotaki ve ark 2008; Aung ve ark. 2012). Son yıllarda özellikle melanoma gibi teşhisi zor olan tümörlerin tanısında İHK antikorları kullanılmakta ve başarılı sonuç alınmaktadır (Moore ve ark. 1989; Wick 2008; Webster ve ark. 2009; Memije ve ark. 2014).

Kötü diferansiye melanomalarda ve amelanotik melanomalarda histopatolojik değerlendirme tanı için her zaman yetmez. Yine epitel veya mezenşimal kökenli bazı neoplastik üremelerde mikroskopik olarak melanositik tümörlerle benzerdir ve buradaki hücreleri taklit edebilirler (Banerjee ve Harris 2000). Bu durumlarda kesin tanı için yardımcı tanı yöntemleri kullanılır. Bu yöntemler arasında monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılarak yapılan İHK yöntemler birinci sırada gelir. Bu yöntemle melanositik tümörleri oluşturan hücredeki endojen veya eksojen antijenlerin bunlara karşı geliştirilen monoklonal yada poliklonal antikorlar kullanılarak mikroskop altında görünür hale getirilmesi prensibine dayanır (Minami ve Patnaik 1992; Ramos-Vara ve Beissenherz 2000; Idikio 2010). 1930'lı yıllarda kullanılmaya başlanan bu yöntemler, son elli yılda hızla gelişmiş ve özellikle insan hekimliğinde bir çok laboratuvarında kanser çalışmalarında ve teşhisinde rutin olarak kullanılır hale gelmiştir (Rochaix ve ark. 2003; Bergin ve ark. 2011). Veteriner hekimlikte ise özellikle yurt dışındaki laboratuvarlarda daha çok kanser konusundaki çalışmalarda rutin olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda melanositik tümörlerin teşhisinde kullanılabilecek çok sayıda monoklonal veya poliklonal orjinli antikorlar geliştirilmiş ve bunlar kullanıma sunulmuştur (Minami ve Patnaik 1992; Smith ve ark. 2002). Özellikle insan hekimliğinde melanositik kökenli tümörlerin teşhisinde kullanılabileceği belirlenen bir çok antikor için veteriner hekimlik sahasında da bu tip tümör teşhisinde kullanılabileceği bir çok çalışmalar yapılmıştır (Blessing ve ark. 1998; De Los Monteros ve ark 2000; Blanchard ve ark. 2001). Bu çalışmalar sonucunda melanositik tümörlerin İHK teşhisinde kullanılabilecek çok sayıda monoklonal veya poliklonal antikor saptanmıştır.

Vimentin

Vimentin başlangıçta fare fibroblast kültüründen izole edilmiş bir 57-kD proteindir. Bu antikorun gerek insanlarda gerekse köpeklerdeki melanomaların hepsinde olmasada çoğunluğunda pozitif ekspresyon verdiği, buna karşı keratin'in negatif reaksiyon verdiği bir çok çalışmada saptanmıştır (Goldblum ve ark. 2001; Dabbs ve ark. 2013). Fakat bu antikor için melanomanın teşhisinde tek başına yetersiz olduğunu gösteren kriter, aynı antikorun diğer tümörler, özellikle sarkomalarda da benzer ekspresyona (işaretlemeye) sebep olmasıdır. Vimentin, ara filament ailesinin primordial (hücrenin olgunlaşmadan önceki başlangıç hali) üyesi olarak kabul edilir. Hepsinde olmasa da gelişme başlangıcındaki çoğu fetal hücrede görülür. Dahası; vimentin iki yada daha fazla antikorla kompleks olarak işaretlendiğinde vimentin etkili olmuştur. Buna göre vimentin; hücre tipi spesifik olarak kabul edilmez (Dabbs ve ark 2013). Vimentinin yumuşak dokulardaki "aynı anda birçok yerde bulunma yeteneği (ubiquity)", tümör patolojisindeki teşhis kullanımını sınırlar. Ancak; kullanışlı bir kontrol antikoru olarak değerlendirilir. Eğer vimentin, nonneoplastik endothelial hücrelerde, fibroblastlarda ve herhangi bir doku bölümünde rutin olarak görülen diğer mezenşimal hücrelerde kolayca tespit edilemiyorsa; eşlik eden neoplastik hücrelerin reaktivitesi veya nonreaktivitesi düzgünce belirlenemez. Duruma bağlı olarak, vimentin ekspresyon paterni aynı zamanda ayırt edicidir (Goldblum ve ark. 2001).

Larock ve Ginn'in (1997) köpeklerde 35 gastrointestinal kökenli stromal tümörlerin de (14 leiomyom, 18 leiomyosarkom, 2 undifferansiye sarkom, 1 nörofibro sarkom) Vimentin, S-100, düz kas aktin ve desmin antikorlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında, leiomyomların vimentin ile % 29, S-100 ile % 21 düz kas aktin ile % 71, desmin ile % 90 oranında pozitif boyandığını, leiomyosarkomların ise vimentin ile % 100, S-100 ile % 61, düz kas aktin ile % 50, desmin ile de % 83 oranında nörofibrosarkomlarda ise vimentin ve S-100 için pozitif ekspresyon bildirilmiştir.

S-100 Protein

S-100 antikoru hücre içi ve çekirdek içi asidik Ca bağlama proteindir. Çoğu melanomaların S-100 ile pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır (Busam ve ark. 2001; Nonaka ve ark. 2007). S-100 protein ismini doymuş (%100) ammonium sülfat solüsyonunda çözünebilmesinden alır. İlk kez merkezi sinir sisteminden (CNS)

saptanmıştır. Fakat şu an insan dokusundaki geniş dağılımıyla bilinir. Bunların içinde glia hücreleri, nöronlar, kondrositler, schwann hücreleri, melanositler, sabit fagositik veya antijen-gösteren hücreler, langerhans hücreleri, miyoepitelyal hücreleri, ve özellikle meme, salya bezleri, ter bezleri ve dişi genital sistem epitelleri gibi çeşitli epitel hücrelerde işaretlenebilir (Goldblum ve ark. 2001; Choi ve Kusewitt 2003; Folpe ve Cooper 2007).

Hem monoklonal antikolar hem de poliklonal antikolar, S-100 proteininin teşhisinde kullanım için uygundur (King ve ark. 1999; Dabbs ve ark. 2013). S-100 antikolarının ekspresyonu sitoplazmik ve nükleer olarak ortaya çıkmaktadır. Bazı reaktifler, alfa veya beta altbirimleri için monospesifiktir; bu yüzden poliklonal antikolar göreceli olarak daha dar bir reaktivite gösterirler. Örneğin; Beta-altbirim-spesifik antikolar tercihen glial hücreleri ve Schwann hücreleri işaretler. Ancak; Beta-altbirim-spesifik antikoların patologlar arasında geniş çaplı olarak kullanılmaz, ve S-100'ün poliklonal antikoları klinik uygulamada en yaygın kullanılan şeklidir (Minami ve Patnaik 1992; Goldblum ve ark. 2001). Uygun bağlamda, morfolojik olarak kararsız neoplazmalardaki bazı mümkün kökenleri hesaplamak için dizayn edilmiş antikoların panellerinin bir parçası olarak, reaktiflere karşı S-100 proteini hala kemikte ve yumuşak doku tümörlerinden schwann veya melanositik differansiyasyon için değerli indikatörlerdir. S-100 proteininin ekspresyonu, Ossifiye Fibromiksoid Tümör (% 73 - % 94), Ekstraskeletal Miksoid Kondrosarkomalar (en çok % 20), Sinovial Sarkoma (% 30), ve Gastro İntestinal Storomal Tümörler (GİST) (% 5-% 10) en çok duodenal tümörlerde gözlenmiş olarak saptanmıştır. S-100 protein ekspresyonu yumuşak doku miyoepitelyomalarda % 90 oranında ve miyoepitelyal karsinomalarda % 75 oranında bulunur. Kemik tümörleri arasında, iyi-diferansiye olmuş kartilaginöz neoplazmalarda ve %80 civarında, kondromalarda sürekli olarak S-100 protein ekspresyonu tespit edilmiştir. S-100 protein için reaktivite meme karsinomalarında % 40 oranında ve renal hücre karsinomalarında ve müllerian kökenli karsinomalarda daha az olarak görülür (King ve ark. 1999; Choi ve Kusewitt 2003; Wick 2008). S-100 protein, bazı histiyositik ve dendritik hücre lezyonlarının teşhisine destek olarak da kullanışlıdır. Langerhans hücre histiyositozisinde S-100 protein için tutarlı olarak ekspresyon vardır. Benzer şekilde, histiyositik sarkomalarda ve son derece nadir görülen sıkı-solid dendritik hücre sarkomalarında S-100 protein ekspresyonu vardır (Goldblum ve ark. 2001). S-100, özellikle amelanotik tümörler için, melanomalardan daha hassas bir gösterge olduğu görülmektedir (Koenig ve ark. 2001; Ramos –Vara ve ark. 2002; Choi

ve Kusewit 2003). Ayrıca önemli bir ayrıntıda; S-100'ün tırnak matriksinin iyi huylu ve kötü huylu melanositik tümörlerinde zayıf veya negatif ekspresyonudur. S-100 tek başına melanositik tümörlerin tanısında kullanılırsa yanıltıcı olabilir. Bununla birlikte, S-100, invaziv melanomu, ve özellikle HMB-45 ve MelanA'nın başarısız olabileceği desmoplastik melanomayı (DM'yi) ayırt etmek için gereklidir (Ordenez ve ark. 1988; Ferringer 2015). Burada da dezavantaj bu antikörün diğer tarafta karsinoidlerde kapsayan çok sayıda nörojenik ve nörojenik olmayan tümörleride pozitif ekspresyonları içindir (Smith ve ark. 2002). Bu nedenle bu antikorda köpeklerde melanomaların teşhisinde tek başına yeterli değildir (Ramos-Vara ve ark. 2000).

Bu amaçla insan hekimliğinde kullanılan başka bir antikorda Nöron Spesifik Enolaz (NSE) dir. Bu antikorda melanositik tümörlerin ayırımında sıklıkla kullanılan bir antikör (markır) dır (Blanchard ve ark. 2001). Bu markırında veteriner hekimlikte melanositik tümörlerin ayırımında kullanılabileceği değişik çalışmalarda ortaya konmuştur (Oyamada ve ark. 2007; Smedley ve ark. 2011). Fakat burada da yetersiz olan bu markırın melanoma teşhisi için tek başına yeterli olmadığıdır. Çünkü aynı markır, düz kas ve nöroendokrin dokuyu içeren değişik tümörlerde de pozitif boyanmalara neden olur (Ramos-Vara ve ark. 2000).

MelanA

MelanA (MART1, T1 hücreleri tarafından tanınan melanoma antijeni olarak da bilinir) *MLANA* geni tarafından kodlanan proteindir. MART1 (klon M2-7C10) ve MelanA (klon A103) aynı antijeni tanıyan iki farklı antikordur. MelanA, normal ve neoplastik melanositler tarafından eksprese edilen sitotoksik T hücreleri tarafından tanınan bir antijendir. MelanA boyama ekspresyonu sitoplazmik ve MelanA proteinine karşı üretilen monoklonal antikör A103'ün başlangıçta sadece melanositik hücrelerle reaksiyona girdiği düşünülüyordu. Bununla birlikte, bu antikörün daha sonra adrenal korteks ve gonadların steroid hormonu üreten hücrelerinde bulunan bir epitop ile çapraz reaksiyona girdiği bulundu. MelanA, adrenal korteksin, hem adenomları hem de karsinomları için pozitif ekspresyon gösterir. MelanA ayrıca adrenokortikal tümörler için çok spesifiktir. Perivasküler epitelioid hücre tümörlerinde (PEComas) MelanA immünoreaktivitesi gözlenmiştir. (Busam ve Jungbluth ve ark. 1998; Orosz 1999; Ramos-Vara ve ark. 2000; Koenig ve ark. 2001; Ramos-Vara ve ark. 2001; Ramos-Vara ve ark 2003; Maliver ve ark. 2004; Giudice ve ark. 2010). MelanA ekspresyonu metastatik melanomalarda %80 civarındadır fakat desmoplastik melanomalarda (DM) MelanA ekspresyonu genel olarak negatiftir, yada immünoreaktivitesi düşüktür (Blessing

ve ark. 1998; Ramos-Vara ve Miller 2011). Adrenal korteks, ovaryum ve testis tümörleri, Leydig hücre tümörlerinde de MelanA eksprese edilir (Jungbluth ve ark. 1998; Ramos-Vara ve ark. 2001).

Sitotoksik hücre yanıtı oluşturan ve fonksiyonu bilinmeyen bir protein olan MelanA, dar bir doku dağılımına sahiptir (Busam ve Jungbluth 1999). Bu antikor, melanosit sitoplazmasında güçlü bir ekspresyon (işaretleme) oluşturur. Ayrıca MelanA antikoru melanositik tümörlerin ayırımında İHK'de tercih edilen bir antikor ve önemli bir markırdır (Orosz 1999; Höinghaus, Mischke, ve Hewickwer-Trautwen, (2002); Choi ve Kusewitt 2003; Aung ve ark. 2012).

Ramos-Vara ve arkadaşları (2000) köpeklerde 122 oral melanoma ve 7 primer oluşumu bilinmeyen metastatik melanomayı içeren 129 materyal kullandıkları İHK yönlü araştırmada, tümörlerin % 92' sinde MelanA pozitif, % 100 ünde vimentin pozitif, % 98'inde S-100 pozitif, ve % 89,1' inde NSE pozitif saptadıklarını açıklamışlardır.

Başka bir araştırmada Koenig ve arkadaşları (2001) 10 melanoma, 11 melanositoma ve 8'i tam ayrılamayan toplam 29 tümöral materyalden oluşan araştırmalarda, MelanA' nın pigmentli melanositik tümörlerde % 90 oranında eksprese olduğu fakat 10 adet olan pigmentsiz melanomada (amelanotik melanoma) ekspresyon olmadığı ve bunların 7'sinin malign yapıda, 3'nünde yapısının belirlenemediği belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmada malign melanomalarda MelanA ekspresyonunun düşük olduğu, 10 malign melanomanın (pigmentli) sadece 3'ünde MelanA' nın ekspresyonunun saptandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada 11 adet melanositomanın MelanA ile pozitif ekspresyon saptandığı açıklanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar, Melan A'nın sadece daha az agresif melanomalarda eksprese edilmediğini, diğerlerinde de eksprese edildiğini bildirmişler ve özellikle bu antikorun S-100 ile beraber kullanıldığında melanomanın diğer kökenden gelen tümörlerle ayırımında değerli bir belirteç olabileceğini açıklamışlardır.

Giudice ve arkadaşları (2010) köpeklerde 28 melanositoma ve 41 malignant melanomadan oluşan 69 melanositik tümör vakasını içeren çalışmada, tümöral dokuları PNL2 ve MelanA dan oluşan antikoları kullanarak İHK yöntemiyle boyadıklarını ve bu melanositik tümörün 43'ünde (% 62) PNL2 ile 41'inde (%61) MelanA ile pozitif ekspresyon saptandığını belirtmişler ve melanositik tümörlerin teşhisinde bu iki

antikordan en az birisinin kullanılması gerekliliğini vurgulamışlardır. Ayrıca bu araştırmacılar tümörlerin primer oluşum bölgeleri yönünden karşılaştırıldığında PNL2 ve MelanA arasında ekspresyon yönünden bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Köpek melanositik tümörlerinin teşhisi için S-100, MelanA dışında HMB-45 Tirosinaz, TRP-2 ve son olarak PNL2 olmak üzere değişik antikolar saptanmış ve bunlarla ilgili değerlendirmeleri içeren değişik çalışmalar yapılmıştır (Blessing ve ark. 1998; Rochaix ve ark. 2003; Yaziji ve Gown 2003). Bu çalışmaların sonucunda melanositik tümörlerin teşhisinde bu antikoların özgünlük ve duyarlılığının değişken olduğu bildirilmiştir.

Yapılan iki çalışmada (Choi ve Kusewitt 2003; Koenig ve ark. 2003) amelanotik melanomaların yaklaşık % 90'nın S-100 ile pozitif ekspresyon verdiğini, ayrıca MelanA'ya karşıda yüksek oranda pozitiflik saptandığını ve bu iki antikorun melanositik tümörlerin teşhisinde spesifik olduğunun söylenebileceğini açıklamışlardır.

Blessing ve arkadaşları (1998) benzer konuda yaptıkları çalışmalarda MelanA'nın melanositik tümörlerin teşhisinde HMB-45'e göre daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

PNL2

PNL2 formaline dirençli melanosit antijenlerine karşı yönelen-onlara bağlanan özel bir monoklonal antikordur. Melanoma ayırıcı teşhisinde son yıllarda geliştirilen bir antikordur. Son yıllarda melanositik tümör ayırımında ve teşhisinde etkinliği üzerine gerek insan hekimliğinde gerekse de veteriner hekimlikde değişik çalışmalar yapılmıştır (Busam ve ark. 2005; Ramos-Vara ve Miller 2011). PNL2, orijinal olarak insan somastotatin reseptörünün bir alt tipine karşı üretilen yeni bir monoklonal antikordur (Rochaix ve ark. 2003) ve yakın zamanda melanositik hücreleri ve bunlardan türemiş tümörlerin ayırıcı teşhisinde bir İHK antikor olarak kullanılmaya başlamıştır (Ramos-Vara ve Miller 2011). PNL2, yüksek kontrasyonda kullanıldığında deri ve oral mukozal melanositlerde güçlü bir sitoplazmik ekspresyon oluşturur. Ayrıca granulositlerde ekspresyon oluşur. PNL2 intraepidermal benleri işaretler, ancak bileşik benlerin dermal bileşenleri PNL2 ile büyük ölçüde reaktif değildir. PNL2, MelanA ve HMB-45 antikoları berrak hücreli sarkom hücrelerinin çoğunu ve Lenfanjiyomiyomatoziste birkaç hücreyi boyar. PNL2 melanomalar ve berrak hücreli sarkomaların tanımlanmasında yararlı bir antikordur. PNL2 ayrıca, nötrofiller dahil olmak üzere anjiyomiyolipomları ve olgun miyeloid hücrelerde de eksprese edilir. Fakat

çeşitli karsinomlar ve sarkomlar dahil olmak üzere diğer melanositik olmayan tümörlerde ekspresyon oluşmaz (Busam ve ark. 2005). Melanoma ve bu tümörler arasında ayırıcı tanı yapılması bazen zordur ve melanoma, farklılaşmamış karsinom, sarkom veya büyük hücreli lenfoma gibi diğer neoplazmaları taklit edebilir (Banerjee ve harris 2002). Dolayısıyla PNL2 ayırıcı tanı olarak melanomaların teşhisinde çok önemli bir ayırıcı markıdır (Busam ve ark 2005; Morris ve ark. 2008; Ramos-Vara ve Miller 2011). Monoklonal PNL2 antikoru hedef melanositik antijenin dirençli kimyasal yapısından dolayı melanin ağartma veya yumuşatmadan sonra immun boyanmaya olanak verir ve tümör tespit edilebilir (Kligora ve ark. 1999; Rochaix ve ark 2003).

Busam ve arkadaşları (2005), çalışmalarında melanositik tümörlerin teşhisinde PNL2 ile, bu konuda kullanılan diğer bazı antikorların duyarlılığını karşılaştırdıkları çalışmalarında PNL2'nin hem melanositoma, benign nevüs, primer melanomalarda yüksek oranda pozitiflik verdiğini ve özellikle PNL2'nin metastatik melanomalarda % 87 oranında pozitiflik saptandığını bildirmişlerdir. Ayrıca metastatik melanomalarda A103'ün (MelanA/MART-1) ile % 82, HMB-45 ile % 76'sında, T311 (Tirozinaz) ile % 92'sinde ve D5 (MITF) ile de % 84'ünde ekspresyon saptandığını açıklamışlardır. Bu çalışmada kullanılan karsinoma, sarkomatöz tipte nonmelanositik tümörlerin hiç birisinde PNL2 ile pozitif boyanma olmadığında belirtilmiştir.

Choi ve Kusewitt (2003) Tirozinaz ile ilişkili protein-2 (TRP-2) S-100 ve MelanA'nın köpeklerde amelanotik melanomalardaki duyarlılığını karşılaştırdıkları çalışmalarında, melanomalardaki pigmentasyon kayıplarının malignite ile ilişkili olabileceğini ve amelanotik melanomaların diğer tümör tiplerinden ayrılmasının önemli olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada 21 amelanotik melanomanın 19'unun (% 90,5) S-100 ile pozitif boyandığı ve bu boyanmalarının çoğunluğun sitoplazmada belirgin olduğu, fakat az sayıdaki bazı vakalarda da çekirdek boyamaları geliştiği saptanmıştır. Bu çalışmada S-100'ün amelanotik melanomalarda % 90'nında pozitif ekspresyonu yanında, test edilen schwannoma, leiomyosarkoma, leiomyoma, fibrosarkom gibi melanom dışı ve özellikle mezenşimal kökenli tümörlerde değişik oranlarda pozitif ekspresyon olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar bu konudaki diğer çalışma sonuçlarıyla benzerdir (Sandusky ve ark. 1985; Koenig ve ark. 2003). Bu çalışmada kullanılan diğer antikorlardan TRP2'nin 21 amelanotik melanomadan 13'ünde, MelanA'nın ise 10'nunda pozitif boyama oluşturduğu belirtildi. Ayrıca MelanA ve TRP2'nin stromal kökenli schwannoma, leiomyosarkom, fibrosarkom ile pozitiflik oluşturmadığıda belirtilmiştir. Bu bulguya göre TRP-2 immunreaktivitesinin

köpeklerdeki melanomaların teşhisinde S-100'e göre daha spesifik olabileceğini açıklamışlardır.

2.3.6. TANI

“Tümör” latince kelime anlamı şişkinlik demektir. Geçmişte bu terim hekimlik alanında çoğunlukla vücudun yüzeyinde oluşan şişkinlik ve çıkıntı oluşturan yapıları anlatmak için kullanılmaktaydı. Bu tür tümöral doku yapıları, yangısal olaylar sonucu gelişebildiği gibi, çoğu zamanda belirli dokuları oluşturan hücrelerin kontrolsüz üremesiyle oluşabilir. Tümöral dokunun yapısı, yapılan mikroskopik incelemelerle ortaya konulabilir. Geçmişte dokuda oluşan şişkinliği anlatan bu terim, günümüzde canlıda herhangi bir dokuyu oluşturan hücrelerin kontrolsüz ve sınırsız üremesiyle gelişen, neden olan sebep ortadan kalksa bile gelişimini devam ettiren yeni oluşan doku üremeleri için kullanılmaktadır. Bununla beraber günümüzde hekimlik alanında bu tür şişkinlikler için yeni doku oluşumu anlamına gelen “neoplazi” terimi kullanılmaktadır. Halk arasında bu tip şişkinliklerden kötü huylu olanlarına yani malign tümörlere “kanser” iyi huylu yani benign olanlarınada “ur” denilmektedir (Kumar ve ark. 2013). Neoplazik tümörler sitolojik ve histolojik karakterlerine göre benign (iyi huylu) ve malign (kötü huylu) olmak üzere iki sınıfta değerlendirilir (Kardinal ve Yarbrow 1979; Diamandopoulos 1996; Cullen ve ark. 2002; Erer ve Kıran 2009)

Gerek vücut yüzeyinde gerekse organ ve dokularda gelişen bu tümöral dokuların yangısal bir nedeni mi, yoksa neoplaziye mi bağlı gelişip gelişmediği tıbbi tanımıyla teşhis ve tanısı için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Tümör teşhis amacıyla kullanılan tüm yöntemlerde ana amaçlar, seçilen yöntemin hastaya minimum düzeyde zarar vermesi, kullanılan yöntemin kısa süreli ve hızlı ve en önemlisi ekonomik olması gereklidir (Cotchin, 1972; Coulsen, 1979; Cullen ve ark. 2002).

Neoplazilerin, sınıflandırılması ve klinik çalışmalara katkı nedeniyle, bunların patolojik tanısı çok önemlidir. Gerek tıp hekimliğinde gerekse veteriner hekimlikte neoplazilerin patolojik tanısında değişik yöntemler kullanılıyor olsa bile, günümüzde pratikte en aygın ve rutin olarak kullanılan yöntemler:

1. Sitopatolojik yöntemler,
2. Histopatolojik yöntemler
3. Immunohistokimyasal yöntemlerdir.

Bunlar yanında rutin kullanılması, gerektiği durumlarda ek olarak Polymeraze Chain Reaction (PCR), Western Blot vb. yöntemlerde tümör teşhisinde kullanılmaktadır (Cullen ve ark. 2002; Rochaix ve ark. 2003; Giudice ve ark. 2010; Teixeira ve ark. 2014).

Çalışmamızın konusunu oluşturan ve köpeklerde deride, gözde, ağız mukozası başta olmak üzere vücudun değişik bölümlerinde gelişen melanositik tümörlerin teşhisinde de bu yöntemlerin bazılarında faydalanılmaktadır (Cotchin 1972; Rochaix ve ark. 2003; Goldschmidt ve Hendrick 2008)

2.3.6.1. Sitopatolojik Yöntemler:

Tümöral dokulardan farklı yöntemlerle alınan materyali özel boyalarla boyanmasıyla hazırlanan ve ışık mikroskopu altında incelenmesiyle, dokuyu oluşturan hücreleri sitolojik özelliklerine göre yapılan bir teşhis yöntemidir. Hızlı yapılabilmesi, kolay uygulanması ekonomik olması gibi nedenlerle tümör teşhisinde kullanılan bir yöntemdir. Fakat materyal içindeki hücre yoğunluğu önemli olduğu için, yapılacak teşhiste her tümör dokusu hakkında kesin teşhis yapılamıyabilir. Yani her incelemede kesin teşhis olmayabilir. Kesin teşhis için histopatolojik yöntemlere gerek duyulabilir. Fakat bazı tümör tiplerinde, örneğin mast hücre tümörlerin özellikle melanositik tümörlerde, transmissel venereal tümörlerde (TVT) bu yöntemlerle kesin teşhis konulabilir (Coulsen 1979; Cowell, Tyler ve Meinkoth 1989; Cowell ve Tyler 1999).

2.3.6.2. Histopatolojik yöntemler:

İnsan hekimliğinde tümöral vakaların % 90'a yakınının tanısı, "Hematoksilen Eozin" (H.E.) ile boyanmış kesitleri ışık mikroskopuyla incelenmesiyle yapılabilmektedir. Veteriner Patolojide de tümör vakalarının teşhisinde bu geleneksel teşhis yönteminin kullanım oranı insandakilerle benzer, hatta ekonomik nedenlere bağlı olarak daha fazla olduğu söylenebilir (Luna 1968; Ghisleni ve ark. 2006). Bu yöntemde, canlı vücudundan cerrahi yöntemlerle uzaklaştırılan veya nekroskopilerde alınan tümöral doku örneklerinin bir dizi işlemde geçirilip, lam üzerine alınması ve bunun rutin H.E ile boyanmasıyla veya gerektiğinde özel boyalarla boyanmasıyla elde edilen preparatın, ışık mikroskopu altında incelenmesiyle yapılan bir yöntemdir. Bu yöntemde dokunun histolojik yapısına ve hücrelerdeki sitolojik karektere göre yorum ve teşhisi yapılır (Koss 1992; Cullen ve ark. 2002; Goldschmidt ve Hendrick 2008).

Patoloji laboratuvarlarında altın standart olarak kabul edilen, hazırlanan dokunun H.E boyama yöntemiyle boyandıktan sonra ışık mikroskopunda incelenmesi

yöntemi yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemle hazırlanan dokunun ilk incelenmesinde sonra, gerekiyorsa diğer boyama yöntemleri uygulanır. Histopatolojik inceleme yönteminde dokuları oluşturan hücrelerdeki morfoloji, differansiasyon, mitotik indeks ve nekroz vb. gibi kriterlere dikkat edilir ve bunlar tümörlerin tipinin malignitesinin, grade'nin saptanmasında kullanılan kriterlerdir. Bunlarla birlikte değerlendirmelerde hücresellik oranı, ekspansif veya infiltratif büyüme, invazyon, matriks miktarı, kanama, yangı olup olmaması ve tümörün derinliği gibi kriterlerde değerlendirilmede kullanılır (Cotchin 1972; Ghisleni ve ark. 2006; Gross ve ark. 2008; Kumar ve ark. 2013).

Neoplastik lezyonların differensiasyon oranının saptanması ve histogenezisin belirlenmesi için hücrelerin morfolojileri, paterni (yapılanması) iç kimyasal (immunohistokimyasal) yapısında bu tip incelemelerde dikkat edilmesi gereken önemli parametrelerdir (Ramos-Vara 2005; Webster ve ark. 2009). Histolojik incelemelerde yeterli bulgu saptanamadığı durumlarda immunohistokimyasal, yada elektron mikroskopu gibi diğer yardımcı yöntemlere başvurulur.

2.3.6.3. Immunohistokimyasal Yöntemler:

İnsan patoloji laboratuvarlarında ilk olarak 1930'lu yıllardan itibaren kullanılmaya başlanılan yardımcı bir teşhis yöntemidir. Doku kesitlerinde özel epitoplara yerlerini ve lokalizasyonlarını saptamak ve göstermek için bunlara özgü özel antikor içeren belirteçlerin kullanılması esasına dayanır. Bu yöntemle hücre ve dokulardaki endojen ve ekzojen antijenler, spesifik antikorlar kullanılarak ışık mikroskopuyla görünür hale getirilmektedir (Ramos-Vara 2005; Webster ve ark. 2009).

Bu yardımcı teşhis yöntemi özellikle malignitesi yüksek tümörlerde ve mikst tümörlerde histolojik kökeni ve yapıyı kesin olarak ortaya koymak için kullanılır ve özellikle insanlarda son 50 yılda kanser çalışmalarında ve teşhisinde rutin kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Bu yöntem için kullanılan antikorlar daha çok laboratuvar ortamlarında poliklonal ve monoklonal olarak elde edilir (Minami ve Patnaik 1992; Ramos-Vara ve Beissenherz 2000; Smith ve ark. 2002). Poliklonal antikorlarda antijen spesifik değildir, ve antijen üzerinde bulunan farklı bir epitopa bağlanabilir. Bu nedenle poliklonal antikorların kullanıldığı durumlarda, pozitif kontroller kullanılmadığı zaman yanlış sonuçlar elde edilebilir. Monoklonal antikorlar ise antijen yüzeyinde bulunan belirli epitoplara bağlanır ve bu nedenle spesifik sonuçlar elde edilir (Ramos-Vara 2005).

İnsan hekimliğinde neoplazi teşhisinde çok sık kullanılan bu yöntem Ülkemizde veteriner hekimlikte ve patolojide, ekonomik nedenlerle çoğunlukla araştırma çalışmalarında kullanılmaktadır (Haktanır 2006; Türer 2007). Kullanım yoğunluğundan ve talep fazlalığından dolayı, insanlarda normal ve neoplastik dokuyu oluşturan hücrelerdeki antijenik yapılara karşı geliştirilmiş özel antikolar oldukça fazladır ve bunların birçoğu ticari olarak sunulmaktadır (De Wit ve ark. 2004; Idikio 2010; Ferringer 2015).

Veteriner Patolojide özellikle tümör teşhisinde ve/veya tümör histogenezisine ilgili immunohistokimyasal çalışmalarda, çoğunlukla insan hücreleri için üretilen antikoların çapraz reaksiyonlarından yararlanır (Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002; Sulaimon ve ark. 2002; Smedley ve ark. 2011).

Immunohistokimyasal çalışmalar amaç ve duyarlılık gibi nedenlere bağlı olarak immunoflorasan, immunoperoksidaz ve enzim antienzim kompleksi gibi farklı yöntem ve prosedürlerle yapılabilir (Sandusky ve ark. 1987; Ellis ve ark 2011; Fuertes ve ark. 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızın materyalini, 2011-2014 yılları arasında Anabilim Dalımıza İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinikleri ve İstanbul'daki özel kliniklerden gönderilen, köpeklerden deri ve değişik dokularından (kavum oris, pati, göz ve göz kapağı gibi) alınmış, tümöral materyallerden, histopatolojik incelemeler sonucunda melanositik kökenli olduğu düşünülen 50 adet materyallerden oluştu. Bu 50 adet materyal %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi, preparat hazırlama işlemlerinden geçirilip parafin ile bloklandı ve bunlardan, histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme için mikrotom ile 4-5 mikron kalınlığında uygun özellikte kesitler alınıp bunlar çalışmada belirtilen amaçları araştırmak için, materyal olarak kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Doku Takibi ve Parafin Kesit Hazırlanışı

Çalışma süresince gelen materyaller, bunların alındığı köpeklere ait klinik ve özgeçmiş bulguları alındıktan sonra makroskopik incelemeleri yapıldı ve daha sonra tespit amacıyla uygun şekilde %10'luk formol çözeltisinde 24 saat bekletildi. Daha sonra uygun şekilde daha da küçültülen dokular 24-48 saat, aynı özellikte solusyonda tespit edildi, burdan alınan doku parçaları kasetler içinde preparat hazırlamak amacıyla, rutin doku takip işlemlerinden geçirildi (Luna 1968), sıvı parafine gömülerek bloklandı ve bu şekilde hazırlanan tüm parafinlenmiş doku bloklarından, Rotary Mikrotomla 3-5 µm kalınlığında seri kesitler normal lamlar üzerine alındı. Bu lamlar Hematoksilen Eozin ile boyandı. Hazırlanan lamlar ışık mikroskobunda incelendi ve her materyale ait histopatolojik değerlendirme ve teşhisler yapıldı. Bazı materyallere ait preparatlarda, neoplastik doku hücrelerinde yoğun melanin pigmentasyonu olduğu için, bu tip preparatlara hücresel morfolojiyi net görebilmek için, aşağıda prosüdüğü verilen melanin soldurma yöntemi uygulandı.

Melanin Soldurma İşlemi:

%0,25'lik Potasyum Permanganat

Distile Su 100ml.

Potasyum permanganat 2,5 gr.

% 5'lik Oksalik Asit Solusyonu

Distile Su 100ml.

Oksalik Asit 5 gr.

Yapılışı:

1. % 0,25 lik potasyum permanganat solüsyonunda ile bir saat beklet.
2. Su ile yıka.
3. % 5'lik oksalik asit solüsyonunda renk açılıncaya kadar 2-5 dakika beklet.
4. Su da 10 dakika yıka
5. Hematoksilen- Eozin ile boya

İkinci aşamada immunohistokimyasal incelemeler için kullanılacak işaretlenmiş Streptavidin (Labelled streptavidin-biyotin peroksidaz tekniği) boyamalar için aynı bloklardan yeni Rotary Mikrotomla, 3-4 mikron kalınlığında yeni seri kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı ve boyama işlemleri yapılanaya kadar +4-8 derecede saklandı. Bu aşamada her boyanacak antikor için bir kesit olmak üzere her doku materyalinden 4'er ayrı kesit alındı ve preparat hazırlanıp 4 ayrı antikor için boyamalar yapıldı.

İlgili antikorlar (Vimentin, S-100, Melan A, PNL2) ile işaretlenecek tüm kesitler boyama öncesinde bir gece 37° C'lık etüvde bekletilerek kuru olarak parafin giderme işlemi yapıldı.

Çalışmada kullanılan toplam 50 olguya ait H.E ve İşaretlenmiş Streptavidin Biyotin Yöntemi ile boyanmış preparatlar Olympus BX50F4 ışık mikroskopuyla incelenerek hücre morfolojileri ve paterni, araştırılan antikorların ekspresyon düzeyleri değerlendirildi.

Hayvanların yaş, ırk ve cinsiyet gibi klinik bilgileri, materyallerin lokalizasyonu, saptanan tümör tipleri, araştırılan antikor ekspresyon düzeyleri vb. Bulgular, Tablo 4.3-1,2,3, 4 ve 5'de gösterildi.

3.3. Immunohistokimyasal Boyama (İHK B)

Doku örneklerinden pozitif şarjlı lamlara alınan parafin kesitler, insanlarda gelişen melanositik tümörlerin teşhisi ve ayırıcı tanısında kullanılmak için geliştirilmiş ve bu konuda yapılan çok sayıda çalışmada (Ramos-Vara ve Miller 2011; Sevastre ve ark. 2012) köpek melanomalarında da çapraz reaksiyon verdiği kabul edilen NOVOCASTRA (İngiltere) mouse monoclonal Vimentin (RTU-VIM-V9), NOVOCASTRA mouse monoclonal MelanA (NCL-L-MelanA), BOND rabbit polyclonal S-100 (RTU-S100-p) ve CELL MARQUE mouse monoclonal PNL2 (365M-98) tümör belirteçleri, labeled (işaretlenmiş) streptavidin-biyotin peroksidaz tekniği kullanılarak immunohistokimyasal yöntemle boyandı. Konsantre olan primer antikorların sulandırılması amacıyla antikor sulandırıcısı (Thermo 003118) kullanıldı.

Immun boyamalar için Expose Mouse and Rabbit specific HRP detection IHC kit (ab80436), işaretlemeler için kromogen olarak DAB ve AEC kullanıldı. Doku kesitlerinden hazırlanan preparatlara, enzim ön işlemi aşamasında antijenlerin açığa çıkarılması amacıyla, mikrodalga fırın (Arçelik, MD551) kullanılarak orta yüksek sıcaklıkta (yaklaşık 700 W) sitratlı tampon çözeltisi (Ph 6,0) uygulandı. Boyama prosüdüğü boyunca yıkama solüsyonu olarak fosfatlı tampon çözeltisi (ab64026) (pH 7,6) kullanıldı. Kullanımdan önce PBS içerisine 2:1000 oranında Tween 20 ilave edildi. Zemin boyaması Mayer's Hematoksilen (Bio Optica, katalog no: 05-M06002) kullanıldı. Son olarak preparatlar çeşme suyu ile yıkandıktan sonra, su bazlı bir yapıştırıcı (Lab Vision TA-006-FM) ile kapatıldı.

Doku Kesitleri İçin Immunohistokimyasal İşaretleme Protokolü:

1. Parafinin giderilmesi ve dehidrasyon

- * Ksilol 3x20 dk
- * % 100 lük alkol 3dk.
- * % 96 lık alkol 3 dk.
- * distile su 10 dk.

2. Antijenlerin açığa çıkarılması

* Mikrodalga fırında, medium high derecesinde (yaklaşık 700 W), sitratlı tampon çözeltisi içerisinde, dokuların kurumasının engellenmesi için aralarda buharlaşan sıvı yerine eklenerek ısıtma 4x5 dk.

* Aynı solüsyon içerisinde soğutma 20 dk.

*PBS+Tween20 ile yıkama 5 dk.

3. Endojen Peroksidaz Aktivitesinin Bloke Edilmesi

* % 0,3 lük metanol ile sulandırılmış H2O2 ile 10 dk

* PBS+Tween20 ile yıkama 5 dk.

4. PBS+TWEEN20 ile yıkama 2x5 dk.

5. Proteinleri bloke edilmesi

* Protein Blok (ab80436) 10 dk.

6. Primer Antikor (dilüsyon Vimentin= 1:100, S-100 = 1:50, MelanA = 1:40, PNL2 = 1:25, 1,5 saat, 37derece)

7. PBS+Tween 20 ile yıkama 3x5 dk

8. Sekonder antikor (Link) ile inkübasyon 10 dk.

9. PBS+Tween20 ile yıkama 3x5 dk

10. Streptavidin Biotin HRP ile inkubasyon 15 dk.

11. PBS+Tween ile yıkama 3x5 dk.

12. Kromojen (DAB) ile inkubasyon 5 dk.-AEC ile inkubasyon 15 dk.

13. Distile su ile yıkama 3x5 dk

14. Hematoksilen ile fon boyanması 3 dk.

15. Akar su altında yıkama 10dk.

16. Dereceli alkollerden geçirilip kurutulması.

17. Preparatların su bazlı yapışkan ile kapatılması.

3.3.1. Kontrol Dokularının Boyanması

Pozitif Kontrol

Pozitif kontrol olarak antikorun prospektüsünde tavsiye edilen aynı hayvan türüne ait S-100 için beyin dokusu, MelanA ve PNL2 için melanom dokusu, Vimentin için kas dokuları kullanıldı.

Negatif Kontrol

Pozitif kontrol olarak kullanılan pozitif kontrol doku kesitleri, immun boyamaları esnasında primer antikorun uygulandığı aşamada primer antikor yerine PBS ile inkübe edilerek negatif kontroller oluşturuldu. Boyama protokolü bu aşama dışında aynı şekilde uygulandı. Negatif kontrollerde bir pozitiflik izlenmedi.

3.3.2. Immunreaksiyonların Değerlendirilmesi:

İmmunohistokimyasal boyamaları (İHK) değerlendirmede, (Klein ve ark. 2001) belirtildiği gibi prosedür kullanıldı. Buna göre neoplastik hücrelerde Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 için nükleer ve sitoplazmik ekspresyon (boyanma) pozitif kabul kjkjkjjedildi. Immunoreaktivitenin en yoğun olduğu alanlar x10, x20, ve x40 objektifler kullanılarak belirlendi. 40x lik büyütmede farklı alanlar taranarak bir büyük büyütme alanındaki immunreaktif tümör hücreleri sayıldı. 1000 total hücredeki boyanmış pozitif (+) hücreler saptandı. Boyanma yoğunluğu göz önüne alınmadı. Her vakada Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 reaktivitesi 1000 hücrede pozitif boyanan hücre olarak hesaplandı. Pozitif boyanan hücrelerin oranı aşağıda derecelendirildi.

Tümör hücrelerinin çekirdek veya sitoplazmasının % 1-9 unda boyanma: 1 (+) zayıf

Tümör hücrelerinin çekirdek veya sitoplazmasının % 10-50' sinde boyanma: 2 (+) orta

Tümör hücrelerinin çekirdek veya sitoplazmasının % 51-100' ünde boyanma: 3 (+) kuvvetli

Hiç boyanma yok negatif.

Birkaç vakada gözlemlenen hem çekirdek hem sitoplazma pozitifliğinde daha baskın olan bölümün pozitifliği değerlendirmeye alındı. İstatiksel değerlendirilmelerde gruplar arasındaki farklar için Pearson Chi-Square testi uygulandı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular:

Melanomalar ve melanositik olmayan tümör ve lezyonlardan oluşan 50 çalışma materyallerinin, ırk, yaş, cinsiyet gibi klinik verileri, histopatolojik teşhis, materyallerin alındığı bölgeler, skorlama ve İHK boyama sonuçları Tablo 4.3-1,2,3,4,5'de verilmiştir.

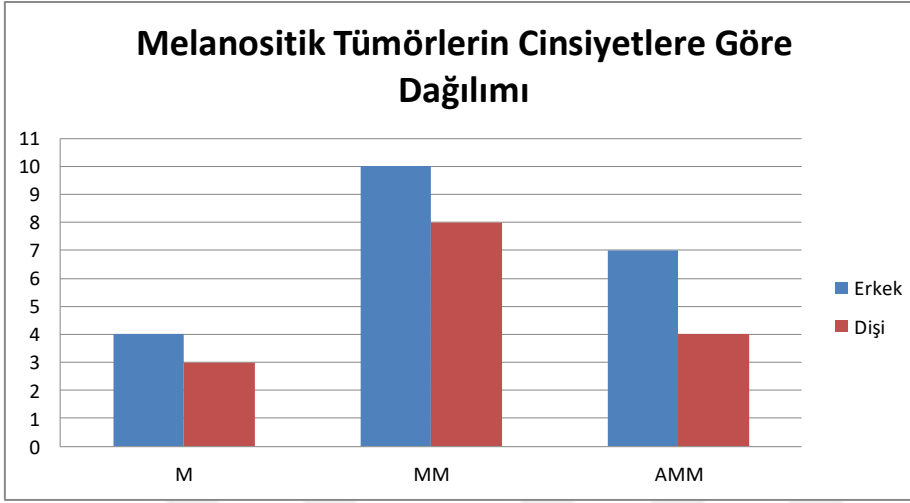
İncelenen 50 olgunun histopatolojik teşhisleri sonucunda; bunlardan 25'inin melanositik kökenli tümör (melanoma) olduğu saptanırken 25 olguda ise histopatolojik inceleme sonucunda net ve kesin bir sonuca ulaşılamamıştır. Bu 25 olgunun, histolojik incelemesi sonucunda, her olguda farklı olmakla beraber bunların teşhisi 2 farklı sonuca indirilmiş ve kesin teşhis, İHK boyamaları sonucuna göre yapılmıştır. İHK boyamaları sonucunda da bu 25 olgudan 11'inin daha melanositik kökenli tümör olduğu, kalan 14 tümörün ise mezenşimal veya epiteliyal kökenli tümör olduğu sonucuna varılmıştır. Bunlarla ilgili sonuçlar detaylı bir şekilde Tablo 4.3-1,2,3,4,5,6,7,8 ve 9'da verilmiştir.

Histopatolojik ve İHK incelemeleri sonucunda, melanoma olarak teşhis edilmiş 36 tümör vakasının, 18'inin malign melanoma (MM), 7'sinin melanositoma (M), 11'inin ise amelanotik melanoma (AMM) olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada incelenen materyallerin alındığı köpeklerin 28'i erkek 22'si dişidir. Bu köpeklerin ırklara göre dağılımı ise, 8 *Terrier*, 7 *Cocker*, 6 *Golden Retriever*, 6 melez, 4 *Pekinese*, 2 Kangal, 3 *Setter*, 2 *Fr. Bulldog*, 2 *Pincher*, 2 Kanada Kurdu, 2 *Boxer*, 2 *Rotweiller* ve *Dachaund*, *Husky*, Alman Çoban Köpeği, *Doberman* ırkından birer olgu olarak saptanmıştır.

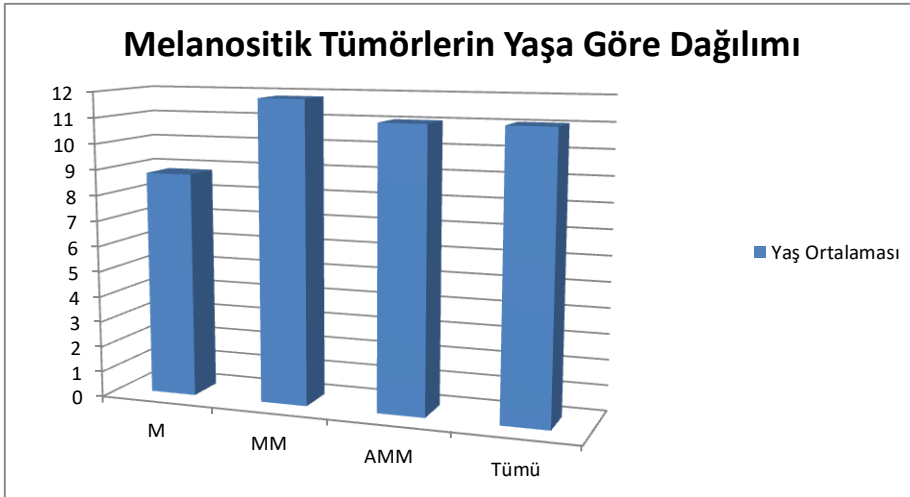
Melanoma teşhis edilen materyallerin alındığı köpeklerin cinsiyetleri 21'i erkek, 15'i ise dişidir. Bunlardan malign melanoma (MM) teşhis edilenlerin 10'ü erkek, 8'i dişi, melanositoma (M) teşhis edilenlerin 3'ü erkek, 4'ü dişi ve amelanotik melanoma (AMM) teşhis edilenlerin ise 8'i erkek, 3'ü dişi cinsiyetlidir. Melanoma olarak teşhis edilen köpeklerin cinsiyet bakımından yüzdeleri erkeklerin oranı % 58,3 dişilerin oranı % 41,7 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1-1).

Şekil 3.3.1-1 Melanositik Tümörlerin Cinsiyetlere Göre Dağılımı



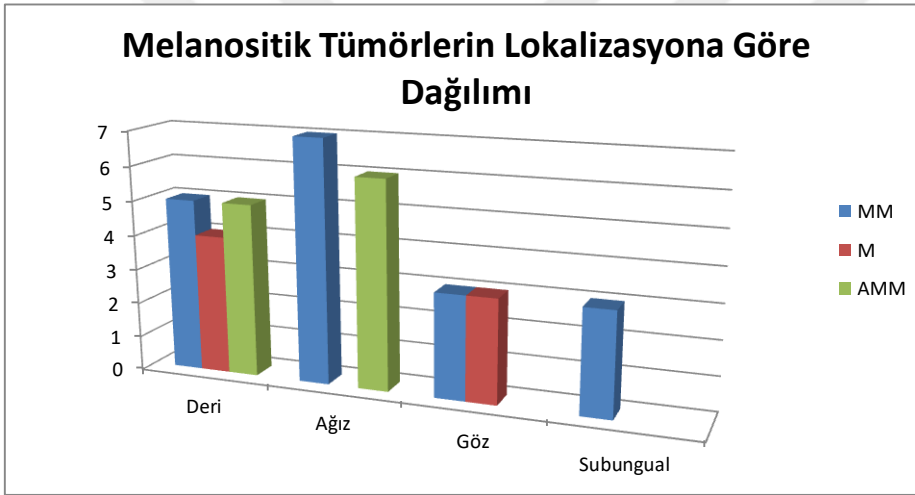
Histopatolojik ve İHK boyama sonucunda melanoma teşhis edilen köpeklerin yaş ortalaması 11,02 olarak belirlenmiştir. Bunlardan malign melanomaların yaş ortalaması 11,8, melanositomaların yaş ortalaması 8,8 ve amelanotik melanomaların yaş ortalaması ise 11 olarak saptanmıştır (Şekil 4.1-2).

Şekil 3.3.1-2 Melanositik Tümörlerin Yaşa Göre Dağılımı



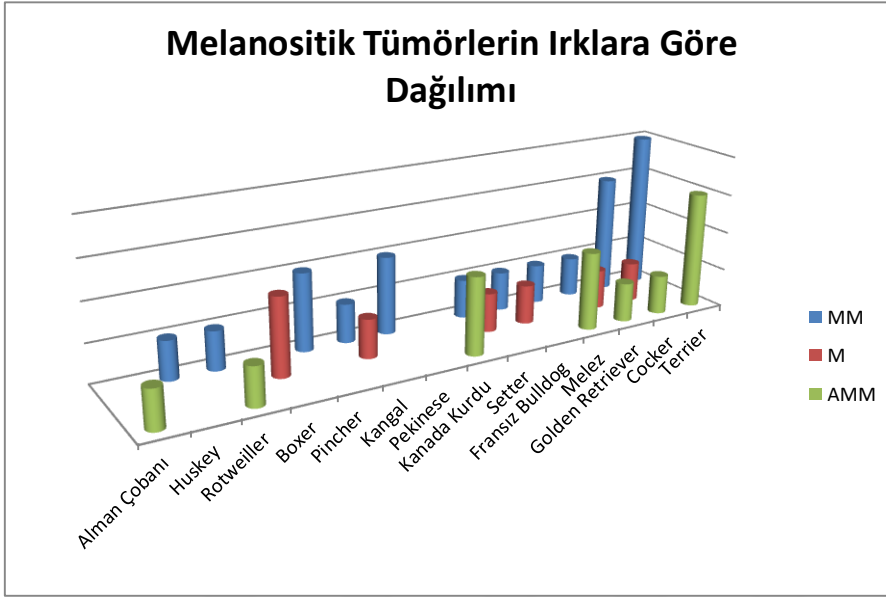
Melanomaların lokalizasyonlarının, 14'ü deri (kutanöz) (% 38,8), 13'ü ağız boşluğu (cavum oris) (% 36,1), ve 6 tanesi de göz (okuler) (% 16,6), 3 vaka ise subungual (pati) bölgesinde lokalize olmuştur (% 8,5). Malign Melanomalar da 5 vaka deri (kutanöz), 7 vaka ağız boşluğu (cavum oris), 3 vaka pati ve 3 vaka göz bölgesinden alınan kitlelerden oluşmuştur. Melanositomalar 3 vakada gözde ve 4 vakada ise deride lokalize olan kitlelerde saptanmıştır. Amelanotik Melanomaların oluşturduğu 6 vaka ağız boşluğundan (cavum oris) alınan kitlelerden, 5 vaka ise deriden alınan kitlelerden saptanmıştır (Şekil 4.1-3).

Şekil 3.3.1-3 Melanositik Tümörlerin Lokalizasyonu



Malign Melanoma'ların ırklara göre dağılımı ise; 4'ü *Terrier*, 3'ü *Cocker*, 2 *Pincher*, 2 *Pekinese* ve birer adet melez, *Rotweiller*, *Fr Bulldog*, *Setter*, *Husky*, *Kangal*, *Golden Retriever* olarak saptanmıştır. Melanositoma'lara ise 2 *Boxer*, ve birer tane, *Cocker*, *Fr. Bulldog*, *Setter*, *Golden Retriever*, ve *Kangal* gibi değişik ırklarda rastlanmıştır. Amelanotik Melanoma 3 *Terrier*, 2 melez, 2 Kanada kurdu ve birer tanede, *Cocker*, *Rotweiller*, *Golden Retriever* ve Alman Çoban Köpeği ırkı köpeklerde teşhis edilmiştir. Melanomaların ırklara göre yüzdesi: % 19,4 *Terrier*, % 13,8 *Cocker*, % 8,3 melez, % 8,3 *Golden Retriever*, % 5,5 *Fr. Bulldog*, % 5,5 *Setter*, % 5,5 Kanada Kurdu, % 5,5 *Pincher*, % 5,5 *Pekinese*, % 5,5 *Kangal*, % 5,5 *Boxer*, % 5,5 *Rotweiller*, % 2,7 Alman çoban Köpeği ve % 2,7 *Husky* farklı ırklardan oluşmaktadır.(Şekil 4.1-4)

Şekil 3.3.1-4 Melanositik Tümörlerin Irklara Göre Dağılımı



İrklara göre melanositik tümörleri değerlendirdiğimizde, *Terrier* ve *Cocker* ırklarının ağırlıkta olduğu gözlemlenirken, değişik ırklarda da bu tümörlere saptanmıştır.

4.2. Hispatolojik Bulgular

Çalışmada histopatolojik inceleme sonucunda olguların 25'inin farklı özelliklerde melanositik neoplazma yapısında olduğu, 25 tanesinin de hem melanositik tümörlerin hemde bazı mezenşimal ve epitelyal kökenli neoplastik üremelerin mikroskopik özelliklerine sahip olduğundan bunların bazıları undiferansiye sarkom ve bazılarında epitel kökenli neoplastik üremeler olarak değerlendirilmiştir.

Histopatolojik inceleme ile gerek değişik özellikli melanoma tipi neoplastik üremeler olarak teşhis edilenlere, gerekse melanoma yada mezenşimal veya epitelyal kökenli olabileceği düşünülen diğer neoplastik üremelerin hepsine, melanositik yapıda olup olmadığının ayırımını yapmak için, ve özellikle melanositik tümörlerde olmak üzere tüm olgulara, kullandığımız 4 antikorun, hücrelerde ne oranda boyanma oluşturduğunu saptamak ve bu antikorların histopatolojik olarak saptadığımız, neoplastik üremelerin differansiasyonunda ve teşhiste ne oranda önemli olduğunu değerlendirmek için, işaretli StreptoAvidin Biotin Peroksidaz tekniği tipinde İHK

metodu kullanılarak immün boyama uygulanmıştır. Bunlar sonucunda elde edilen bulgular Tablo 4.3-1,2,3,4,5 de verilmiştir.

Çoğunlukla deride (bacak veya gövde derisinde) saptanan ve melanositoma olarak isimlendirilen olguların histopatolojik incelemelerinde; çoğunlukla epidermis-dermis birleşim bölgesinden başlayan durumda, (Şekil-4.2.1-1) bazende üst dermis bölgesinden başlayarak etrafa ve derinlere doğru yayılan gelişimde, aralarında yer yer kollagen ve fibröz doku bulunan kısmen yuvarlak, oval veya spindle gibi farklı şekil ve boyutta belirgin eozinofilik çekirdekçiğe sahip kısmen atipik görünümde olan ve epidermisin bazalında yerleşen melanosit ile (dentrik) hücrelere benzeyen hücrelerden meydana gelen odaklardan oluştuğu saptandı (Şekil-4.2.1-2). Bu odakları oluşturan atipik melanosit hücrelerinde, bazı vakalarda yaygın ve yoğun şekilde bazı vakalarda da daha sınırlı alanlarda olmak üzere, sitoplazmalarında ve/veya serbest olarak hücreler arasında farklı yoğunlukta melanin pigment birikimleri saptandı (Şekil 4.2.1-3,4). Bu olguların bazılarında atipik yapıdaki melanositik kökenli hücrelerin yer yer epidermis katmanlarına doğrudan invaze olduğu, bazı olgularda da epidermiste geniş ülserler meydana geldiği saptandı. Ülsere yapıdaki kutanöz melanomalardan tümörü oluşturan hücre odaklarında atipik melanoblastik hücrelerle beraber, değişik yoğunlukta sağlam veya dejenere durumda makrofajlar ve lökosit ağırlıklı yangısal hücrelerde saptandı. Bu tip kutanöz melanositoma olgularında 40x büyütmede değişik alanlarda 0,1,2 mitoz yapıları da saptandı (Şekil 4.2.1-5).

Çalışmamızda çoğunlukla patide ve tırnak arası bölgede ve göz kapaklarında gelişen ve kutanöz malign melanoma olarak isimlendirilen olgularda ise dermisin orta kısımlarından başlayıp etrafa ve derinlere doğru genişleyen yapıda, çoğunluğu eozinofilik çekirdekçiğe sahip yuvarlak-oval veya spindle şekilli olan ve farklı boyutlarda melanositik hücrelere benzeyen, atipik yapı görünümünde hücrelerden oluştuğu saptandı (Şekil 4.2.1-6). Bu tümöral dokuyu oluşturan agresif ve atipik yapıdaki melanositik hücrelerin çoğunluğunun sitoplazmaları içinde veya ortamda serbest olarak fazlaca melanin pigment granülleri saptandı (Şekil 4.2.1-7). Bu atipik melanositik hücrelerin melanin biriktiği ve yayıldığı dermis içinde kollajeni parçaladığı ve çevreye kollagen içine doğru invaze oldukları da saptandı. Bu olgularda atipik hücre odakları ile çevre sağlam doku arasında bir sınır veya kapsül gibi bir alan gelişimi görülmedi (Şekil 4.2.1-8 ,9) Bu olgularda atipik melanositik hücre odaklarında 40x lik büyütmede değişik alanlarda 3-4 mitoz yapıları da saptandı (Şekil 4.2.1 -10).

Damak, diş eti gibi ağız içi bölgeden alınan materyallerin mikroskopik incelemesinde ise, çok katlı epitelden oluşan mukoza tabakasında yer yer akantozis ve yer yerde geniş ülsere alanlarla beraber, submukozada geniş veya sınırlı öbekler veya lameller tarzında yerleşimli farklı genişlikte, çoğunluğu oval yer yerde yuvarlak olmak üzere farklı Őekillerde epiteloid ve daha az spindle Şekilli çoğunluğu bir veya daha fazla eozinofilik çekirdekçiğe sahip, atipik görünümde melanositik hücrelerden oluşan tümöral hücre odakları saptandı (Şekil 4.2.1-11). Bu odakları oluşturan atipik melanositik kökenli hücrelerin, çoğunluğu hiperkromatik görünümde iken bunların bazılarındaki ökromatik görünümde, oldukları ve tüm bu hücrelerin reaktif görünümde oldukları evre sağlam dokuya doğru invaze olarak yayıldıkları görüldü (Şekil 4.2.1-12,13). Bu odaklar içinde yer yer fazlaca farklı genişlikler damar yapıları, kanama ve nekroz alanları ve bazılarındaki da nötrofil ve lenfosit hücrelerinden oluşan yangısal hücre infiltrasyon alanları da saptandı. Bu atipik melanositik hücre odaklarında 40x lik büyütmede değişik alanlarda ortalama 4-7 adet bazıları atipik görünümde olan mitoz yapıları saptandı. Odaklarda sağlam doku ile geçiş alanlarında belirgin bir sınır olmadığı, sağlam doku içinde de yer yer küçük atipik hücre birikimlerinde görüldü (Şekil 4.2.1-14). Ağız içi bölgede gelişen melanositik kökenli bu tümörlerin bir kısmında yukarıda genel morfolojileri açıklanmaya çalışılan atipik hücrelerin çoğunluğunun sitoplazmasının içinde veya atipik hücreler arasında fazlaca melanin pigment birikimleri saptandı (Şekil 4.2.1-14,15), ve bunlar melanositik tip malign melanoma olarak isimlendirildi. Aynı bölgelerde saptanan bazı melanositik kökenli tümörlerde de, yukarıda açıklanan morfolojide benzer değişimler saptanırken, bunlarda diğerlerinden farklı olarak melanin birikimleri görülmedi veya farklı bir kaç alanda dağınık olarak az miktarlarda görüldü. Bunlarda amelanotik yapıda malign melanoma olarak isimlendirildi (Şekil 4.2.1-16).

Çalışma olgularını oluşturan ve vücudun değişik bölgelerinde deri altı yada ağız içinde, diş eti mukozasında yerleşimli 20 olgunun histopatolojik incelemesi sonucunda bunların 14 tanesinde deride dermis içinde, ağız mukozasında, submukoza içinde, gevşek veya sıkı yerleşimli ve farklı genişlikte odaklar halinde, çoğunluğu epiteloid ve oval ve spindle Şekilli ve farklı boyutlarda atipik yapı ve görünümde melanositlere de benzeyen hücre remelerinden oluşan tümöral doku yapısı saptandı ve bunlarda başlangıçta amelanotik melanoma (AMM) olabileceği de düşünülerek histopatolojik olarak undiferansiye sarkom (US) olarak isimlendirildi (Şekil 4.2.1-17), ve belirtildiği gibi AMM olabileceğide düşünülerek çalışma materyali olarak kullanıldı. Tablo 4.3-1/8

de görüldüğü gibi bu vakalar İHK olarak, melanoma ayırıcı antikorlarla boyandı ve bunların bir kısmı son teşhiste amelanotik tip malign melanom olarak isimlendirildi. İHK boyama sonucu (-) olanlar ise histopatolojik olarak isimlendirildikleri gibi değerlendirildi. Tablo 4.3-1 de 1. ve 5. vaka, Tablo 4.3-2 de 12. ve 15. vaka, Tablo 4.3-3'de 21. ve 27. vaka, Tablo 4.3-4 32., 34., 36. ve 39. vaka, Tablo 4.3-5 de 41., 44., 46. ve 47. vaka, (Şekil 4.2.1-18,19,20,21,22), Ayrıca yine çalışma materyalini oluşturan 7 olgunun histopatolojik inceleme sonucunda, gerek hücresel yapı itibari ile ve özellikle atipik hücrelerin bazılarında sitoplazmalarında yada hücre grupları içinde saptanan melanin pigment varlığından dolayı her ne kadar histopatolojik olarak epitel kökenli tümörler olarak düşünülse de bu belirttiğimiz sebeplerden dolayı melanositik tümör olabileceği de düşünülerek çalışmaya alınmış ve bunlara da uygulanan immunohistolojik boyamalar ile son teşhisleri ve isimlendirmeler yapılmıştır. Bunlar Tablo 4.3-1'de 8. ve 10. vaka, Tablo 4.3-2'de 14. vaka, Tablo 4.3-3'te 22., 25., 28. ve 29. vaka Tablo 4.3-4'te 31., 35. ve 37. vaka. Tablo 4.3-5 de 48. vakadır.

Çalışmamızdaki kutanöz melanositik tümörlerin histopatolojik teşhisinde 2. ve 26. olgularda ortak özellik yoğun kahverengiye çalan melanin pigmentasyonuydu. Geniş ve yuvarlak sitoplazmalı belirgin çekirdekli, epitelooid hücreler paketler halinde dizilmişti. Çekirdekler merkezden uzakta oval yada yuvarlak, yoğun ve ince bir kromatin, ortada ise çekirdekçikler vardı. Bazı hücrelerde bir veya iki çekirdek bulunmakta idi. Büyük ve belirgin çekirdekçikler malignite açısından yaygın bir bulgudur. Mitozun fazla olduğu alanlarda ve pigmentli alanlarda atipik hücrelerin yoğunluğu gözlemlendi.

3. Olguda karışık hücre tipi olan epitelooid ve spindle tipi hücreler ağırlıktaydı. Dar sitoplazmalı, atipik eksantrik çekirdekler ve iki ila üç adet çekirdekçikler ve bazı epitelooid hücrelerde anisokaryozis gözlenmiştir. Atipik ve pleomorfik hücreler ve mitoz yüksek düzeyde saptandı. Bazı damar lümenlerinde de pigmentli hücrelere rastlanması olguların malign olma olasılığını güçlendirmiştir.

4. ve 40. Olguda ağız içinde gingivadan köken alan melanositik tümörler, yoğun bir şekilde submukozada pleomorfik spindle (iğsi) hücre tipindeki hücre paketleri halinde dizilmişlerdir. Bol miktarda eozinofilik sitoplazma, içinde melanin granülleri ve belirgin çekirdekçikler gözlemlendi. Kesitlerin değişik kısımlarında lenfosit infiltrasyonları belirgindi. Büyük büyütmede (40x) 3'ün üzerinde mitoz tespit edildi. Mitotik indeks yüksek olduğundan malign melanom olarak teşhis edildi.

6. ve 16. Olguda ağız içinde mukozada yoğun pigmentli ülserasyon ve buna bağlı kanama odakları gözlemlendi. Ortamda fibroblastlara benzer spindle (iğsi) tipi tümör

hücreleri çoğunlukta idi. Bu hücrelerin sitoplazmaları geniş ve belirgin ve çekirdekler oval-yuvarlak ve çok sayıda belirgin çekirdekçiklerden oluşmaktaydı. Atipik hücreler tümörlerin malign denmesi için yeterli çoklukta idi.

7. olgu gözün anterior uveasından alınan kitlede basık, yuvarlaktan ovale spindle hücrelerden oluşmaktaydı. Hücreler granüler sitoplazma ve belirgin berrak görünümde merkezi yerleşimli çekirdeklere sahipti. Kesitlerde yoğun melanin taşıyan atipik hücre sayısı fazlaydı. Bunlara göre melanositik tümör malign melanoma olarak değerlendirildi.

8. ve 10. Olguda saptanan melanomalarda hücreler epiteloid tipteydi. Ayrıca yuvarlak şekilli, değişik boyutlarda, kümeler oluşturan yayılımlıydı. Bu hücrelerde melanin pigmenti belirsizdi. Farklı yoğunlukta belirgin birden fazla sayıda çekirdekçiklere sahipti. Hücrelerde pleomorfizm belirgindir, bu hücrelerde 40x'lık büyütmede ortalama 4-6 mitoz saptandı. Bunlar malignite açısından önemli birer bulgudur ve her iki olguda malign melanoma olarak histopatolojik olarak teşhis edilmiştir.

9. olguda malignite kriterlerinin oluştuğu gözlemlendi. Pleomorfik melanosit hücrelerinin çekirdeklerinde anisokaryozis sitoplazmada melanin pigmentinin yoğun ve birden fazla çekirdekçikler, pigmentasyonun yoğun olduğu alanlarda atipik hücrelerin varlığı tümörün malign melanom olduğunu göstermektedir.

11. olguda gözün sklerasından alınan kitlede spindle (iğsi) hücreleri saptandı. Bu hücreler dar sitoplazma ve uzun ve belirgin çekirdeklere sahipti. Hücrelerdeki pigmentasyon zayıf veya orta düzeyliydi ve mitoz sayısı azdı. Buna bağlı olarak tümörün benign karakterde olduğu düşünüldü.

13. olgu gözün pinnasından alınan kitlenin histopatolojik incelemesinde sitoplazmasında kahverengi renkte melanin granülleri içeren epiteloid hücreler çoğunlukta görüldü. Bu epiteloid hücrelerde de birden fazla çekirdek gözlemlendi. Kesitte yer yer nekroz odakları vardı. Mitotik indeks yüksek ve atipik hücrelerin sayısı oldukça fazla idi.

17. ve 20. olgularda ortamdaki melanositik tümör hücreleri genel olarak yuvarlak ve epiteloid şekildedeydi. Bu hücrelerin az granül içeren bol sitoplazmaları ve tek veya iki çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Ancak malignite açısından değerlendirildiğinde değişik alanlarda bir veya daha az mitotik figür görüldü. Bunlara bağlı olarak olgular melanositoma olarak değerlendirildi.

18. olguda gingivada saptanan melanositik tümörün histopatolojisinde yuvarlak veya büyük epitelooid tipteki melanositik hücreler çoğunlukta idi ve bu hücrelerin sitoplazmaları geniş, çekirdekleri sentral veya ekzantrik yerleşimli ve sitoplazmalı melanin pigmenti çok zayıftı. Hücreler bazı alanlarda gevşek olarak tek tek yada sıkı kümeler halinde bulunmaktaydı. İncelenen alanlarda atipik hücrelerin yoğunluğu ve mitotik indeks yüksek olduğundan malignite açısından tümör amelanotik malign melanoma olarak değerlendirildi.

23. olguda spindle tipindeki hücreler çoğunlukta idi ve bu hücrelerde sitoplazma dar ve uzun, küçük çekirdekler ve melanin pigmenti yoğunu. Ama bu bölgelerde mitozlar görülsede mitotik indeks düşüktü. Çekirdekçikler merkezden uzakta ya çok küçük yada belirsizdi. Yoğun pigmentasyona rağmen atipik hücrelerin azlığı nedeniyle olgu melanositoma olarak değerlendirildi.

24. olgu dudaktan alınan kitle yaygın olarak koyu renkteydi. Kitle melanin pigmentinin yoğun olduğu paketler ve yığınlar halindeki epitelooid hücrelerden oluştuğu görüldü. Bu hücrelerde yuvarlak çekirdekler, kenarlara yakın çekirdekçikler belirgindi. Yoğun pigment bölgelerde atipik hücrelerin çokluğu, olgunun malign melanoma olduğunu düşündürdü.

33., 42. ve 43. olgular makroskopik olarak nodüler ve ülserli kahve siyah renkli koyu görünümdeki lezyonlardı. Bunların histopatolojik incelemesinde epitelooid ve spindle tipte melanositik hücrelerin yoğunlukta olduğu ve bu hücrelerin sitoplazmalarında melanin granülü taşımayanların, sitoplazmaları eozinofilik ve geniş olduğu, bunların yuvarlak oval çekirdek ve tek veya birden fazla eozinofilik çekirdekçiğe sahip olduğu görüldü. Çoğunluğu pleomorfik ve atipik yapıda olan çok sayıda melanositik hücrenin sitoplazması içinde yoğun melanin pigmentasyonu saptandı. Bu vakalarda 40x'lik büyütmede her alanda ortalama 2-4 mitoz saptandı. Bunlara bağlı olarak bu tip digital tümörler malign melanoma olarak düşünüldü.

30. olguda ağız boşluğundaki tümörde, spindle (iğsi) hücreler yoğunu ve bu hücrelerin bazıları melanin pigmentinden yoksun sitoplazma ve ince kromatin içeren yuvarlaktan oval çekirdeklere sahipti. Spindle hücrelerdeki çekirdekçikler bir veya birden fazla sayıdaydı. Bunlarda mitoz bölünmelerin fazla ve ayrıca junktional aktivenin olması ve çoğu hücrelerin sitoplazmalarında yoğun melanin bulunmasından dolayı malign melanoma olarak değerlendirildi.

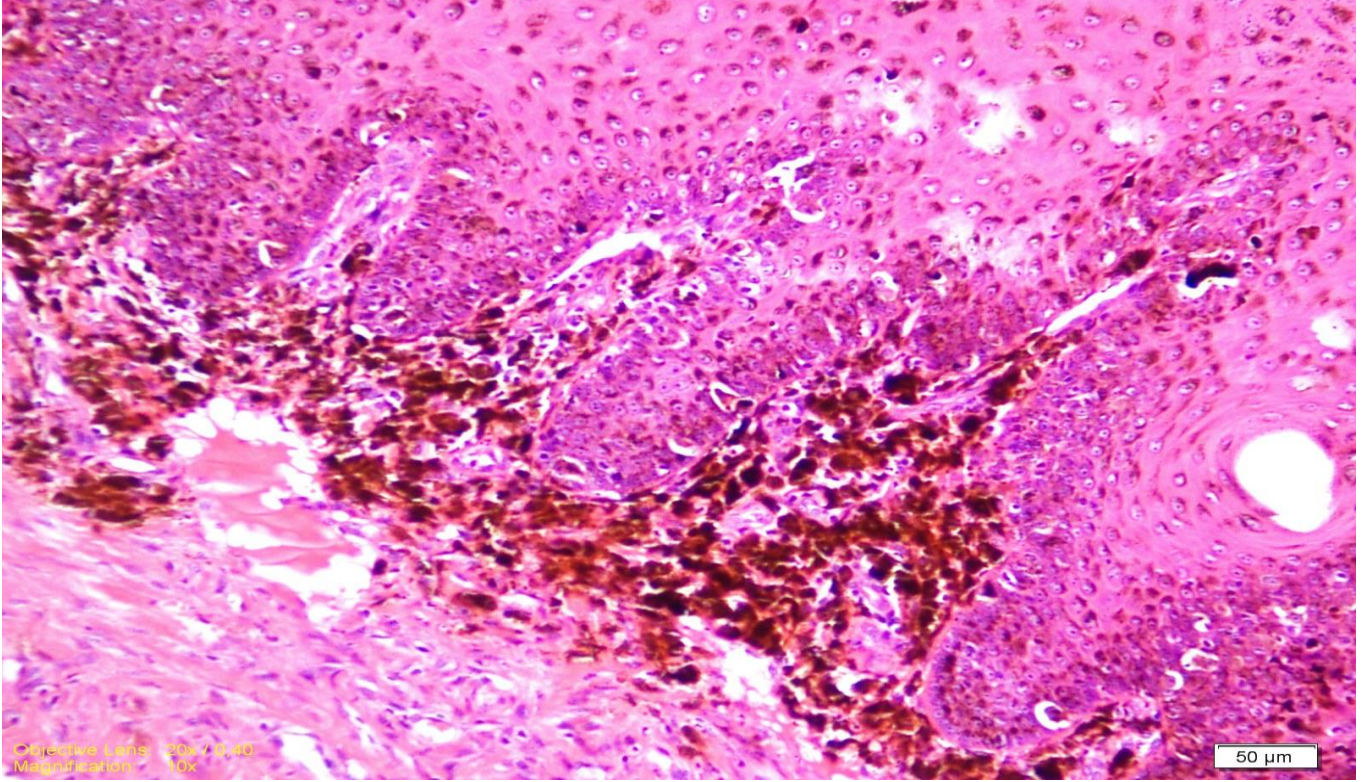
38. olgu dil üzerinde mukoza ve lamina propriyayı içine alan ülsere ve kabartı şeklindeki kitledeki tümör hücreleri çoğunlukta spindle (iğsi) hücre tipinde idi. Bu hücrelerde melanin pigmentinin yoğun olduğu görüldü. İncelenen alanlarda bir iki tane dev hücre ve çok sayıda mitozlar görüldü. Melanin pigmentasyonu zayıf olan hücrelerde çekirdekler belirgin ve eozinofilik tek ve çoklu çekirdekçiklerde gözlendi. Bulgulara göre malign melanoma olarak değerlendirildi

45. olgu ağız içi gingiva kökenli tümörde epiteloid hücre tipinde, pleomorfik hücreler çoğunlukta idi ve bu hücrelerde mitozların çoğunlukta olması, geniş ama solgun sitoplazma büyük ve oval-yuvarlak çekirdekler birden fazla eozinofilik çekirdekçiklere sahipti. Bu bulgular malign melanomadan şüphelenmemize ve tümörün melanin pigmentinden yoksun olması nedeniyle olgu amelanotik malign melanoma olarak değerlendirildi.

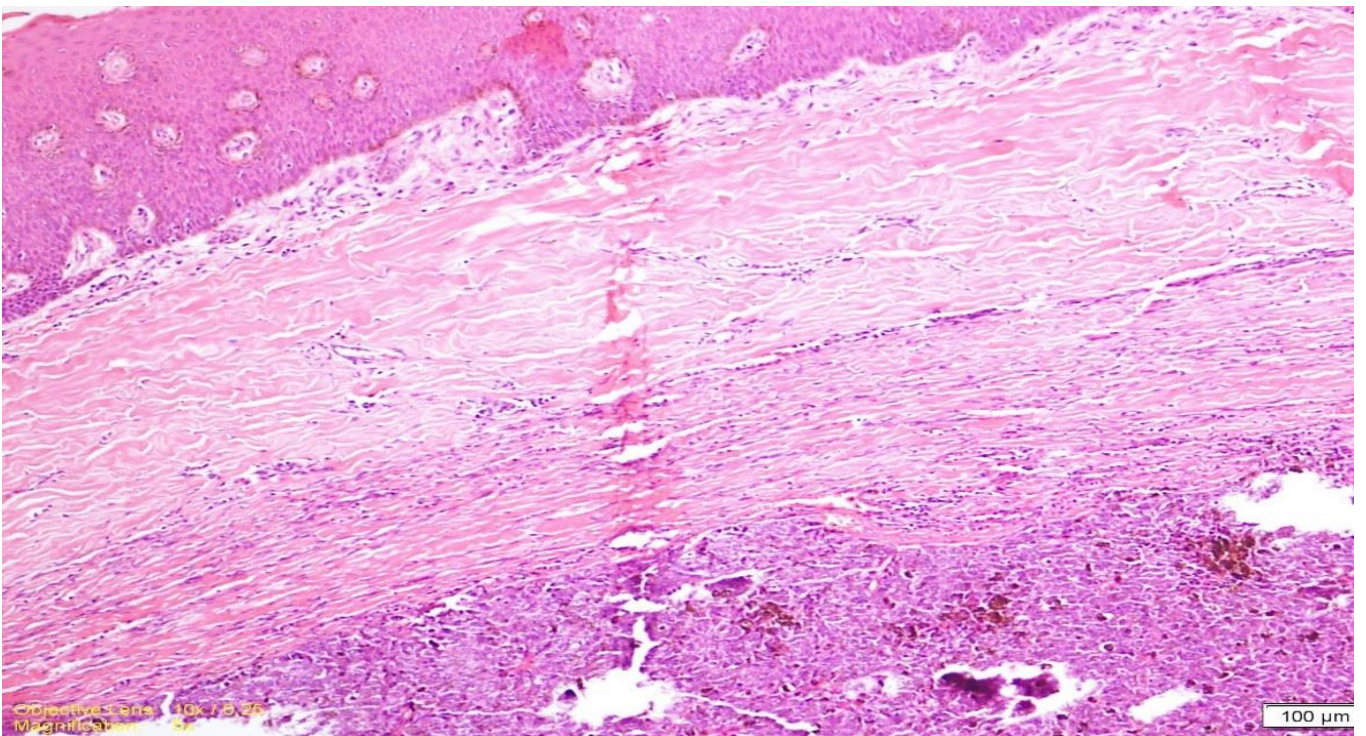
49. ve 50. Olgunun histolojik incelenmesinde baskın olan spindle şekilli melanositlerin sitoplazmalarında hiç veya zayıf pigment granülleri içerdiği gözlendi. Geniş sahalarda atipik hücrelerin sayısının fazla olması hücrelerde, belirgin anizokaryozis ve anizotis görülmesi, pleomorfik hücrelerin varlığına bağlı olarak amelanotik malign melanoma olarak değerlendirildi.

4.2.1. Histopatolojik Bulgular ile ilgili Şekiller

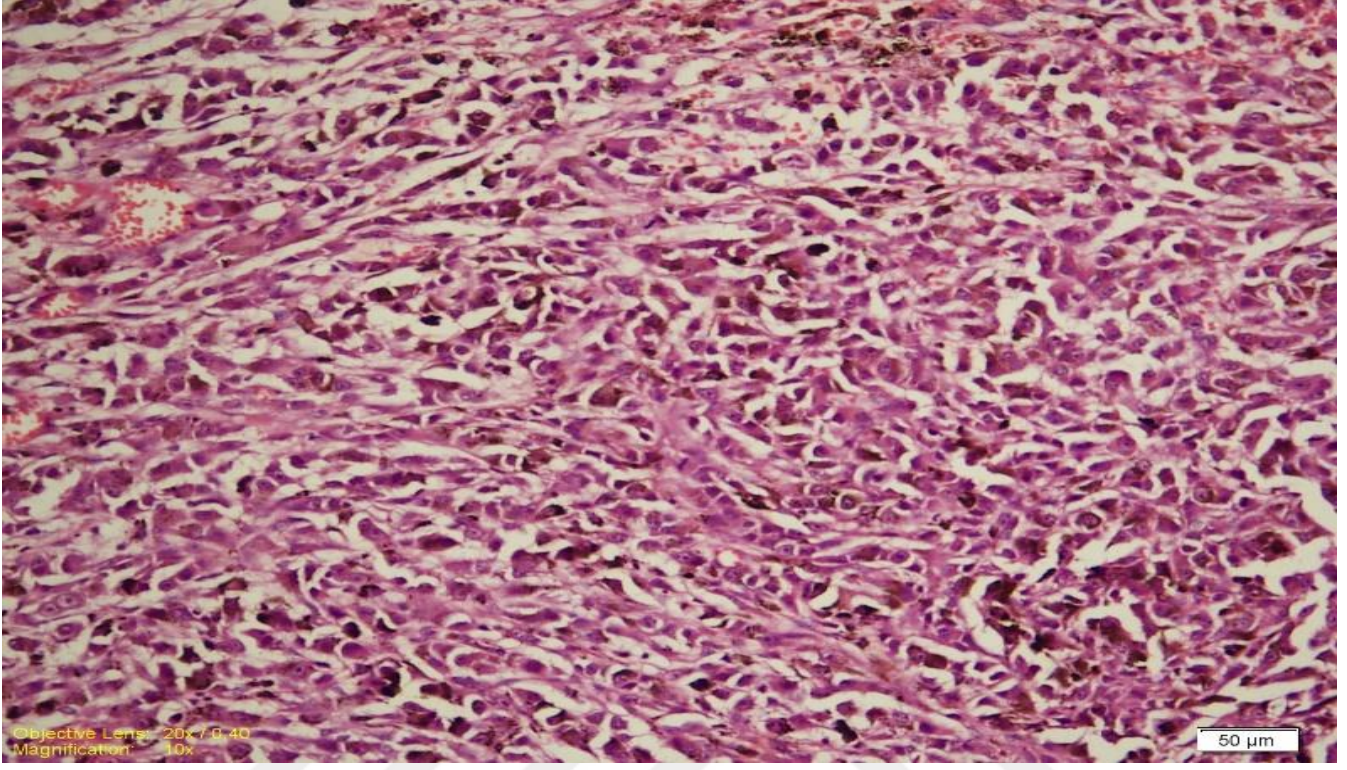
Şekil 4.2.1-1 Tarsal Diz eklemi bölgesi deriden kitle, Melanositoma Tablo-4.3-3/23, H.E. 40x, Bar 50 µm . Epidermis dermis sınırında melanin taşıyan hücre birikimi – Junktiyonel Melanositoma



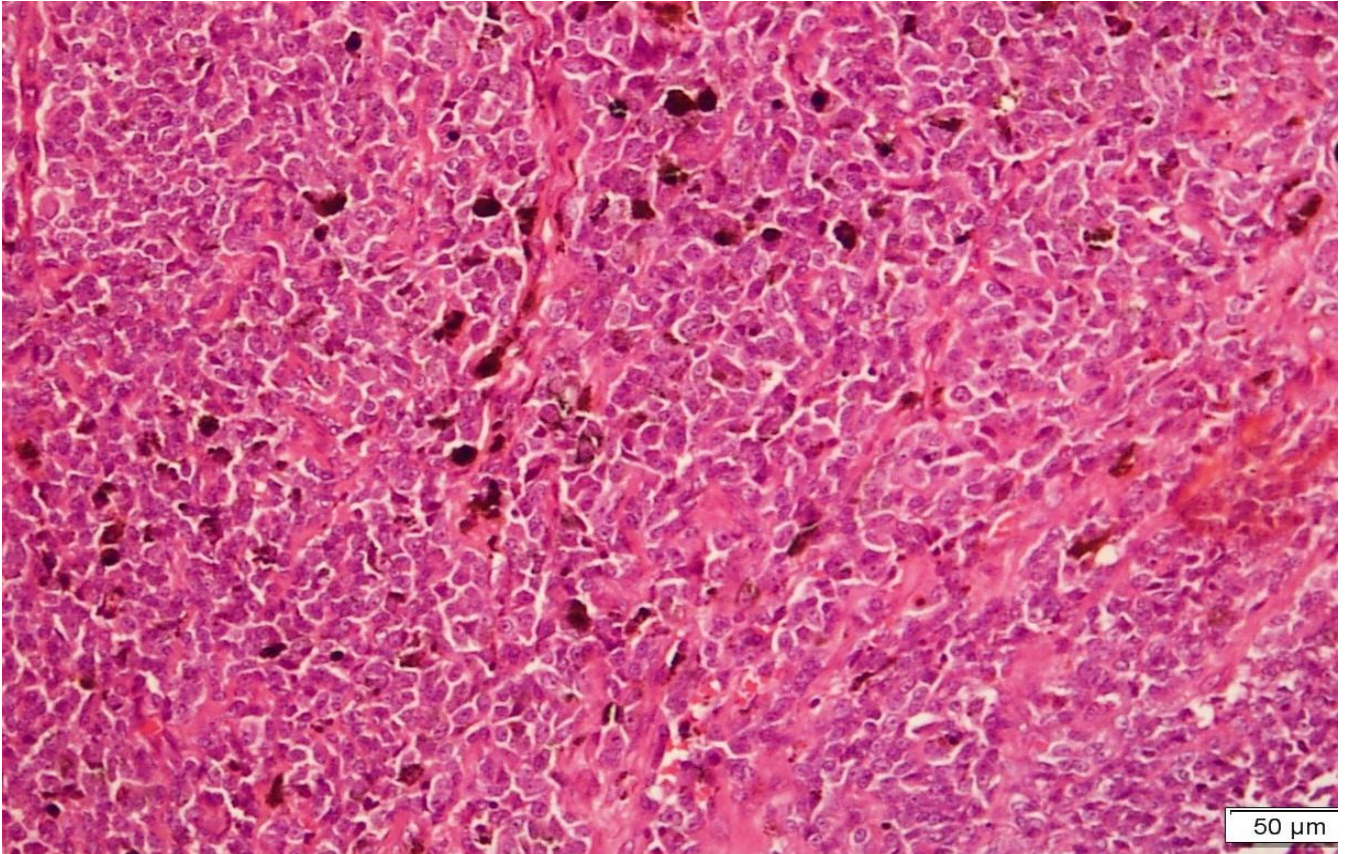
Şekil 4.2.1-2 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/6, H.E. 20x, Bar: 100 µm. Mukozada kalınlaşma ve submukozada bazıları melanin taşıyan atipik melanositik hücre yığı.



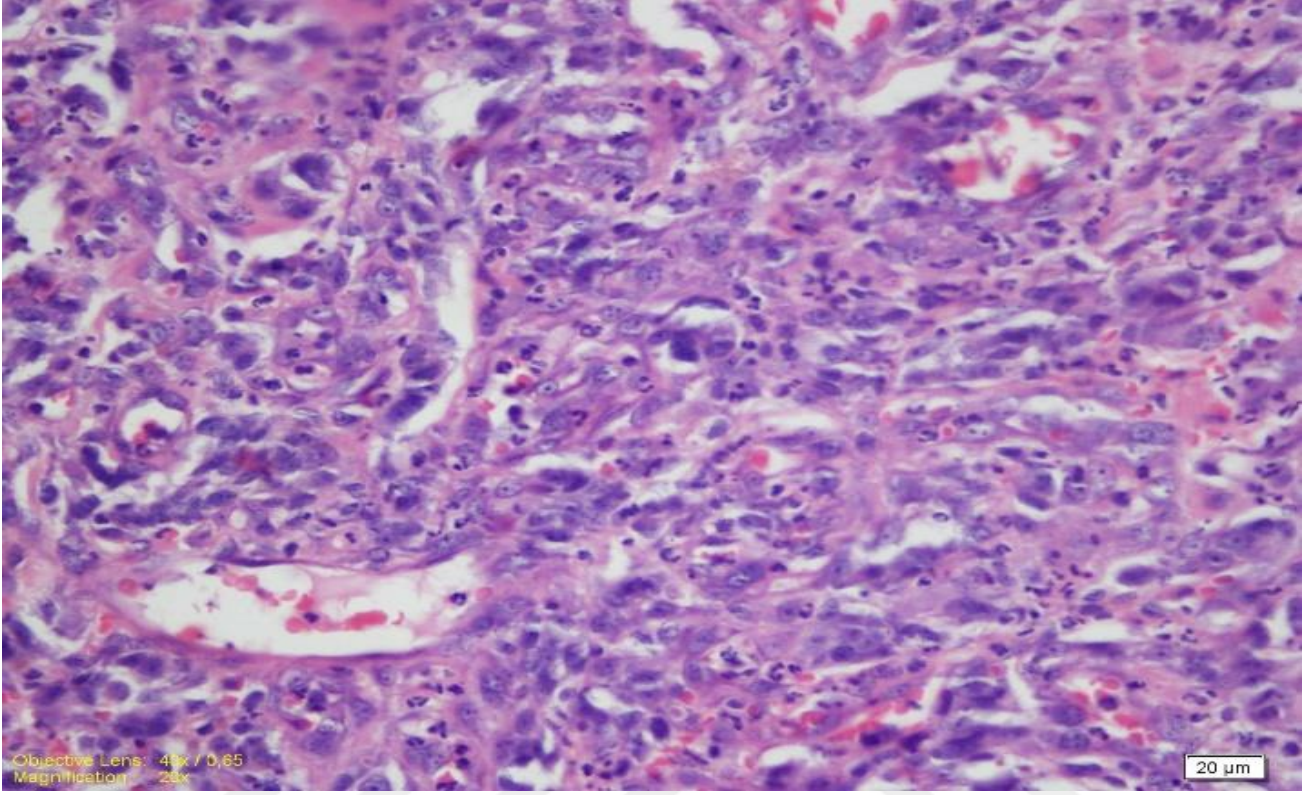
Şekil 4.2.1-3 Ağız içi Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-4/40, H.E., 40x, Bar:50µm. Submukozada Fibrokollajenez doku içinde yaygın ve yoğun melanin pigmenti taşıyan veya taşımayan epitelooid ve spindle şekilli melanositik hücreler.



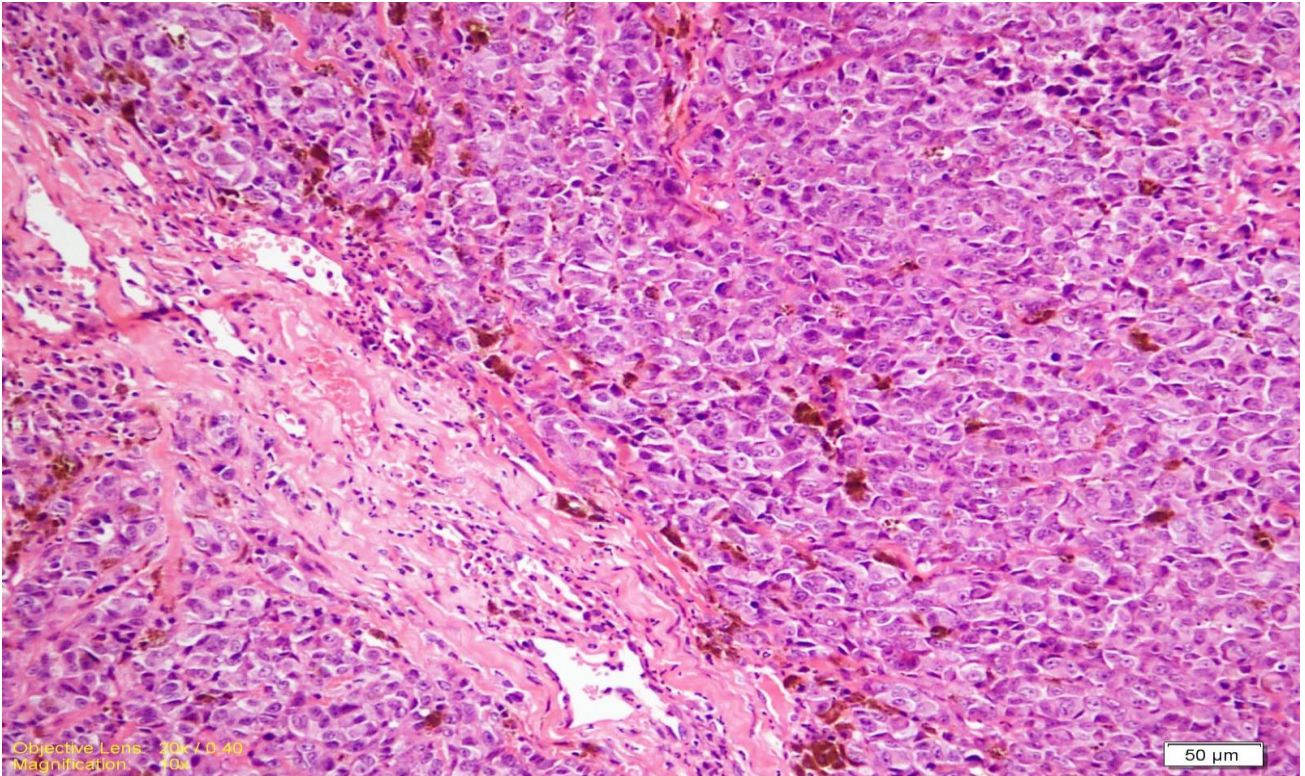
Şekil 4.2.1-4 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/4, H.E., 40x, Bar: 50µm. Submukozayı tamamen doldurmuş bazıları melanin pigmenti taşıyan epitelooid hücre odağı.



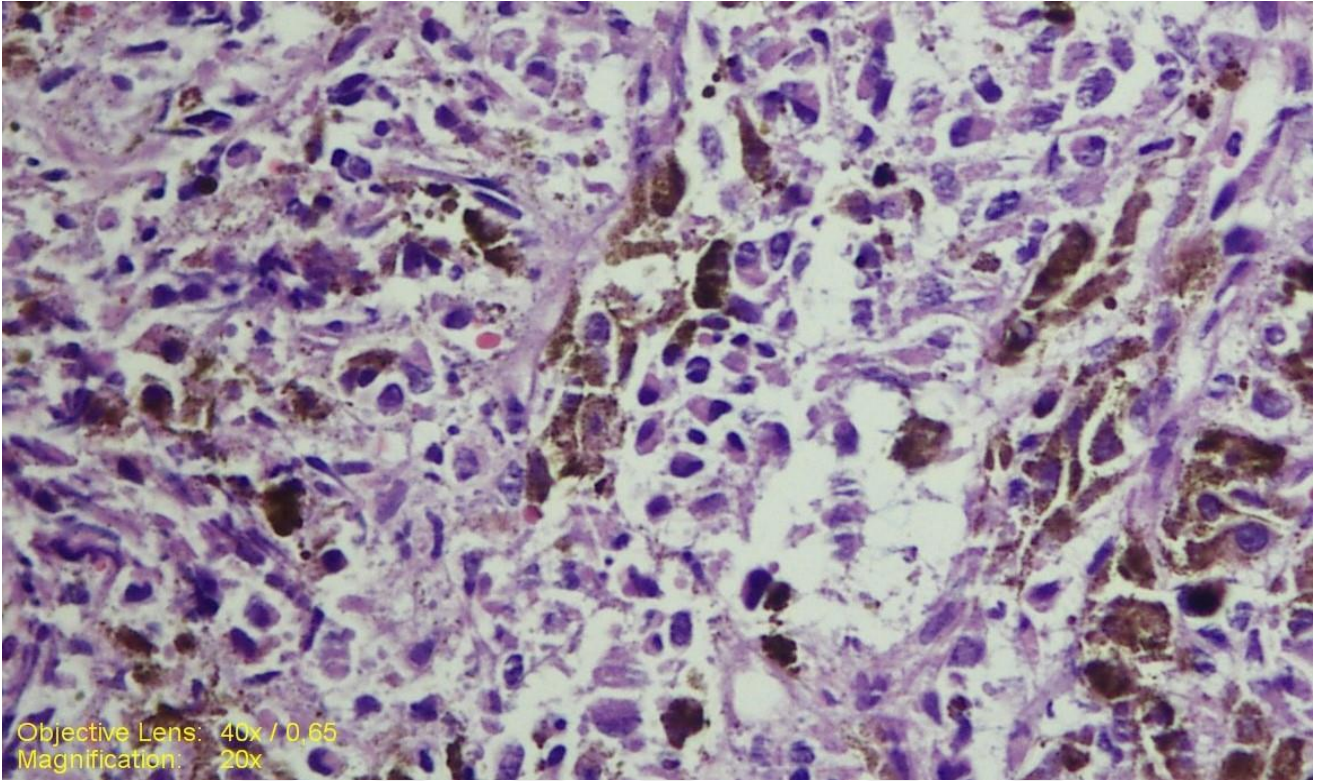
Şekil 4.2.1-5 Ağız içi kitle , Amelanotik Melanoma, Tablo- 4.3-4/31. H.E, 40x, Bar: 20 µm.
Epiteloid ve spindle melanositik hücre odağı ve içinde yaygın durumda nötrofil lökosit tipinde yangı hücreleri.



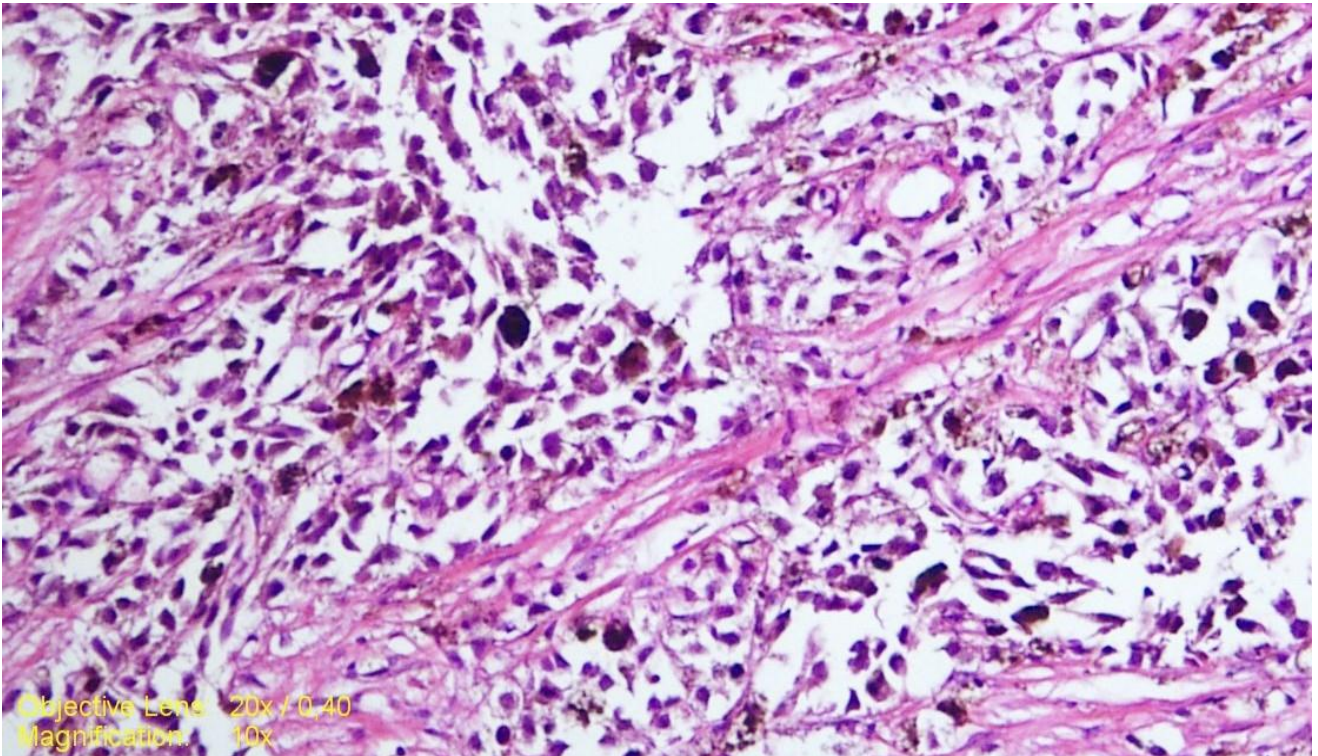
Şekil 4.2.1-6 Ağız içi kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/6 H.E, 20x, 50µm
Submukozada bazıları melanin pigmenti taşıyan epiteloid tipte melanositik hücreler.



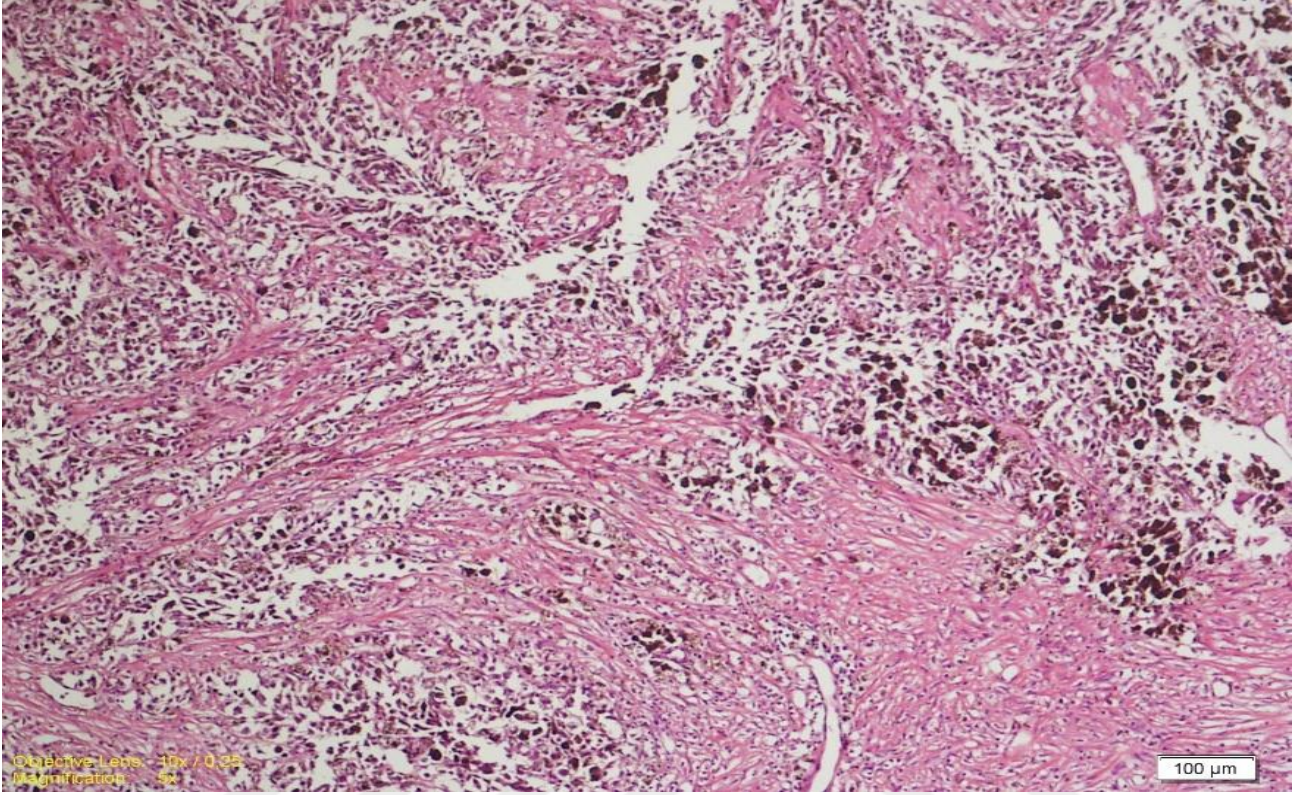
Şekil 4.2.1-7 Göz kapağından kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-4/37 H.E. 40x, Bar:20 µm. Çoğunun sitoplazmasında veya serbest olarak melanin bulunan yuvarlak veya spindl hücreli melanositler.



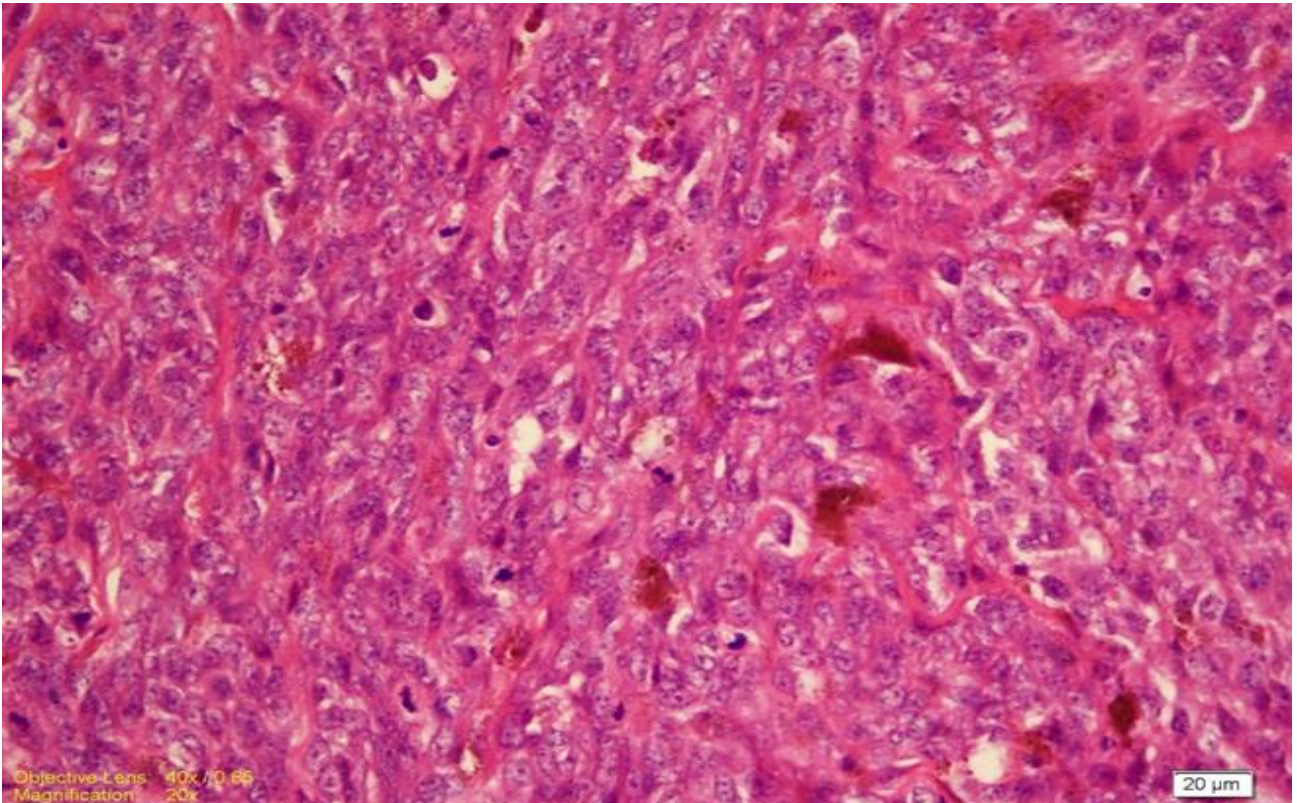
Şekil 4.2.1-8 Deriden alınan kitle, Subdermal Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/2, H.E. 20x, Bar: 50 µm. Atipik melanositik hücrelerin dermis kollegenini parçalaması.



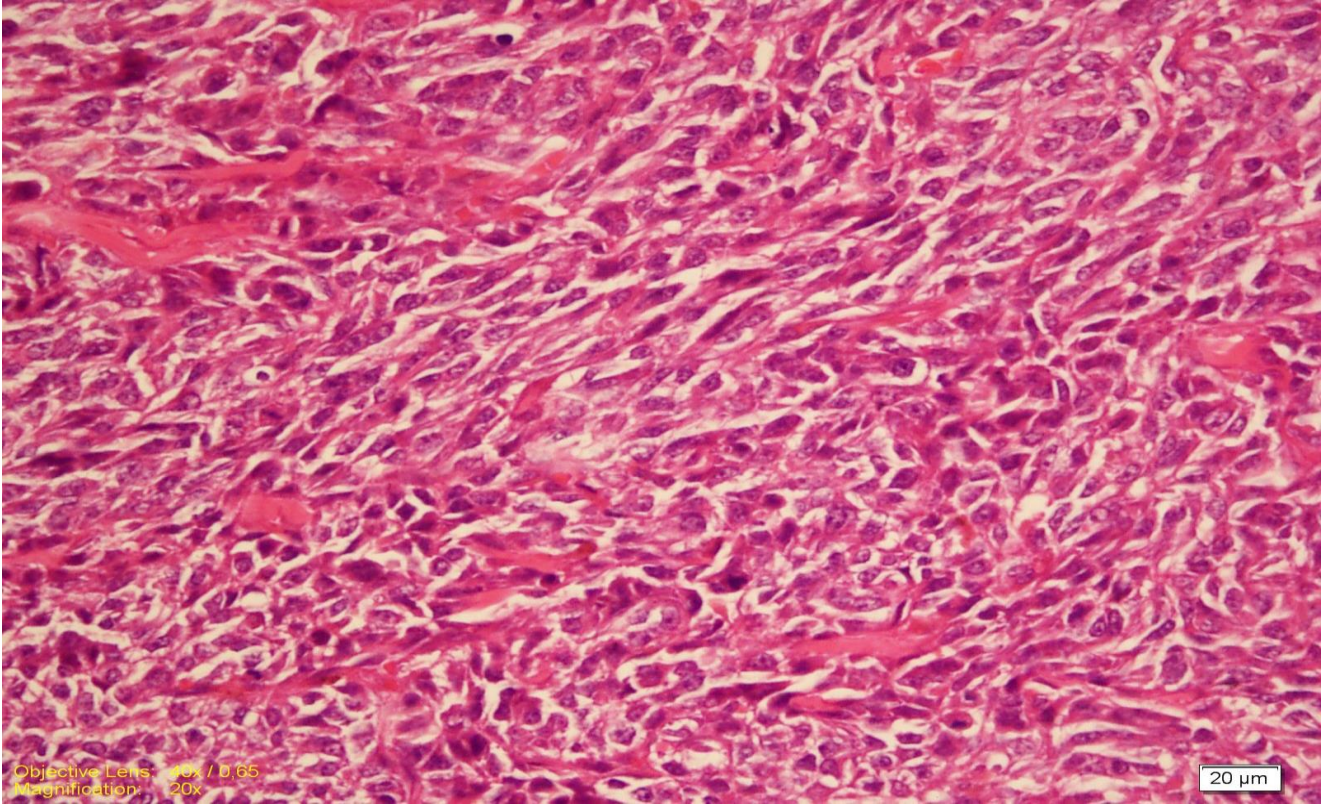
Şekil 4.2.1-9 Deriden alınan kitle, Subdermal Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/2, H.E. 10x, Bar: 100µm. Dermis içinde atipik hücreler diffuz olarak yayılmış, sağlam doku ile arasında bir sınır yok.



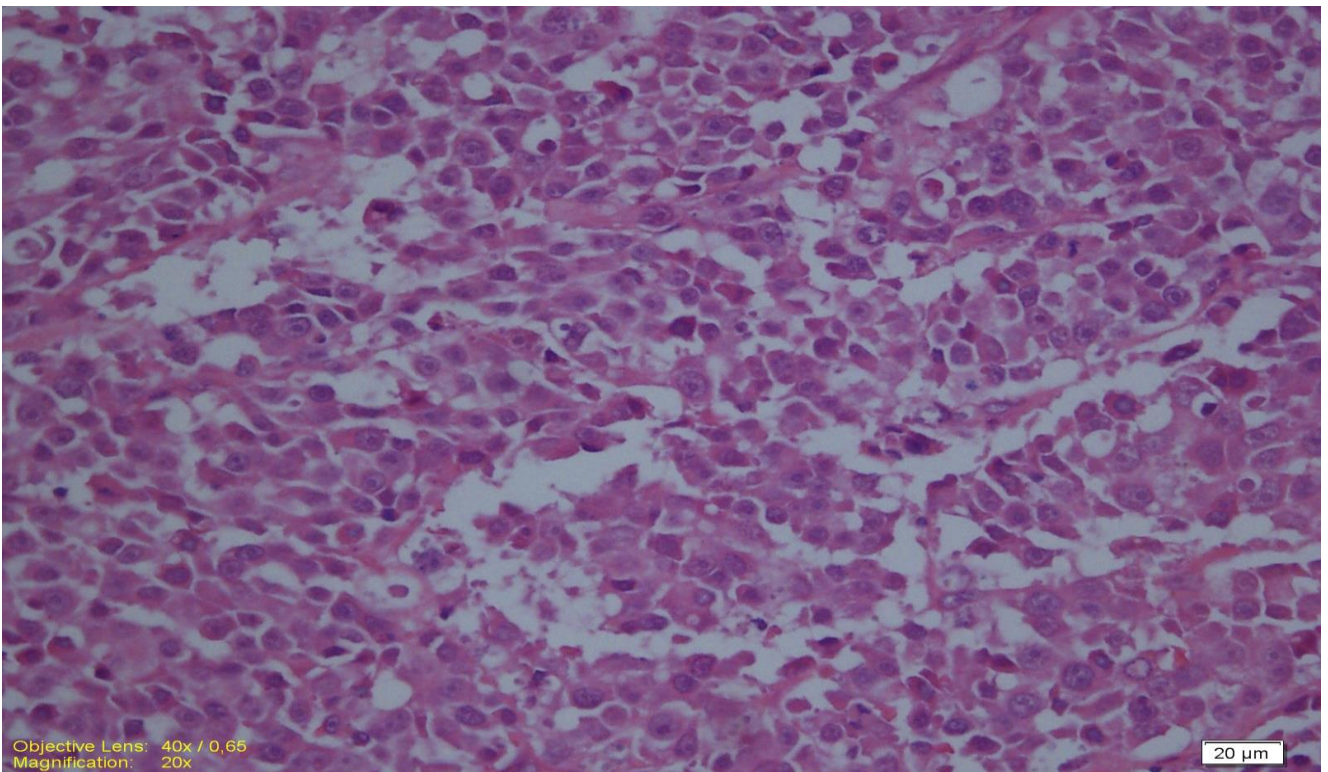
Şekil 4.2.1-10 Subungual kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-5/42.H.E. 40x: Bar: 20µm. Çoğunluğu epiteloid yerde spindile şekilli atipik melanositik hücre yığı ve çok sayıda mitoz.



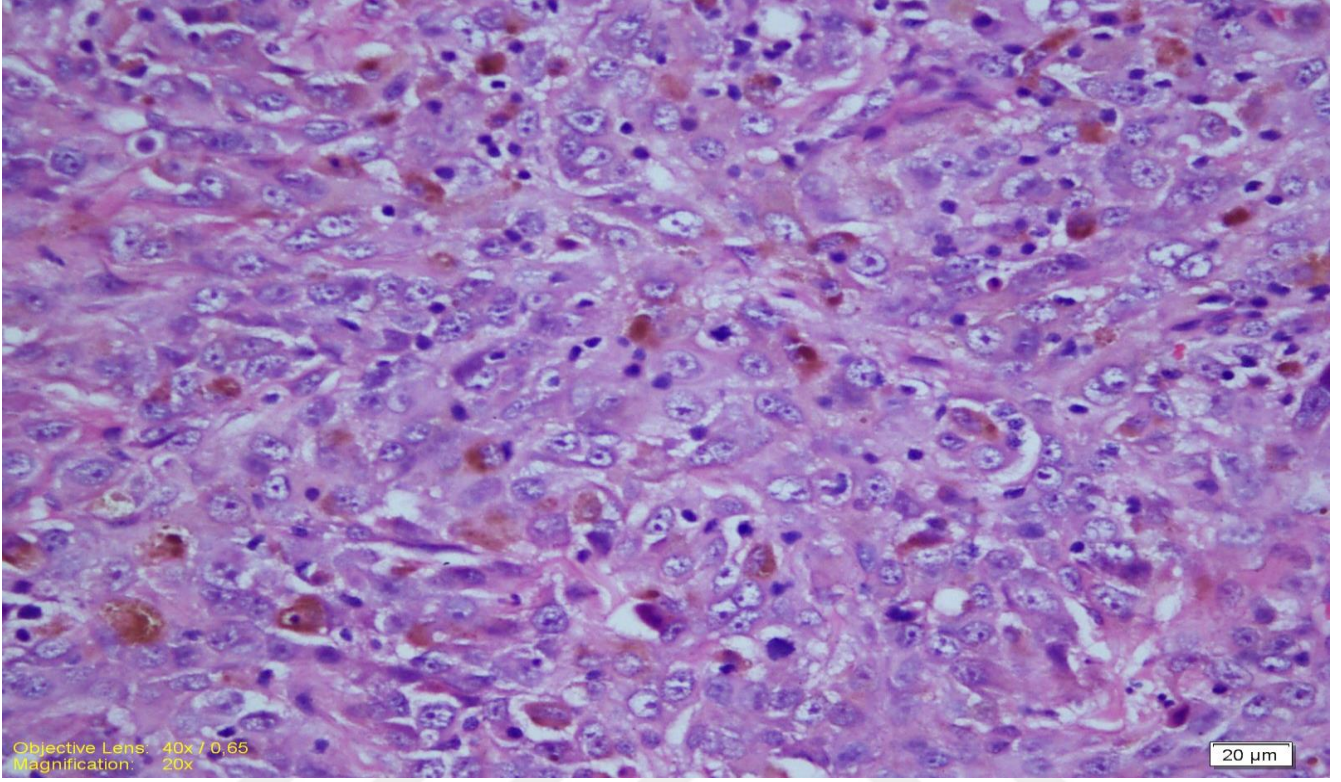
Şekil 4.2.1-11 Ağız mukozasından kitle, Amelanotik melanoma, Tablo-4.3-5/49. H.E. 40x, Bar: 20µm. Çoğunluğu spindle şekilli yoğun atipik melanositik hücreler , melanin pigmentasyonu yok.



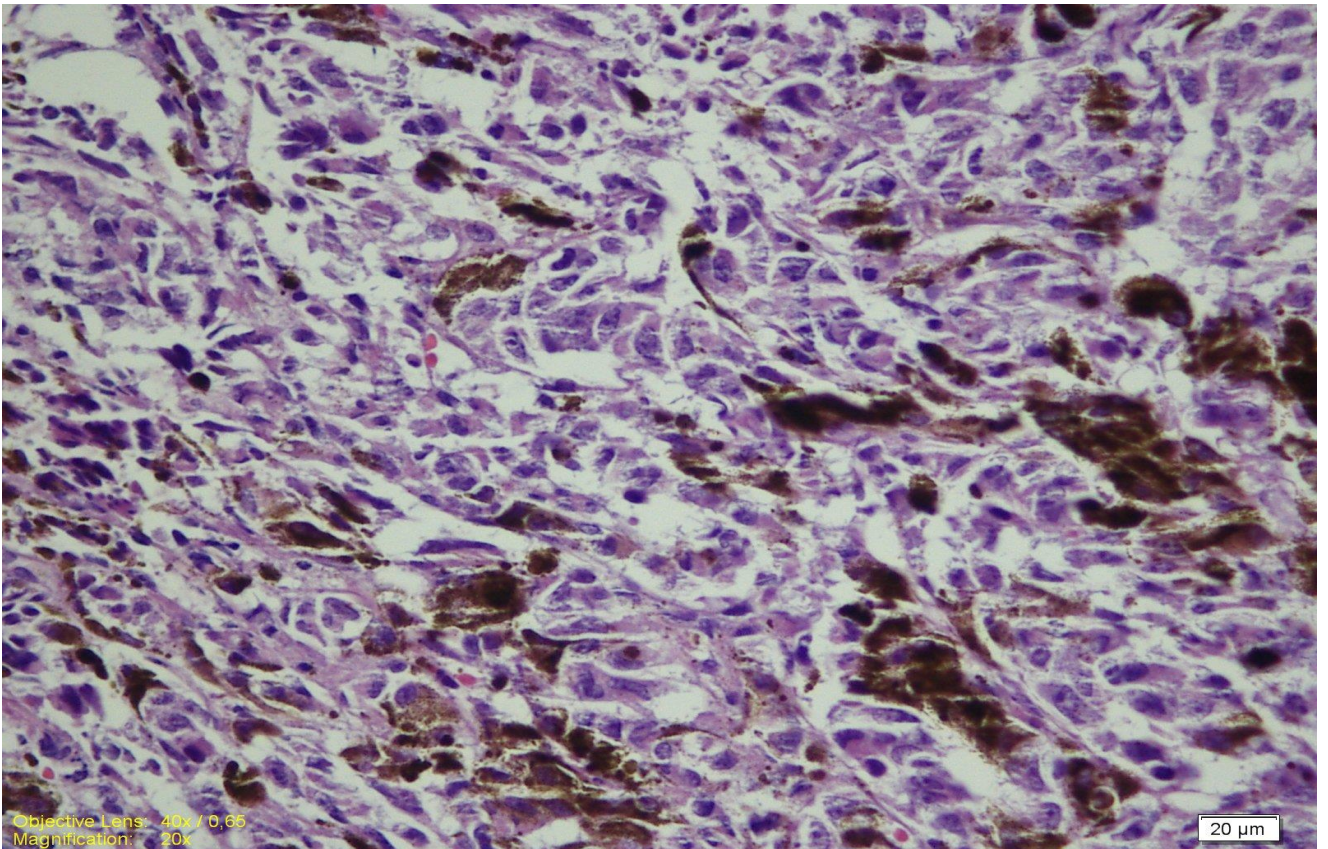
Şekil 4.2.1-12 Diş Etinden Kitle, Amelanotik Melanoma,Tablo-4.3-2/18. H.E.40x, Bar: 20µm. Çoğunluğu yuvarlak şekilli atipik melanositik hücreler.



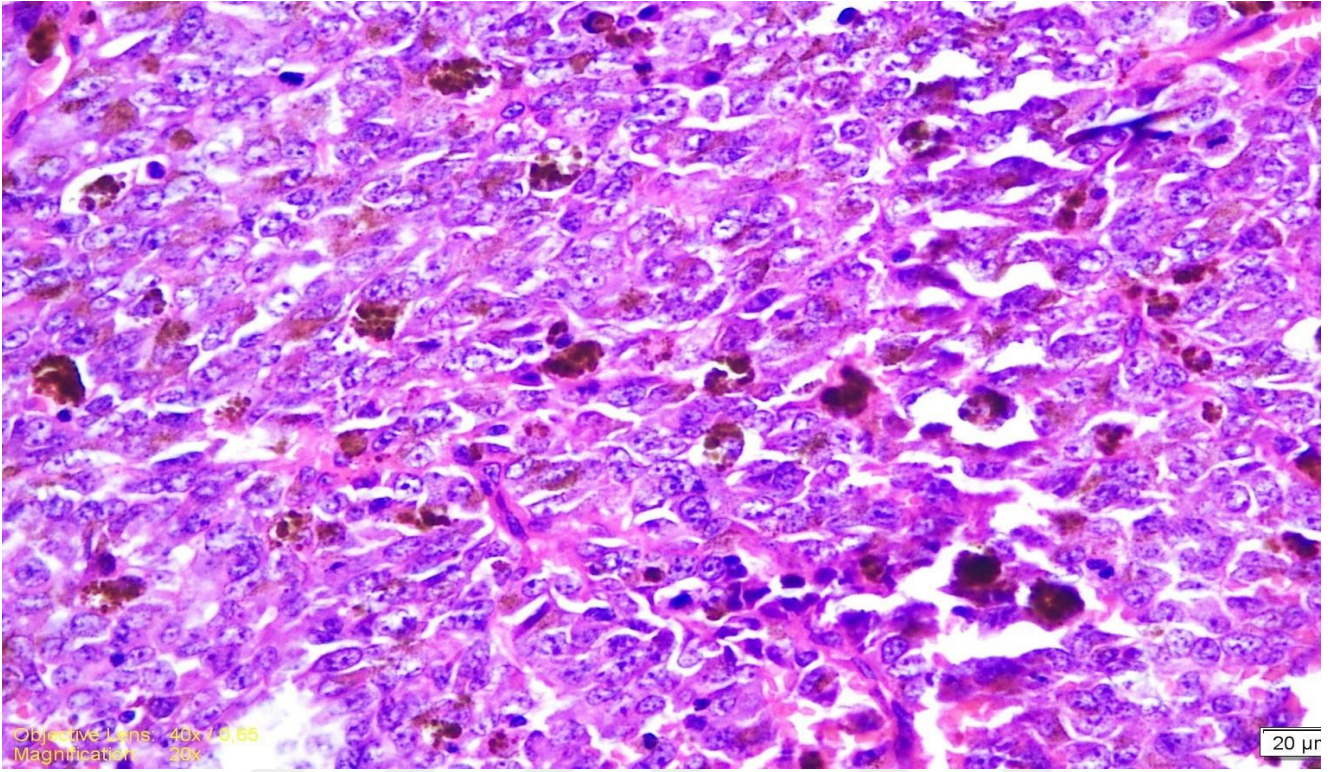
Şekil 4.2.1-13 Bacak Derisinden Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-2/19. H.E. 40x, Bar: 20µm. Ökromatik görünümde ve bazıları melanin taşıyan epitelooid tipte atipik melanositik hücreler.



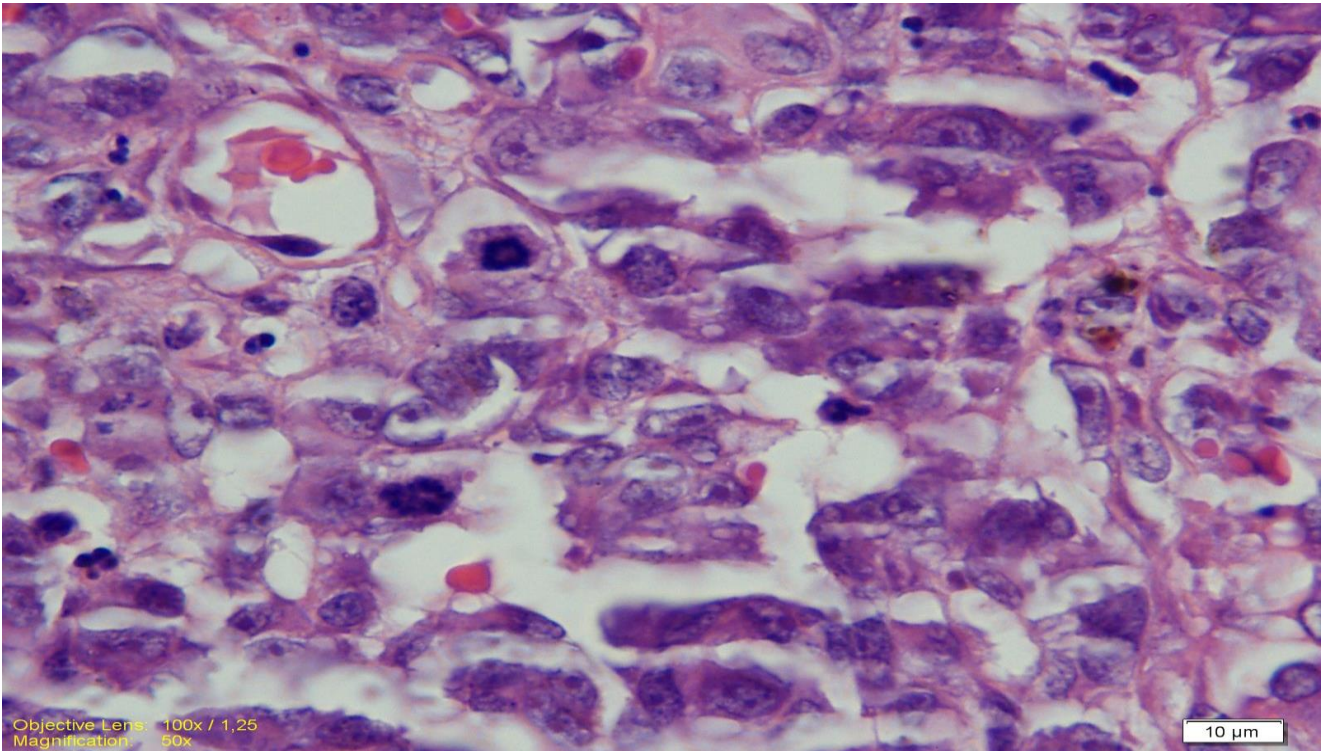
Şekil 4.2.1-14 Göz kapağından kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-4/37. H.E. 40x, Bar: 20 µm. Bazıları pigment taşıyan spindle ağırlıklı atipik hiperkromatik melanositik hücreler.



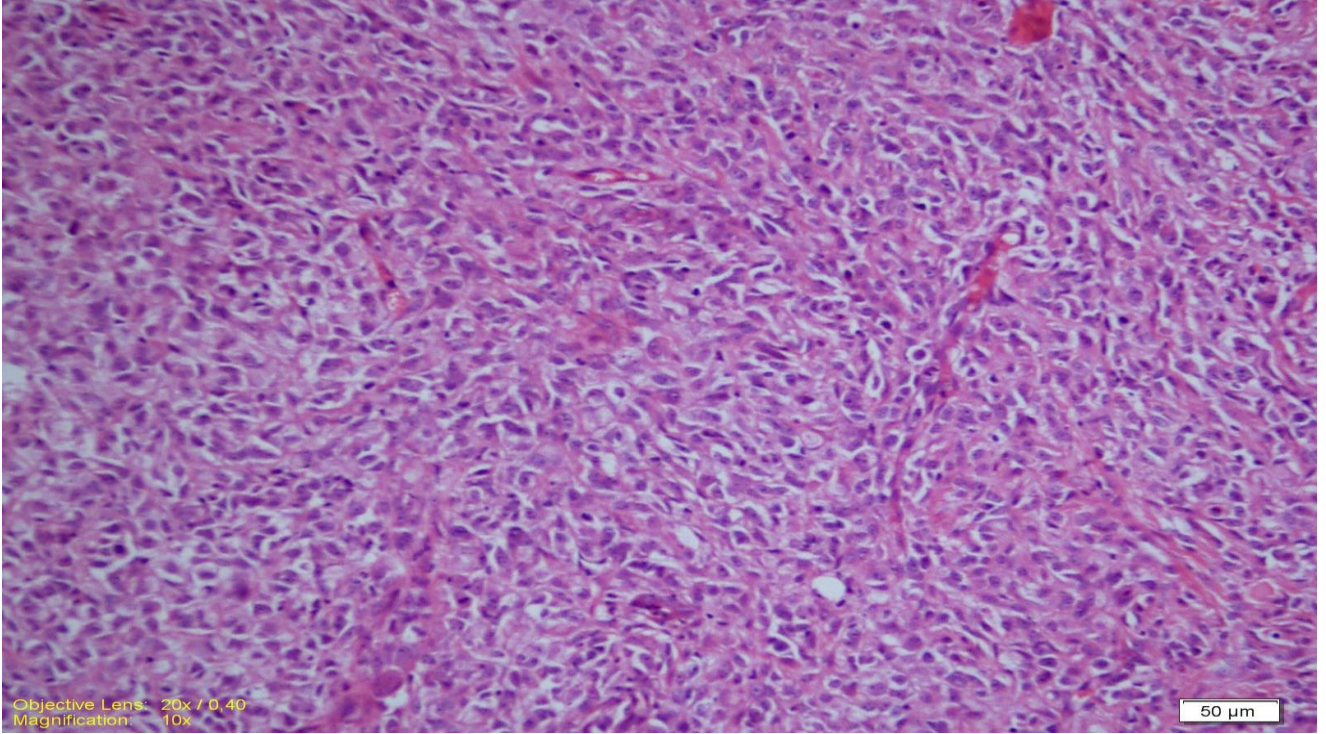
Şekil 4.2.1-15 Ağızdan kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-1/6, H.E. 40x, Bar: 20µm.
Epiteloid hücrelerin çoğunlukta olduğu atipik melanositik hücreler ve çok sayıda sayıda mitoz yapıları.



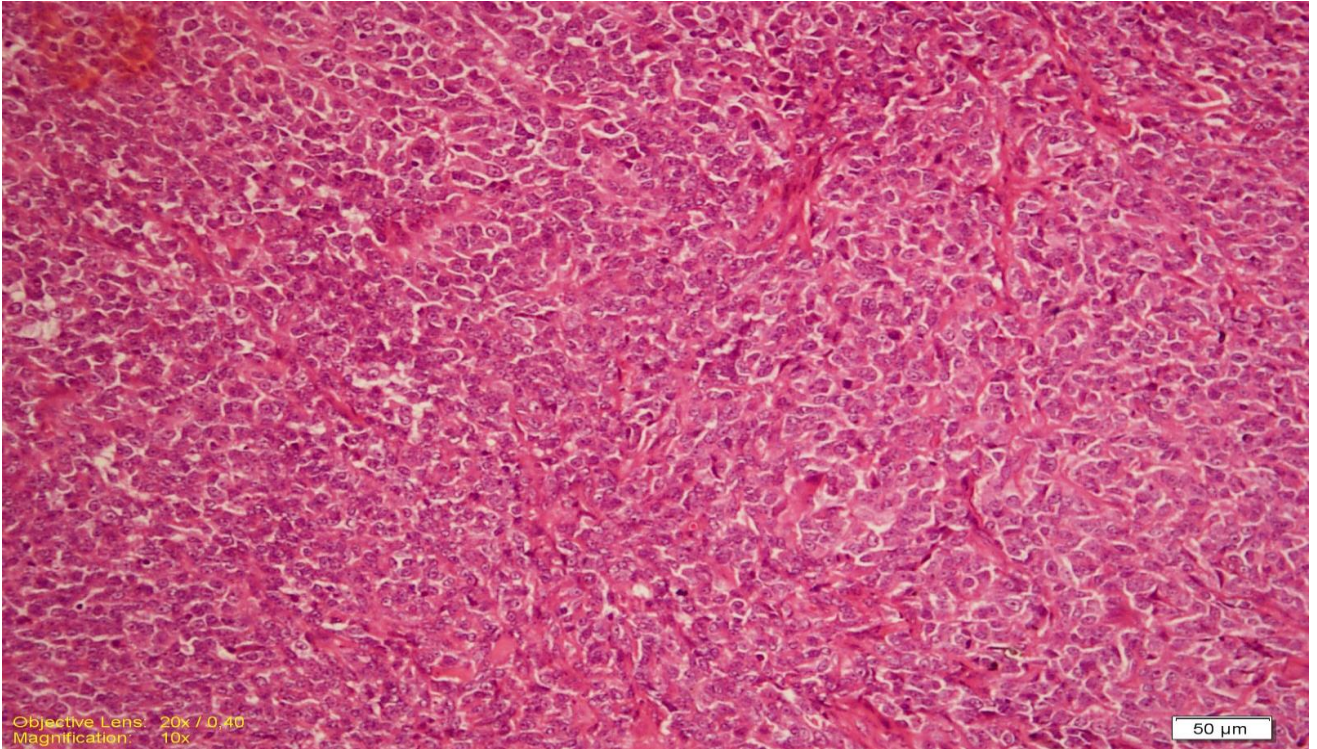
Şekil 4.2.1-16 Ağız içi kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-5/45. H.E. 100 x, Bar: 10µm.
Epiteloid tipte melanositik hücreler ve mitoz.



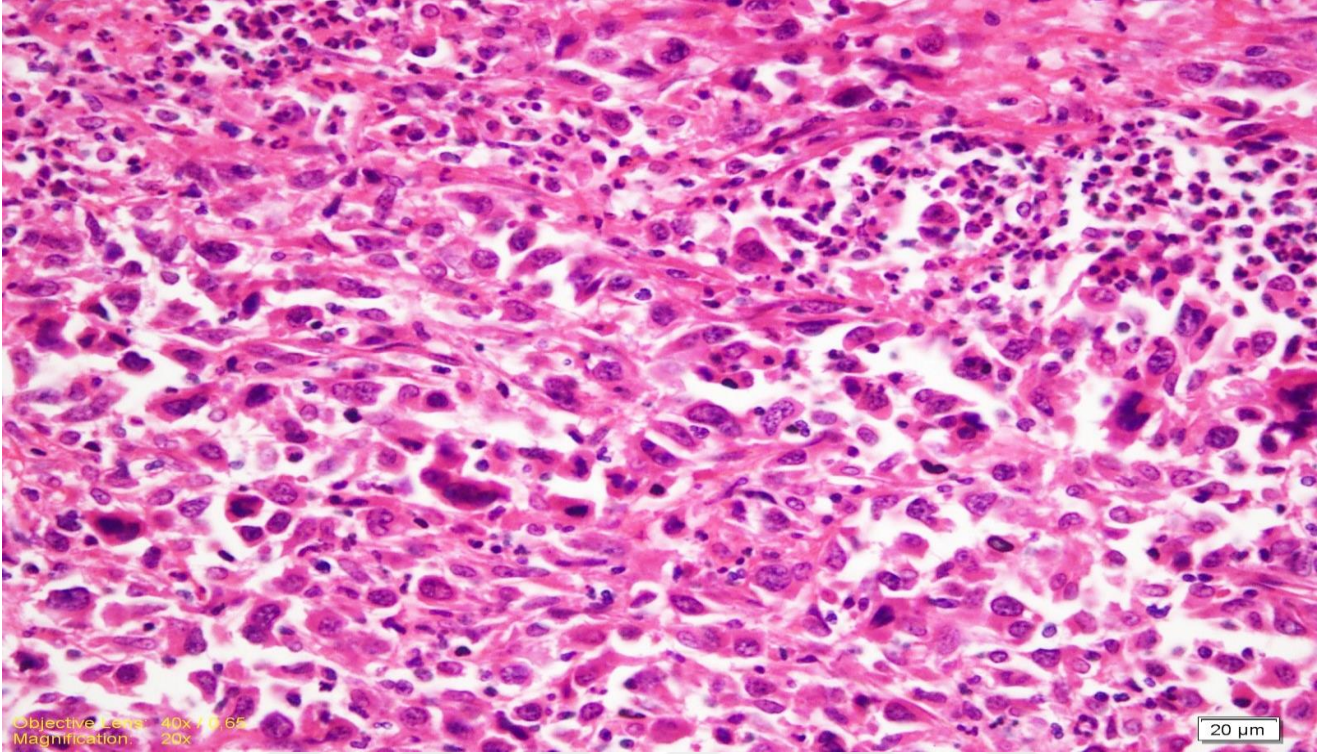
Şekil 4.2.1-17 Dudaktan kitle, Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-1/8. H.E. 20x, Bar: 50 µm. Spindle şekilli yoğun hücre yığınları. İHK sonucu; Amelanotik Melanoma



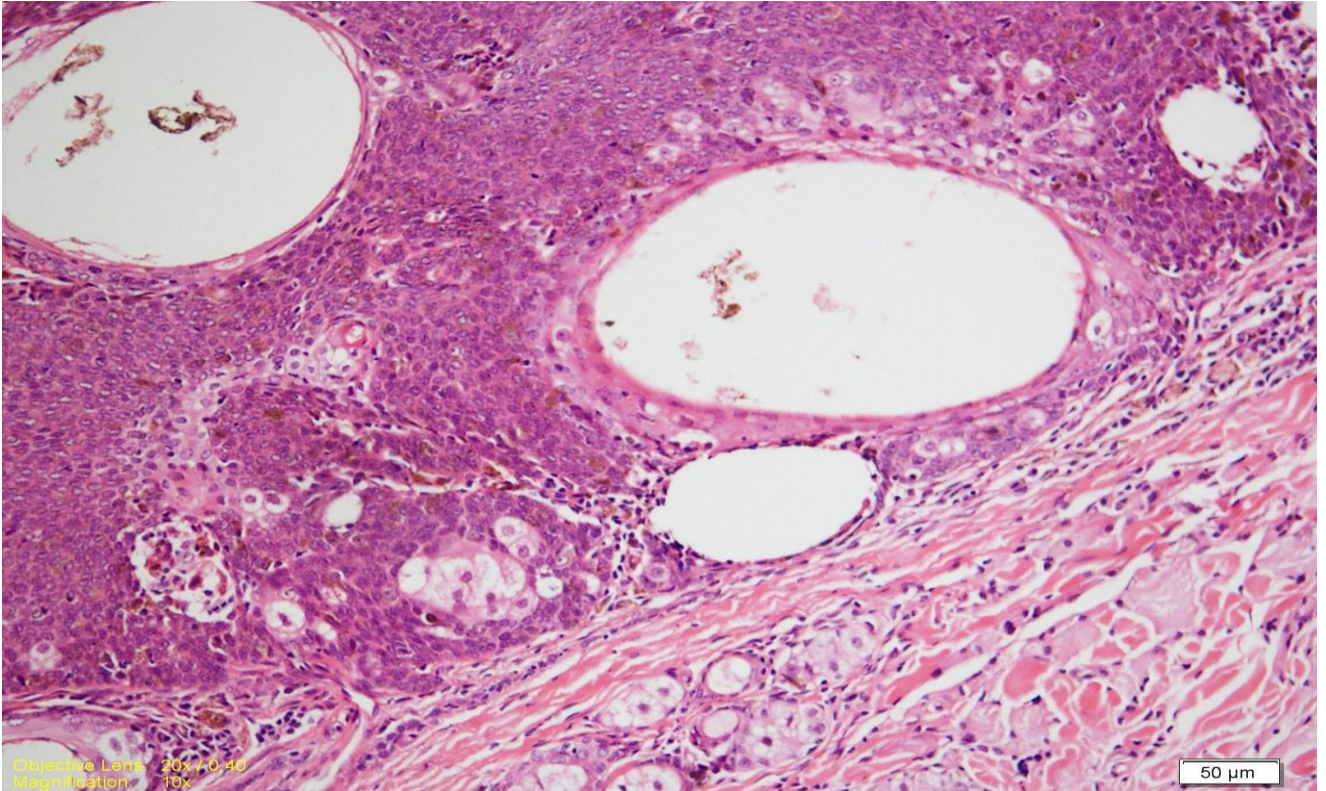
Şekil 4.2.1-18 Çene altından deriden kitle, Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-1/10, H.E. 20x, Bar:50µm. Spindle-Oval şekilli yoğun hücre yığınları. İHK; Amelanotik Melanom.



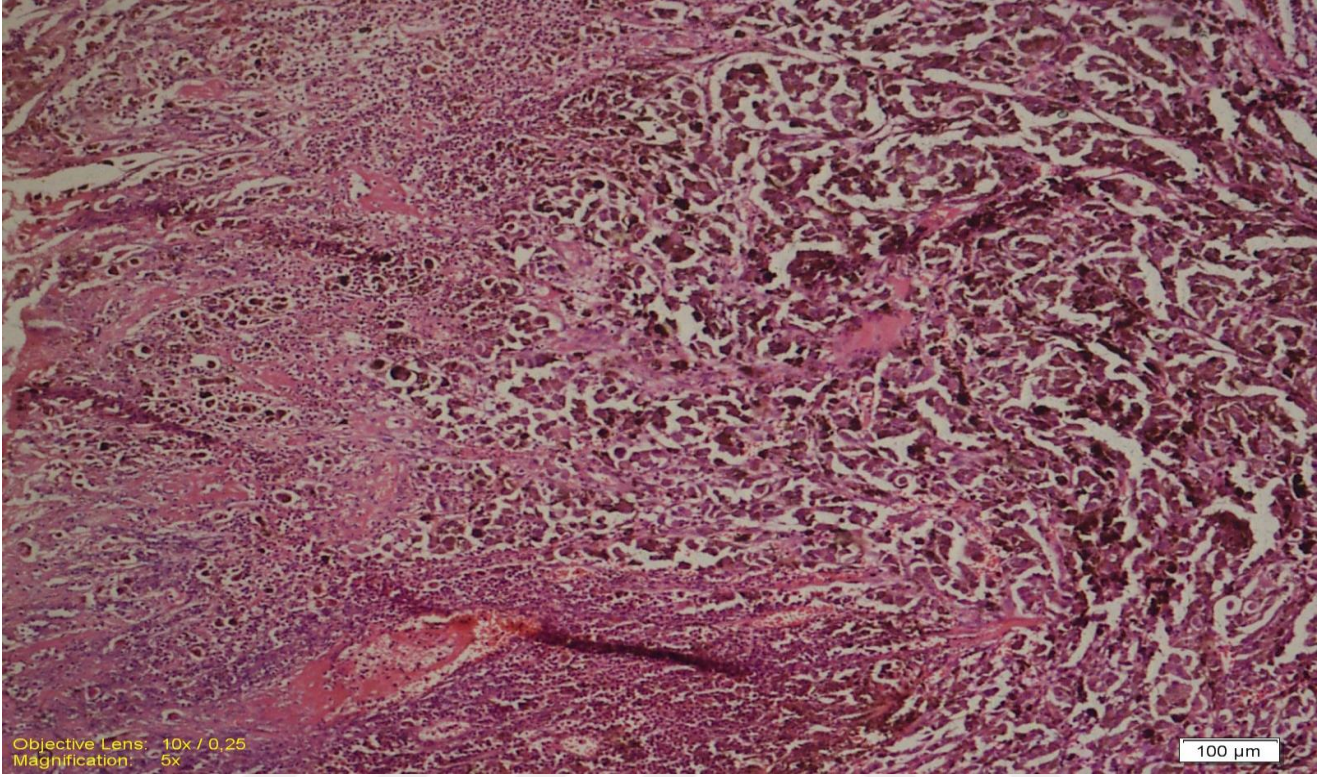
Şekil 4.2.1-19 Deriden kitle, Undiferansiye Karsinom-Amelanotik Melanoma, Tablo-4.3-2/14, H.E. 40x, Bar: 20µm. Atipik undifferansiye hücre yığı, İHK; Amelanotik Melanoma.



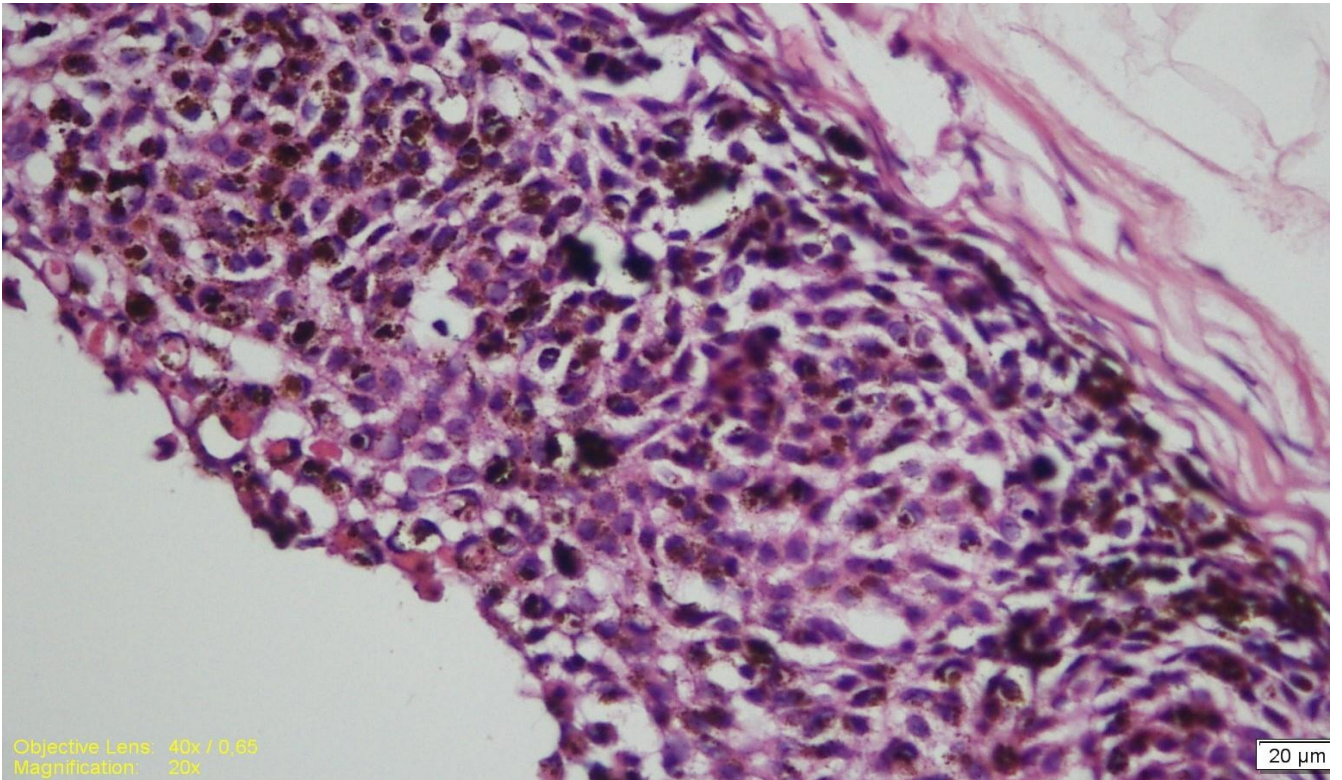
Şekil 4.2.1-20 Göz kapağından alınan kitle, Sebasiyöz Epitelyoma-Malign Melanoma, Tablo-4.3-4/37. H.E. 20x, Bar: 50µm. Melanin içeren epitel benzeri hücreler.



Şekil 4.2.1-21 Deriden kitle, Malign Melanoma ,Tablo- 4.3-1/2. H.E: 10x, Bar: 100µm. Subdermal yerleşimli nekroz alanları içeren yoğun pigment taşıyan atipik melanositik hücre yığını.



Şekil 4.2.1-22 Deriden kitle, Bazal Hücreli Karsinoma –Melanositoma, Tablo-4.3-2/15 H.E., Pigmentli, Pigmente Oval - Spindle şekilli undiferansiye hücreler. İHK; 40x, Bar: 20µm. Bazal Hücreli Karsinom.



4.3. İmmunhistokimyasal Bulgular:

Çalışmamızda kullanılan 50 farklı köpek kökenli materyallerin histopatolojik inceleme sonucunda Tablo 4.3-1,2,3,4,5 de görülebileceği gibi bunların 25'i melanositik kökenli neoplastik üreme olduğu, 25 materyal ise melanositik kökenli yada mezenşimal veya epitelyal kökenli olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu materyallerden ayrıca hazırlanan kesitler Streptavidin-biyotin peroksidaz tekniği ile İHK boyama yöntemiyle, Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 antikoları kullanılarak boyanmıştır. Bunun sonucunda histopatolojik olarak saptanan neoplastik olgularda, melanositik kökenli olan veya olmayan neoplastik üremelerde, bu antikoların ekspresyon yoğunlukları saptanmıştır. Ayrıca histopatolojik olarak melanositik kökenli olabileceği düşünülen olgularında bu antikoların ekspresyon düzeylerine göre melanositik kökenli tümör olup olmadığına kesin olarak karar verilmiştir. Ayrıca bu sonuçlara göre, çalışmada kullanılan Vimentin, S-100, MelanA ve PNL2 antikolarının, melanositik kökenli tümörlerin teşhisi ve ayrıca teşhisin güvenilirliği ve önemi belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.3-7' de detaylı olarak verilmiştir.

Bu incelemelerin sonuçlarına göre Vimentin antikoru kullanılarak yapılan İHK ile boyanan 50 materyalin 44'ünde Vimentin ekspresyonu değişik oranlarda pozitif saptandı (% 88). Bu olgularda Vimentinin, neoplastik hücrelerde hem intranükleer hemde intra sitoplazmik yerleşimli olarak saptandı. Vimentin ekspresyonun pozitif saptandığı 44 olgunun 27'sinde ekspresyon yoğunluğu kuvvetli (Şekil 4.3.1-1), 5'inde orta düzeyde (Şekil 4.3.1-2,3) ve 12'sinde zayıf (Şekil 4.3.1- 4) olarak saptandı ve 6 olgu negatifti (Şekil 4.3.1-5). Vimentin ekspresyonun pozitif saptanan 44 olgunun 33'ü melanositik kökenli (Şekil 4.3.1-6) neoplastik üremeler (% 73,3), 8'i undiferansiye sarkom (US), 1'si fibro sarkom (FS) 1'si kötü diferansiye epitelyal tümör (KDET), bir tanesinde akantamöz epulis (AE) (Şekil 4.3.1-7) olduğu saptandı. Ayrıca 33 melanositik kökenli neoplazmanın 23'ünde Vimentin kuvvetli pozitif, 3 neoplazi olgusunda Vimentin ekspresyonu orta kuvvetli pozitif, 7 olguda zayıf pozitif olarak saptandı. Vimentinin 3 malign melanoma olgusunda ki ekspresyonu negatifti. Vimentin 12 MM olgusunda kuvvetli pozitif, 3 MM da zayıf pozitif ekspresyon gösterdi. 3 Melanositoma olgusu kuvvetli, 2 Melanositoma olgusu orta, 2 Melanositoma olgusunda zayıf pozitif. Vimentin ekspresyonu AMM'ların 8'sinde kuvvetli pozitif, 1 olguda orta kuvvette ve 2 olguda zayıf pozitif olarak gerçekleşti. Vimentinin 36 melanositik tümörün 33'ünde eksprese olduğu (%91,6) saptanmıştır.

S-100 ekspresyonunun saptanması için yapılan İHK boyamasında ise toplam 50 olgunun 33'ünde S-100 ekspresyonunun değişik yoğunlukta pozitif boyandığı (eksprese olduğu) (% 74), 17 olguda ise ekspresyonun gelişmediği gözlemlendi (% 26). Pozitif boyanmanın saptandığı 33 olgunun 30'unun melanositik kökenli neoplastik üreme olduğu (% 90,9) bunlarında 14'ünün MM, 5'inin Melanositoma, 11 olgunun ise AMM olduğu teşhis edilmiştir. S-100 antikoru AMM'ların 11/11'inde (% 100) eksprese olmuştur. Bu olgularda S-100 ekspresyonunun çoğunlukla spindle (iğsi) veya oval-fusifform şekilli hücrelerde hem intra sitoplazmik hemde intra nükleer yerleşimli olduğu ve boyanmaların bu bölgelerde olduğu saptanmıştır. Melanositik kökenli neoplazmalardan MM'da 6 olguda yoğun (Şekil 4.3.1-8,9), 4 olguda orta düzeyde (Şekil 4.3.1-10), 4 olguda ise düşük düzeyde (Şekil 4.3.1-11) S-100 ekspresyon saptandı. MM'da 4 olguda, S-100 ekspresyonu negatifti. S-100 ekspresyonu Melanositoma olarak teşhis edilen olguların birinde kuvvetli (Şekil 4.3.1-12), 2'sinde orta kuvvette, 2'sinde de ise hafif yoğunlukta ve 2 olguda ise negatifti. AMM olarak teşhis edilen olgularda ise 5'inde yoğun, 2'sinde orta kuvvette ve 4 AMM olgusunda zayıf (Şekil 4.3.1-13) S-100 ekspresyon saptanmıştır. Buna göre 36 melanositik kökenli tümörlerden 30'unda S-100 ekspresyonu (%83,3) tespit edilmiştir. S-100, neurofibrosarkom (NFS) olgusunda kuvvetli pozitif (Şekil 4.3.1-14), bazal hücre karsinomada (BHK), ve undiferansiye sarkom (US) olgusunu da zayıf pozitif olarak eksprese etmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız histopatolojik olarak melanositik kökenli olduğu veya olabileceği düşünülen 50 neoplastik olgudan 35'inde MelanA ekspresyonu pozitif bulunmuştur (% 70). Olguların 34'ünün melanositik kökenli tümör, 1 olgu ise undiferansiye sarkom (US) olgusudur. MelanA'nın ekspresyon reaktivitesi sitoplazmik ve granüler yapıda idi. Malignitenin yüksek ve pigmentasyonca zengin olduğu bölgelerde ekspresyonun yoğun olduğu gözlemlendi. MelanA'nın ekspresyonunun MM'ların 13'ünde kuvvetli (Şekil 4.3.1-15,16,17), 3 MM olgusunda orta kuvvette, 2 MM olgusunda ise zayıf pozitif saptandı. Bir Melanositoma olgusu kuvvetli, 3 Melanositoma olgusu orta düzeyde (Şekil 4.3.1-18) ve 3 Melanositoma olgusunda ise MelanA zayıf pozitif ekspresyonu saptanmıştır. MelanA'nın AMM ekspresyonu bir olguda kuvvetli, 3 olgu orta kuvvette, 5 olgu zayıf (Şekil 4.3.1-19), 2 AMM olguda ise negatifti (Şekil 4.3.1-20). MelanA ekspresyonu 36 melanositik tümörden 34'ünde gerçekleşti (%94,4) ve MelanA antikorusunun ekspresyon paterni oldukça yüksekti.

Çalışmamızda kullanılan 50 neoplastik olguda histopatolojik olarak melanositik tümör veya olabileceği belirlenen neoplastik üremeler PNL2 ekspresyonunun saptanması için İHK uygulanmış ve sonuç olarak 35 olgu pozitif, 15 olgu ise negatif sonuç vermiştir. Nonmelanositik tümör ve lezyonlardan hiçbirinde PNL2 ekspresyonu saptanmamıştır (% 70). PNL2'nin pozitif eksprese ettiği 35 melanositik tümörün 18'i MM, 6'sı Melanositoma ve 11' ise AMM Olgusu idi. Bu tümörlerde PNL2 ekspresyonunun sitoplazmik yerleşimli ve çoğunlukta granüler yapıda olduğu saptandı. PNL2'nin MM'larda ki ekspresyonu 12 olgu kuvvetli pozitif (Şekil 4.3.1-21,22,23,24,25), 6 olguda ise orta kuvvette saptanmıştır (Şekil 4.3.1-26,27). Melanositoma olgularında PNL2 ekspresyonu 4'ünde orta kuvvetli pozitif, 2'sinde zayıf pozitif (Şekil 4.3.1-28), diğer birinde ise negatifti. PNL2 ekspresyonu AMM'ların 5'inde kuvvetli pozitif, 6'sında orta kuvvette saptanmıştır. 36 melanositik tümörlerin 35'inde pozitif PNL2 ekspresyonu saptanmıştır (%97,2). Oranın yüksek olması PNL2'nin melanomalarda spesifik olduğunu göstermektedir.

Vimentin melanositik tümörlerde yüksek duyarlılık göstermesine rağmen diğer tümörlerde de pozitif ekspresyon gerçekleştiği için melanositik tümörlerde spesifik bir belirteç olmadığı görüldü. (melanositik olmayan 11 tümörde ekspresyon gerçekleşti.)

Malign Melanoma olan 2., 19. ve 30. olguda bütün antikorlar kuvvetli pozitif ekspresyon gerçekleştirdi (Tablo 4.3-7). 18., 37., 38., 40. ve 43. Olguda Vimentin, MelanA ve PNL2 kuvvetli pozitif (Tablo 4.3-7). Bütün antikorlar sadece 34. olguda Fibromatöz Ossifiye Epulis (FOE) negatifti (Tablo 4.3-6). Bir olgu dışında PNL2 bütün melanositik tümörleri pozitif olarak eksprese olmuştur ve MelanA 14. ve 50. AMM olgusunda negatif, PNL2 de 11. melanositoma olgusunda negatifti (Tablo 4.3-7). Tüm vakalarda melanositik tümörlerde PNL2 nin pozitif ekspresyonu MelanA'ya göre daha kuvvetli idi.

8. olgu, 9 yaşındaki Kanada Kurdunun dudağından alınan kitlenin histopatolojik yapısı melanomayı düşündürmesine rağmen kitlenin melanin pigmentasyonundan zayıf olması akla US olabileceğini getirir, İHK neticesinde 4 İHK antikorunda pozitif sonuç vermiş ve AMM teşhisi doğrulanmıştır. 10. Olgu Kanada Kurdunun çene altından alınan kitleye histopatolojik olarak US teşhisi konmuş ancak hücre yapıları ve malignite değerlendirildiğinde melanomada olabileceği düşünülerek İHK uygulandı ve 4 antikorda pozitif ekspresyon gösterdiğinden AMM teşhisi kondu. 14. olgu *Rotweiller* ırkı köpeğin radiusun proximalde medial yüzeyinden alınan kitle histopatolojik olarak undiferansiye (US) olarak teşhis konmuştu. Ancak tümörün histopatolojik yapısı AMM

olabileceğini de düşündürdü. Yapılan İHK sonucunda MelanA dışındaki üç antikorda pozitif ekspresyon gösterdi ve tümör amelanotik melanoma (AMM) olarak kabul edildi. Histopatolojisi yine adenokarsinom (AK) olan 22. Olguya melanositoma olabileceği düşünülerek İHK yöntemle antikorlarımız uygulanmış tümü antikorlar için pozitif ekspresyon saptandığı için tümöre Melanositoma (M) teşhisi konmuştur. 25. olgu *Terrier* ırkı 15 yaşında erkek köpeğin çene kemiğinin yanından deriden alınan kitleye histopatolojik inceleme sonucunda undiferansiye sarkom (US) tanısı kondu. Çalışmamızda kullanılan İHK antikorlarından MelanA zayıf pozitif diğer antikorlar kuvvetli pozitif ekspresyon saptandı. Ve İHK sonucunda olgu amelanotik melanoma (AMM) olarak değerlendirildi. 28. olgu *Cocker* ırkı 13 yaşındaki dişi köpeğin alt sol göz kapağından alınan kitlenin histopatolojik teşhisinde malign trikoepitelyoma (MTE) olduğu düşünülmüştü. Fakat İHK sonucunda bütün belirteçler için pozitif ekspresyon saptandığı için olgunun AMM olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı şekilde 29. Olguda melez 9 yaşındaki erkek bir köpeğin sağ kostaların gerisinden alınan kitlenin histopatolojik tanısı malign trikoepitelyomaya (MTE) benzerdir. Ancak yapılan İHK sonucunda dört markırda da ekspresyon saptanmış ve tanı AMM olarak değiştirilmiştir. 31. olguda 4 yaşında *Golden Retriever* ırkı dişi köpeğin histopatolojik teşhisi undiferansiye sarkomdu ancak İHK yöntemiyle yapılan boyamalar neticesinde 4 markırda ekspresyon saptanmış ve teşhis AMM olarak kaydedilmiştir. 35. olgu 7 yaşındaki *Boxer* ırkı dişi köpeğin burun üstünden alınan kitle histopatolojik olarak undiferansiye sarkom veya Melanositoma olabileceği için İHK yöntemi ile boyama neticesinde S-100 dışındaki markırların ekspresyonu saptanmış ve teşhis Melanositoma olarak değiştirilmiştir. 37. olgu 11 yaşındaki *Pekinese* ırkı erkek köpeğin göz kapağından alınan kitleye histopatolojik inceleme sonucunda sebaseyöz epitelyoma (SE) yada MM olabileceği düşünülmüş, ancak İHK yöntemi ile yapılan boyama neticesinde Vimentin, MelanA ve PNL2 ekspresyonları kuvvetli pozitif S-100 ise orta kuvvette pozitif saptanmış ve dolayısıyla bu tümöre MM tanısı konmuştur. 48. olguda 13 yaşındaki *Setter* ırkı erkek köpeğin göz kapağının üst kısmından deriden alınan kitlenin histopatolojik olarak Ülseratif dermatit (ÜD) yada Melanositoma olarak düşünüldü. Fakat yapılan İHK boyaması sonucunda tüm markırların ekspresyonunun pozitifliği neticesinde tümörün Melanositoma olduğuna karar verilmiştir (Tablo 4.3 -9).

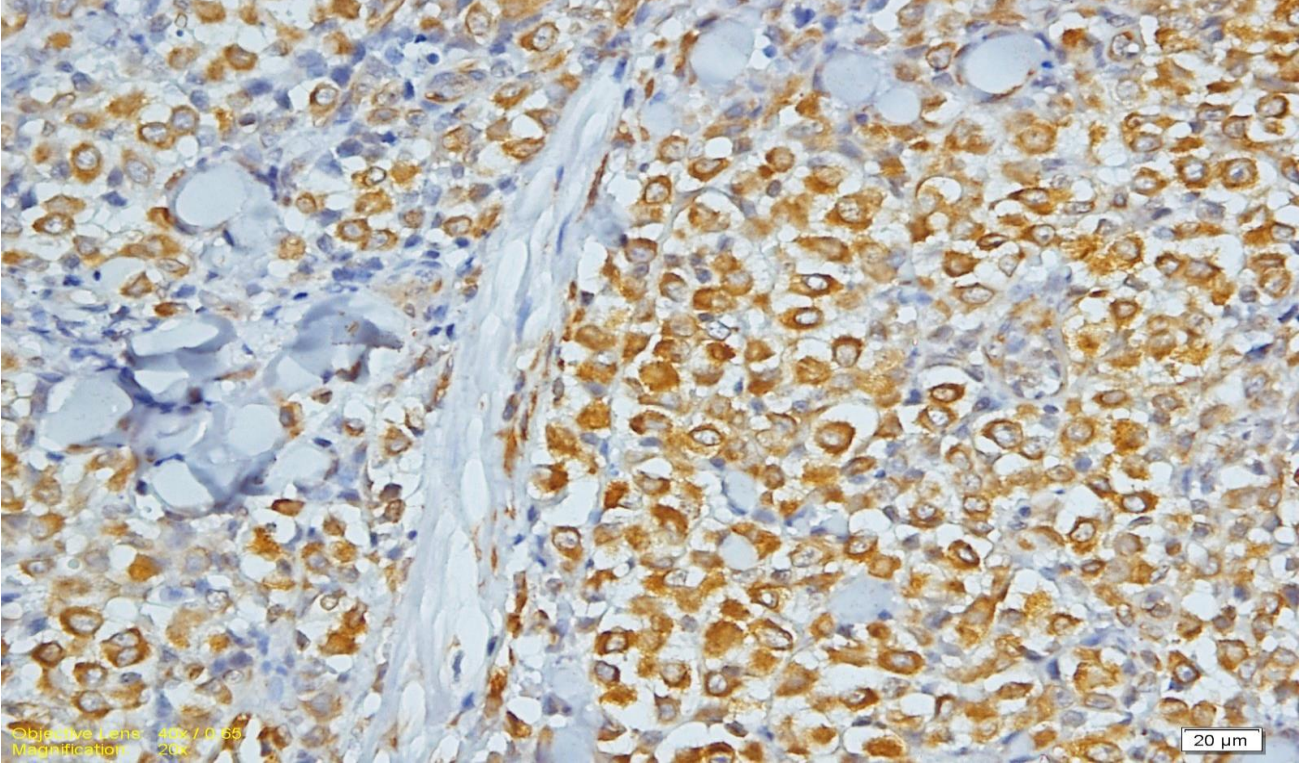
Histopatolojik olarak 1., 5., 21., 27., 32., 39., 41. Ve 46. olgular US, 12. Olgu NFS., 15. Olgu BHK., 34. Olgu FOE., 36. Olgu AE., 44. Olgu FS., 47. Olgu KDET veya melanoma olarak birbirlerini taklit edebilecekleri düşünülerek İHK teşhis yöntemi

uygulanmış neticesinde bu olguların 8 tanesine US, birer tanede NFS., BHK., FOE., AE., FS., KDET teşhisi konmuştur (Tablo 4.3-8).

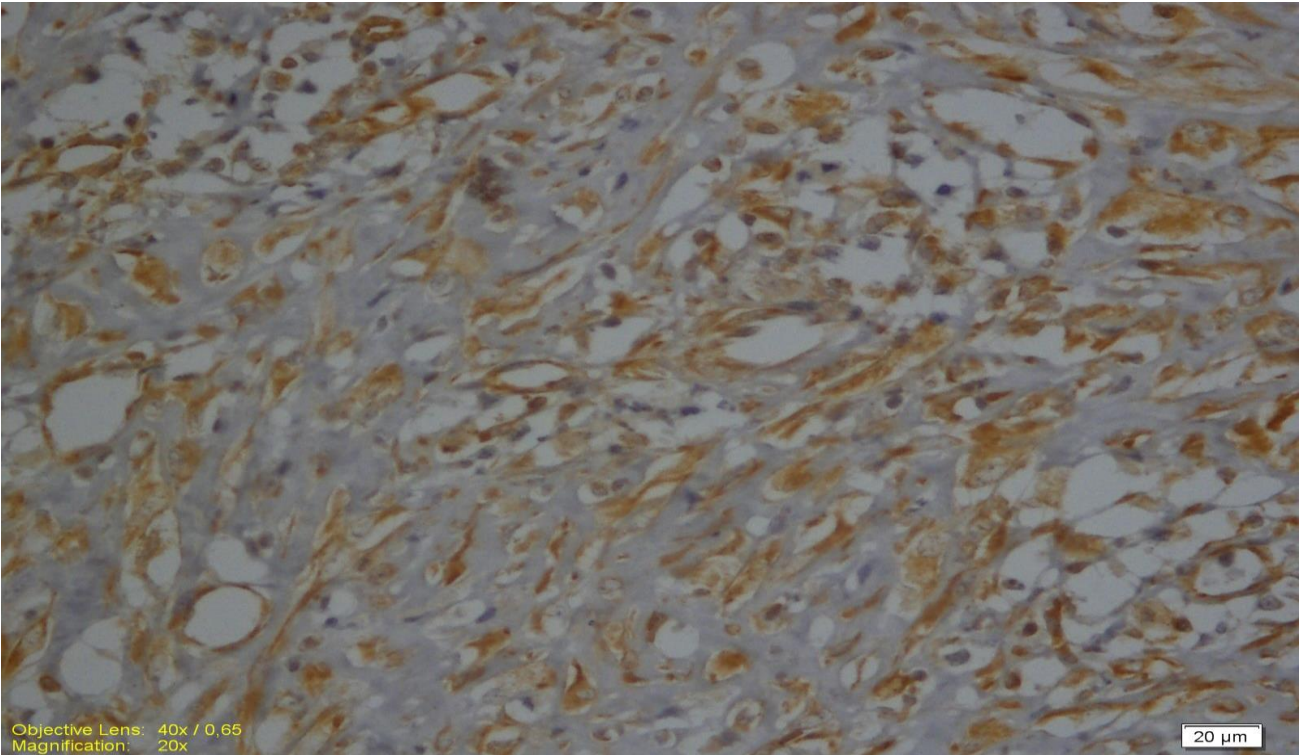


4.3.1. İmmunohistokimyasal (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Boyama

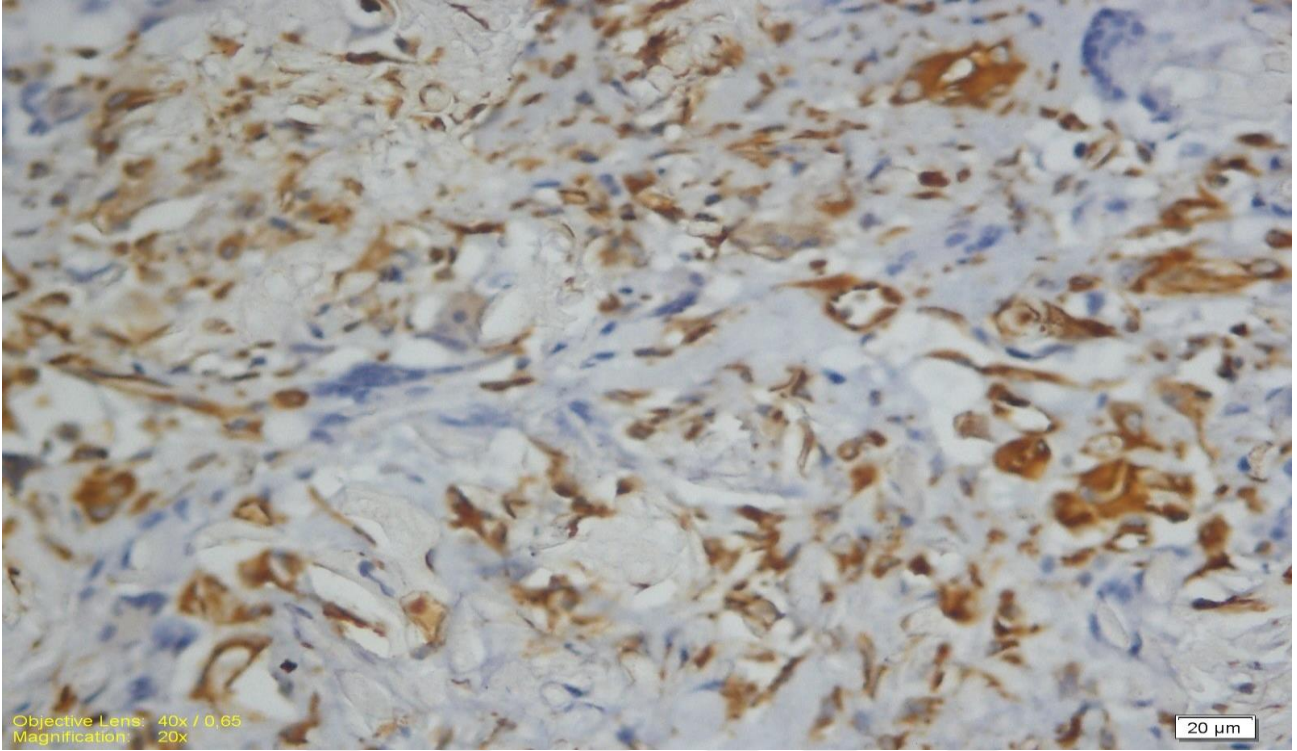
Şekil 4.3.1-1 Tarsal eklem hizası deriden kitle, Melanositoma, Tablo 4.3-3/23, Vimentin Ekspresyonu (+3), intrastoplazmik yerleşimli, Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP. 40x, Bar: 20 µm.



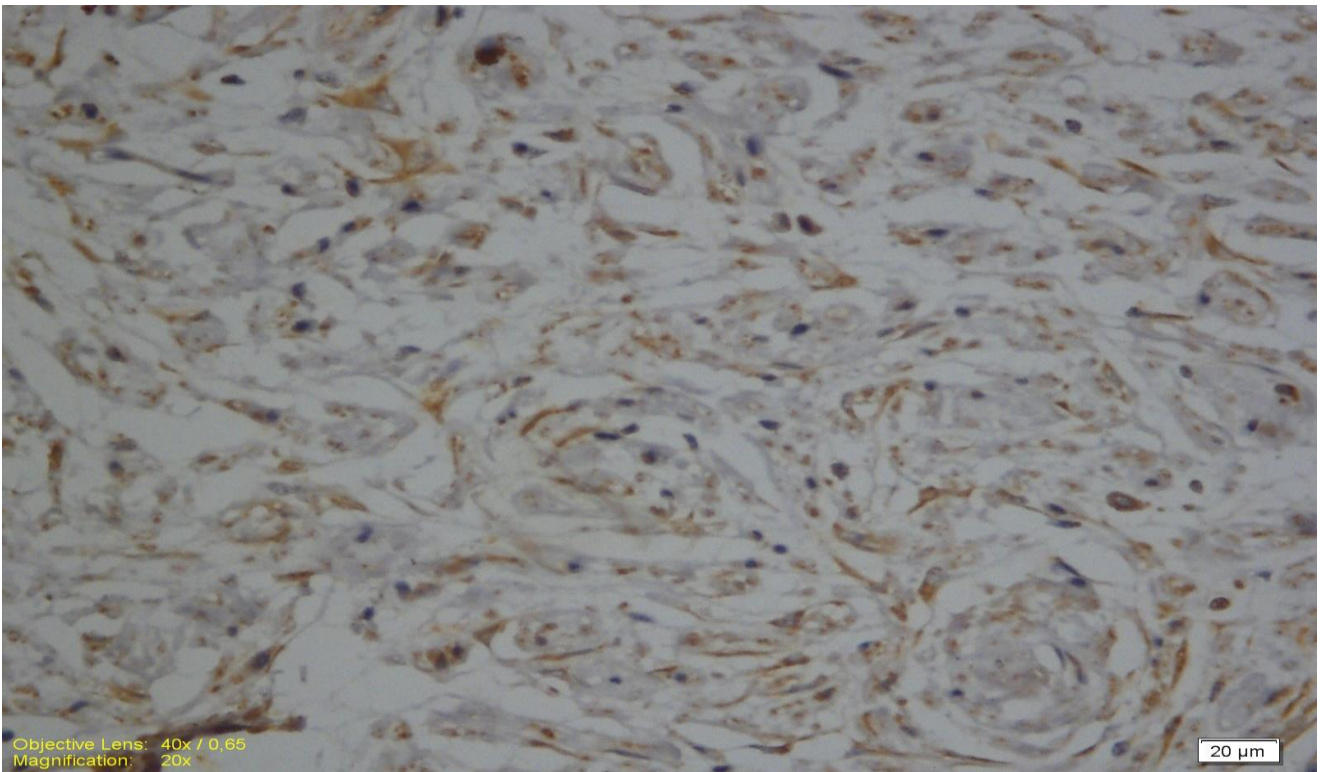
Şekil 4.3.1-2 Burun üstü deriden, Melanositoma, Tablo-4.3-4/35, Vimentin Ekspresyonu (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20 µm.



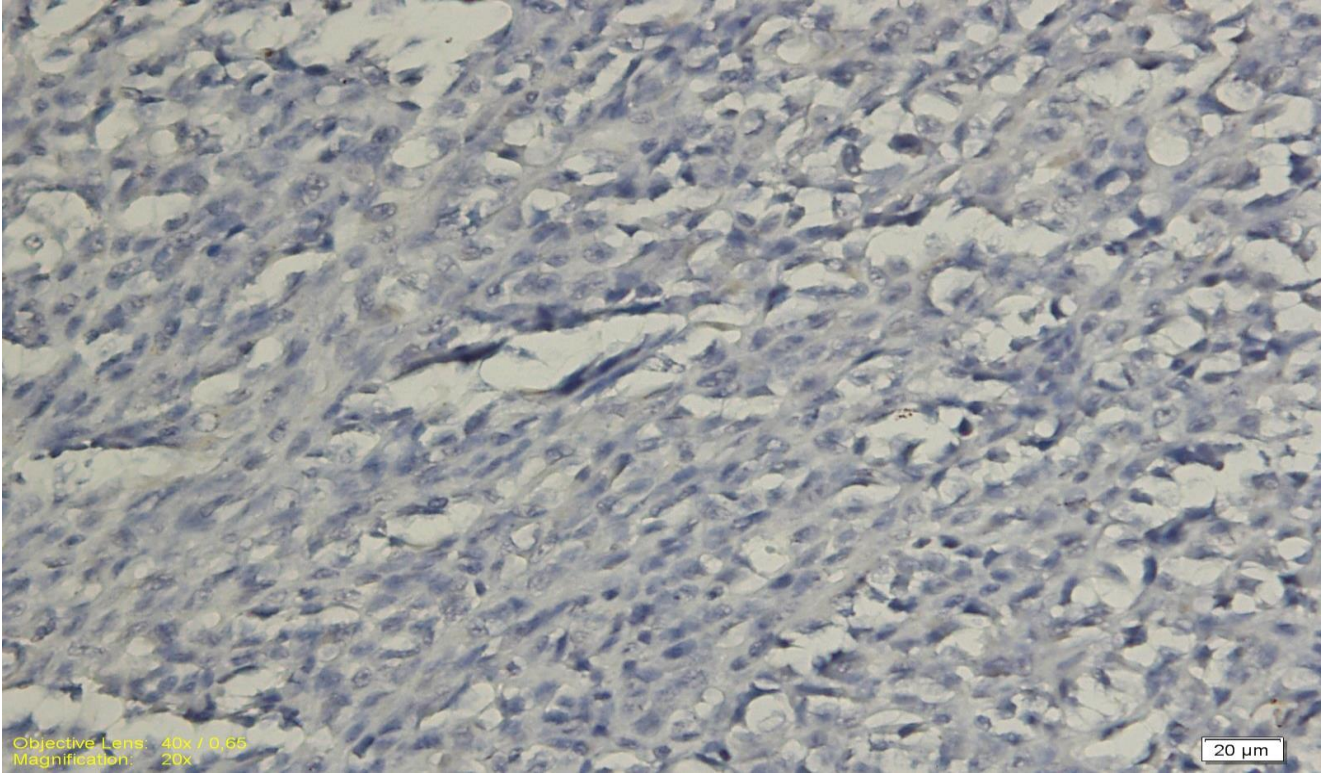
Şekil 4.3.1-3 Deriden kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-3/29, Vimentin ekspresyonu (+2). Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



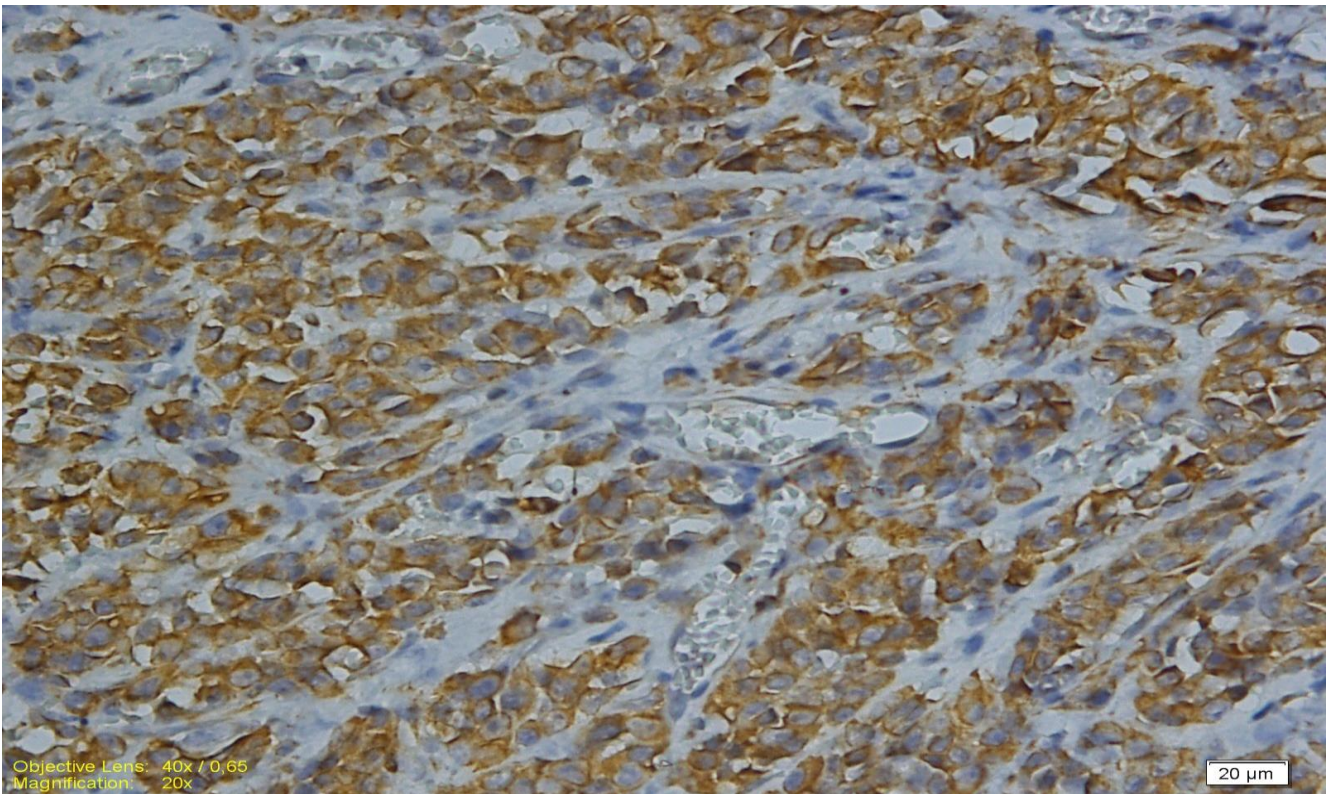
Şekil 4.3.1-4 Deri altı kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/26, Vimentin Ekspresyonu (+1) Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz DAP 40x, Bar: 20µm



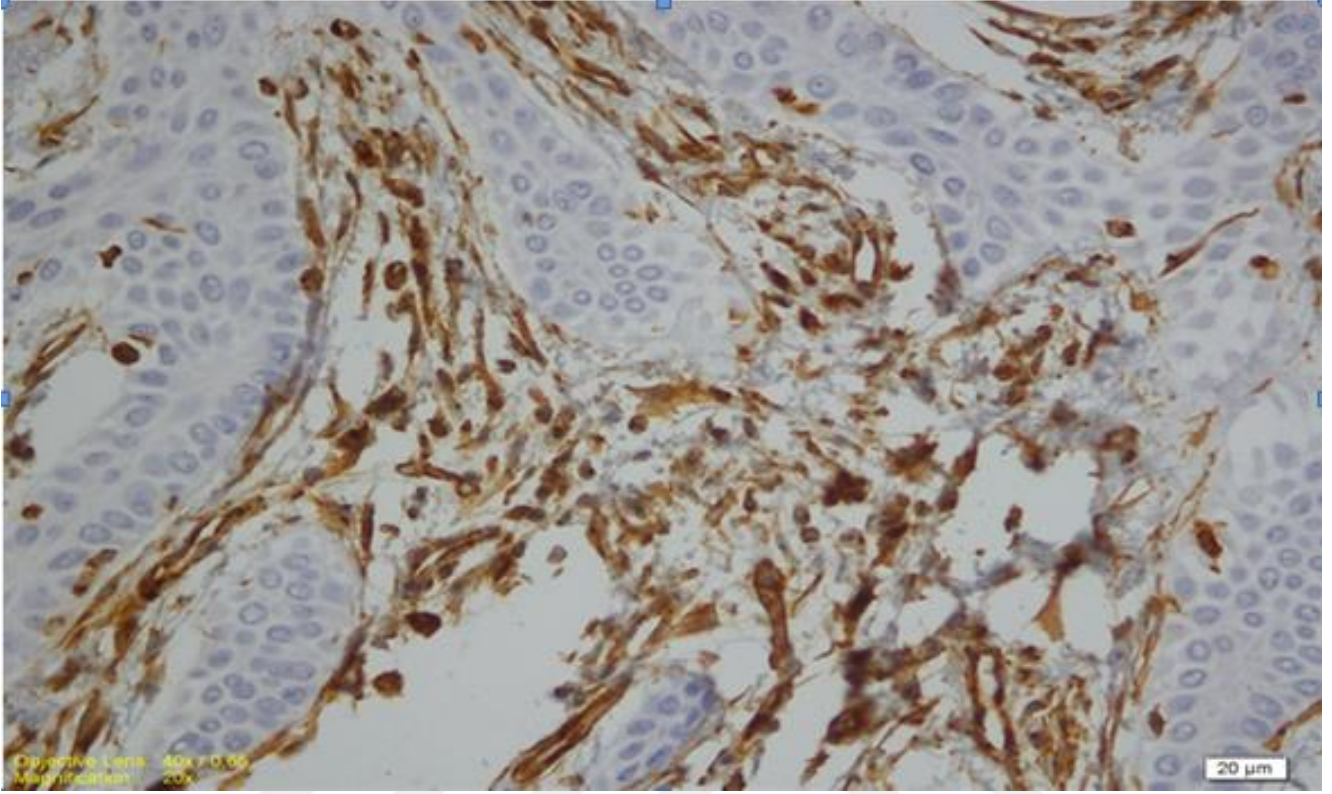
Şekil 4.3.1-5 Falanksdan kitle, Nörofibrosarkoma, Tablo-4.3-2/12, Vimentin ekspresyonu (-), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



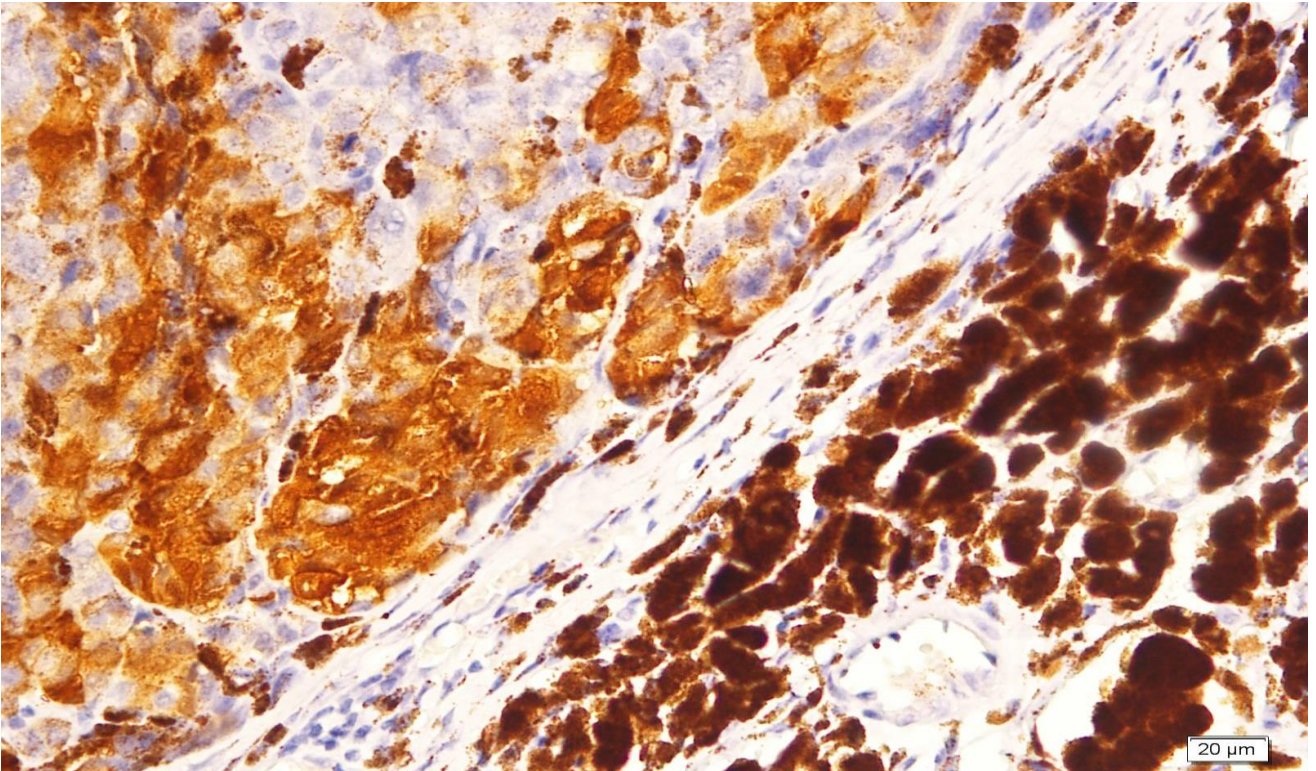
Şekil 4.3.1-6 Ağız içi mukozadan kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/30, Vimentin Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



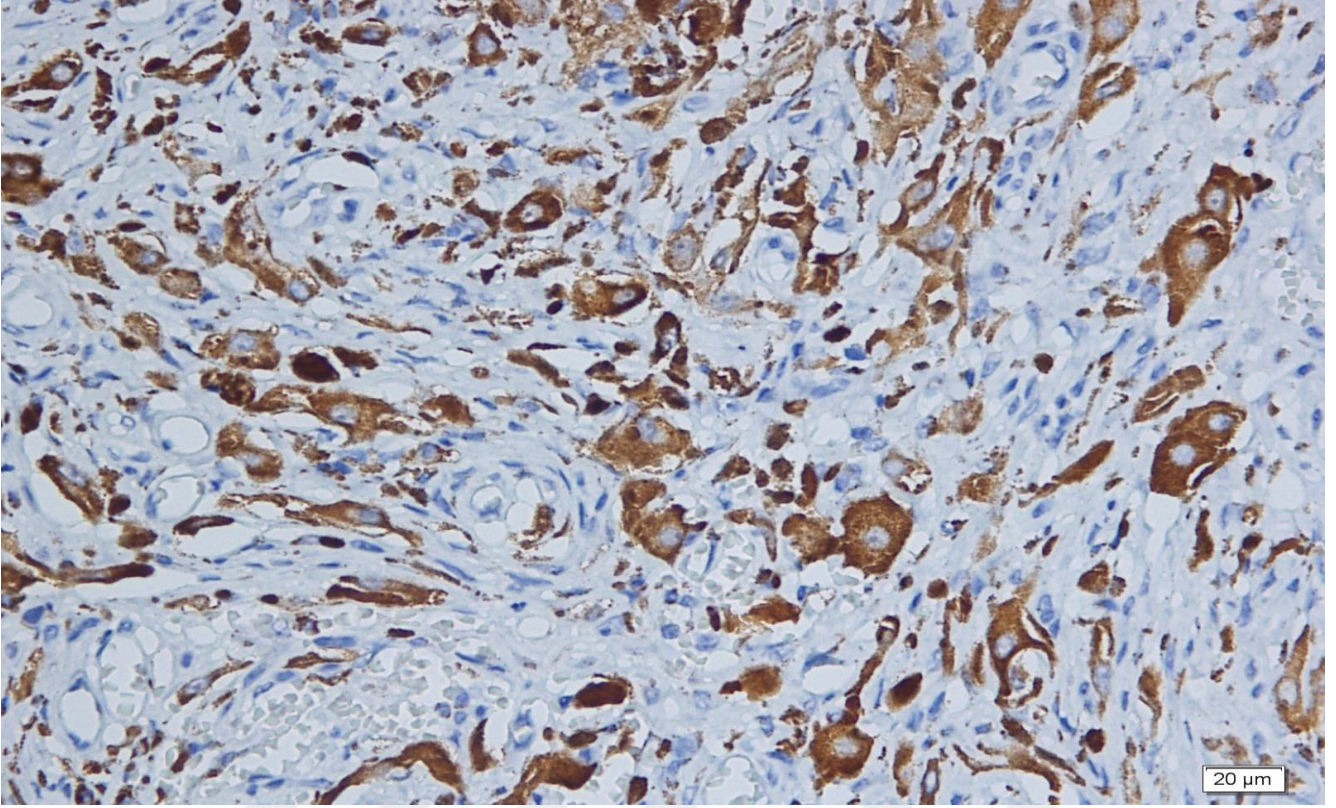
Şekil 4.3.1-7. Diş Etinden, Akantomatöz Epulis , Tablo-4.3-4/36, Vimentin Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



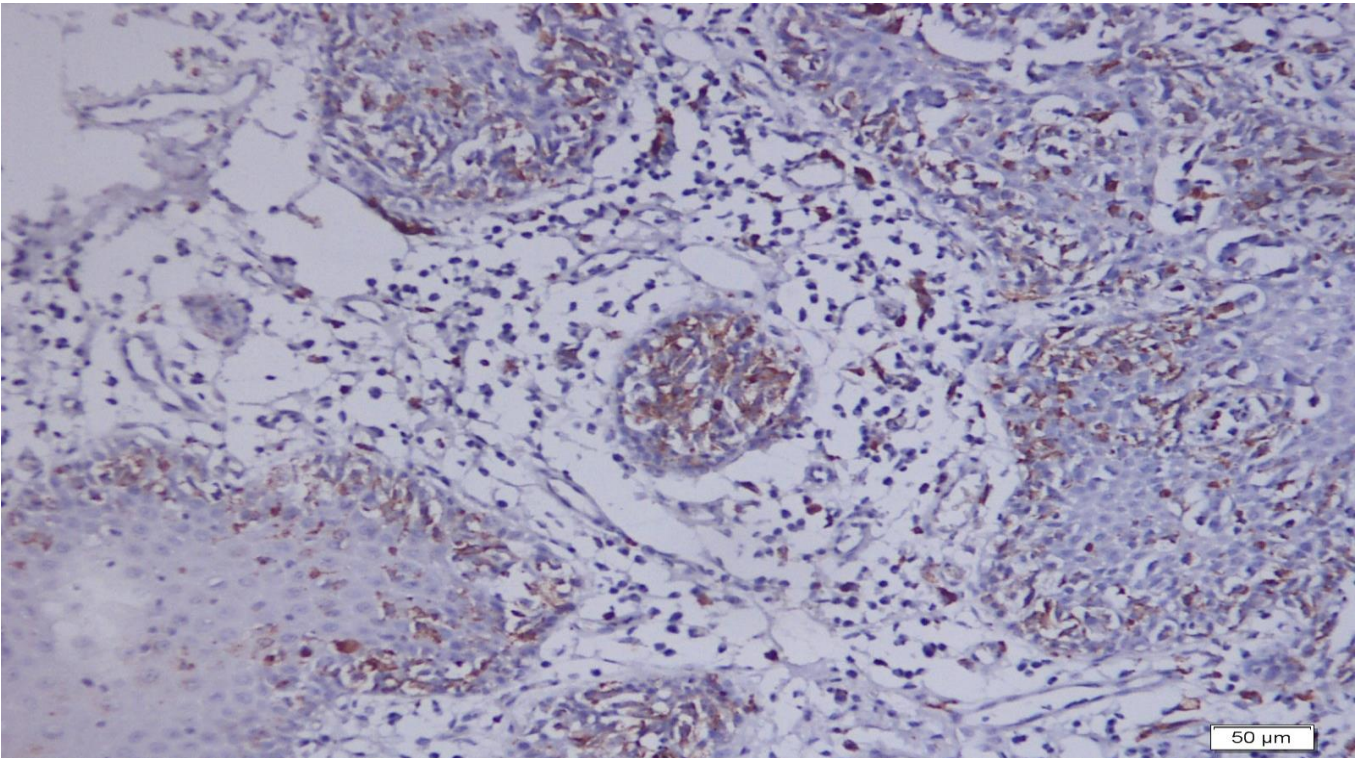
Şekil 4.3.1-8 Diş Eti, Malign Melanoma Tablo 4.3-1/4, S-100 Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



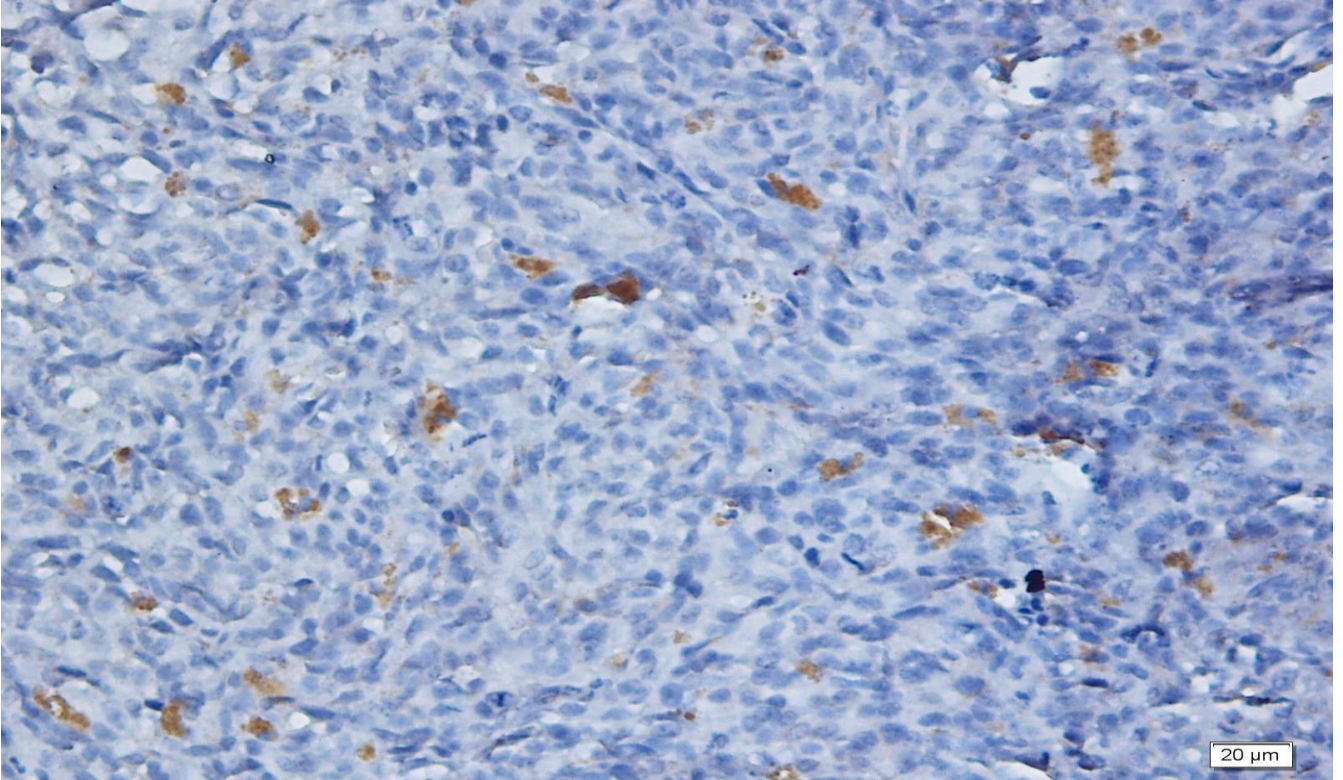
Şekil 4.3.1-9 Arka bacak tarsal eklem deri kitle. Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/19, S-100 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm



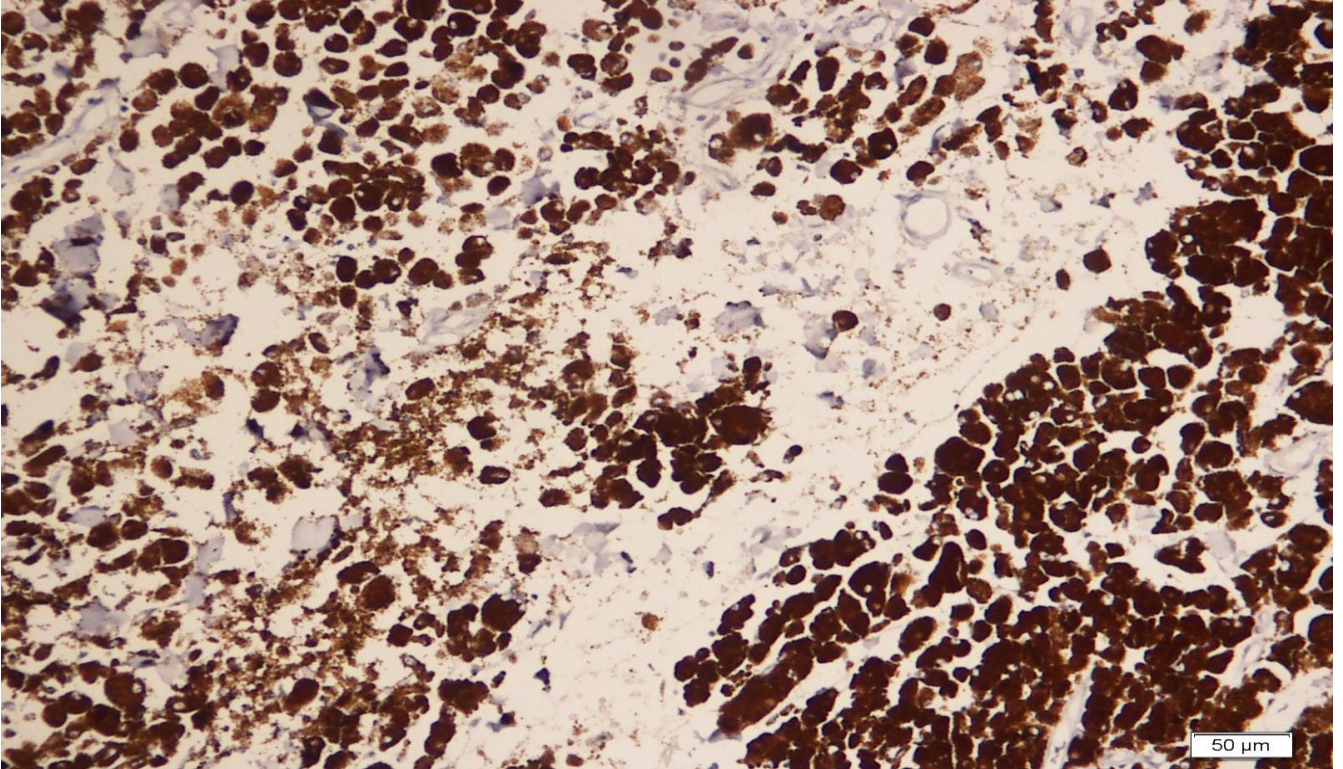
Şekil 4.3.1-10 Ağız içinden kitle, Malign Melanoma. Tablo 4.3-2/16, S-100 (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.



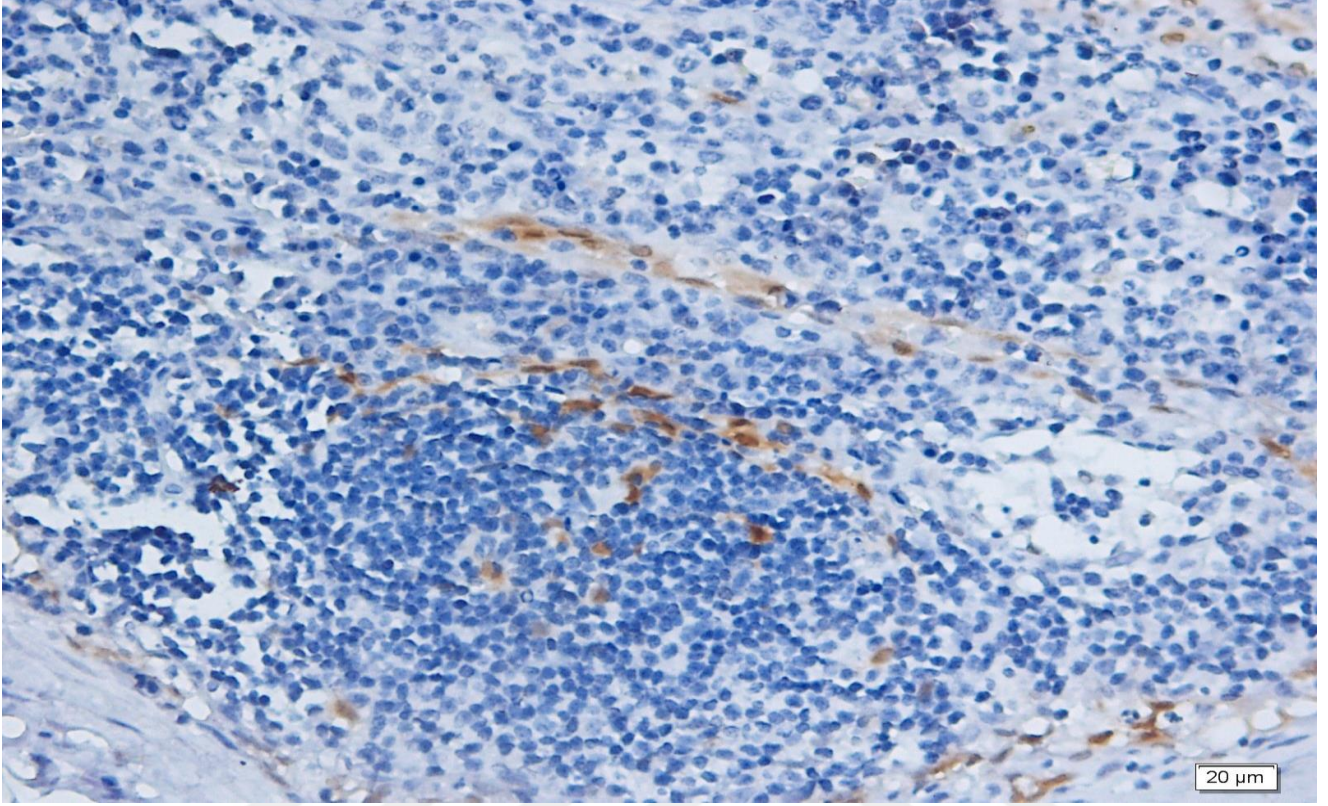
Şekil 4.3.1-11 Alt dudak kenarı kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/24, S-100 (+1), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz DAP, 40x, Bar:20µm.



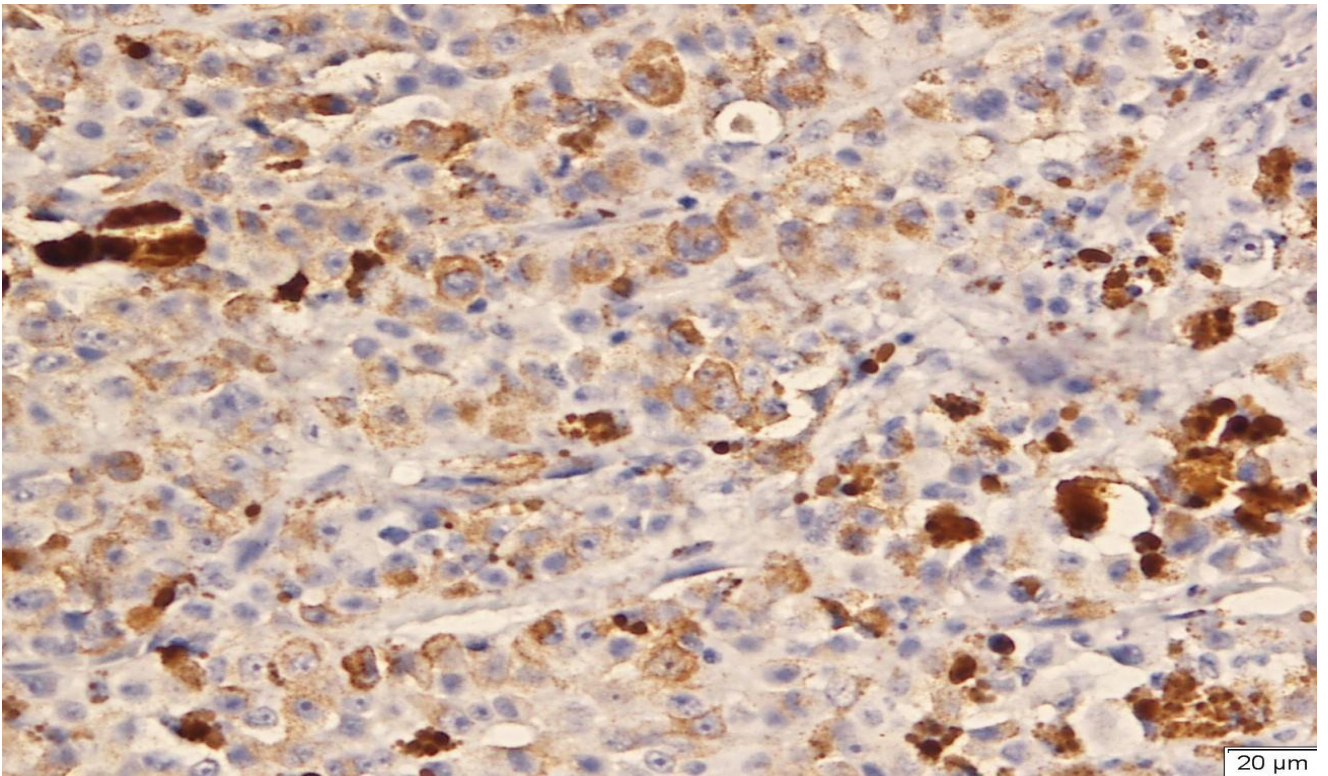
Şekil 4.3.1-12 Göz skleradan, Melanositoma, Tablo 4.3-2/11 S-100 Ekspresyonu (+3), Labeled Streptavidin Biyotin peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.



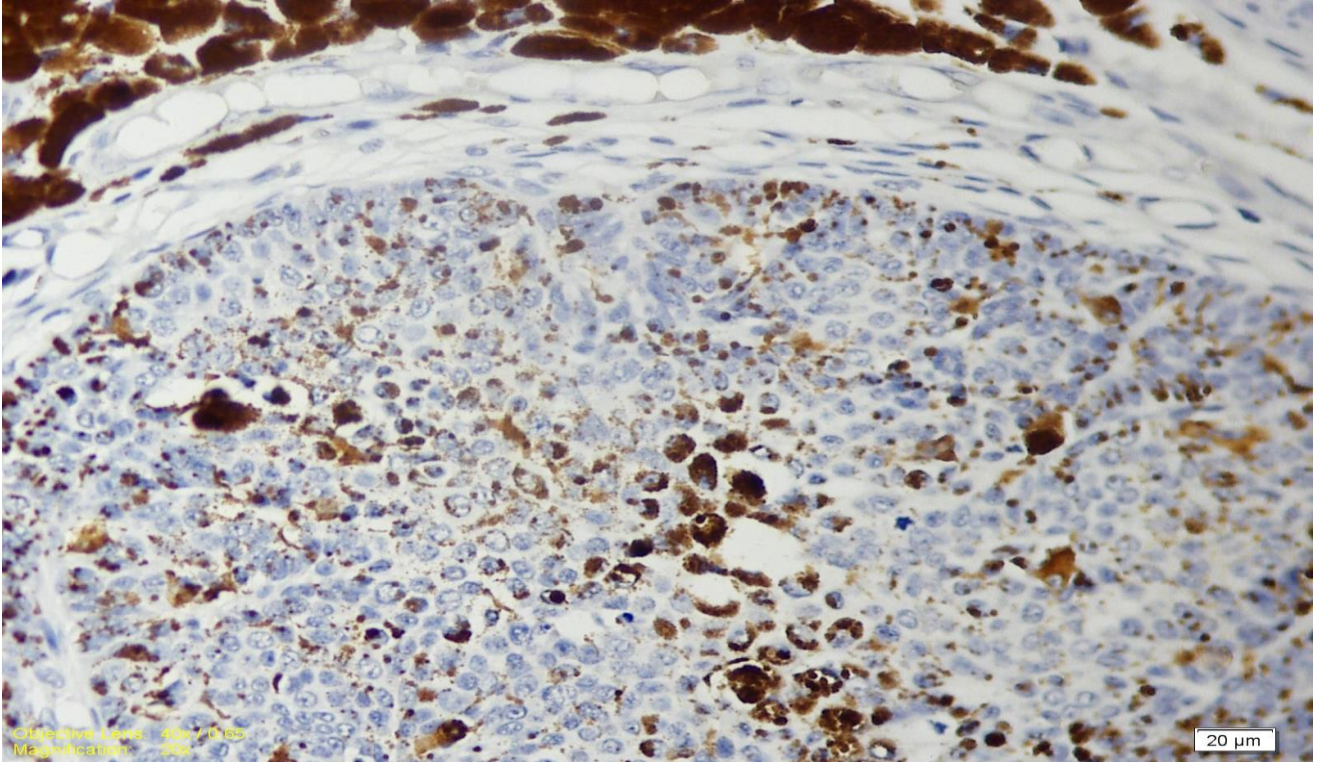
Şekil 4.3.1-13 Deriden kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-2/14, S-100 (+1), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



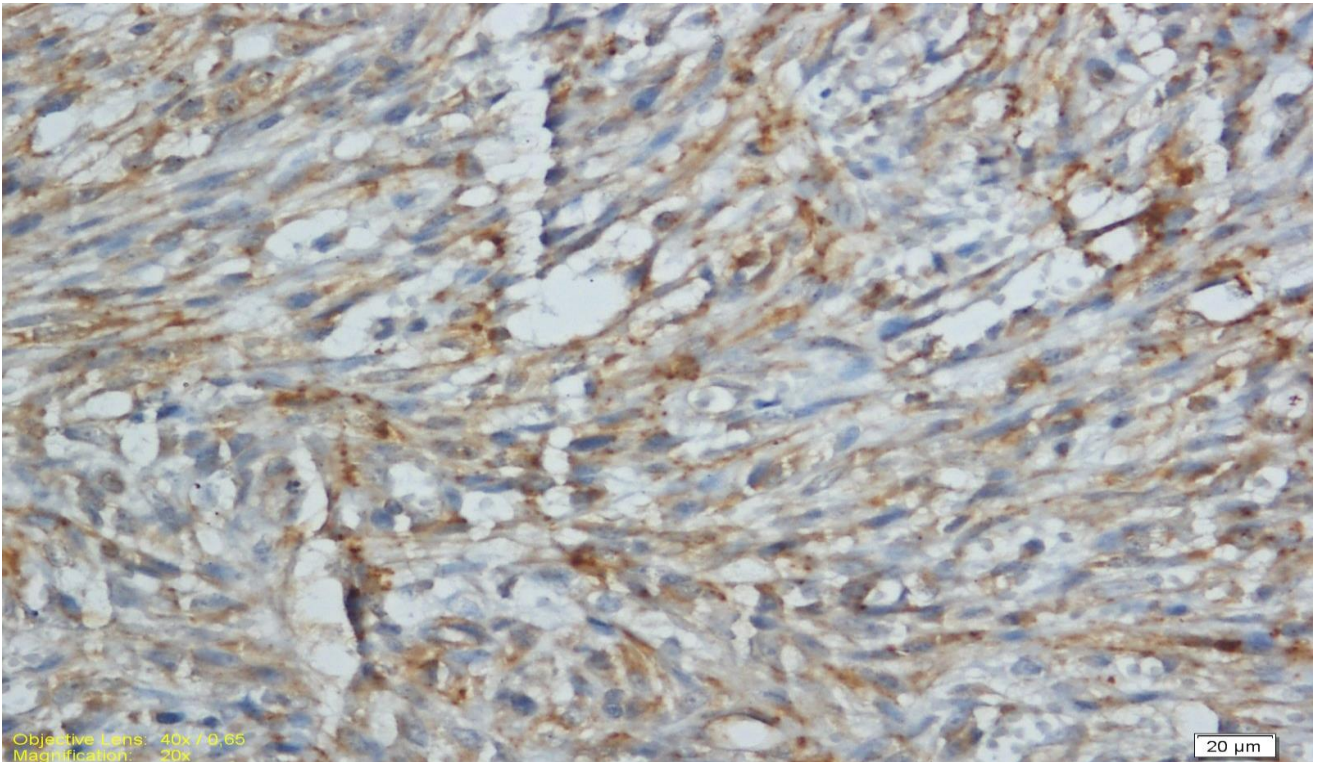
Şekil 4.3.1-14 Arka bacak sol falankstan kitle, Nörofibrosarkoma Tablo 4.3-2/12, S-100 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



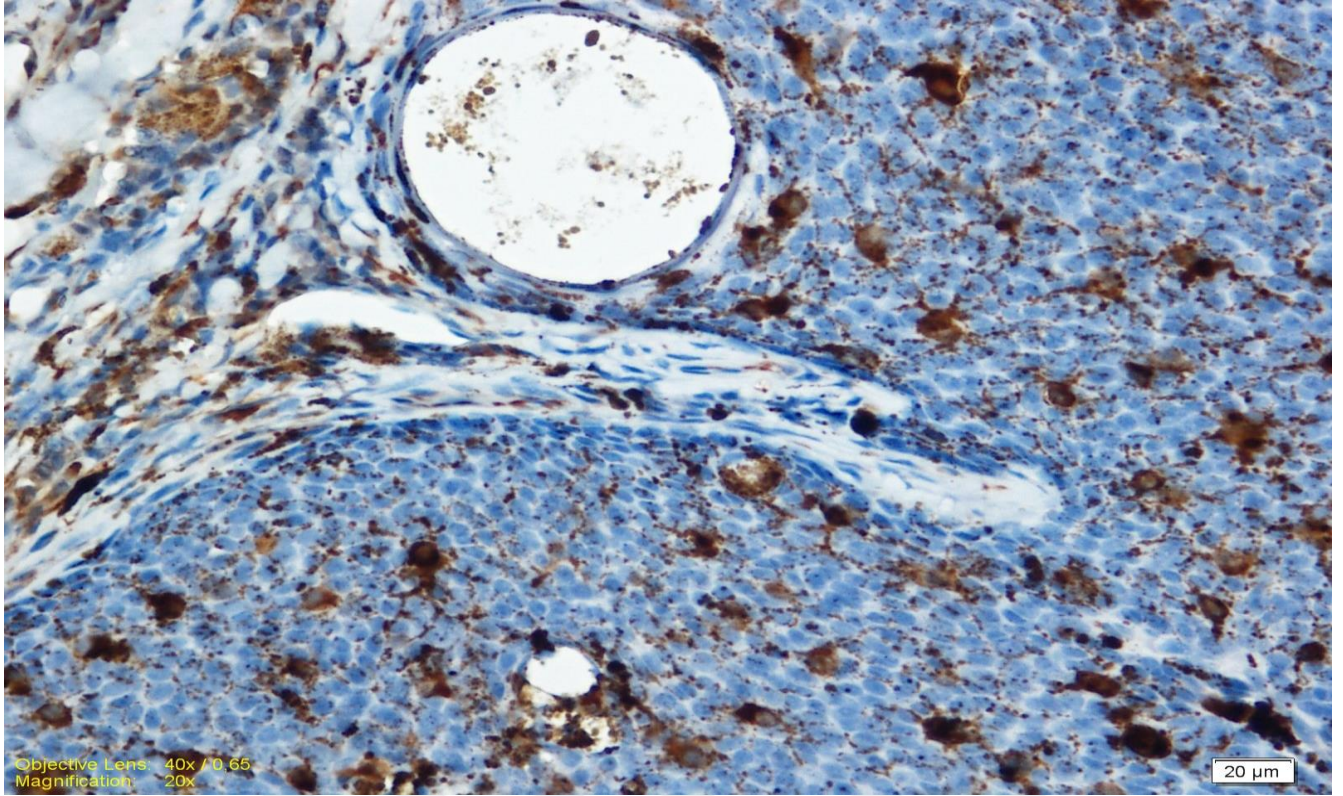
Şekil 4.3.1-15 Sağ olekranon-deriden kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/2, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



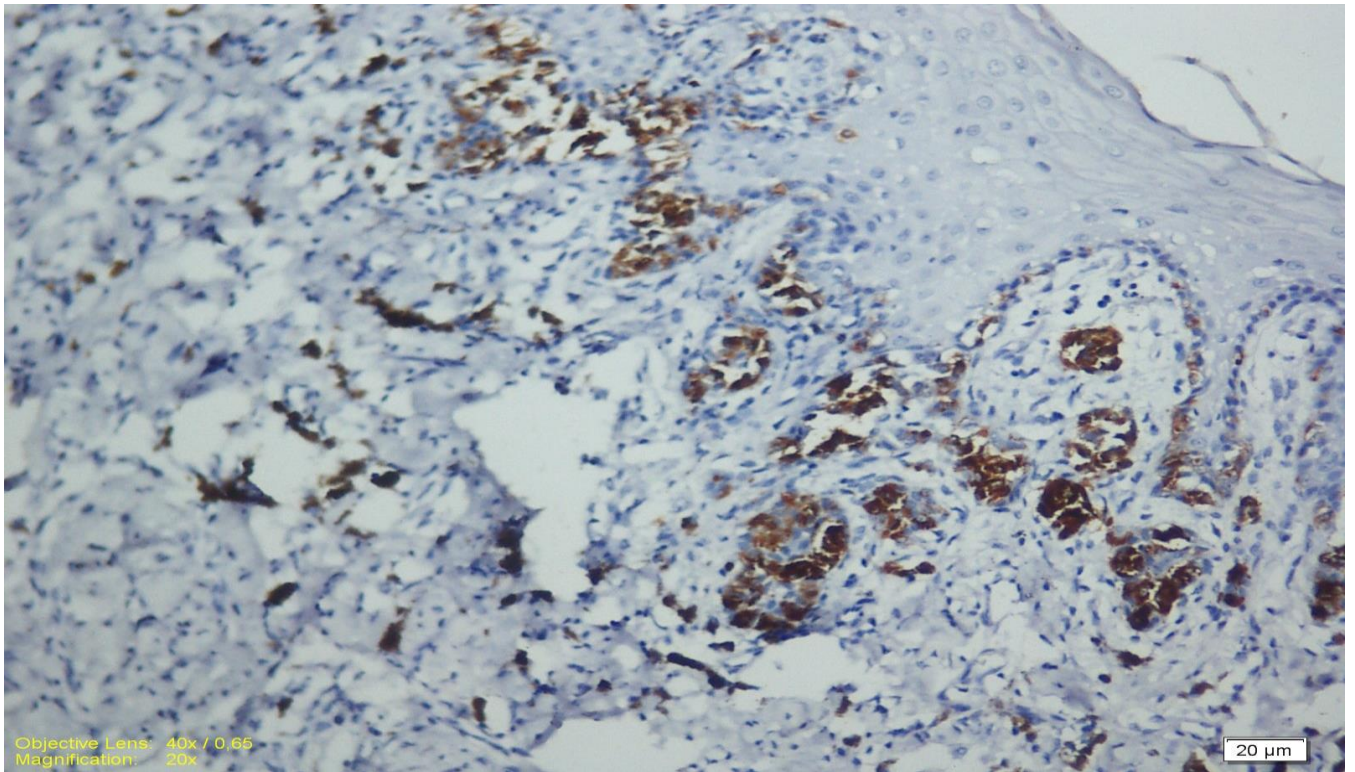
Şekil 4.3.1-16 Diş etinden Kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-2/18, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



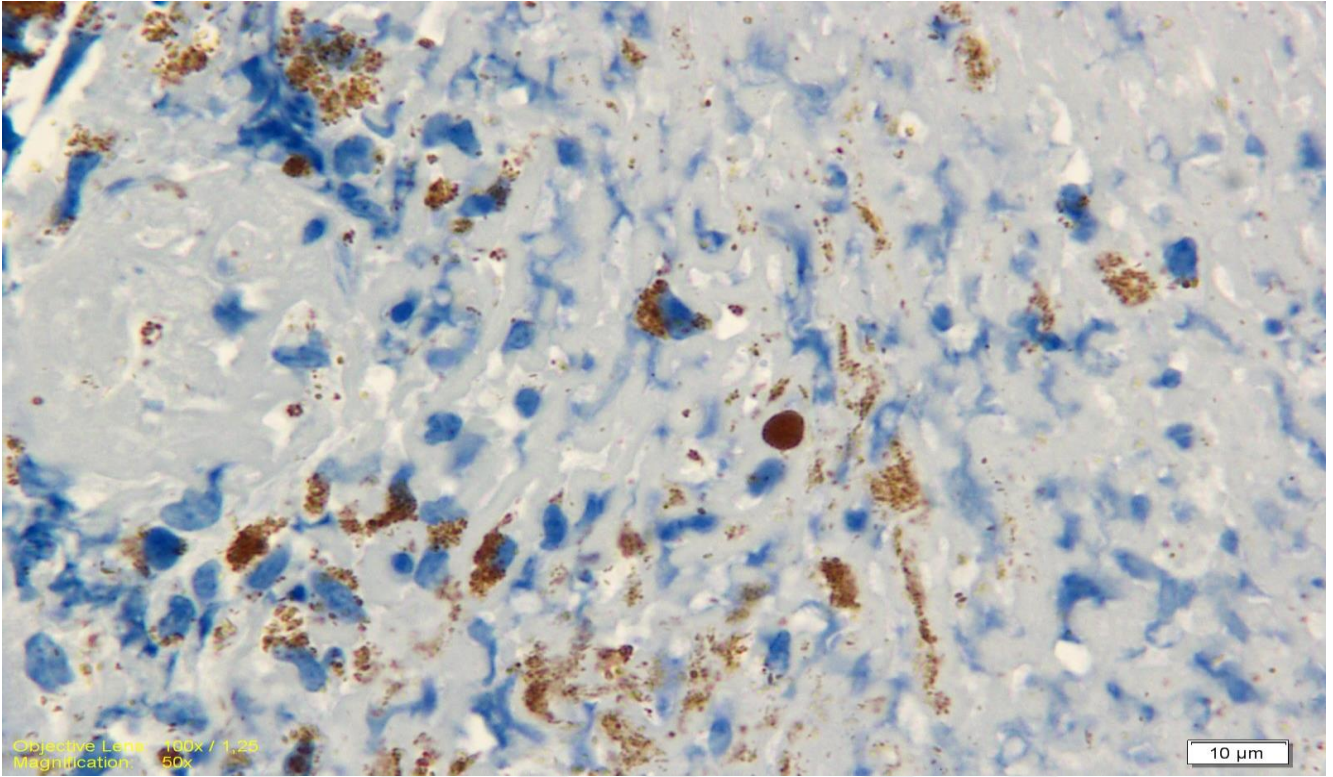
Şekil 4.3.1-17 Göz kapağından kitle, Malign Melanoma Tablo 4.3-4/37, MelanA (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



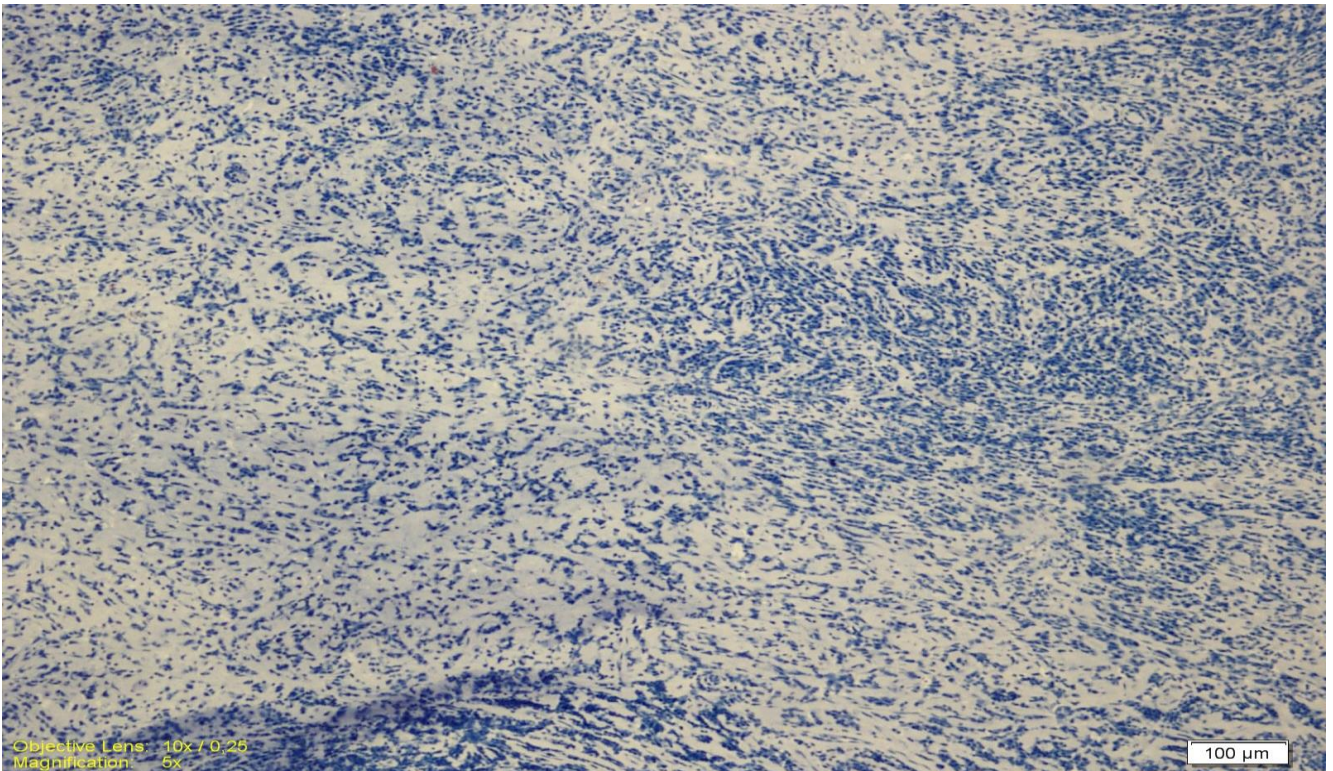
Şekil 4.3.1-18 Meme bölgesi deriden kitle, Melanositoma Tablo-4.3-3/22, MelanA (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



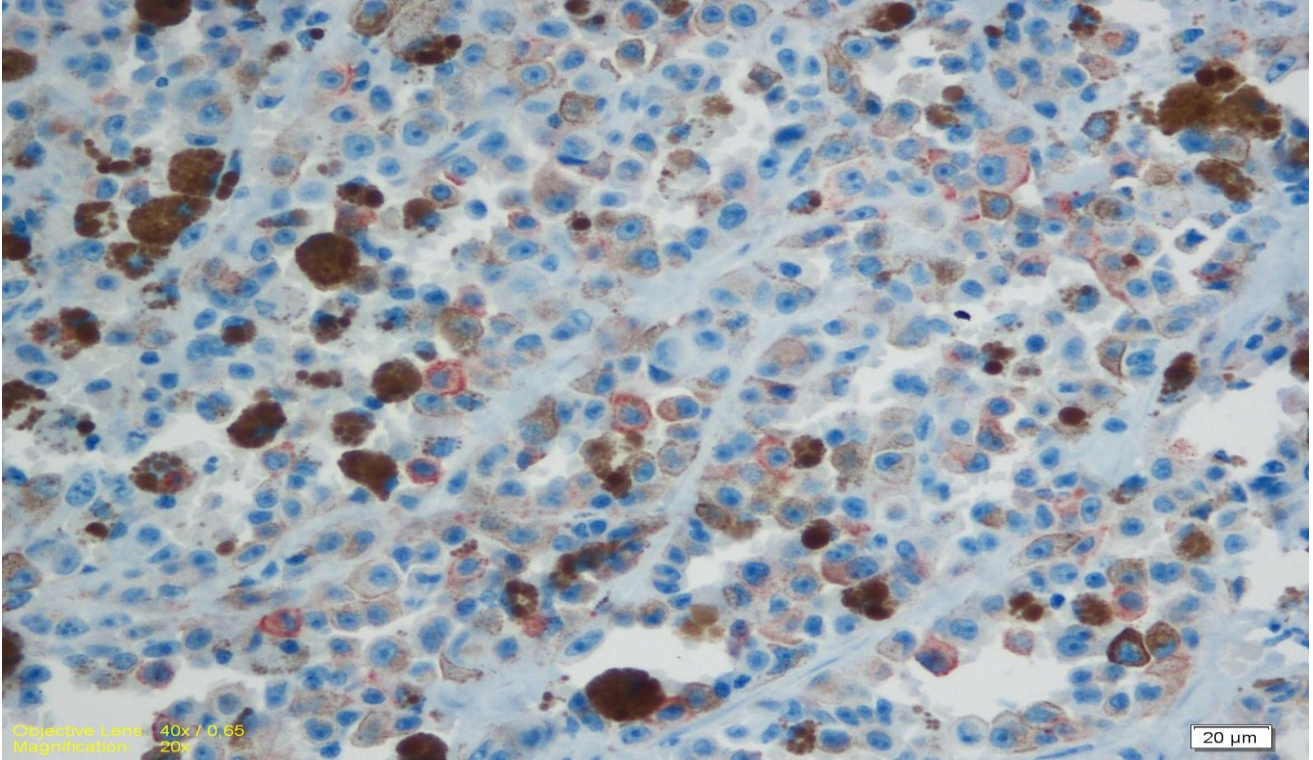
Şekil 4.3.1-19 Diş eti, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-5/45, MelanA (+1) sitoplazmik ve granuler MelanA ekspresyonu. Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 100x, Bar: 10µm.



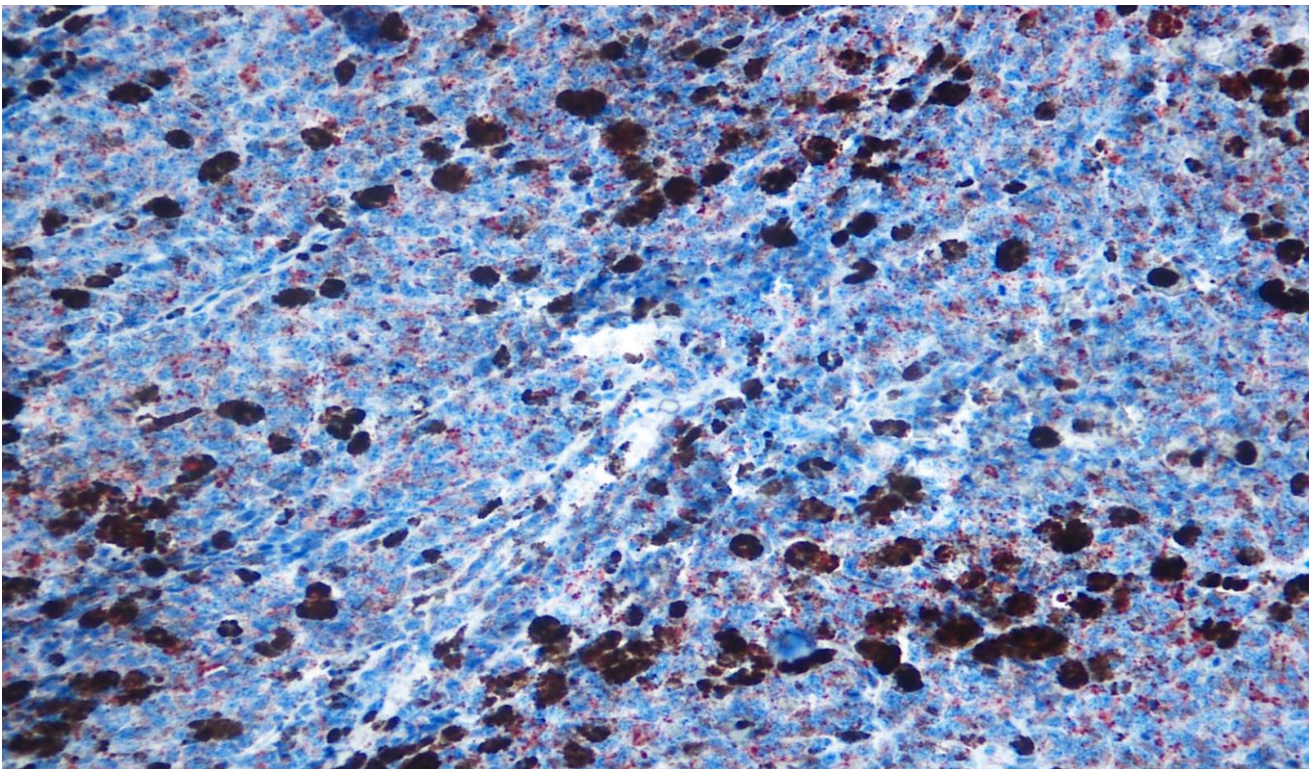
Şekil 4.3.1-20 Ağız içi kitle, Amelanotik Melanoma, Tablo 4.3-5/50 MelanA (-), Labeled Streptavidin Biyotin Peroksidaz, DAP, 10x, Bar: 100µm.



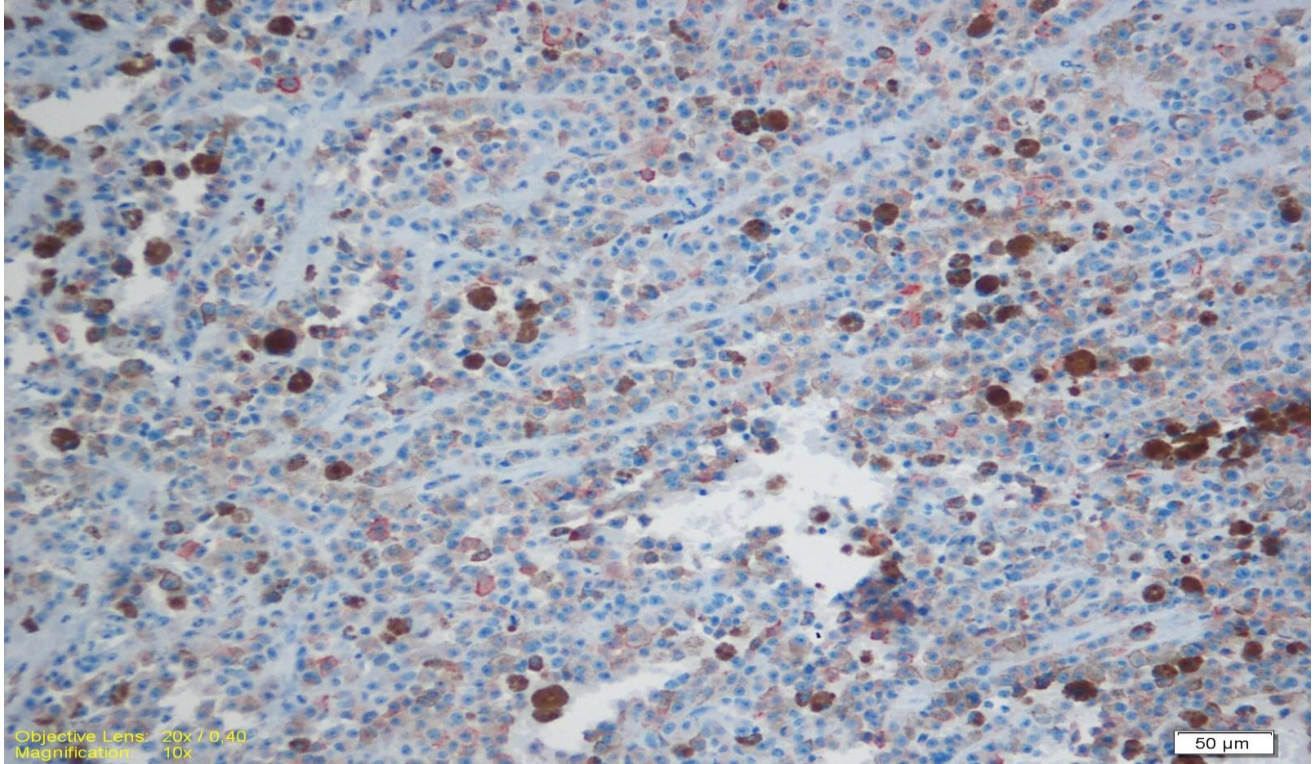
Şekil 4.3.1-21 Gözden alınan kitle. Malign Melanoma, Tablo- 4.3-2/13, PNL2 (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.



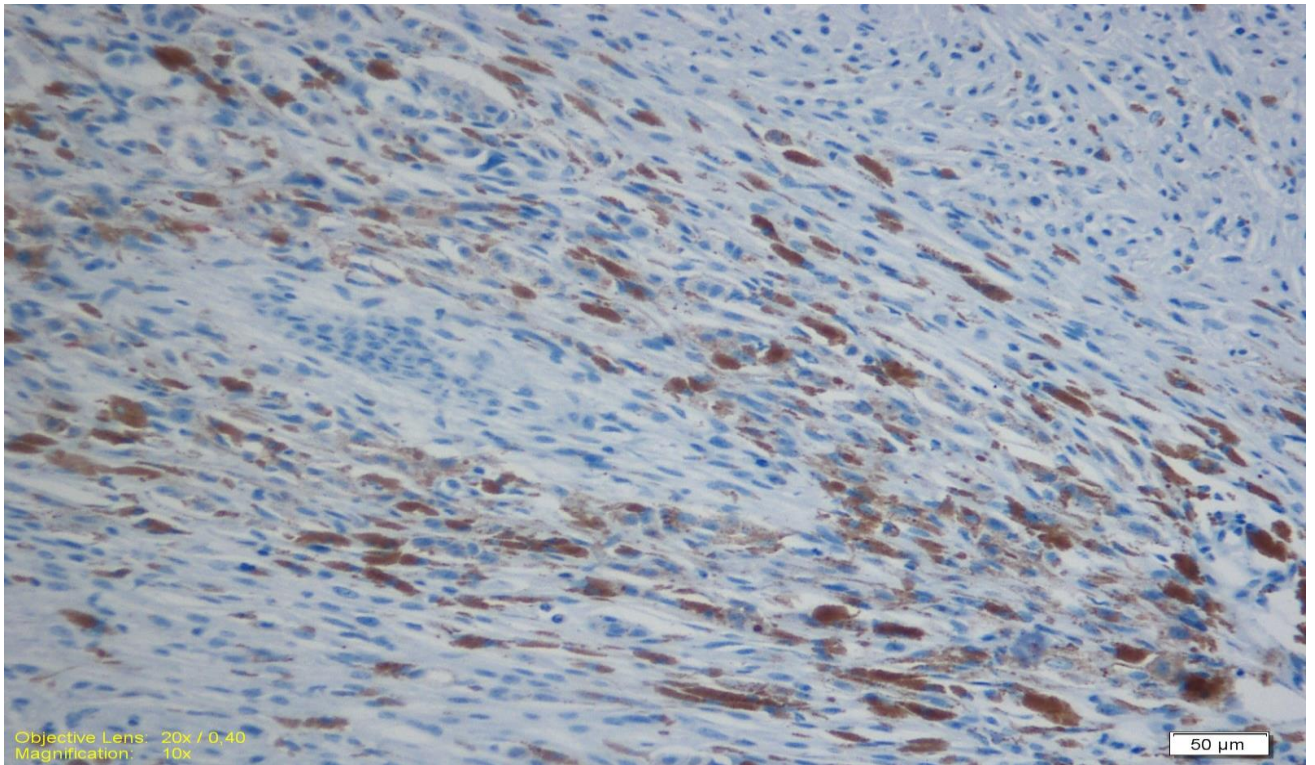
Şekil 4.3.1-22 Ağz içi kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-1/6, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



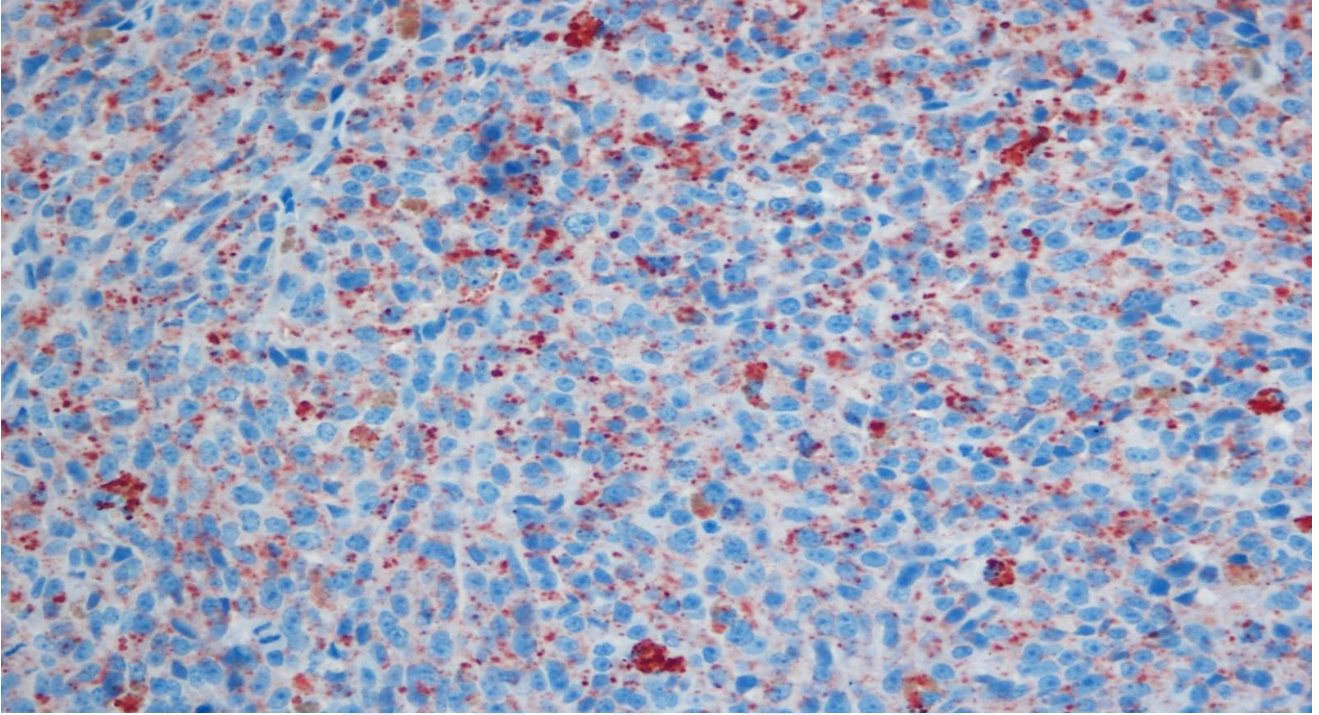
Şekil 4.3.1-23 Göz kapağı kitle. Malign Melanom, Tablo 4.3-4/37, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 20x, Bar: 50µm.



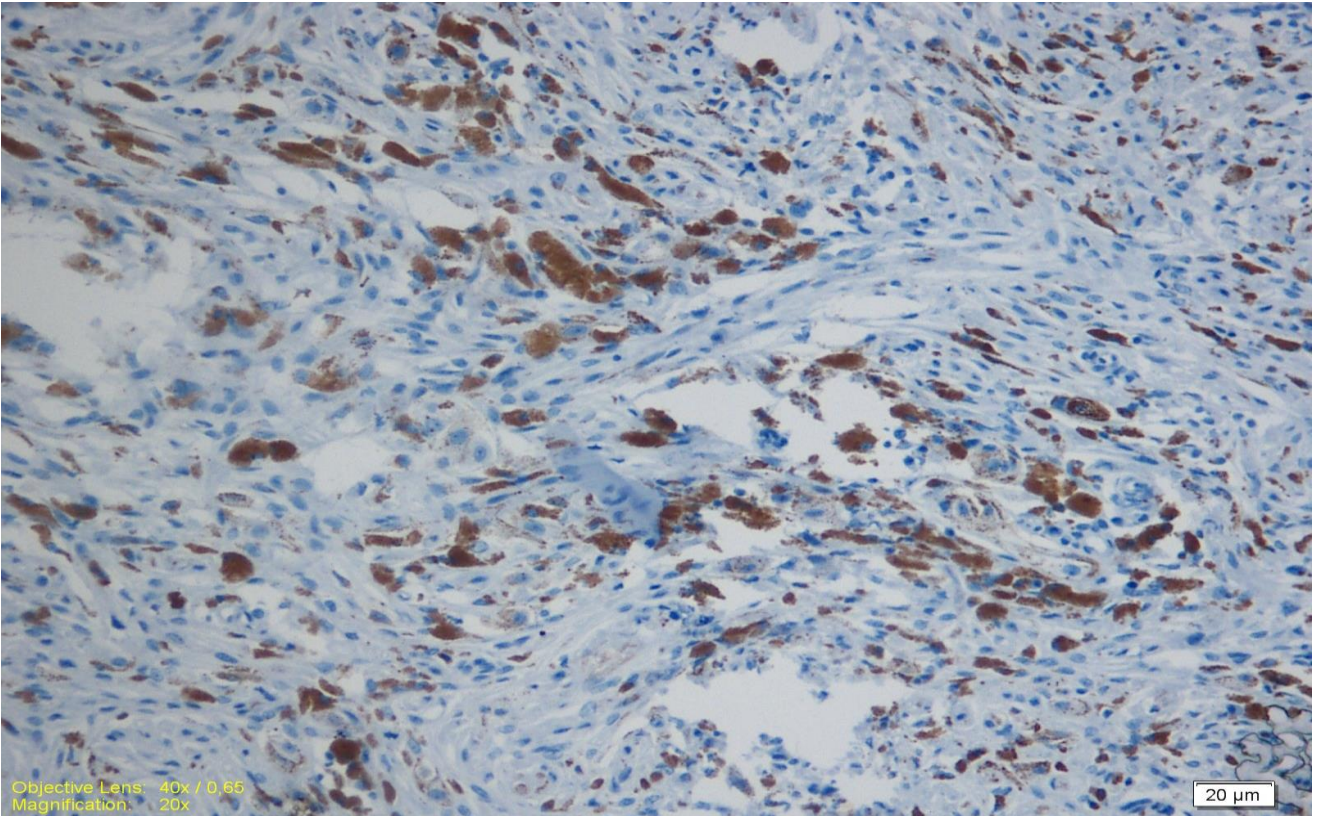
Şekil 4.3.1-24 Deriden kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-3/26, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.



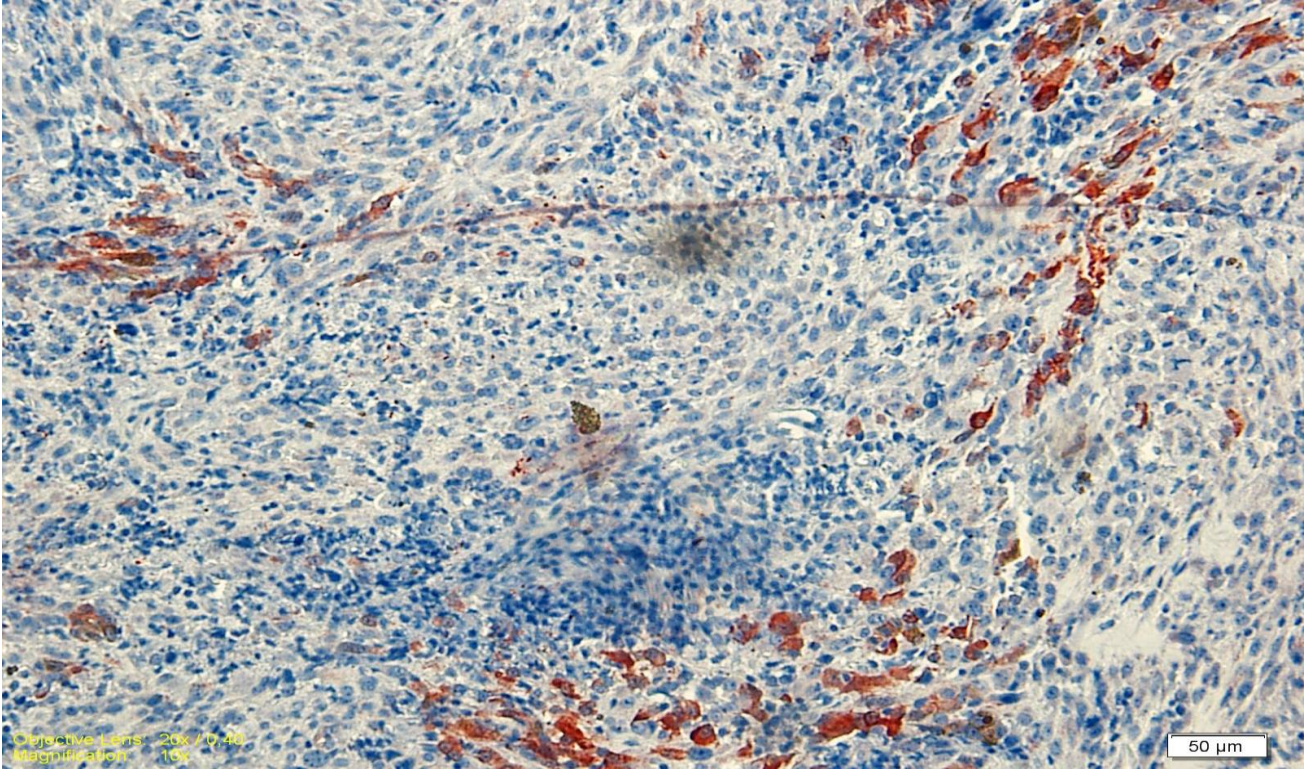
Şekil 4.3.1-25 Diş etinden alınan kitle. Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/18, PNL2 (+3), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.



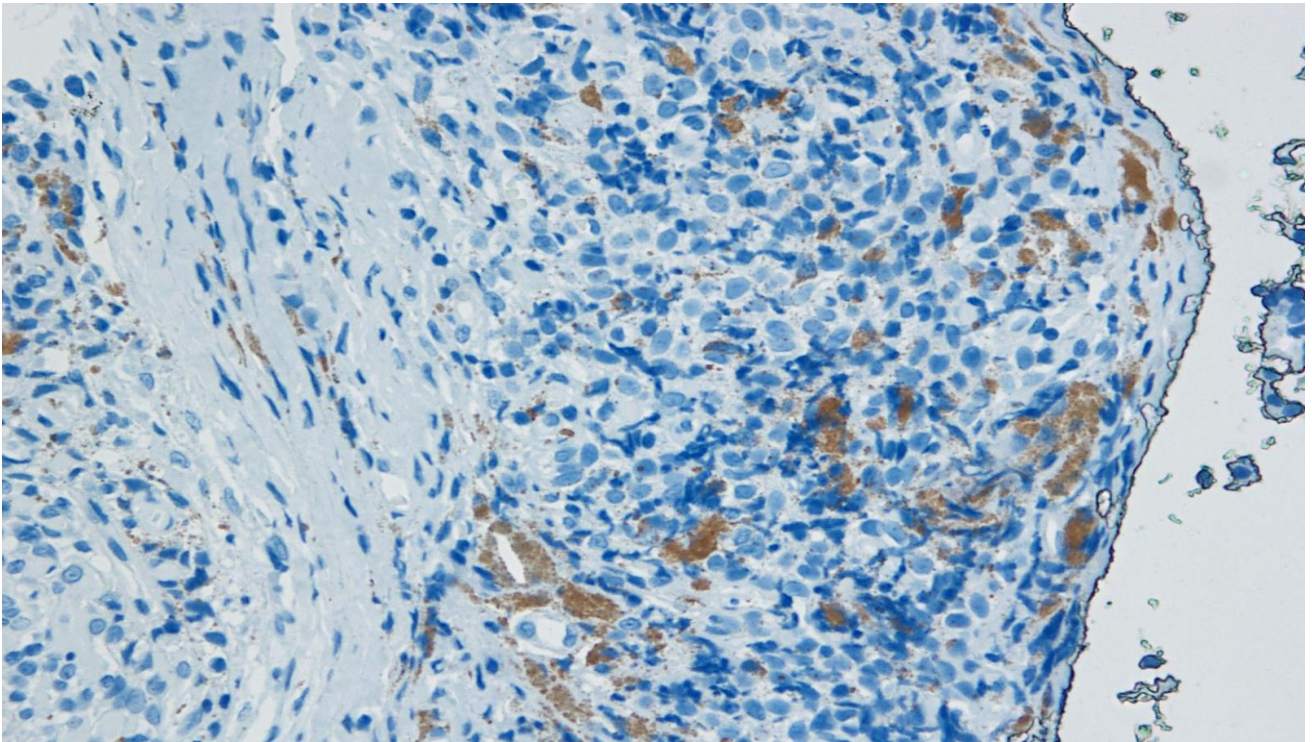
Şekil 4.3.1-26 Ağz içi Kitle, Malign Melanoma, Tablo 4.3-2/16, PNL2, (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 20x, Bar: 50µm.



Şekil 4.3.1-27 Alt dudak kenarı kitle, Malign Melanoma, Tablo-4.3-3/24, PNL2 (+2), Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, AEC, 40x, Bar: 20µm.



Şekil 4.3.1-28 Deriden kitle, Melanositoma, Tablo 4.3-2/20, PNL2, (+1), labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz, DAP, 40x, Bar: 20µm.



Tablo 4.3-1 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Histopatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri

Vaka No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tümörün Lokalizasyonu	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	Melan A	PNL2	İmmun Teşhis
1	Doberman	4	Dişi	Anal Kese Üzerinden Alınan kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	-	-	-	Undiferansiye Sarkoma
2	Setter	10	Dişi	Sağ olecranon üzerinde Deriden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+++	+++	+++	Malign Melanoma
3	Fransız Bulldog	15	Dişi	Burun Üzerinden Deriden Alınan Kitle	Malign Melanoma	-	++	+++	+++	Malign Melanoma
4	Terrier	14	Dişi	Diş Etinden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+++	+	++	Malign Melanoma
5	Melez	9	Erkek	Sağ Diz Lateralinden Deriden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	++	-	-	-	Undiferansiye Sarkom
6	Terrier	14	Dişi	Ağız İçinden Alınan Kitle	Malign Melanoma	-	+++	+++	+++	Malign Melanoma
7	Terrier	9	Erkek	Gözde Oluşan Şişlikten Alınan Kitle	Malign Melanoma	+	++	+++	++	Malign Melanoma
8	Kanada Kurdu	9	Erkek	Dudaktan Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	+++	++	+++	Amelanotik Melanoma
9	Pincher	12	Dişi	Sağ Kulak Altı Deriden Alınan kitle	Malign Melanoma	+++	-	++	++	Malign Melanoma
10	Kanada Kurdu	9	Erkek	Çene Altından Alınan kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	+	+	+++	Amelanotik Melanoma

Tablo 4.3-2 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Histopatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri

Vaka No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tümörün Lokalizasyonu	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	Melan A	PNL2	İmmun Teşhis
11	Golden Retriever	9	Dişi	Sol Göz Sclerada Kitle	Melanositoma	+	+++	+++	-	Melanositoma
12	Pekinese	17	Erkek	Arka Sol Phalanks Üzerinden Alınan Kitle	Nörofibrosarkom - Amelanotik Melanoma	-	+++	-	-	Nörofibrosarkom
13	Pekinese	17	Erkek	P Tersia Gözün Pinnasından Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+++	+	++	Malign Melanoma
14	Rotweiller	5	Erkek	Radiusun Proximal Medial Yüzeyinden Alınan Kitle	Undiferansiye Karsinom - Amelanotik Melanoma	+++	++	-	++	Amelanotik Melanoma
15	Cocker	4	Dişi	Meme Bölgesinden Deriden Alınan Kitle	Bazal Hücreli Karsinoma- Melanositoma	-	+	-	-	Basal Hücreli Karsinoma
16	Cocker	16	Erkek	Ağız İçinden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	++	+++	++	Malign Melanoma
17	Kangal	2 aylık	Erkek	Alt Göz Kapağından Alınan Kitle	Melanositoma	++	+	++	++	Melanositoma
18	Terrier	15	Erkek	Diş Etinden Alınan Kitle	Amelanotik Melanoma	+++	+	+++	+++	Amelanotik Melanoma
19	Pincher	14	Dişi	Arka Bacaktan Tarsal Eklem Üzerinden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+++	+++	+++	Malign Melanoma
20	Cocker	15	Dişi	Kafa ve Alt Göz Kapağından Alınan Kitle	Melanositoma	+++	+	+	+	Melanositoma

Tablo 4.3-3 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Histopatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri

Vaka No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tümörün Lokalizasyonu	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	Melan A	PNL2	İmmun Teşhis
21	Dachaund	11	Dişi	Arka Bacaktan Alınan Derialtı Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	-	+	-	Undiferansiye Sarkom
22	Boxer	10	Erkek	Meme Bölgesinden Deriden Alınan Kitle	Adenokarsinoma Melanositoma	+++	++	++	++	Melanositoma
23	Fransız Buldog	7	Dişi	Sağ tarsal Eklem Hizasından Deriden Alınan Kitle	Melanositoma	++	-	+	++	Melanositoma
24	Husky	11	Erkek	Alt Dudağın Kenarından Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+	++	++	Malign Melanoma
25	Terrier	15	Erkek	Mandibula Üzerinden Deriden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	+++	+	+++	Amelanotik Melanoma
26	Cocker	5	Dişi	L1 Hizasından Deriden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+	-	+++	+++	Malign Melanoma
27	Pekinese	12	Dişi	Meme Derisi Üzerinden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	++	-	-	-	Undiferansiye Sarkom
28	Cocker	13	Dişi	Alt Sol Gözkapağının Altından Deriden Alınan Kitle	Malign Trikoepitelyoma-Amelanotik Melanoma	+++	+	++	++	Amelanotik Melanoma
29	Melez	9	Erkek	Sağ Kostaların Gerisinden alınan kitle	Malign Trikoepitelyoma-Amelanotik Melanoma	++	+	++	++	Amelanotik Melanoma
30	Cocker	12	Erkek	Ağız içi bukkal Bölgeden Alınan Kitle	Malign Melanoma	+++	+++	+++	+++	Malign Melanoma

Tablo 4.3-4 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Histopatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri

Vaka No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tümörün Lokalizasyonu	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	Melan A	PNL2	İmmun Teşhis
31	Golden Retriever	4	Dişi	Ağız İçinden Damak Bölgesinden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	+++	+	++	Amelanotik Melanoma
32	Terrier	14	Erkek	Sağ Arka bacak deriden alınan kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+++	-	-	-	Undiferansiye Sarkom
33	Rotweiller	12	Erkek	Sol ön pati tırnak arası kitle	Malign Melanoma	-	+	+++	+++	Malign Melanoma
34	Golden Retriever	10	Erkek	Diş Etinden Alınan Kitle	Fibromatöz Ossifiye Epulis-Amelanotik Melanoma	-	-	-	-	Fibromatöz Ossifiye Epulis
35	Boxer	7	Dişi	Burun Üstünden Deriden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Melanositoma	+++	-	+	++	Melanositoma
36	Golden Retriever	8	Erkek	Molar dişin iç ve dış yüzeyinde diş etinden	Akantamöz Epulis-Amelanotik Melanoma	+++	-	-	-	Akantamatöz Epulis
37	Pekinese	11	Erkek	Göz kapağından alınan kitle	Sebasiyöz Epitelyoma- Malign Melanoma	+++	++	+++	+++	Malign Melanoma
38	Melez	3	Dişi	Dil üstünden alınan kitle	Malign melanoma	+++	+	+++	+++	Malign Melanoma
39	Cocker	3	Erkek	Kosta Üzerinde Deriden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+	-	-	-	Undiferansiye Sarkom
40	Kangal	13	Erkek	Ağız içi sol molar diş eti üzerinden alınan kitle	Malign Melanoma	+++	-	+++	+++	Malign Melanoma

Tablo 4.3-5 Melanositik ve Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların Histopatolojik ve İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Teşhisleri

Vaka No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tümörün Lokalizasyonu	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	Melan A	PNL2	İmmun Teşhis
41	Melez	8	Dişi	Uterus Kornu Uteride Sert Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+	-	-	-	Undiferansiye Sarkoma
42	Terrier	14	Erkek	Sağ Arka Patiden Alınan Noduler Sert Kitle	Malign Melanoma	+	+	++	+++	Malign Melanoma
43	Golden Retriever	12	Erkek	Sağ Ön Patiden 4-5 Phalanks Arası Sert Siyah Renkli Kitle	Malign Melanoma	+++	-	+++	+++	Malign Melanoma
44	Golden Retriever	6	Erkek	Dudak Üst Kısmında Maksillaya Yakın Sert Kitle	Fibrosarkom Amelanotik Melanoma	+	-	-	-	Fibrosarkom
45	Terrier	16	Erkek	Ağız İçi Gingivadan Alınan Sert Kitle	Amelanotik Melanoma	+++	+++	+	++	Amelanotik Melanoma
46	Setter	12	Dişi	Karın İçinden Alınan Kitle	Undiferansiye Sarkom-Amelanotik Melanoma	+	+	-	-	Undiferansiye Sarkom
47	Melez	8	Dişi	Yanaktan Göz Altına Kadar Olan Kitleden Biyopsi	Kötü diferansiye Eitelial Tümör-Amelanotik Melanoma	+	-	-	-	Kötü Diferansiye Eitelial Tümör
48	Setter	13	Erkek	Göz Kapağı Üst Kısmından Deriden Alınan kitle	Ülseratif Dermatit-Melanositoma	+	++	++	+	Melanositoma
49	Melez	12	Erkek	Ağız İçi Kitle	Amelanotik Melanoma	+	++	+	+++	Amelanotik Melanoma
50	Alman Çoban Köpeği	14	Dişi	Ağız İçi Damaktan Alınan Kitle	Amelanotik Melanoam	+	+++	-	++	Amelanotik Melanoma

Tablo 4.3-6 Nonmelanositik Tümör ve Lezyonların İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonuçları

	US								BCK	KDET	FOE	FS	NFS	AE
	+++	++	+++	++	+++	+	+	+						
Vimentin	+++	++	+++	++	+++	+	+	+	-	+	-	+	-	+++
S-100	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+++	-
Melan A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNL 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

US: Undiferansiye Sarkom

BHK: Bazal Hücreli Karsinoma

KDET: Kötü Diferansiye Epitelyal Tümör

FOE: Fibromatöz Ossifiye Epulis

FS: Fibro Sarkoma

NFS: Nörofibrosarkom

AE: Akantamöz Epulis

Tablo 4.3-7 Melanositik Tümörlerin İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Boyanması Sonuçları

	Vimentin	S-100	MelanA	PNL2	Melanoma	Köken
Olgu						
2	+++	+++	+++	+++	MM	Kutanöz
3	-	++	+++	+++	MM	Kutanöz
4	+++	+++	+	++	MM	Oral
6	-	+++	+++	+++	MM	Oral
7	+	++	+++	++	MM	Göz
8	+++	+++	++	+++	AMM	Oral
9	+++	-	++	++	MM	Kutanöz
10	+++	+	+	+++	AMM	Kutanöz
11	+	+++	+++	-	M	Göz
13	+++	+++	+	++	MM	Göz
14	+++	++	-	++	AMM	Kutanöz
16	+++	++	+++	++	MM	Oral
17	++	+	++	++	M	Göz
18	+++	+	+++	+++	AMM	Oral
19	+++	+++	+++	+++	MM	Kutanöz
20	+++	+	+	+	M	Göz
22	+++	++	++	++	M	Kutanöz
23	++	-	+	++	M	Kutanöz
24	+++	+	++	++	MM	Oral
25	+++	+++	+	+++	AMM	Kutanöz
26	+	-	+++	+++	MM	Kutanöz
28	+++	+	++	++	AMM	Kutanöz
29	++	+	++	++	AMM	Kutanöz
30	+++	+++	+++	+++	MM	Oral
31	+++	+++	+	++	AMM	Oral
33	-	+	+++	+++	MM	Subungual
35	+++	-	+	++	M	Kutanöz
37	+++	++	+++	+++	MM	Göz
38	+++	+	+++	+++	MM	Oral
40	+++	-	+++	+++	MM	Oral
42	+	+	++	+++	MM	Subungual
43	+++	-	+++	+++	MM	Subungual
45	+++	+++	+	++	AMM	Oral
48	+	++	++	+	M	Kutanöz
49	+	++	+	+++	AMM	Oral
50	+	+++	-	++	AMM	Oral

Tablo 4.3-8 İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonucu Nonmelanositik Tümör Olarak Teşhis Edilen Olgular

Vaka No	Lokalizasyon	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	MelanA	PNL2	İHK Teşhis
1	Kutanöz	US-AMM	+++	-	-	-	US
5	Kutanöz	US-AMM	++	-	-	-	US
12	Kutanöz	NFS-AMM	-	+++	-	-	NFS
15	Kutanöz	BHK-M	-	+	-	-	BHK
21	Kutanöz	US-AMM	+++	-	+	-	US
27	Kutanöz	US-AMM	++	-	-	-	US
32	Kutanöz	US-AMM	+++	-	-	-	US
34	Oral	FOE-AMM	-	-	-	-	FOE
36	Oral	AE-AMM	+++	-	-	-	AE
39	Kutanöz	US-AMM	+	-	-	-	US
41	Uterus	US-AMM	+	-	-	-	US
44	Kutanöz	FS-AMM	+	-	-	-	FS
46	Karın İçi	US-AMM	+	+	-	-	US
47	Kutanöz	KDET-AMM	+	-	-	-	KDET

Tablo 4.3-9 İHK (Labeled Streptavidin Biotin Peroksidaz) Sonucu Melanositik Tümör Olarak Teşhis Edilen Olgular

Vaka No	Lokalizasyon	Histopatolojik Teşhis	Vimentin	S-100	MelanA	PNL2	İHK Teşhis
8	Oral	US-AMM	+++	+++	++	+++	AMM
10	Kutanöz	US-AMM	+++	+	+	+++	AMM
14	Kutanöz	US-AMM	+++	++	-	++	AMM
22	Kutanöz	AK-M	+++	++	++	++	M
25	Kutanöz	US-AMM	+++	+++	+	+++	AMM
28	Kutanöz	MTE-AMM	+++	+	++	++	AMM
29	Kutanöz	MTE-AMM	++	+	++	++	AMM
31	Oral	US-AMM	+++	+++	+	++	AMM
35	Kutanöz	US-M	+++	-	+	++	M
37	Göz	SE-MM	+++	++	+++	+++	MM
48	Kutanöz	ÜD-M	+	++	++	+	M

5. TARTIŞMA

Melanositik neoplazmalar, köpeklerde nispeten yaygındır, tüm neoplazmaların % 3'ünü ve tüm malign tümörlerin % 7'sini oluşturur (Bostock 1979 - Smith ve ark. 2002). Melanositik neoplazmalar köpeklerde başta deri olmak üzere ağız boşluğu (cavum oris), dudak, subungual (pati, parmak, tırnak ve tırnak yatağı), göz ve çevresi gibi vücudun değişik bölgelerinde gelişen çoğunlukla malign karakterde olan ve prognozları iyi olmayan kanser türleridir. Bunlar melanin pigmenti yapan ve taşıyan melanositik hücrelerden köken alırlar ve kendi içersinde farklı alt gruplara ayrılırlar (Oyamada ve ark. 2007; Gross ve ark. 2008). Melanin pigmentasyonun yoğun olduğu tiplerde histopatolojik incelemelerle tümörün teşhisi kolaylıkla yapılabilsede, özellikle melanin pigmentasyonun zayıf olduğunda veya pigmentasyon olmadığında, hücresel pleomorfizminin belirgin ve yoğun olması nedeniyle, histopatolojik incelemelerde köpeklerde melanoma tanısı koymak çoğunlukla zordur (Sanchez ve ark. 2007; Smedley ve ark. 2011; Sevastre ve ark. 2012; Campagne ve ark. 2013). Bu tümörler, histolojik görünüm itibari ile, prognoz ve tedavi açısından farklılık gösteren bazı karsinomlara, sarkomlara ve yuvarlak hücreli neoplazmlara, benzeyebilir (Banerjee ve Harris 2000; Ramos-Vara ve Ark. 2000; Smith ve ark. 2002; Tong ve ark. 2009; Smedley ve ark. 2011). Çalışmada kullanılan 50 neoplastik materyalin histopatolojik incelemesi sonucunda bunların 25 tanesinin melanositik tümör olduğu belirlenmiş, fakat geri kalan 25 olguda kesin yorum yapılamamıştır. Bunlara uygulanan İHK boyama (Labeled Streptavidin Biotin Perosidaz Tekniği ile) sonucunda 25 vakadan 11'i melanositik tümör, 14'ünde (Mezenşimal kökenli) sarkom veya (Epitelyal kökenli) karsinom olarak teşhis edilmiştir (Tablo 4.3-8,9). İmmünohistokimya, insan ve veteriner hekimliğinde melanom tanısını doğrulamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Busam ve ark. 2001; Koenig ve ark. 2001; Choi ve ve Kusewitt 2003; Ohsie ve ark. 2008; Giudice ve ark. 2010; Ramos-Vara ve Miller 2011). Değişken duyarlılık ve özgüllüğe sahip çok sayıda melanoma belirteçleri vardır. İnsanlarda yaygın olarak kullanılan melanositik belirteçler arasında MelanA, PNL2, S-100, Vimentin, Tirozinaz, HMB45, TRP-1 ve TRP-2 vs bulunur (Koenig ve ark. 2001; Choi ve Kusewitt 2003; Nonaka ve ark. 2007; Giudice ve ark. 2010; Smedley ve ark. 2011). Bu İHK markırları köpeklerde de çok sık olarak kullanılmaktadır. İmmünohistokimya doku kesitlerinde spesifik antijenlerin saptanması amacıyla monoklonal ve poliklonal antikörlerin kullanımına

dayalı bir yardımcı tanı yöntemidir (Goldblum ve ark. 2001). Neoplastik lezyonlarda immunohistokimyanın çıkış noktası; neoplastik hücrelerin, en azından belli oranlarda taklit ettikleri yeni diferansiye oldukları normal doku komponentine benzer kimyasal özellikler göstermeleridir. Buna bağlı olarak diagnostik İHK boyamanın temel prensibi, şüphe edilen, teşhisi doğrulayacak tek bir antikor (markır) kullanımı yerine, incelenen tümöral dokuda pozitif reaksiyon vermesi beklenen ve negatif reaksiyon verdiği düşünülen bir dizi antikoru birlikte içeren (antikor paneli) uygulamasıdır (Folpe 1999; Türer 2007). Buna bağlı olarak çalışmamızda melanositik tümörlerin immunohistokimyasal kesin teşhisi için, insanlarda melanositik tümörlerin İHK teşhisinde de kullanılan Vimentin, S-100, MelanA, PNL2yi içeren bir antikor paneli kullanılmıştır. Ayrıca bunların köpeklerdeki melanositik tümörlerdeki etkinlik oranı araştırılmıştır.

Melanositik tümörlerin en fazla geliştiği bölgeler ; ağız boşluğu (% 56), dudak (% 23), deri (% 11) ve subungual (% 8), göz dahil diğer bölgeler ise sadece % 2'dir (Goldschmidt ve Shofer 1992). Belirtildiği gibi, melanositik tümörler, köpek ağız boşluğunun en sık rastlanan malign neoplazmlarından biridir (Ramos-Vara ve ark. 2000; Smith ve ark. 2002). Bir çok oral malign melanomada pigmentasyon eksikliği ve belirsiz hücrel morfolojisi, genellikle tek başına mikroskopik incelemeye dayanıldığında, imkansız olmasa da, kesin tanıyı zorlaştırır (Smedley ve ark. 2011). Bununla birlikte, doğru prognoz ve tedavi protokolünün belirlenmesi için, köpek melanositik neoplazmlarını diğer kötü diferansiye neoplazmlardan ayırmak ve doğru bir şekilde teşhis etmek son derece önemlidir (Aleksiç ve ark. 2005; Campagne ve ark. 2013). Bu durumlarda, tanıyı doğrulamak için immünohistokimya (IHK) gibi yardımcı tanı testleri gereklidir (Smith ve ark. 2002; Smedley ve ark. 2011). Çalışmamızdaki tüm melanositik tümörlerin lokalizasyonunda deri birinci sırada (% 38,8), ağız boşluğu ikinci sırada (% 36,1), göz üçüncü sırada (% 16,6) ve subungual (% 8,3) olarak yer aldı (Şekil 4.1-3). Alt gruplar olarak, melanositoma olgularınının 4'ü deri ve 3'üde gözde saptandı. Ayrıca AMM olarak teşhis ettiğimiz tümörlerin 6'sı ağız boşluğunda ve 5'ide deri de saptandı. MM'ların lokalizasyonları en fazla 7 olgu ile ağız boşluğunda 5 olgu ile deri, ve 3'er olgu ile göz ve pati olarak saptandı. Histopatolojik olarak deriden alınan 23 olgunun melanositik tümör olabileceği düşünülmüş ancak yapılan İHK boyama sonucunda bunlardan 14 tümöre melanoma teşhisi konmuştur. Ağız içinden alınan 16 olgu histopatolojik olarak melanositik tümör olarak düşünülmüş İHK boyama

sonucunda 13 olguya melanositik tümör teşhisi konmuştur. Histopatolojik olarak gözde saptanan 6 melanositik tümörün İHK boyaması sonucunda hepsi pozitif teşhis edilmiştir. Aynı şekilde histopatolojik olarak, 3 subungual olgu melanositik tümör olarak saptanmış, İHK boyama sonucunda da olguların subungual MM olduğu belirlenmiştir. Histopatolojik olarak karın içinden alınan iki olgunun US yada melanositik tümör olabileceği düşünülmüş ancak İHK boyama sonucunda bunlara US teşhisi konmuştur (Tablo 4.3-1,2,3,4,5)

Çalışmamızdaki köpeklerdeki melanositik tümörlerin yaş ortalaması 11,02 olarak saptanmıştır (Şekil 4.1-2). Koenig ve arkadaşlarının (2001) yaptıkları araştırmada yaş ortalamasını 11 olarak, Ramos-Vara ve arkadaşlarının (2000) araştırmalarında ise yaş ortalaması 11.4 olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda cinsiyet olarak erkek köpekler ağırlıktadır (Şekil 4.1-1), Dorn ve Priester'in (1976) yaptığı araştırmada erkek köpeklerde melanoma riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Sanchez ve arkadaşlarının (2007) yaptıkları bir çalışmada yaş ortalamasının 11,8 ve cinsiyet olarak erkek ağırlıkta ve *Cocker Spaniel* ırkı köpeklerin çoğunlukta olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda ırk olarak *Terrier* birinci sırada, ikinci sırada ise *Cocker* yer aldı. Diğer ırklarda ve melez köpeklerde de melanoma olgusu gözlemlendi (Şekil 4.1-4). Küçük ırklarda, özellikle *Cocker Spaniel* gibi ağız mukozasının yoğun pigmentli olduğu köpeklerde melanom gelişme riski daha fazladır (Hoyt 1984; Simons 2015). Çalışmamızda da en fazla melanositik tümör gelişen ırk olarak *Cocker* ikinci sırada yer almakta ve konudaki sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Melanomaları malignite açısından değerlendirdiğimizde tümörün çapının genişliği, pleomorfizm, proliferasyon, ülserasyon, pigmentasyon derecesi, nükleer atipi, genişliği, mitotik indeks (MI) ve tümörün metastaz yapması gibi kriterler ön plana çıkmaktadır (Smith ve ark. 2002). Mitotik indeks (MI), köpeklerde melanositik neoplazmalarda prognozu belirlemek için en önemli faktördür (Bostock 1979; Harwey ve ark. 1981; Aronshon ve Carpenter 1990; Hahn ve ark. 1994; Ramos-Vara ve ark. 2000; Laprie ve ark. 2001; Schultheiss 2006; Spangler ve Kass 2006; Sanchez ve ark. 2007; Esplin 2008; Bergin ve ark. 2011) Melanositomalarda 40x 'lik bir büyütmede 10 inceleme alanında saptanan ortalama mitoz sayısı 2'dir, daha fazla mitoz sayıları malignite ve kötü prognozun göstergesidir (Smith ve ark. 2002). Deri ve göz melanositik neoplazmalarında malign benign olarak ayırt edilmesi için en güvenilir

histolojik özellik mitotik indekstir (Bostock 1979; Wilcock ve Peiffer 1986; Bolon ve ark. 1990) Dünya Sağlık Örgütünün Evcil Hayvanların Epitelyal ve Melanositik Deri Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırılmasında, 40x'lik büyütmede ortalama 10 alan başına üç veya daha fazla mitotik rakam maligniteyi göstermektedir (Goldschmidt, Dunstan, Stannard ve ark. 1998). Alan başına iki mitotik rakamdan daha az bir sayı melanositoma ile tutarlıdır (Simith ve ark. 2002-Cotchin 1972). Çalışmamızda histopatolojik olarak, melanomaların malign olup olmadığına karar verirken mitotik indeks önemli bir kriter olmuştur. Buna göre malignlerde indeks 3 melanositomalarda 1-2 olarak saptanmıştır.

Melanositik neoplazmaların genel olarak epiteloïd/poligonal, spindle (iğsi) hücre ve karışık (epiteloïd+spindle) tipte hücrelerden oluştuğu bildirilmektedir. Ayrıca daha seyrek olarak dentrik, balon hücre tipi ve adenoid-papiller tipte melanositik hücrelere de rastlanmaktadır (Ramos-Vara ve ark. 2000; Spangler ve Kass, 2006; Sanchez ve ark. 2007; Smedley ve ark. 2011). Melanositik neoplazmaların hücre tiplerinin ve yapılarının da tümörün benign yada malign olmasında etkili olduğu ve melanositoma gibi benign tümörlerde spindle hücrelerin genelde daha baskın olduğu, epiteloïd tipteki hücrelerin ise malign karekterde melanomalarda daha baskın olduğu bildirilmiştir (Goldschmidt ve ark. 1998). Çalışmamızda da histopatolojik bulgular da detaylı olarak belirtildiği gibi malign karekterde olan melanositik tümörlerin çoğunlukla epiteloïd veya spindle hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Bu tümörlerden MM geniş sitoplazmalı büyük çekirdek ve belirgin çekirdeksiğe sahip yuvarlak-oval şekilli genellikle epiteloïd/poligonal hücre tipinde hücrelerden oluşmaktaydı. Olgularımızdaki MM'larda, genellikle tümöral dokuda epiteloïd hücreler hakimdi ve bu hücreler tek veya birkaç hücre yanyana ve ağırlıklı olarak geniş sitoplazmalı, belirgin çekirdeklerin ortasında veya kenarlarında birkaç tane çekirdekçikler içermekteydi. Spindle hücrelerin çoğunlukta olduğu tümörlerde, bu hücrelerin akarsu gibi ve birbirinin içine geçen demetler yada paketler halinde dizilimler oluşturduğu görüldü. Bu hücrelerin Sitoplazmaları solgun ancak çekirdekleri daha büyük ve daha belirgindi ve bu hücreler melanositomalarda daha yoğun gözlemlendi. Spindle (İğsi) hücreler fibroblastlara benzer şekilde, anizokaryozis, belirgin çekirdekçik ve ince kromatin ile karakterize görüldü. Karışık tip hücreler yine MM olgularında rastlandı. Özellikle ağız içinde ve gingivada görülen bazı MM'lar yoğun pigmentasyon içermekteydi. Bu yoğun pigmentli MM'lar malignite açısından incelendiğinde, bunlarda atipik hücrelerin yoğun ve mitotik

indeksin yüksek olması, ağız boşluğundaki MM'lar malignitesi yüksek melanositik tümörler olduğunu göstermektedir.

Literatürde (Oyamada ve ark. 2007; Sevastre ve ark. 2012) histopatolojik incelemelerde melanositik tümörlerin melanin pigmentasyonunun yaygınlığının ve yoğunluğunun, neoplazinin malignitesini gösteren bir kriter olduğu belirtilirken, yine bazı literatürlerde (Smith ve ark. 2002; Baba ve Catoi 2007) melanin pigmentasyonunun malignite açısından bir gösterge olmadığı belirtilmektedir. Yoğun melanin pigmentide birçok hücrenin sitolojik yapısını maskeleyiği için (örneğin: çekirdeği örterek gizler) teşhisde zorluklara neden olur (Esplin 2008). Bazı çalışmalarda MelanA'nın melanin pigmentasyonunun olduğu alanlarda kuvvetli pozitif ekspresyon olduğu gözlenmiştir (Koenig ve ark. 2001). Köpeklerde yapmış olduğumuz bu çalışmada deri, ağız, göz ve patideki (subungual) melanositik tümörler histolojik olarak incelendiğinde sitoplazmasında melanin miktarı farklılıklar göstermekteydi. Derideki bazı tümörlerde melanin yoğunluğu fazla iken bunlar melanositoma olarak teşhis edilirken, ağız içi ve subungual bölgede saptanan bazı tümörlerde de melanin miktarı az iken bunlar MM olarak teşhis edilmiştir. Yaptığımız bu çalışma sonucunda tümöral kitle içerisindeki melanin pigment yoğunluğunun her tümör vakasında, direkt olarak tümörün malignitesini gösteren bir kriter olmadığını düşünüyoruz. Özellikle MelanA ve PNL2 antikorlarıyla boyama yapılmadan önce, melanin pigmentasyonunun yoğun olduğu bölgelerde tümör hücrelerinin maskelenmesi nedeniyle melanin soldurma işlemi yapılmış, bazı preparatlarda soldurma işlemi amacına ulaşmış bazı preparatlar ise aşırı soldurma olduğu için hücreler dökülmüştür.

Çalışmamızda histopatolojik inceleme ile teşhis edilmiş köpek melanositik tümörleri, insanlarda melanositik tümörlerin kesin ve ayırıcı teşhisinde kullanılmış tümör markırların (belirteçleri) olan antikorlar MelanA, S-100, Vimentin ve PNL2 kullanılarak, bunların ekspresyon yoğunluğunu belirleyerek tümörün histopatolojik teşhisini doğruladık, hemde bu antikorların rutin çalışmalarda kullanılabilirliklerini, önemini ve teşhisdeki değerini araştırdık. Farklı olarak bu çalışmada kullandığımız, bu antikorların nonmelanositik tümörler ve lezyonlarda nasıl bir reaksiyon verdiğini inceleyerek antikorları karşılaştırma olanağını bulduk. Özellikle patoloji laboratuvarlarında melanoma gibi, epitelyal, hematolojik, mezenşimal ve nöral tümörleri taklit eden (Banerjee ve Harris 2000; Ohsie ve ark. 2008) geniş bir histolojik

özellik gösteren neoplazilerin tanısında zorluk çekilmektedir. Bu çalışmada da histopatolojik incelemede, incelenen ve direkt melanositik tümör teşhisi konulamamış tümörlerin, mezenşimal veya epitelyal tümör olabileceği düşünülmüş ve bunların belirtilen tümör belirteçleri ile İHK antikoru kullanılarak yapılan boyama sonucunda, bunların 11'inin melanositik tümör, 14'ünün ise melanositik olmadığı (Tablo 4.3-8,9 görüldüğü gibi) histopatolojik teşhisdeki gibi mezenşimal veya epitelyal kökenli tümörler olduğu sonucuna varılmıştır.

Ramos-Vara ve arkadaşları (2000) tarafından yapılan geniş çaplı bir çalışmada MelanA antikorunun melanositik tümörlerde kullanılan en etkili belirteçlerden biri olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, 113 oral ve 5 metastatik melanom dahil olmak üzere incelenen 129 melanomun 118'inde (% 91.5) MelanA ekspresyonunun pozitif olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada; ayrıca ırk olarak, *Cocker Spaniels*, *Minyatür Poodles*, *Pekingese / Poodles* ve *Chow Chows'un* oral melanomalara yatkın olduğunu ve *Boxer'lerin* ve *German Shepders'in* yatkın olmadığını belirlemiştir. Çalışmamızda oral melanomalar 4 *Terrier*, 2 *Cocker*, 2 melez ve birer adette Kanada Kurdu, *Golden Retriever*, *Husky*, *Kangal* ve *German Shepders* ırklarında saptanmıştır. Literatürde de belirtildiği gibi en fazla yerleşim yeri diş etidir. MelanA, otolog sitotoksik T lenfositler tarafından neoplastik melanositler üzerinde etkili bir antijen olarak tanınan MART-1 geninin bir ürünüdür, sitoplazmik bir proteindir. (Ramos-Vara ve ark. 2000; Koenig ve ark. 2001; Smith ve ark. 2002; Ohsie ve ark 2008) Spesifik bir melanositik farklılaşma antijeni olup oldukça hassastır (% 75 ila 92) (Cangül ve ark. 2001; Giudice ve ark. 2010). MelanA hayvanlarda özellikle, köpeklerde, aynı zamanda, diğer türlerde de melanomalar tanısında kullanılmaktadır (Ramos-Vara ve ark 2000; Cangül ve ark. 2001; Koenig ve ark. 2001; Smith ve ark. 2002; Choi ve Kusewitt 2003). Köpeklerdeki duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir ve melanomaların % 92'sinden fazlasında ekspresyon pozitifdir, (Ramos-Vara ve ark. 2000, Smith ve ark. 2002) fakat bu konuda dikkat edilmesi gereken bir nokta MelanA aynı zamanda adrenal bez ve gonadların nonmelanositik steroid üreten tümörlerinde de eksprese edilir (Ramos-Vara ve Miller 2011). Sevastre ve arkadaşlarının (2012) yaptığı ve 22 melanositik ve 10 melanositik olmayan tümör (negatif kontrol numunesi) olarak yaptıkları araştırmalarında, Vimentin 20 melanositik ve 7 melanositik olmayan kutanöz tümörde eksprese olmuştur ve bu spesiflik (özgüllük) açısından zayıf bulunmuştur. S-100 hem melanositik tümörlerde hemde bütün melanositik olmayan negatif kontrol numunesi kutanöz tümörlerde

eksprese olup, melanositik tümörler için spesifik olmadığı gösterilmiştir. MelanA ise 16 melanositik neoplazide de eksprese olmuştur. Negatif kontrol numunesi kutanöz tümörlerde ise eksprese olmamıştır. Bu bulgulara bağlı olarak MelanA ekspresyonu melanositik tümörlerin ayırımında ve teşhisinde kuvvetli spesifik bulunmuştur. Çalışmamızda en fazla karışık hücre tipindeki melanositik tümörlerde MelanA'nın kuvvetli ekspresyonu saptandı. MelanA'nın epiteloid hücrelerin sitoplazmasında yoğun şekilde açık-koyu kahverenkte eksprese olduğu, sonra sırasıyla karışık epiteloid ve spindle tipi hücre lerde de ekspresyon varlığı saptanmıştır. MelanA antikoru çalışmamızda saptanan 36 melanositik tümörün 34'ünde pozitif olarak eksprese oldu (%94,4). Bunlardan 15 olguda kuvvetli pozitif (6 olgu ağız boşluğu, 4 olgu deri, 3 olgu göz ve 2 olgu subungual kuvvetli pozitif) 9 olguda orta kuvvette (2 olgu ağız boşluğu, 5 olgu deri 1 olgu göz ve bir olgu subungual), 10 olguda ise zayıf pozitif ekspresyon (4 olgu ağız boşluğu, 4 olgu deri ve 2 olgu göz) saptandı. Deri ve ağız boşluğundan saptanan iki AMM olgusunda ise MelanA ekspresyonu negatifti. Sevastre ve arkadaşları da yaptıkları araştırmada MelanA'nın AMM'da sorun olmaya devam ettiğini negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda özellikle dişetinden gelişen oral melanomalarda ekspresyon kuvvetli pozitif. Çalışmada melanositik olmayan tümörlerde ise MelanA, sadece 1 US'da zayıf kuvvette eksprese olduğu görüldü (Tablo 4.3-6) Ayrıca MelanA'nın İHK boyama ile teşhis edilen 4 AMM olgusunda pozitif olarak eksprese olduğu saptandı. Bu olgularda MelanA'nın hücre tiplerini hemen hemen eşit miktarlarda boyamış olduğu gözlemlendi. Pigmentasyonun yoğun olan bölgelerde MelanA koyu kahve renkte boyama özelliği verdiği görüldü.

Melanogeneze bilinmeyen bir işleve sahip olan kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S-100 proteini, insan melanomalari için yüksek duyarlılığa (% 97 ila 100) gibi sahip olmasına rağmen, köpek melanomalari için daha düşük duyarlılığa sahip (% 76) olan ve yaygın olarak kullanılan bir melanositik belirteçtir (Ramos-Vara ve ark. 2000; Ohsie ve ark. 2008). Bazı araştırmalarda AMM vakalarında, S-100 antikor uygulamalarının teşhisi kolaylaştırdığı belirtilmiştir (Nakajima ve ark. 1982; Koenig ve ark. 2001; Ramos-Vara ve ark. 2002; Choi ve Kusewitt 2003). S-100, omurgalı hayvanların merkezi ve periferik sinir sistemlerinde yaygın olarak bulunur ve melanositler, deri ter bezleri, miyoepitel hücreleri, kondrositler, glial hücreler dahil olmak üzere çeşitli normal dokularda ve hücrelerde ayrıca langerhans hücreleri, lenfoid doku ve nöronların yanı sıra schwannomlar ve çeşitli yumuşak doku iğ hücresi

sarkomları dahil birçok neoplazmada eksprese edilirler (Sandusky ve ark. 1985; King ve ark. 1999; Busam ve ark. 2001; Smith ve ark. 2002; Choi ve Kusewitt 2003; Ohsie ve ark. 2008). S-100 yıllardır standart melanoma markırı olarak kullanılmıştır, ancak insan ve hayvan dokularında özgüllüğü zayıftır; S-100 pratik olarak tüm insan melanositik lezyonlarında saptanabilir. Sayısız melanositik tümörde değişik normal dokularda, lökositler dahil yangısal hücrelerde bu markır eksprese edilir, bunlardan dolayı S-100 melanom tanısı için tek bir test olarak uygun değildir (Ramos-Vara ve ark. 2000; Ohsie ve ark 2008).

Çalışmamızda S-100, 36 melanositik tümörün 30'unda eksprese olmuştur (% 83,3). Sadece 6 olguda ise negatif ekspresyon saptanmıştır. S-100 etiketlendiği 30 melanositik neoplazma vakasının 12'sinde kuvvetli pozitif reaksiyon, 8 vakada orta kuvvette pozitif, 10 vakada ise zayıf pozitif ekspresyon vermiştir. S-100, 14 MM, 5 melanositoma ve 11 AMM olgusunda pozitif immunreaktivite göstermiştir. Çalışmamızdaki AMM olguların tümünde S-100 için pozitif ekspresyonu saptanmış, bunlardan 6 AMM vakasının 5'inde kuvvetli pozitif, 2'sinde orta kuvvetli pozitif, 4 olguda da zayıf pozitif ekspresyon saptanmıştır. Melanositik tümörlerle ilgili bir çalışmada; S-100 4 AMM olgusunda zayıf ekspresyon, 2 AMM olgusunda ise ekspresyon saptanmamıştır. S-100 ün negatif olmasının, olgunun melanoma olmadığını akla getirdiği belirtilmiştir (Choi ve Kusewitt 2003). Çalışmamızda melanoma olmayan tümörlerde S-100 yapılan boyamalarda 1 NFS'da kuvvetli pozitif, 1 BHK'da ve 1 US'da zayıf pozitif, ekspresyon saptanmıştır. Bunlar dışında diğer 11 nonmelanositik neoplazide de negatif ekspresyon görülmüştür (Tablo 4.3-6).

PNL2, orijinal olarak insan somastotatin reseptörünün bir alt tipine karşı üretilen bir monoklonal antikordur; melanogenezdeki işlevi bilinmemektedir (Rochaix ve ark. 2003) İnsanlarda, PNL2 ayrıca, nötrofiller dahil olmak üzere ve olgun miyeloid hücrelerde ve anjiyomiyolipomlarda eksprese edilir, fakat çeşitli karsinomlar ve sarkomlar dahil olmak üzere diğer çok sayıda melanositik olmayan tümörlerde ekspresyon olmaz (Busam ve ark. 2005). Çalışmamızda PNL2'nin 36 melanoma olgusunun 35'inde pozitif olarak eksprese olduğu saptandı (% 97,2). Bunlarda 17 olguda kuvvetli pozitif, 16 olguda orta kuvvette, 2 olguda zayıf pozitif ekspresyon saptanmıştır. Gözdeki bir melanositoma olgusunda ise negatif ekspresyon saptandı.

PNL2, çalışmamızda tüm AMM'larda eksprese olmuştur. Bunlardan 5 AMM olgusunda kuvvetli, 6 AMM olgusunda da orta kuvvette pozitif ekspresyon saptandı. PNL2'nin nonmelanositik tümörlerin hiçbirisinde eksprese olmaması bu antikorun melanomalar için ne kadar önemli ve spesifik olduğunu ortaya koymuştur.

Vimentin, normal dokularda mezenkimal ve nöroektodermal hücreler tarafından eksprese edilen bir ara filamenttir. Çalışmamızda Vimentinin 36 melanositik tümörden 33'ünde pozitif olarak eksprese olduğu saptandı (% 91,6). Bunlardan 23 olguda kuvvetli pozitif, 3 olguda orta kuvvette, 7 olguda ise zayıf pozitif eksprese olduğu ve 3 olguda ise ekspresyonun gelişmediği saptandı. Vimentin ekspresyonu, 24 olguda kuvvetli pozitif, 3 olguda orta kuvvette pozitif ve 7 olguda zayıf kuvvette pozitif. Nonmelanositik tümör ve lezyonların 11'inde Vimentin ekspresyonu pozitif bulunmuştur (Tablo 4.3-6). Vimentin hem melanositik tümörleri hemde nonmelanositik tümörleri etiketlediğinden yüksek duyarlılıkta olmasına rağmen düşük özgüllükte olduğu için melanomaların teşhisinde tek başına etkili olmadığı kanaatine varılmıştır.

Ramos-Vara ve Miller (2011) yaptıkları çalışmada, PNL2'nin melanositik olmayan tümörlerle çapraz reaksiyona girmeyeceğini belirtilmiştir. Bu sonucu destekleyerek PNL2'nin çalışmamızda kullanılan melanositik olmayan tümörlerin hiçbirinde ekspresyon oluşmamıştır. Sonuç olarak PNL2 veteriner patolojide İHK ile boyama ile yapılan teşhisde, yeni yeni melanositik tümör ayırımında antikor olarak kullanılmaya başlanmıştır. PNL2 çalışmamızda hem yüksek duyarlılıkta hemde yüksek özgüllükte olduğu için melanositik tümörlerin teşhisinde tek başına kullanılabileceği, S-100'ün ise melanositik tümör hücrelerini boyama paterni PNL2 ve MelanA kadar kuvvetli değildi. Choi ve Kusewitt 2003' te yaptıkları araştırmalarında S-100'ün, 21 amelanotik melanomun 19'unda (% 90,5) ekspresyon saptandığında Koenig ve ark. ise araştırmalarında S-100 antikorunun (% 89) AMM tanısında çok etkili olduğunu saptamışlardır. İçinden çıkılamayan AMM vakalarında, diğer antikorlarla birlikte S-100 de kullanıldığında başarılı sonuç alınabileceği kabul edilmektedir. Çalışmamızda da elde ettiğimiz sonuçlar bunu desteklemektedir (% 100).

Sonuç olarak çalışmamızda PNL2 ve MelanA hem yüksek duyarlılıkta hemde yüksek özgüllükte olduğu için melanositik tümörlerin teşhisinde tek başına rahatlıkla kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca Vimentin, PNL2, MelanA ve S-100 kombine olarak kullanıldığında melanositik tümörlerin tanısında % 100 sonuç alınacağı görüşündeyiz. Vimentin ise çalışmamızda birçok nonmelanositik tümörleri ve lezyonu etiketlediği için tek başına melanomaların teşhisinde güvenli olmadığı düşünüyoruz. Çalışmamız sonuçlarına göre histopatolojik incelemelerde kolay ve ayrılmayan ve kesin teşhisi yapılamayan, melanositik tümörlerin başta PNL2 ve MelanA olmak üzere S-100'üde içine alan birden fazla antikor içeren antikor paneli kullanılarak İHK boyamalarla hızlı, erken ve kesin teşhisinin yapılabileceği buna bağlı olarak doğru tedavi prosedürünün belirlenebileceğini ve hastanın yaşam süresinin dahada uzatılabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

Aina, O. H., Maeda, Y., Harrison, M., Zwingenberger, A. L., Walker, N. J., Lam, K. S., ve Kent, M. S. (2011). Canine malignant melanoma alpha-3 integrin binding peptides. *Veterinary immunology and immunopathology*, 143(1), 11-19

Aleksić-Kovačević, S., Kukulj, V., Marinković, D., ve Knežević, M. A. (2005). Retrospective study of canine epithelial and melanocytic tumors. *Acta veterinaria*, 55(4), 319-326.

Aronsohn, M. G., ve Carpenter, J. L. (1990). Distal extremity melanocytic nevi and malignant melanomas in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 26(6), 605-612.

Aung, P. P., Maarit-Sarlomo-Rikala, J. L., Lai, J. P., Wang, Z. F., ve Miettinen, M. (2012). Kba62 And PNL2: Two Newer Melanoma Markers–Immunohisto-Chemical Analys Of 1563 Tumors Including Metastatic, Desmoplastic, And Mucosal Melanomas And Their Mimics. *The American Journal of Surgical Pathology*, 36(2), 265

Baba, A. I., ve Cătoi, C. (2007). *Comparative Oncology*. Epithelial and Melanocytic Tumors of The Skin. Bölüm 4: *Publishing House of the Romanian Academy*.

Ballinari, U., Schiller, I., Schroff-Ballinari, A., ve Mazzi, M. (1998). Case report: oral malignant melanoma in an 11-month-old Dobermann. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 140(3), 110-113.

Banerjee, S. S., ve Harris, M. (2000). Morphological and immunophenotypic variations in malignant melanoma. *Histopathology*, 36(5), 387-402.

Bergin, I. L., Smedley, R. C., Esplin, D. G., Spangler, W. L., ve Kiupel, M. (2011). Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. *Veterinary pathology*, 48(1), 41-53

Bergman, P. J. (2007). Canine oral melanoma. *Clinical techniques in small animal practice*, 22(2), 55-60.

Berrington, A. J., Jimbow, K., ve Haines, D. M. (1994). Immunohistochemical detection of melanoma-associated antigens on formalin-fixed, paraffin-embedded canine tumors. *Veterinary pathology*, 31(4), 455-461.

Blanchard, T. W., Bryant, N. J., ve Mense, M. G. (2001). Balloon cell melanoma in three dogs: a histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study. *Journal of comparative pathology*, 125 (4), 254-261.

Blessing, K., Sanders, D. S. A., ve Grant, J. J. H. (1998). Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melanA with S-100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*, 32 (2), 139-146.

Bolon, B., Mays, M. C., ve Hall, B. J. (1990). Characteristics of canine melanomas and comparison of histology and DNA ploidy to their biologic behavior. *Veterinary Pathology*, 27 (2), 96-102.

Bostock, D. E. (1979). Prognosis after surgical excision of canine melanomas. *Veterinary Pathology*, 16 (1), 32-40.

Breslow, A. (1970). Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Annals of Surgery*, 172 (5), 902.

Busam, K. J., Chen, Y. T., Old, L. J., Stockert, E., Iversen, K., Coplan, K. A., ... ve Jungbluth, A. A. (1998). Expression of melanA (MART1) in benign melanocytic nevi and primary cutaneous malignant melanoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 22 (8), 976-982.

Busam, K. J., ve Jungbluth, A. A. (1999). MelanA, a new melanocytic differentiation marker. *Advances in Anatomic Pathology*, 6 (1), 12-18

Busam, K. J., Iversen, K., Coplan, K. C., ve Jungbluth, A. A. (2001). Analysis of microphthalmia transcription factor expression in normal tissues and tumors, and comparison of its expression with S-100 protein, gp100, and tyrosinase in desmoplastic malignant melanoma. *The American Journal of Surgical pathology*, 25 (2), 197-204.

Busam, K. J., Kucukgöl, D., Sato, E., Frosina, D., Teruya-Feldstein, J., ve Jungbluth, A. A. (2005). Immunohistochemical analysis of novel monoclonal antibody PNL2 and comparison with other melanocyte differentiation markers. *The American Journal of Surgical Pathology*, 29 (3), 400-406.

Campagne, C., Jule, S., Alleaume, C., Bernex, F., Ezagal, J., Château-Joubert, S., ve Egidy, G. (2013). Canine melanoma diagnosis: RACK1 as a potential biological marker. *Veterinary Pathology*, 50 (6), 1083-1090.

Campbell, K. L., Sundberg, J. P., Goldschmidt, M. H., Knupp, C., ve Reichmann, M. E. (1988). Cutaneous inverted papillomas in dogs. *Veterinary Pathology*, 25 (1), 67-71.

Cangiarella, J., Symmans, W. F., Cohen, J. M., Goldenberg, A., Shapiro, R. L., ve Waisman, J. (1998). Malignant melanoma metastatic to the breast. *Cancer Cytopathology*, 84 (3), 160-162.

Cangul, I. T., Van Garderen, E., Van Der Linde-Sipman, J. S., van den Ingh, T. S. G. A. M., ve Schalken, J. A. (2001). Canine balloon and signet-ring cell melanomas: a histological and immunohistochemical characterization. *Journal of Comparative Pathology*, 125 (2), 166-173.

Chenier, S., ve Doré, M. (1999). Oral malignant melanoma with osteoid formation in a dog. *Veterinary pathology*, 36 (1), 74-76.

Choi, C., ve Kusewitt, D. F. (2003). Comparison of tyrosinase-related protein-2, S-100, and Melan A immunoreactivity in canine amelanotic melanomas. *Veterinary pathology*, 40 (6), 713-718.

Conroy, J. D. (1983). Canine skin tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 19 (1), 91-114.

Contran, R. S., Kumar, V., ve Robbins, S. L. (1989). Robbins Pathologic basis of disease, 16-38.

Cotchin,, E. (1972). *Comparative Oncology*, Neoplasms of Interest to Medical and Veterinary Pathologists. *Pesquisa Agropecuaria Brasileria Veterinaria Presq. Agropec.Bras. Vet.*, 7, 1-16

Coulsen, W:F (1979). Aspiration biopsy cytology in tumor diagnosis, the pathologistsview. *UCLA Cancer Conference Bullerin.*, P.:3-4.

Cowell., R:L Tyler, R.D. (1989) Cytology of cutaneous lesions. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 19:769.

Cowell., R:L Tyler, R.D., Meinkoth, J.H. (1999). *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*, Ed.: Mosby, 2. Ed., St. Louis.

Cullen, J. M., Page, R., ve Misdorp, W. (2002). An overview of cancer pathogenesis, diagnosis, and management. *Tumors in domestic animals*, Ed.: D.J. Meuten.4. Ed. Iowa Stae Prees, Iowa: 1-44.

Dabbs, D.J. Leona A.D., Jason L.H. (2013) *Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and applications. Immunohistology of Soft Tissue and Bone. Biology of Antigens and Antibodys.*4th Ed. pp:75-85

De Los Monteros, A. E., de las Mulas, J. M., Fernández, A., Orós, J., ve Rodríguez, F. (2000). Immunohistopathologic characterization of a dermal melanocytoma-acanthoma in a German Shepherd dog. *Veterinary Pathology*, 37 (3), 268-271.

De Wit, N. J., Van Muijen, G. N., ve Ruiter, D. J. (2004). Immunohistochemistry in melanocytic proliferative lesions. *Histopathology*, 44 (6), 517-5

Delgado, E., Silva, J. X., Pissarra, H., Peleteiro, M. C., ve Dubielzig, R. R. (2016). Late prostatic metastasis of an uveal melanoma in a miniature Schnauzer dog. *Clinical Case Reports*, 4 (7), 647-652

Diamandopoulos, G.T. (1996). Cancer: An historical perspective. *Anticancer Res.*, search 16,1595-1602.

Diters, R. W., Dubelzig, R. R., Aguirre, G. D., ve Acland, G. M. (1983). Primary ocular melanoma in dogs. *Veterinary Pathology*, 20 (4), 379-395.

Dorn, C. R., ve Priester, W. A. (1976). Epidemiologic analysis of oral and pharyngeal cancer in dogs, cats, horses, and cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 169 (11), 1202-1206.

Dubielzig, R. R., Ketring, K. L., McLellan, G. J., ve Albert, D. M. (2010). *Veterinary Ocular Pathology E-Book: A Comparative Review*. Elsevier Health Sciences. pp:184-187

Elder, D. ve Elenitsas, R. Murpy, G.F. Xu, X.(1997). Benign pigmented lesions and malignant melanoma içinde: Lever's histopathology of the skin.8 th. Eds. pp: 853-969

Ellis, A. E., Harmon, B. G., Miller, D. L., Northrup, N. C., Latimer, K. S., ve Uhl, E. W. (2010). Gingival osteogenic melanoma in two dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22 (1), 147-151.

Erer, H., Kıran, M.M. (2009) *Veteriner Onkoloji*. 4. Basım. Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş., Konya.

Esplin, D. G. (2008). Survival of dogs following surgical excision of histologically well-differentiated melanocytic neoplasms of the mucous membranes of the lips and oral cavity. *Veterinary pathology*, 45 (6), 889-896.

Ferringer, T. (2015). Immunohistochemistry in dermatopathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 139 (1), 83-105.

Folpe, A. L. (1999). Practical applications of immunohistochemistry in the diagnosis of soft tissue neoplasms. *Surgical Oncology*, 8 (4), 197-203.

Folpe, A. L., ve Cooper, K. (2007). Best practices in diagnostic immunohistochemistry: pleomorphic cutaneous spindle cell tumors. *Archives of Pathology ve Laboratory Medicine*, 131(10), 1517-1524.

Friedman DS, Miller L, ve Dubielzig RR., (1989). Malignant canine anterior uveal melanoma. *Vet Pathol*; 26:523–525

Gelatt, K. N. (Ed.). (2013). *Essentials Of Veterinary Ophthalmology*. İçinde: Melanocytic Neoplasms *John Wiley ve Sons*.pp:291-293

Ghisleni, G., Roccabianca, P., Ceruti, R., Stefanello, D., Bertazzolo, W., Bonfanti, U., ve Caniatti, M. (2006). Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 35 (1), 24-30.

Giudice, C., Ceciliani, F., Rondena, M., Stefanello, D., ve Grieco, V. (2010). Immunohistochemical investigation of PNL2 reactivity of canine melanocytic neoplasms and comparison with Melan A. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22 (3), 389-394.

Giuliano, E. A., Chappell, R., Fischer, B., ve Dubielzig, R. R. (1999). A matched observational study of canine survival with primary intraocular melanocytic neoplasia. *Veterinary Ophthalmology*, 2 (3), 185-190

Goldblum, J. R., Weiss, S. W., ve Folpe, A. L. (2001). Immunohistochemistry for analysis of soft tissue *Tumors.Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors* 4th ed.. Elsevier Health Sciences.pp. 199-201 Mosby, St Louis

Goldschmidt, M. H., Dunstan, R. W., ve Stannard, A. A. (1998). *Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of domestic animals*, vol. III. World Health Organization International histological classification of tumors of domestic animals, ed. Schulman FY. *Armed Forces Institute of Pathology*, Washington, DC. 8, pp:38-40

Goldschmidt, M. H., ve Hendrick, M. J. (2008). Tumors of the skin and soft tissues. *Tumors in Domestic Animals*, Fourth Edition, 45-117.

Goldschmidt, M.H., Liu, S.M.S. ve Scofer, F.S. (1993). Feline dermal melanoma: a retrospective study. İçinde: PJ. Ihrke, I. Mason ve S.D. White *Advances in Veterinary Dermatology*, Vol. 2 (eds), Pergamon Press, Oxford pp. 285-291.

Goldschmidt, M. H., ve Shofer, F. S. (1992). Skin tumors of the dog and cat, *Pergamon Press Ltd*. pp.2-3 142-51, Oxford

Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., ve Affolter, V. K. (2008). *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*. John Wiley ve Sons :561-813 United Kingdom

Gülçubuk, A., Gürel, A. (2003). 1995-2000 yılları arasında İstanbul'da saptanan köpek tümörleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 29 (1) 83-91

Hahn, K. A., DeNicola, D. B., Richardson, R. C., ve Hahn, E. A. (1994). Canine oral malignant melanoma: prognostic utility of an alternative staging system. *Journal of Small Animal Practice*, 35 (5), 251-256

Haktanır, D. (2006) Köpeklerde Yumuşak Doku Tümörlerinin İmmunofenotipik Olarak Sınıflandırılması ve Histopatolojik Teşhisleri ile Karşılaştırılması. Doktora Tez Çalışması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı*. Sayfa:36-41

Henry, C. J., William Jr, G. B., Whitley, E. M., Tyler, J. W., Ogilvie, G. K., Norris, A., ve Berg, J. (2005). Canine digital tumors: a veterinary cooperative oncology group retrospective study of 64 dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 19 (5), 720-724.

Hnilica, K. A., (2001). *Small Animal Dermatology: a color atlas and therapeutic guide* .3th eds. 3 pp:414-480

Hoyt, R. F. (1984). Oral malignancy in the dog. *Journal of American Animal Hospital Association*, 20, 83-92.

Höinghaus, R., Mischke, R., ve Hewickwer-Trautwen, M. (2002). Use of immunocytochemical techniques in canine melanoma. *Transboundary and Emerging Diseases*, 49(4), 198-202.

Idikio, H. A. (2010). Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology: contributions of protein life-cycle, use of evidence-based methods and data normalization on interpretation of immunohistochemical stains. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 3(2), 169.

Jasik, A., Kozaczynski, W., Reichert, M. (2009). Canine Skin Tumours with adnexal differentiation: Histopathology and Immunohistochemistry. *Bulletin of Veterinary Institute Pulawy.*, 53:277-283.

Jungbluth, A. A., Busam, K. J., Gerald, W. L., Stockert, E., Coplan, K. A., Iversen, K., ... ve Chen, Y. T. (1998). A103: an anti-MelanA monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. *The American Journal of Surgical Pathology*, 22(5), 595-602.

Kardinal., C., Yarbrow, J. (1979). A conceptual history of cancer. *Seminars in Oncology*, 6, 396-408

Kligora, C. J., Fair, K. P., Clem, M. S., ve Patterson, J. W. (1999). A comparison of melanin bleaching and azure blue counterstaining in the immunohistochemical diagnosis of malignant melanoma. *Modern pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 12(12), 1143-1147.

King, R., Weilbaecher, K. N., McGill, G., Cooley, E., Mihm, M., ve Fisher, D. E. (1999). Microphthalmia transcription factor: a sensitive and specific melanocyte marker for melanoma diagnosis. *The American journal of pathology*, 155(3), 731-738.

Kiyohara, T., Kumakiri, M., ve Kouraba, S. (2003). Malignant melanoma arising from a small congenital melanocytic naevus. *Acta Dermatovenereologica-Stockholm*, 83(5), 397-398.

Klein, M., Vignaud, J. M., Hennequin, V., Toussaint, B., Bresler, L., Plenat, F., ... ve Weryha, G. (2001). Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology ve Metabolism*, 86(2), 656-658.

Kobayashi, G., ve Cobb, C. (2000). A case of amelanotic spindle-cell melanoma presenting as metastases to breast and axillary lymph node: Diagnosis by FNA cytology. *Diagnostic Cytopathology*, 22(4), 246-249.

Koenig, A., Wojcieszyn, J., Weeks, B. R., ve Modiano, J. F. (2001). Expression of S-100a, vimentin, NSE, and Melan A/MART-1 in seven canine melanoma cell lines and twenty-nine retrospective cases of canine melanoma. *Veterinary Pathology*, 38(4), 427-435.

Koss, L.G. (1992). *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases*, 4.Ed. Philadelphia Lippincott.

Kumar V., Abbas A., Aster J. (2013). *Robbins Temel Patoloji* 9. Baskı Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul Bölüm:23 851-870

Kurotaki, T, Tomonari, Y, Kanno, T. (2008). A novel immunohistochemical marker of normal and neoplastic melanocytes in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of albino rats. *Veterinary Pathology* 45:383–387

Lacroux, C., Raymond-Letron, I., Bourges-Abella, N., Lucas, M. N., Deviers, A., Serra, F., ... ve Del-Verdier, M. (2012). Study of canine cutaneous melanocytic

tumours: Evaluation of histological and immunohistochemical prognostic criteria in 65 cases. *Revue de Medecine Veterinaire*, 163(8), 393.

LaRock, R. G., ve Ginn, P. E. (1997). Immunohistochemical staining characteristics of canine gastrointestinal stromal tumors. *Veterinary pathology*, 34(4), 303-311.

Lin, J. Y., ve Fisher, D. E. (2007). Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*, 445(7130), 843.

Luna, L.G. (1968). Routine Staining Procedures. *Manual of Histologic Staining Methods Of the Armed Forces Institute of Pathology*. New York:McGraw-Hill.,P.: 32-47

Maliver, P., Estrada, M., Lagadic, M., Mialot, M., Manin, S., ve Fontaine, J. J. (2004). An osteoid variant of cutaneous melanoma in a dog detected by S-100 and Melan A markers. *Transboundary and Emerging Diseases*, 51(9-10), 413-415.

Manley, C. A., Leibman, N. F., Wolchok, J. D., Riviere, I. C., Bartido, S., Craft, D. M., ve Bergman, P. J. (2011). Xenogeneic murine tyrosinase DNA vaccine for malignant melanoma of the digit of dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 25(1), 94-99.

Memije, M. E. V., Luna, E. M., de Almeida, O. P., Taylor, A. M., ve González, J. C. C. (2014). Immunohistochemistry panel for differential diagnosis of Basal cell carcinoma and trichoblastoma. *International Journal of Trichology*, 6(2), 40-44

Miller, W.H., Griffin, C.H., Scott, D.W. (2001) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* W.B. Saunders, Philadelphia 6th edn, Sayfa 1085-1089

Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., ve Muller, G. H. (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. W.B. Saunders, Philadelphia 7th edn, (20) “sayfa 821-823

Minami, T., ve Patnaik, A. K. (1992). Malignant anterior uveal melanoma with diffuse metastasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(12), 1894-1896

Modiano, J. F., Ritt, M. G., ve Wojcieszyn, J. (1999). The molecular basis of canine melanoma: pathogenesis and trends in diagnosis and therapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(3), 163-174

Moore, A. S., Madewell, B. R., ve Lund, J. K. (1989). Immunohistochemical evaluation of intermediate filament expression in canine and feline neoplasms. *American Journal of Veterinary Research*, 50(1), 88-92.

Morris, L. G., Wen, Y. H., Nonaka, D., DeLacure, M. D., Kutler, D. I., Huan, Y., ve Wang, B. Y. (2008). PNL2 melanocytic marker in immunohistochemical evaluation of primary mucosal melanoma of the head and neck. *Head ve neck*, 30(6), 771-775.

Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Shimosato Y, Ishihara K. (1982). Immunohistochemical Demonstration of S 100 Protein in Malignant Melanoma and Pigmented Nevus, and Its Diagnostic Application. *Cancer*, 50, 912-918.

Nakhleh, RE, Wick, MR, Rocamora. (1990) A: Morphologic diversity in malignant melanomas. *American Journal Clinical Pathology* 93, 731–740,

Nasiell, K., Tani, E., ve Skoog, L. (1991). Fine needle aspiration cytology and immunocytochemistry of metastatic melanoma. *Cytopathology*, 2(3), 137-147.

Nishiya AT, Mussoco CO, Felizzola CR, Perlmann E, Batschinki K, Tedardi MV, Garcia JS, Mendonça PD, Teixeira TF, Dagli LZ. (2016). *Comparative Aspects Of Canine Melanoma.Veterinary. Sciences.* 3(11),7.

Nonaka, D., Laser, J., Tucker, R., ve Melamed, J. (2007). Immunohistochemical evaluation of necrotic malignant melanomas. *American Journal of Clinical Pathology*, 127 (5), 787-791.

Ohsie, S. J., Sarantopoulos, G. P., Cochran, A. J., ve Binder, S. W. (2008). Immunohistochemical characteristics of melanoma. *Journal of Cutaneous Pathology*, 35 (5), 433-444.

Orchard, G. E. (2000). Comparison of immunohistochemical labelling of melanocyte differentiation antibodies melanA, tyrosinase and HMB 45 with NKIC3 and S-100 protein in the evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *The Histochemical Journal*, 32 (8), 475-481.

Ordenez N. G., Xiaolong, J. I., ve Hickey, R. C. (1988). Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. *American journal of clinical pathology*, 90 (4), 385-390.

Orosz, Z: 1999, Melan A/MART-1 melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 34:517–525

Oyamada, T., Tanaka, H., Park, C. H., Ueki, H., Komiya, T., ve Arai, S. (2007). Pathology of canine oral malignant melanoma with cartilage and/or osteoid formation. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(11), 1155-1161.

Park, S. I., ve Cho, K. O. (2010). Dermal melanocytoma-acanthoma in an adult mixed breed dog. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 58(3 ve 4), 165-169.

Ragnarsson-Olding, B. K. (2011). Spatial density of primary malignant melanoma in sun-shielded body sites: a potential guide to melanoma genesis. *Acta Oncologica*, 50 (3), 323-328.

Ramos-Vara, J. A., Beissenherz, M. E., Miller, M. A., Johnson, G. C., Pace, L. W., Fard, A., ve Kottler, S. J. (2000). Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases. *Veterinary Pathology*, 37 (6), 597-608.

Ramos-Vara, J. A., ve Beissenherz, M. E. (2000). Optimization of immunohistochemical methods using two different antigen retrieval methods on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: experience with 63 markers. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12(4), 307-311.

Ramos-Vara, J. A., Beissenherz, M. E., Miller, M. A., Johnson, G. C., Kreeger, J.M., Pace, L. W., ... ve Yamini, B. (2001). Immunoreactivity of A103, an antibody to Melan A, in canine steroid-producing tissues and their tumors. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 13 (4), 328-332.

Ramos-Vara, J. A., Miller, M. A., Johnson, G. C., Turnquist, S. E., Kreeger, J. M., ve Watson, G. L. (2002). Melan A and S-100 protein immunohistochemistry in feline melanomas: 48 cases. *Veterinary Pathology*, 39 (1), 127-132.

Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary pathology*, 42 (4), 405-426.

Ramos-Vara, J. A., ve Miller, M. A. (2011). Immunohistochemical identification of canine melanocytic neoplasms with antibodies to melanocytic antigen PNL2 and tyrosinase: comparison with Melan A. *Veterinary Pathology*, 48 (2), 443-450.

Raskin, R. E., ve Meyer, D. (2015). *Canine and Feline Cytology-E-Book: A Color Atlas and Interpretation Guide*. Elsevier Health Sciences, 17 (2), 34-73.

Rochaix, P., Lacroix-Triki, M., Lamant, L., Pichereaux, C., Valmary, S., Puente, E., ... ve Delsol, G. (2003). PNL2, a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant melanocyte antigen. *Modern Pathology*, 16 (5), 481.

Sanchez, J., Ramirez, G. A., Buendia, A. J., Vilafranca, M., Martinez, C. M., Altimira, J., ve Navarro, J. A. (2007). Immunohistochemical characterization and evaluation of prognostic factors in canine oral melanomas with osteochondrogenous differentiation. *Veterinary Pathology*, 44 (5), 676-682.

Sandusky Jr, G. E., Carlton, W. W., ve Wightman, K. A. (1985). Immunohistochemical staining for S-100 protein in the diagnosis of canine amelanotic melanoma. *Veterinary Pathology*, 22 (6), 577-581.

Sandusky, G. E., Carlton, W. W., ve Wightman, K. A. (1987). Diagnostic immunohistochemistry of canine round cell tumors. *Veterinary Pathology*, 24 (6), 495-499.

Schultheiss, P. C. (2006). Histologic features and clinical outcomes of melanomas of lip, haired skin, and nail bed locations of dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18 (4), 422

Sevastre, B., Taulescu, M., Sarpataki, O., Bedecan, I., Ştefan, A. C., Marcus, I., ve Cătoi, C. (2012). Immunohistochemical Identification of Canine Melanocyte Neoplasms and Prognostic Evaluation of Ki67 Expression. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences ve Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 69.

Simons, K. W. J. (2015). Oral tumours in dogs: a retrospective study of 110 cases (2002-2014) (Master's thesis). *Clinical Sciences of Companion Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University*

Smedley, R. C., Lamoureux, J., Sledge, D. G., ve Kiupel, M. (2010). Immunohistochemical diagnosis of canine oral amelanotic melanocytic neoplasms. *Veterinary Pathology*, 48 (1), 32-40.

Smedley, R. C., Spangler, W. L., Esplin, D. G., Kitchell, B. E., Bergman, P. J., Ho, H. Y., ve Kiupel, M. (2011). Prognostic markers for canine melanocytic neoplasms: a comparative review of the literature and goals for future investigation. *Veterinary Pathology*, 48 (1), 54-72.

Smith, S. H., Goldschmidt, M. H., ve McManus, P. M. (2002). A comparative review of melanocytic neoplasms. *Veterinary Pathology*, 39 (6), 651-678.

Sönmez, G., Özmen, Ö. (1996). Bursa'da 1988-1996 yılları arasında incelenen köpek tümörleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 69-76

Spangler, W. L., ve Kass, P. H. (2006). The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia. *Veterinary Pathology*, 43 (2), 136-149.

Spugnini, E. P., Dragonetti, E., Murace, R., Cassandro, R., Groeger, A. M., DI Mariano, M. A. R. I. A. P. I. A., ve BALDI, A. (2005). Spontaneous intestinal melanoma in dogs. *In Vivo*, 19 (6), 1051-1054.

Stannard, A. A., ve Pulley, L. T. (1978). *Skin and soft tissues*. İçinde: Tumors in domestic animals, University of California Press 62-74.

Sulaimon, S. S., Kitchell, B. E., ve Ehrhart, E. J. (2002). Immunohistochemical detection of melanoma-specific antigens in spontaneous canine melanoma. *Journal of comparative pathology*, 127 (2-3), 162-168.

Sulaimon, S. S., ve Kitchell, B. E. (2003). The biology of melanocytes. *Veterinary dermatology*, 14 (2), 57-65.

Teixeira, T. F., Gentile, L. B., da Silva, T. C., Menecier, G., Chaible, L. M., Cogliati, B., ... ve Dagli, M. L. Z. (2014). Cell proliferation and expression of connexins differ in melanotic and amelanotic canine oral melanomas. *Veterinary research communications*, 38 (1), 29-38.

Tong, L. C. B., Kamil, Z. S., Al Habeeb, A., ve Ghazarian, D. (2009). Non-melanocytic mimics of melanoma, part II: intradermal mimics. *Journal of Clinical Pathology*, 62 (4), 290-307.

Türer Ö. (2007). Muhabbet Kuşlarında ve Papağanlarda Rastlanılan Epitelyal ve Mezenşimal Tümörlerin Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Yöntemlerle Tanımlanması. Doktora Tez Çalışması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı*. Sayfa: 25-46.

Webster, J. D., Miller, M. A., DuSold, D., ve Ramos-Vara, J. (2009). Effects of prolonged formalin fixation on diagnostic immunohistochemistry in domestic animals. *Journal of Histochemistry ve Cytochemistry*, 57 (8), 753-761.

Weiss, E., ve Frese, K. (1974). Tumours of the skin. *Bulletin of the World Health Organization*, 50 (1-2), 79-100

Wick, M. R. (2008). Immunohistochemical approaches to the diagnosis of undifferentiated malignant tumors. *Annals of diagnostic pathology*, 12 (1), 72-84.

Wilcock, B. P., ve Peiffer Jr, R. L. (1986). Morphology and behavior of primary ocular melanomas in 91 dogs. *Veterinary Pathology*, 23 (4), 418-424.

Wilkerson, M. J., Dolce, K., DeBey, B. M., Heeb, H., ve Davidson, H. (2003). Metastatic balloon cell melanoma in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 32 (1), 31-36.

Withrow, S. J., Page, R., ve Vail, D. M. (2013). Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. Melanoma. E-Book. Elsevier Health Sciences. 19:pp. 335-356 St. Louis, Missouri

Yang, H. J., Lee, E. M., Kim, A. Y., Lee, E. J., Hong, I. H., Huh, S. O., ve Jeong, K. S. (2011). Angiotropic metastatic malignant melanoma in a canine mammary gland. *Laboratory Animal Research*, 27 (4), 353-356.

Yaziji, H., ve Gown, A. M. (2003). Immunohistochemical markers of melanocytic tumors. *International Journal of Surgical Pathology*, 11 (1), 11-15.

Yi, N. Y., Park, S. A., Park, S. W., Jeong, M. B., Kang, M. S., Jung, J. H., ... ve Seo, K. M. (2006). Malignant ocular melanoma in a dog. *Journal of Veterinary Science*, 7 (1), 89-90.

Yumuşak N. (2012). Köpek ve Kedilerde Deri ve Eklenti Tümörlerinin Patomorfolojisi. Doktora Tez Çalışması. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Ankara

Zachary, J. F., ve McGavin, M. D. (2013). Pathologic Basis of Veterinary Disease-E-Book. Elsevier Health Sciences. 17. pp: 972-973.

Zappi, E., ve Zappi, E. A. (2012). Dermatopathology: Classification of Cutaneous Lesions. Springer Science ve Business Media.(4) 39-40.

Zarfoss, M. K., Klauss, G., Newkirk, K., Kiupel, M., Jones, Y., Colitz, C. M. H., Ve Dubielzig, R. R. (2007). Uveal spindle cell tumor of blue-eyed dogs: an immunohistochemical study. *Veterinary Pathology*, 44(3), 276-284.

HAM VERİLER

FORMLAR



ETİK KURUL KARARI



PATENT HAKKI İZİNİ



KÖPEKLERDE MELANOSİTİK TÜMÖRLERİN HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ

ORIJİNALLIK RAPORU

% 1	% 1	% 0	% 0
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	e-dergi.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1
3	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	Çiğdem Sevim, Selim Çomaklı, Ali Taghizadehghalehjoughi, Mustafa Özkaraca et al. "An imazamox-based herbicide causes apoptotic changes in rat liver and pancreas", Toxicology Reports, 2019 Yayın	<% 1
5	"Radiation Oncology", Springer Nature, 2008 Yayın	<% 1
6	worldwidescience.org İnternet Kaynağı	<% 1

7	"Panta Rhei — Umdenken —", Springer Nature, 2001 Yayın	<%1
8	Berrington, A. J., K. Jimbow, and D. M. Haines. "Immunohistochemical Detection of Melanoma-associated Antigens on Formalin-fixed, Paraffin-embedded Canine Tumors", Veterinary Pathology, 1994. Yayın	<%1
9	bobreksaglik.blogspot.com İnternet Kaynağı	<%1
10	repository.ubn.ru.nl İnternet Kaynağı	<%1
11	krishikosh.egranth.ac.in İnternet Kaynağı	<%1
12	www.thedoctorsdoctor.com İnternet Kaynağı	<%1
13	www.intechopen.com İnternet Kaynağı	<%1
14	Cangul, I.T.. "Canine Balloon and Signet-ring Cell Melanomas: a Histological and Immunohistochemical Characterization", Journal of Comparative Pathology, 200108 Yayın	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Münci	Soyadı	Utancak
Doğ.Yeri	Çorum	Doğ.Tar.	25.01.1959
Uyruğu	T.C	TC Kim No	28075461700
Email	munciutancak@gmail.com	Tel	05322970138

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji ABD	
Yük.Lis.	İ.Ü. Veteriner Fakültesi	1983
Lisans		
Lise	Çorum Lisesi	1978

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Serbest Klinisyen	Vetmedi Veteriner Polikliniği	1998-2019
2.	Yönetici	İ.B.B	1984-1997
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Almanca	iyi	iyi	orta	7	
İngilizce	Orta	orta	orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows	iyi
Microsoft Office	iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Müzik, tiyatro, sinema ve spor.