

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIĞIRLARDA OKÜLER YASSI HÜCRELİ KARSİNOMLARIN
HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI

Biyolog Hatice BEŞEREN

Patoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Enver BEYTUT

Bu tez BAP tarafından 2017-TS-72 proje numarası ile desteklenmiştir.

KARS-2019

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIĞIRLARDA OKÜLER YASSI HÜCRELİ KARSİNOMLARIN
HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI

Biyolog Hatice BEŞEREN

Patoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Enver BEYTUT

Bu tez BAP tarafından 2017-TS-72 proje numarası ile desteklenmiştir.

KARS-2019



KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)

Sayı: 2019/56
Konu: Araştırma

29.04.2019

Sayın Prof. Dr. Enver BEYTUT
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2019-056** kodlu ve **"Sığırların Oküler Yassı Hücreli Karsinomlarında Yangısel İnfiltrat ve Bazı Epitelyal Hücre Markırlarının Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması"** adlı araştırmanızın KAÜ-HADYEK yönergesi ilkelerine uygun olarak planlandığı, 17.03.2017 tarih ve 2017 / 038 numara ile onay verilmiş olan çalışmanıza ilişkin başlığın **"Sığırlarda Oküler Yassı Hücreli Karsinomların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması"** şeklinde değiştirilmesinin hayvan kullanım etiği ve mevzuatı açısından **"UYGUN"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Saygılarımla.

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
KAÜ-HADYEK Başkanı

EK:

1. Etik Kurul Kararı (1 Adet)

Yazışma Adresi

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(KAÜ-HADYEK) Başkanlığı
Kafkas Üniversitesi Rektörlüğü, 36100 KARS

Tel: 0 474 2251158 – 2426836
Faks: 0 474 2251161
E-Posta: hadyek@kafkas.edu.tr

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Patoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Hatice Beşeren tarafından hazırlanmış olan “**Sığırlarda Oküler Yassı Hücreli Karsinomların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy **birlik** ile **kabul** edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/06/2019

Adı Soyadı:

Başkan: Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ

Üye: Prof. Dr. Enver BEYTUT

Üye: Prof.Dr. Serpil DAĞ

İmza:

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Oküler yassı hücreli karsinom sığırlarda oldukça yaygın olarak görülen ve tüm dünyada bilinen önemli neoplastik bir hastalık olup Kars yöresinde yaygın olarak karşılaşılmaktadır. Oluşturduğu ekonomik kayıplar nedeni ile sığır yetiştiriciliği açısından önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde hastalığın bildirilmesi daha çok olgu sunumları şeklinde olup sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Yapılan literatür incelemelerinde ülkemizde ve diğer ülkelerde sığırların oküler yassı hücreli karsinomlarında gerek epitel hücre markırlarının diyagnostik önemi gerekse oküler yassı hücre karsinomların önemli bir komponenti olan lenfoid hücre infiltrasyonunu karakterize eden detaylı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yaptığımız tez projesinde, özellikle rutin hematoxilen-eozin boyamalarında şiddetli nekrotik değişiklikler ve yangısal reaksiyonlar nedeni ile sınırlı sayıdaki tümör hücre proliferasyonlarının güçlükle seçilebildiği dikkati çekmiştir. Bu nedenle çalışmada immünperoksidaz tekniği kullanılarak özellikle tümör hücrelerinin identifikasyonunda epitelyal hücre markırlarının diyagnostik önemi açık olarak ortaya konulmuş; tümöre karşı gelişen hücresel immünitede rol oynayan lenfositik fenotipler karakterize edilmiştir. Ayrıca tümöral dokuda önemli bir tümör hücre baskılayıcı gen olarak bilinen p53 proteini ile proliferasyon markırı olarak bilinen Ki67 ekspresyonunun araştırılmasının yanı sıra; vimentin ile farklı varyant gösteren neoplazilerde destek doku oranı ve tümör hücrelerin TNF α salınımı incelenmiştir.

Yüksek lisans tezimin hazırlamasında ve sonuçlandırılmasında yoğun çalışmalarından bana zaman ayırarak engin tecrübe ve birikimlerinden yararlanma fırsatı veren, değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Enver BEYTUT'a, Patoloji Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Serpil DAĞ'a, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Yasemen ADALI'ya, tez süresi boyunca yardımını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi. Emin KARAKURT'a, Arş. Gör. Hilmi NUHOĞLU'na, yüksek lisans arkadaşım Biyolog Aslı GÜNEŞ'e ve her zaman yanımda olan sevgiili aileme teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Sığırlarda Oküler Yassı Hücreli Karsinomların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması

Bu çalışmada, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesine sunulan göz kitleli sığırlardan alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada, 30 sığıra ait oküler yassı hücreli kanser (OYHK) kitlesi materyal olarak kullanıldı. Makroskopik olarak, lezyonların özellikle göz kapaklarında karnabahar görünümde ve gözün deformasyonuna neden olan değişen büyüklüklerde kitlelerden oluştuğu görüldü. Tümöral kitlelerden alınan kesitler hematoksil-eozin ile boyandıktan sonra, seçilen kesitler keratin markırları [Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin (HMWCK), Sitokeratin 5/6 (CK5/6), Pan-Sitokeratin (PanCK)], p53, Ki-67, Vimentin, CD3, CD79acy ve Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) ile boyanarak immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Histopatolojik olarak, tümörlerin eozinofilik sitoplazmalı hücreler tarafından oluşturulan adacıklar ile bunların merkezinde bulunan keratin incilerinden oluştuğu görüldü. Tümörlerde sık mitotik figürler ile destek dokusunda şiddetli yangısal infiltrasyonlar görüldü. Olguların 14'ünün kötü, 11'inin iyi ve 5'in ise orta derecede diferansiyasyon gösterdiği belirlendi. İmmünohistokimyasal olarak, HMWCK ile boyamalarda tümöral adacıkların şiddetli sitoplazmik pozitif reaksiyonu görüldü. CK5/6 boyama ile yine neoplastik hücrelerin sitoplazmik pozitif oldukları görüldü. PanCK boyamada, HMWCK ve CK5/6 markırlarında olduğu gibi, neoplastik proliferasyonların pozitif boyandıkları, destek dokusu ve yangısal infiltrasyonlar arasında az sayıda tümör hücresinin kolayca ortaya konulabileceğini gösterdi. p53 boyamada pozitif reaksiyonun neoplastik adacıklarda özellikle periferik tümör hücrelerinde oluştuğu tespit edildi. Tümör hücrelerinin Ki-67 nükleer pozitif oldukları açık olarak tespit edildi. Vimentin boyamada neoplastik proliferasyonlar arasında sadece destek bağ dokusunun şiddetli pozitif olduğu görüldü. Neoplastik dokularda yaygın CD3⁺T lenfosit infiltrasyonu ile daha az sayıda CD79acy⁺B lenfosit ve plazma hücresinin bulunduğu gözlemlendi. TNF- α pozitif reaksiyonun tümör hücrelerinin sitoplazmasında ve özellikle periferik hücrelerde daha yoğun oluştuğu dikkati çekti.

Sonuç olarak, tümöral dokuların tipik histopatolojik özellikleri ve keratin antikorlarına karşı pozitif reaksiyonlarına dayanılarak tüm olgular invaziv OYHK olarak tanımlandı.

Özellikle HE boyamalarda, bazı vakalarda neoplastik proliferasyonların az olması ve kitlelerde yaygın nekroz, kanama ve şiddetli yangısal infiltrasyonların tümör dokusunu maskeleyesi nedeniyle, OYHK olgularında identifikasyon için özellikle keratin antikorların diyagnostik açıdan önemi açık olarak ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Histopatoloji, İmmünohistokimya, Oküler Yassı Hücreli Karsinom



SUMMARY

Histopathological and Immunohistochemical study of Ocular Squamous Carcinomas in Cattle

The aim of this study is the histopathological and immunohistochemical evaluation of the biopsy specimens from cattle with eye masses presented to the University of Kafkas, Faculty of Veterinary Medicine, Animal Hospital. In the study, ocular squamous cell carcinomas of 30 cattle were used as material. Grossly, the lesions in eyelids were commonly cauliflower-appearing mass, varying of size, and was caused to the deformation of eyes. After the slides from the tumor masses were stained with the hematoxylin and eosin (HE), selected some were stained with Avidin-Biotin-Peroxidase Complex Technique (ABC) for keratin markers [High Molecular Weighted Cytokeratin (HMWCK), Cytokeratin 5/6 (CK5/6), Pan-Cytokeratin (PanCK)], p53, Ki-67, Vimentin, CD3, CD79 α cy and Tumor Necrosis Alpha and was examined immunohistochemically. The histopathological examination found that tumors consisted of the islands formed by cells having eosinophilic cytoplasm and centrally formed keratin pearls. Tumor masses showed often mitotic figures and inflammatory cell infiltrations in the tumorous stroma. 14 cases out of 30 tumors revealed poor differentiation; 11 cases showed well differentiation, and 5 cases were moderately differentiated. Immunohistochemically, a severe positive reaction in the cytoplasm of tumor cell islands for HMWCK was detected. It was also detected cytoplasmic staining to PanCK in all neoplastic cells. Like HMWCK and CK5/6 stainings, neoplastic proliferations revealed an evident positive staining for PanCK and strong immunostaining of few tumors cells facilitated their easy identification among inflammatory infiltrate and tumor stroma. Tumor cells showing a strong reaction to p53 were detected in the periphery of the tumor islands. Tumor cells revealed a clear nuclear positive staining for Ki-67. It was observed that only tumorous stroma among the neoplastic proliferation was severely immunolabeled for vimentin. High numbers of CD3+ T lymphocytes, but a few numbers of CD79 α cy+ B cells and plasmocytes were found in the neoplastic proliferation. TNF- α positive reaction occurred mainly in the cytoplasm of peripherally located tumor cells in the islands.

In conclusion, based on the typical histopathological features of tumorous tissues and positive reactions to the keratin antibodies, all cases were identified as an invasive OSCC.

In particular, in some cases which had a few neoplastic cells and they were masked by common necrosis, hemorrhages and an intense inflammatory infiltration in the HE-stained sections, it was provided the diagnostic importance of keratin antibodies in the identification of OSCC cases.

Key Words: Cattle, Histopathology, Immunohistochemistry, Ocular Squamous Cell Carcinoma



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
RESİMLER	xii
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Tümörün Etiyolojisi	4
2.2.Tümörün İnsidansı	4
2.3.Tümörün Lokalizasyonu ve Morfolojisi	5
2.4.Tümörün Büyüme ve Metastazı	5
2.5.Tümörün Klinik Seyri	6
2.6.Tümörün Histolojik Özellikleri	6
2.7.Tümörün Histolojik Sınıflandırılması	7
2.7.1. İn Situ Yassı Hücreli Karsinoma	7
2.7.2. İnvaziv Yassı Hücreli karsinoma	8
2.8.Gözün Anatomisi	9
2.9.Göz Histolojisi	11
2.10.Deri Histolojisi	12
2.11. İmmünohistokimyasal Boyamalarda Kullanılan Spesifik İşaretleyiciler	14
2.11.1.Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin (HMWCK)	14
2.11.2.Sitokeratin 5/6 (CK5/6)	15
2.11.3.Pan-Sitokeratin (PanCK)	15
2.11.4. p53	15

2.11.5.Ki-67	15
2.11.6.Vimentin	16
2.11.7.CD3.....	16
2.11.8.CD79 α cy.....	16
2.11.9.Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF α).....	16
3.MATERYAL VE METOT.....	18
3.1.Hematoksilen-Eozin Boyama (HE) Yöntemi.....	18
3.2.İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi.....	19
4.BULGULAR.....	21
4.1.Makroskobik Bulgular	21
4.2.Histopatolojik Bulgular.....	22
4.3.İmmünohistokimyasal Bulgular	25
4.3.1.Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin (HMWCK) Boyama Sonuçları.....	25
4.3.2.Sitokeratin 5/6 (CK5/6) Boyama Sonuçları	26
4.3.3.Pan-Sitokeratin (PanCK) Boyama Sonuçları	27
4.3.4.p53 Boyama Sonuçları	27
4.3.5.Ki-67 Boyama Sonuçları	28
4.3.6.Vimentin Boyama Sonuçları	29
4.3.7.CD3 Boyama Sonuçları.....	29
4.3.8.CD79 α cy Boyama Sonuçları	30
4.3.9.Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) Boyama Sonuçları	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
6.TABLolar.....	42
7.RESİMLER.....	46
8. KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ŞEKİLLER

Şekil 1: Gözün normal anatomik yapısı (Yalvaç, 2014).	10
Şekil 2: Derinin normal histolojik yapısı (Latha, 2017).....	14



TABLÖLAR

Tablo 1: Biyopsi yapılan sığırların cinsiyeti, ırkı ve tümörün oluştuğu göz.....	43
Tablo 2: İmmünohistokimyasal boyamalarda kullanılan primer antikorların klon numaraları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları.....	44
Tablo 3: OYHK olgularında 40x objektif ile belirlenen ortalama mitotik hücre sayıları.....	44



RESİMLER

Resim 1: Simental bir inekte karnabahar şeklinde görülen tümöral proliferasyonlar...	47
Resim 2: Simental inekte orbitayı deforme eden kanamalı ve irinli kitle.....	47
Resim 3: Simental inekte sol gözde gelişen kanamalı tümöral kitle.....	48
Resim 4: Konjunktiva ve üçüncü göz kapağında tümöral kitle.	48
Resim 5: Nekropsi sonrasında ortaya konulan alt göz kapağında gelişen tümöral kitle.	49
Resim 6: Biyopsi ile alınan solid tümöral kitlede yoğun kanama ve nekroz.	49
Resim 7: Epidermisten köken alan dermal invazyon gösteren OYHK (HEx10).....	50
Resim 8: Çok sayıda parakeratotik keratin incili iyi diferansiye OYHK (HEx10).....	50
Resim 9: Keratin incisi oluşmamış kötü diferansiye OYHK (HEx40).....	51
Resim 10: Kötü diferansiye tümöral dokuda yaygın nükleer pleomorfizm. (HEx40)...	51
Resim 11: Neoplastik destek dokuda şiddetli lenfoid hücre infiltrasyonu (HEx10).....	52
Resim 12: Kronik yangısal infiltratla çevrili papiller proliferasyonlu kitle (HEx10). ...	52
Resim 13: Neoplastik dokuda şiddetli kanama odakları (HEx20).....	53
Resim 14: Anormal tripolar görünümlü mitotik figür (ok) (HEx40).....	53
Resim 15: Şiddetli sitoplazmik vakuolizasyon gösteren berrak hücreli OYHK (HEx40).	54
Resim 16: Subkutanöz kas dokusuna invazyon gösteren ve kas hücrelerini nekroze eden berrak hücreli OYHK (HEx40).....	54
Resim 17: Neoplastik dokuda eozinofilik sitoplazma ve piknotik nükleusa sahip diskeratotik hücreler (oklar) (HEx40).....	55
Resim 18: Neoplastik dokuda kalsifiye olmuş keratin incisi oluşumları (HEx10).....	55
Resim 19: Tümöral dokuda şiddetli nekroz ve yangısal infiltrat arasında az sayıda neoplastik hücre ve keratin incisi (HEx20).....	56
Resim 20: Damar lümeninde eritrositlerle çevrili tümör hücre embolisi (HEx20).....	56
Resim 21: Neoplastik hücrelerde şiddetli sitoplazmik HMWCK pozitif reaksiyon. (ABCx10).....	57
Resim 22: Destek dokuda az sayıda hücreden oluşan küçük tümöral odaklar (ABCx40).	57
Resim 23: Şiddetli yangısal infiltrat arasında HMWCK pozitif tümör odağı (ABCx10).	58

Resim 24: Kas dokusuna invazyon gösteren tümör hücrelerinde HMWCK pozitif reaksiyon (ABCx10).....	58
Resim 25: Neoplastik odaklarda şiddetli CK5/6 pozitif reaksiyon (ABCx10).....	59
Resim 26: Berrak hücreli OYHK da tümör hücrelerinde sitoplazmik CK5/6 pozitif reaksiyon (ABCx20).....	59
Resim 27: Nekrotik dokuda CK5/6 immün pozitif az sayıda tümör hücresi (ABCx20).	60
Resim 28: Neoplastik proliferasyonlarda şiddetli PanCK pozitif reaksiyon (ABCx10).	60
Resim 29: Yangısal infiltratla çevrili PanCK immün pozitif tümör hücreleri (ABCx10).	61
Resim 30: Tubuler proliferasyon gösteren berrak hücreli tümöral dokuda PanCK immün pozitif reaksiyon (ABCx20).	61
Resim 31: Neoplastik odakta tümör hücrelerinin çekirdeklerinde p53 immün pozitif reaksiyon (ABCx10).....	62
Resim 32: Tümöral adacıkda periferik hücrelerde belirgin p53 reaksiyon (ABCx20). .	62
Resim 33: Kas dokuya invazyon gösteren tümör hücrelerinde p53 reaksiyon (ABCx20).	63
Resim 34: Neoplastik hücrelerde yaygın nükleer Ki-67 immün pozitif reaksiyon (ABCx10).....	63
Resim 35: Neoplastik dokuda periferik tümör hücrelerinde Ki-67 pozitif reaksiyon (ABCx10).....	64
Resim 36: Tümör odağında destek dokuda vimentin pozitif reaksiyon (ABCx10).....	64
Resim 37: Berrak hücreli tümöral proliferasyonlar arasında vimentin pozitif boyanma (ABCx10).....	65
Resim 38: Tümöral dokuda şiddetli CD3 ⁺ T hücre infiltrasyonu (ABCx20).	65
Resim 39: Neoplastik parankime infiltre olmuş CD3 ⁺ T lenfosit artışı (ABCx20).	66
Resim 40: Destek dokuda yangısal infiltratta CD79 α cy ⁺ B hücre infiltrasyonu (ABCx20).....	66
Resim 41: Tümöral parankimde CD79 α cy ⁺ infiltratif B lenfosit artışı (ABCx40).....	67
Resim 42: Tümör adacıklarında yaygın TNF α ⁺ reaksiyon (ABCx10).....	67
Resim 43: Tümöral dokuda periferik hücrelerde TNF α ⁺ reaksiyon (ABC; Ax40, Bx20).	68
Resim 44: Berrak hücreli OYHK hücrelerinde pozitif TNF α reaksiyon (ABCx10).	68

KISALTMALAR

OYHK: Oküler Yassı Hücreli Karsinoma

YHK: Yassı Hücreli Karsinoma

TNF α : Tümör Nekroz Faktörü-alfa

HMWCK: Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin

PanCK: Pan-Sitokeratin

CK5/6: Sitokeratin 5/6

HE: Hematoksilen Eozin

1. GİRİŞ

Oküler yassı hücreli karsinoma (OYHK) sığırlarda en yaygın olarak karşılaşılan ve tüm dünyada göz kanseri olarak bilinen önemli bir neoplastik hastalıktır (Jennings ve ark., 1974; Carvalho ve ark., 2005; Ginn ve Hargis, 2012; Mauldin ve Kennedy, 2016; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Özellikle tümörün malign olması nedeniyle, erken tanı ve tedavi kritik öneme sahiptir. Zira hastalığa bağlı yaklaşık %12 karkas imhası ve tedavi giderleri nedeniyle ekonomik olarak tümörün oldukça önemli olduğu açıklanmıştır (Jennings ve ark., 1974; Russel ve ark., 1976; Carvalho ve ark., 2005; Ceylan ve ark., 2012; Pugliese ve ark., 2014). Epidermal keratinositlerin neoplastik hücrelere dönüşümü ile kendini gösteren OYHK en çok sığır ve atlarda, daha az olarak da kedi ve köpeklerde görülmektedir (Devi ark., 2010; Ceylan ve ark., 2012; Pugliese ve ark., 2014; Hendrix, 2015; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Hastalığın nadiren koyun, bufalo, keçi ve domuzlarda da görüldüğü bildirilmiştir (Kusewitt ve Rush, 2007; Taş ve ark., 2009; Sağlıyan ve ark., 2010; Oliveira ve ark., 2011; Najarnehad ve Aslani, 2012; Tiwari ve ark., 2016; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Hastalığın Avustralya ve Birleşik Devletlerde ciddi bir sorun oluşturduğu, sığır türleri arasında özellikle Hereford ve melezlerini etkilediği açıklanmıştır (Kuchroo ve ark., 1983). Hastalığın etyolojisi multifaktöriyel olup (Tiwari ve ark., 2016), özellikle pigmentsiz konjunktiva ve göz kapaklarına sahip sığır türleri hastalığa karşı predispozisyon bulunduğu bildirilmiştir (Devi ark., 2010; Oliveira ve ark., 2011; Mauldin ve Kennedy, 2016). Özellikle uzun süreli güneşe maruz kalma tümörün oluşmasında en önemli neden olarak kabul edilmektedir (Newton, 1996; Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014). Ultraviyole ışınlarına ilaveten sığır papilloma virusları ve bovine herpes virus tip 1 bu tip lezyonlardan izole edilmiş ancak tümör oluşmasındaki rolleri tam olarak ortaya konulamamıştır (Kuchroo ve ark., 1983; Sun ve ark., 1997; Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014; Mauldin ve Kennedy, 2016; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Bunlara ilaveten, genetik faktörler, travmalar, hayvanın ırkı, rakım, bölgesel şartlar ve hormonal faktörlerin de etkili olduğu belirtilmiştir (Taş ve ark., 2009; Devi ark., 2010; Sağlıyan ve ark., 2010). Tümörün sıklıkla yedi yaşın üstündeki sığırlarda ortaya çıktığı, üç yaşından küçüklerde ise nadiren görüldüğü belirlenmiştir. Tümörün sığırlarda en yaygın olarak gözün limbusunda ve üçüncü göz kapağında görüldüğü rapor edilmiştir (Kircher ve ark., 1974; Sun ve ark., 1997; Carvalho ve ark., 2005; Azarabad ve ark., 2011;

Pugliese ve ark., 2014; Mauldin ve Kennedy, 2016; Tiwari ve ark., 2016). OYHK tipik olarak ülseratif, sıkı, lobüler yapıda ve karnabahar görünümünde olup, purulent panoftalmi ile birlikte görüldüğünde kitlenin üzeri mukopurulent bir tabakayla kaplanmaktadır (Carvalho ve ark., 2005; Azarabad ve ark., 2011; Pugliese ve ark., 2014). OYHK'un sağaltımında, tümöral kitle ve etkilediği dokuların sağlıklı doku sınırından cerrahi yöntemle total ekstirpasyonu oldukça önemlidir. Diğer sağaltım yöntemleri arasında kriyoterapi, hipertermi ve immünoterapi gibi uygulamalar sayılabilir. Sığırlarda OYHK dört gelişim evresi göstermektedir. Bu evreler plak oluşumu, keratomalar, papillomlar ve kanser oluşumundan ibaret olup ilk üç evre benign olarak kabul edilmektedir (Kircher ve ark., 1974). Son evrede tümör genellikle nodüler ya da karnabahar manzarasında, çoğunlukla kanamalı, ülseratif, parçalı ve kötü kokuludur. Tümör çoğunlukla sığırlarda keratokonjonktivit, travma ve dermoid kistlerle karıştırılmaktadır. Her ne kadar benign tümörler herhangi bir gelişim evresinde regrese olsa da, malign formlar gelişmeye, büyümeye devam ederler. Tedavi edilmediği durumlarda yüzün büyük bir bölümü ve göz küresi de dâhil tüm orbitayı ciddi şekilde tahrip ederek körlükle sonuçlanabilir. Tümör seyrek olarak paratiroid ve submandibular lenf düğümlerine metastaz yapmaktadır (Carvalho ve ark., 2005). Mikroskopik olarak, tümöral doku, eozinofilik sitoplazmalı neoplastik hücreler tarafından oluşturulan kordlar ile bunların merkezinde keratin incisi olarak adlandırılan yapılar dikkati çekmektedir (Azarabad ve ark., 2011). Özellikle kitlelerin yüzeylelerinin ülseratif olduğu olgularda sekonder bakteriyel etkenlere bağlı nötrofil lökosit infiltrasyonları ve tümör odaklarında yoğun mononükleer hücre infiltrasyonları gözlenmektedir. Tümör hücreleri genellikle veziküler bir görünüme sahip olup, hiperkromazi, sık mitoz, anizonükleozis ve anizositozis gözlenen önemli histolojik özelliklerdir. Hastalığın ayırıcı tanısında özellikle skuamöz displastik değişiklikler ile diffüz infiltratif büyüme gösteren diğer bazı hastalıklar göz önünde tutulmalıdır. Papillomların viral kökenli olması nedeniyle, viral izolasyon veya pozitif serumlarla viral antijen ortaya konularak hastalığın ekarte edilmesi mümkündür. Ayrıca piyojenik granülomların ayırıcı tanıda dikkate alınması gereklidir. Hastalığın tedavisi yüksek oranda tümörün lokalizasyonu ve çevre dokulara invazyonuna bağlıdır. Her ne kadar cerrahi yolla kitlenin uzaklaştırılması en önemli seçenek olarak kabul edilse de, vakaların büyük bir kısmında nüks gözlenebilmektedir. Ayrıca tümör çok büyüdüğünde ve çevre dokulara yayıldığında üçüncü göz kapağı, tüm göz küresi ve çevre dokuların alınması kaçınılmaz olabilmektedir. Ancak tümör bölge lenf düğümlerine metastaz yapmışsa cerrahi tedavi uygulanmakla beraber tümör uzak dokulara yayılmaya

devam edecektir. Dolayısıyla hastalığa karşı korunmada erken tanı en önemli kriterlerden birisini oluşturmaktadır (Tiwari ve ark., 2016). Bunun için özellikle üç yaş üstü sığırlarda erken tanı için gözlerin rutin olarak, keratomlar, plak oluşumları ve papillom gibi premalign lezyonlara karşı düzenli olarak kontrol edilmesi gerekmektedir. Dolayısıyla, sığırlarda oküler yassı hücreli karsinomalar kilo kaybı, verim azalması ve tedavi masraflarının artmasına neden olduğundan ekonomik önem arz eden ciddi bir problemdir. Özellikle hastalığa bağlı verim kayıplarının önüne geçilmesinde erken tanı ve tedavi özel bir önem arz etmektedir. Hastalığın son evresinde tümöre ait histopatolojik özellikler belirgin olduğundan teşhis daha kolaydır. Oysaki ilk üç evrede tümör hücrelerinin üreme paterni tanı için yeterli olmadığı gibi, kitlenin ülseratif yüzeyinin kolayca kontamine olması ve buna bağlı yoğun yangısal infiltrasyon tümör hücrelerini maskeleyerek ve hastalığın tanısını güçleştirmektedir. Bu nedenle tümörün teşhisine yönelik olarak bazı epitelyal hücre markırlarının diyagnostik öneminin immünperoksidaz yöntemiyle ortaya konulması, özellikle oluşan lenfositik hücre infiltrasyonları karakterize edilerek tümörün regresyonunda rol oynayıp oynamadığının araştırılması bu çalışmanın esas amaçlarını oluşturmaktadır. İlaveten neoplastik dokuda tümör hücre baskılayıcı gen olarak bilinen p53 proteini ile proliferasyon markırı olan Ki67 ekspresyonunun araştırılması; neoplazilerde destek doku oranı ve tümör hücrelerinin TNF α sitokin salınımının değerlendirilmesi tezin amaçlarını oluşturmuştur.

2.GENEL BİLGİLER

Oküler yassı hücreli kanserler (OYHK) gözün en yaygın ve önemli neoplazilerinden birisidir. OYHK özellikle sığırlarda önemli ekonomik kayıplara yol açan önemli bir tümöral hastalıktır. Yassı hücreli kanserler epidermal keratinositlerden köken alan ve başta deri olmak üzere skuamöz hücreler tarafından döşenen dokularda gelişen kötü huylu bir tümördür. Anaplastik üreme ile birlikte, aynı zamanda hızlı gelişen, uzak doku ve organlara metastaz yapabilen bir tümör olan OYHK bazal hücreli tümörlere kıyasla daha hızlı nüks yapabilmektedir (Taşkın, 2006; Taş ve ark., 2009; Sağlıyan ve ark., 2010). OYHK sığırlarda bulbar konjunktiva ve kornea bölümlerinde görüldüğü, ayrıca göz kapaklarının konjunktivası ile üçüncü göz kapağında sıklıkla oluştuğu açıklanmıştır (Gharagozlou ve ark., 2007; Sağlıyan ve ark., 2009). Klinik muayenede tümöral kitlelerin yüzeyleri ülseratif yapıda, sert kıvamlı, lobüler yapıda ve karnabahar görünümündedir.

Sığırlarda çoğunlukla purulent panoftalmi ile beraber ortaya çıkar ve kitlenin yüzeyi sıklıkla mukopurulent bir tabakayla örtülür (Hendrix, 2005; Sağlıyan ve ark., 2009).

2.1.Tümörün Etiyolojisi

Sığır oküler yassı hücreli kanser oluşumunun nedenleri tam olarak ortaya konulamamıştır. Ancak tümörün oluşmasında en önemli nedenin uzun süre ultraviyole ışınlarına maruz kalma sonucu gelişen DNA-p53 protein hasarının olduğu açıklanmıştır (Newton, 1996; Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014). Ultraviyole ışınlarının yanı sıra, sıklıkla sığır papilloma virusları ve sığır herpes virus tip 1 de yassı hücreli kanser lezyonlardan izole edilmiş, ancak bu virusların tümör oluşmasındaki etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (Kuchroo ve ark., 1983; Sun ve ark., 1997; Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014; Mauldin ve Kennedy, 2016; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Ultraviyole ışınları ve virusların tümör yapma etkisine ilaveten, genetik faktörler, derideki travmalar, duyarlı sığır ırkları, hayvanın yaşadığı rakım, bölgesel koşullar ve hormonal faktörlerin de etkili olduğu rapor edilmiştir (Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014; Mauldin ve Kennedy, 2016; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Özellikle ultraviyole B ışını daha karsinojen olup, ultraviyole A ışını psöralenle beraber maruz kalınması durumlarında YHK gelişebilmektedir. Buna ilaveten, iyonize radyasyon da yassı hücreli kansere neden olabilmektedir. Derinin uzun süre bu tür ışınlarla maruz kalan bölgelerinde eritem ve kanamalı yaralar oluşabilmektedir (Taşkın, 2006). Yassı hücreli kanserlerin normal görünen deride gelişmesinin yanı sıra, aktinik keratoz, aktinik keilit ve bowen hastalığı gibi prekanseröz lezyonlar da tedavi edilmediklerinde karsinomaya dönüşebilmektedir (Brenn ve ark., 2005).

2.2.Tümörün İnsidansı

Özellikle güneş, radyasyon ve yüksek rakımlarda yaşayan sığırlar düşük rakımlarda yetiştirilenlere kıyasla daha yüksek risk altındadır. Başta Hereford ve Simental sığır türleri olmak üzere özellikle oküler ve mukokutanöz bölgelerde pigment yetersizliği olan sığırlar hastalığa daha yatkındır. Tümör atlarda, sığırlarda, kedilerde ve köpeklerde yaygın olarak görülürken, koyun, keçi ve domuzlarda nadiren görülmektedir. Tüm hayvan türlerinde yassı hücreli kanserler genç yaşta görülebilmektedir ancak hastalığın insidansı yaşla birlikte artmaktadır. Hastalık kedilerde 9-14 yaşlarında pik insidans gösterirken, köpelerde 6-13 yaşta, atlarda ise 13-21 yaşlarında en yüksek insidansa

sahiptir (Hendrix, 2015; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Hastalığın yüksek görüldüğü at türleri Belçika ve Amerikan türleridir. Yassı hücreli kansere karşı yüksek risk taşıyan köpek türleri ise Terrier ve Mastif gibi ırklardır.

2.3.Tümörün Lokalizasyonu ve Morfolojisi

Sığır ve atlarda, YHK primer olarak mukokutanöz bölgelerde ve özellikle göz kapakları, konjunktiva, vulva ve perianal bölgelerde oluşmaktadır. Koyunlarda tümörden sıklıkla kulaklar etkilenmekte fakat vücudun başka bölgelerinde de görülebilmektedir. Özellikle solar dermatozis yün olmayan veya seyrek olan deri alanları ile mukokutanöz bölgelerde görülen ilk belirgin lezyondur. Bunu eritemler, ödem, kabuk oluşumu, epidermal kalınlaşma ve ülserasyon takip eder. Kedilerde tümörün en yaygın olduğu bölgeler kulak kepçesi, göz kapakları ve burun bölgesidir. Özellikle beyaz kedilerde kulak uçlarında oluşan YHK bu tür için karakteristik olarak kabul edilmektedir. Köpeklerde tümörün en sık görüldüğü bölgeler baş, abdomen, ön bacaklar, perianal bölge ve parmak uçlarıdır. Yaşamlarının büyük bir kısmını açık alanlarda geçiren kısa tüylü köpekler YHK oluşumuna karşı oldukça duyarlı olup, tümör özellikle alt karın ve baş bölgesinde gelişir. Tümör deriye yerleştiğinde dermise doğru yayılır ve lezyon sertleşir. Zamanla ülseratif lezyonun derinliği ve büyüklüğü artar, sekonder bakteriyel enfeksiyon kitle yüzeyinde irinli eksudat oluşumuyla sonuçlanır. Oküler yassı hücreli kanserler sıklıkla purulent konjonktivit ile seyreder. Ancak tümör nazal bölgeleri etkilediğinde bazen burun kanaması, ülserasyon ve nazal şişkinlik görülebilir (Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Köpeklerde YHK'un diğer neoplastik dokulardan ayrımını sağlayan özellikler oldukça değişkendir. Sıklıkla immüno-supresif hayvanlarda papilloma virus enfeksiyonu invaziv YHK oluşumu ile sonuçlanır. Kedilerde, YHK yine ultraviyole ışınlarına maruz kalmanın bir sonucu olup nazal bölgedeki YHK vakalarının yaklaşık yarısında papilloma virus DNA'sı bulunması virusun bir sebep olabileceğini ortaya koymuştur.

2.4.Tümörün Büyüme ve Metastazı

Sığırlarda YHK genellikle yavaş gelişir ve bölgesel lenf düğümü metastazları sıklıkla kötü diferansiye tümörlerde görülür. Bunun dışında cerrahi yolla ekstirpe edilen tümörler belli zaman sonra nüks edebilmektedir. Kedilerde oral YHK hariç, gerek bölgesel lenf düğümleri gerekse diğer organlara metastaz yaygın değildir (Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017).

2.5.Tümörün Klinik Seyri

Genellikle prekürsör lezyon olarak başlayan YHK'da, hızlı büyüme, ülserasyon ve daha ileri metastaz yapma evresine geçtiğinde kanama görülebilmektedir. Tümör soliter bir lezyon olarak ortaya çıkabilmektedir. Çoğunlukla eritem, sarı renkli papül veya nodüler şekilde başlayan lezyon, önce vertikal ekseninde daha sonra lateral yönde yayılarak infiltratif plak şeklini almaktadır. Bazal hücreli karsinomalardan farklı olarak, çevreden kabarık, kenar kısımlarında keratin birikimine bağlı hiperkeratoz gözlenebilmektedir. Tedavi edilmediklerinde ileri evrelerde sekonder enfeksiyonlarla beraber, ülser, verrüköz nodül ve plak şeklini alabilmektedir (Brenn ve ark., 2005; Heeney ve Valli, 1985; Staratigos ve ark., 2015).

2.6.Tümörün Histolojik Özellikleri

Yassı hücreli tümörlerin temel histopatolojisi bazal membran boyunca dermise yayılan atipik keratinositlerin bulunmasıdır. YHK dokusu genellikle iri bir nükleus ve buzlu cam görünümünde eozinofilik sitoplazmalı epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Diskeratotik hücreler, parakeratoz ve hastalık için tipik kabul edilen eozinofilik keratin incileri anormal kornifikasyona işaret eder (Kirkham, 2005). Özellikle stratum bazale ve spinozumda bulunan ve değişim gösteren keratinositlerde kısmen kutuplaşma, karyomegali, nükleer hiperkromazi, büyümüş, belirgin bir veya daha fazla sayıda nükleolus ile bazal keratinositlerde mitozlar sık görülen histolojik bulgulardır. Tümör özellikle uzun süreli ultraviyole ışınlarına maruz kalma sonucu geliştiğinden, bazı vakalarda dermiste elastik ve kollagen iplikciklerin fragmantasyonu ve dejenerasyonu ile beraber solar elastozis de gösterebilmektedir. Neoplastik dokuda adacıklar ve kordlar oluşturan tümör hücreleri sıklıkla dermise ve subkutanöz dokulara invazyon gösterirler. Gerek intrasitoplazmik gerekse keratin fibril materyali olarak görülen neoplastik keratinositler tarafından üretilen keratin incisi miktarı olgularda oldukça değişkendir. Yassı hücreli kanserler iyi diferansiye, orta diferansiye ve kötü diferansiye olarak üç ayrı alt tipe ayrılmaktadır. Tümörün farklılaşma derecesinin belirlenmesinde özellikle keratinleşmenin derecesi önemli rol oynamaktadır. İyi diferansiye yassı hücreli karsinomalarda tümör hücrelerinin büyük kısmı oldukça farklılaşmış, büyük adacıklar ve çok sayıda keratin incileri göstermektedirler. Pleomorfizm minimal düzeyde olup mitoz sayısı yüksektir. Ortokeratotik veya parakeratotik olarak görülen aşırı keratin oluşumu ile karakteristik vakalar genellikle iyi diferansiye olarak kabul edilir. Orta derecede

diferansiye yassı hücreli karsinomalarda iyi diferansiye anaplazi göstermektedir (Brenn ve ark., 2005). Oysaki kötü diferansiye tümörlerde iri adacık oluşumu ve keratin incisi nadiren görülmekte ve sadece az sayıdaki tümör hücresinin sitoplazmasında keratinizasyon gözlenmektedir. Neoplastik keratinositler genellikle oldukça iri, oval yapıda veziküler çekirdek ile çoğunlukla merkeze yerleşen belirgin nükleolus ile bol eozinofilik sitoplazma ve belirgin membrana sahiptirler. İleri diferansiye tümörlerde özellikle hücreler arası yüzeylerde intersellüler desmozomları görmek mümkündür. Tümörde mitotik figür sayısı değişkendir, fakat az diferansiye olmuş tümörlerde daha sık görülebilir. YHK olgularında dermal ve subkutanöz dokulara invazyon dezmoplastik yanıtı uyurabilir. YHK dokularında, neoplastik adacıklar arasında sıklıkla nötrofil lökosit infiltrasyonları görülürken, plazma hücreleri ve lenfositlerden oluşan infiltrasyonlar tümör parankimi etrafındaki destek bağ doku alanlarında daha sık görülmektedir. Tümör dermal ve subkutanöz lenfatiklere invazyon yaptığı gibi nörotropizm de gösterebilmektedir. Kitlenin büyüklüğü ve histolojik farklılığın yanı sıra, tümörde infiltrasyon derinliği de önemli bir faktördür. Primer tümöral invazyon derinliği arttıkça, metastatik yayılım riski de önemli derecede artmaktadır (Brenn ve ark., 2005; Huber, 2010; Stratigos ve ark., 2015).

2.7.Tümörün Histolojik Sınıflandırılması

2.7.1.İn Situ Yassı Hücreli Karsinoma

İn situ yassı hücreli karsinomalar doku içinde sınırlanmakta ve belli bir süre metastaz yapmadan üreyebilmektedir. Histolojik olarak atipik keratinositlerden oluşur. Atipik keratinositler epidermisin altından ilerlemekle birlikte dermise nüfuz etmez. Atipik keratinositler eozinofilik vakuollü sitoplazma ve lamelli keratin incileri ile birleşerek parakeratozları oluşturur. Epidermiste fazla sayıda atipik mitotik figürler ile diskeratotik veya nekrotik keratinositler gözlenebilir. Atipik keratinositlerin çekirdekleri pleomorfik ve genellikle hiperkromatiktir. Tedavi edilmediği zaman invaziv yassı hücreli karsinomaya dönüşme potansiyeli vardır (Huber, 2010; Startigos ve ark., 2015). İn situ yassı hücreli karsinomaların histolojik olarak farklı türleri bulunmakla birlikte genellikle benzer morfolojiye sahiptir, ancak histopatolojik farklılıklar bulunabilir. Zira bu lezyonların ayırt edilmesi önem arz etmektedir. Çünkü iyi tipteki bowenoid papülün daha sonra invaziv büyüme potansiyelli tümörlere dönüşmesi oldukça muhtemeldir (Huber, 2010). Bowen hastalığı ve aktinik keratoz YHK'nın in situ şekli olarak kabul

edilmektedir. Aktinik keratoz epidermiste atipik keratinositlerin proliferasyonu ile karakterize hiperkeratotik lezyonlardır. Eozinofilik, bazen solgun veya vakuollü bir sitoplazmaya sahiptirler. Bowen hastalığı ise akantoliz, hiperkeratoz ve parakeratoz ile karakterizedir. Sayıca artan keratinositler düzensiz olarak bir araya gelmişlerdir. Geniş pleomorfik ve hiperkromatik bir nükleusa sahiptirler (Huber, 2010).

2.7.2.İnvaziv Yassı Hücreli karsinoma

İnvaziv yassı hücreli karsinoma dermal infiltrasyonu olan epitelyal tümöral lezyondur. Histolojik olarak, lezyon epidermal kökenli ve dermise infiltre olmuş çok sayıda atipik keratinizasyon ve interselüler köprülerle karakterize bir görünüme sahiptir. Epitelyal hücreler camsı eozinofilik bir sitoplazmaya sahip olup, büyümüş çekirdeklere sahiptir. Lezyonda bulunan diskeratotik hücreler, parakeratozis ve keratin incisi oluşumları lezyonun malignitesine işarettir (Heeney ve Valli, 1985; Huber,2010; Staratigos ve ark., 2015). İnvaziv yassı hücreli kanserlerin birçoğunda histolojik alt tip belirlenmiştir.

Berrak yassı hücreli kanserlerde sitoplazmik genişleme ve yağ benzeri vakuollerin birikmesi ile tümör hücreleri açık bir görünüme sahiptir. Berrak hücreli karsinomalar hidropik YHK olarak da tanımlanmaktadır. Tümör hücreleri, çekirdeklerin membrana doğru kayması nedeni ile berrak görünür ve yağ hücrelerinden ayırt edilemez. Tümör hücreleri, keratinize, non-keratinize ve pleomorfik olarak üç farklı tipte görülebilmektedir. Keratin incisi oluşumu ile karakterize olan vakalar keratinize tip olarak kabul edilmektedir. Eğer keratin oluşumu yoksa non-keratinize tip olarak kabul edilmektedir. Pleomorfik tipte, belirgin pleomorfizm görülmekte, hücrelerde musin bulunmakta ve tümör hücreleri vasküler ve perinöral bölgelere invazyon göstermektedir (Kuo, 1980; Rinker ve ark., 2001).

İğsi hücreli YHK'larda atipik neoplastik hücrelerin iğsi görünümde olması ile karakterizedir. İğsi hücreli karsinomalar ekzofitik tümör olarak kabul edilir ve normal YHK'nın aksine tümör hücreleri dermise infiltre olmadan yuva veya kordon oluşumu göstermektedir. Dermis ile bağlantısı olabilir ya da olmayabilir. Mitoz ve pleomorfik dev hücreleri de sıklıkla görülebilmektedir. YHK'nın iğsi hücreli alt tiplerinin tümör parankimini çevreleyen stromal dokudan ayırt edilmesi zordur. Neoplastik hücrelerin anti-keratin antikoları ile pozitif boyanması tümörün ayırımında oldukça faydalıdır (Harwood ve ark., 1996; Rinker ve ark., 2001).

Verrüköz tipte, YHK papilloma benzeri proliferasyon ve akantozis göstermektedir. (Johnson ve ark., 1992; Brenn ve ark., 2005). Verrüköz tip YHK'nın düşük dereceli bir varyasyonu olup papiller görünüm ile karakterizedir. Histolojik olarak, ekzofitik proliferasyonlar, fibrovasküler çekirdeklerin nüfuz ettiği büyük papiller üremeler ile stromaya bitişik, koyu bazofilik hücreler görülmektedir. Nükleer atipi ve mitotik figürler kolayca görülebilir (Perez ve ark., 1966; Rinker ve ark., 2001).

Akantolitik YHK'da tümör hücreleri belirgin olarak bozulmuş ve yalancı bez oluşumu göstermektedir. Histolojik olarak belirgin hücre ayrışması ve neoplastik yassı hücreden oluşan adacıkların merkezindeki keratinositler diskeratozis gösterir (Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Adenoid olarak da bilinen akantolitik YHK'da epitelyal proliferasyonlar dermise kadar uzanır. Neoplastik hücrelerden oluşan tümör adacıkları dermise bağlanmaktadır. Akantoliz oluşumu ile karakterize proliferasyonlar hiperkeratoz ve parakeratoz göstermektedir (Nappi ve ark., 1989; Rinker ve ark., 2001).

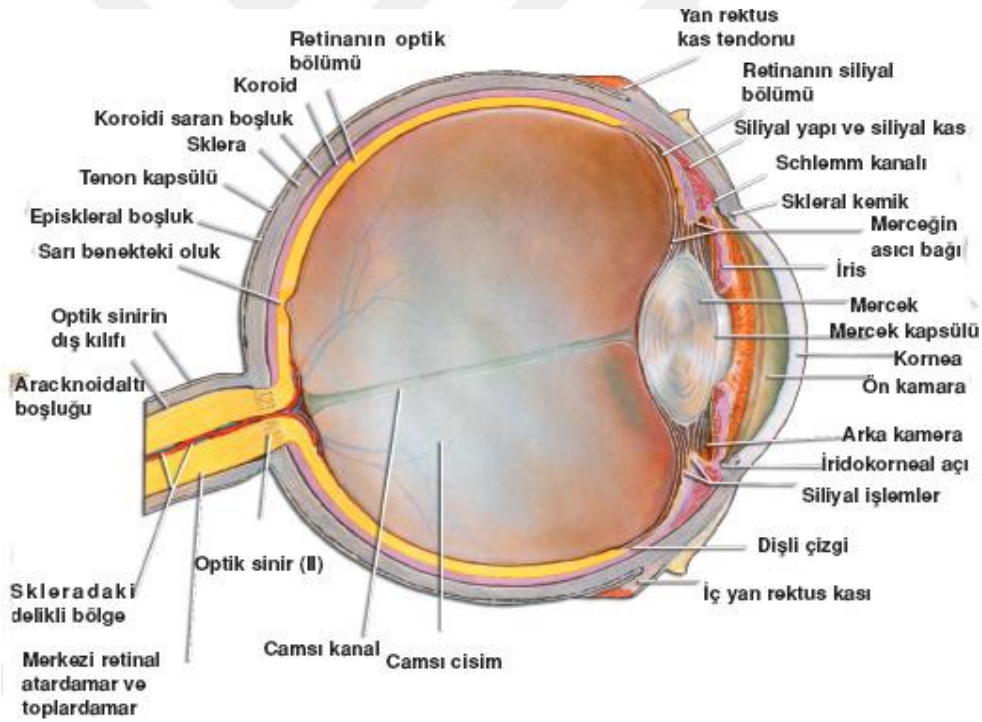
2.8.Gözün Anatomisi

Göz gelişmiş bir yapı olup dışarıdan gelen ışığı lens vasıtasıyla duyarlı hücreler üzerinde odaklayarak renk analizi yapabilen önemli bir organdır. Gözler kafatası içinde koruyucu kemik yapıları olan orbita içerisinde yerleşiktir. İçte görüntüyü odaklayan lens sistemi ile ışığa duyarlı hücre katmanı görüntüyü toplayıp, değerlendiren sinir sisteminden oluşur. Dışta ise dış etkenlerden koruyan göz kapakları ile ona şeklini veren dayanıklı fibröz bir küreden oluşmaktadır. Orbita yağ doku ile çevrili olup bu yağ doku gözün kolay hareket etmesini sağlar. Organ yapısında bulunan kas doku sayesinde hareket kabiliyeti göstermektedir. Çevresinde bulunan gözyaşı bezleri ile sürekli nemli kalması sağlanmaktadır (Dursun, 2000). Göz küresi 3 katmadan oluşmaktadır.

Tunica Fibroza Bulbi: Sklera ve kornea olarak iki kısımdan oluşmaktadır. Sklera; beyaz renkli, damar ve sinir yönünden fakir olup göz küresinin 5/6'sını oluşturur. Skleranın ön bölümü konjunktiva ile örtülüdür, arka bölümünde ise dış yüzü orbitadan vagina bulbiyle kaplıdır. Skleranın iç yüzü choroidea'ya bakar ve spatium perichoroideale ile ayrılmıştır. Kornea ise saydam ve damardan yoksun olup ön yüzüne facies anterior denilmektedir. Göz kapaklarının iç yüzü ile temasta olan bu yüzün en çıkıntılı kısmı verteks kornea, arka yüzeyine facies posterior denilmektedir (Dursun, 2000).

Tunica Vasküloza Bulbi: Damarlardan ve pigmentten zengin olan bu katman önden arkaya doğru choroidea, corpus ciliare ve iris'den oluşmaktadır. Choroidea damar ve pigmentten çok zengin olup skleranın iç yüzeyinde yer alır ve orta serrataya kadar uzanır (Dursun, 2000).

Tunica İnterna Bulbi: En içte bulunan sinirsel katman olup retina ismi verilmektedir. Retinanın dış yüzü choroidea ile iç yüzü ise membrana vitrea ile bağlantılıdır. Retinanın arka bölümünün ortasına yakın, yuvarlağımsı, sarı renkli bir alan görülür. Işığı en iyi alan bölgedir. Bunun dışında kornea ile iris arasındaki boşluk olan camera bulbi ismi verilmektedir. İris ile corpus vitreum arasında bulunan oluşuma ise lens adı verilmektedir (Dursun, 2000).



Şekil 1: Gözün normal anatomik yapısı (Yalvaç, 2014).

2.9.Göz Histolojisi

Göz temel olarak üç katmandan oluşmakta, en dışta tunika fibroza, orta kısımda damardan zengin tunika vasküloza ve en içteki tunika nevroza bulunmaktadır. Bunların dışında gözde lens, gözyaşı bezleri ve göz kapakları yardımcı oluşumlar olarak bulunmaktadır.

Tunica Fibroza: kornea ve skleradan oluşan tabakalar arasında geçiş bölgesi olarak kabul edilen limbus bulunmaktadır. Kornea kendi içinde beş ayrı histolojik katmandan oluşmakta ve yüzeyden derine doğru; çok katlı keratinize olmayan yassı epitel tabaka, Bowman membranı, stroma, Descemet membranı ve korneal endotel bulunmaktadır. Bowman membranı stromanın homojen dış tabakası, stroma ise korneanın büyük bir bölümünü kaplayan fibroblastlar ve az sayıda lenfoid hücreleri içeren, sıkı kollagen bağ dokusundan oluşmaktadır. Sklera gözün beyaz kısmını oluşturur ve üç tabakadan meydana gelir. En dışta kan damarlarını bulandıran episklera; ortada kollagen içeren düzenli sıkı bağ dokusundan oluşan stroma ve en içte fibroblast ve melanositleri içeren gevşek bağ doku yapısında subaraknoid lamina tabakası bulunmaktadır. Limbus; kornea ve sklera sınırında bulunan 1 mm genişliğinde bol miktarda kan damarı içeren tabakadır. Histolojik olarak çok katlı yassı epitelten oluşur. Limbusta tek katlı yassı endotelle döşeli kanallarda trabeküler ağ yapıları bulunmaktadır. Bu trabeküller ağ yapıları birleşerek, Schlemm kanalını oluşturur. Schlemm kanalı, humor aqueos'un dolaşımında rol oynar ve skleradaki aqueos venlere açılarak buradan ise genel vücut dolaşımına katılır. Konjunktiva histolojik olarak stromadan ile çok katlı keratinleşmemiş yassı epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Stromada damar yapıları bulunmaktadır. Episklera lenf ve kan damarlarından zengin olup, limbal stroma ise Descemet membranı ve kornea arka yüz epitelinin inceliği parçalanması ile oluşmuştur (Leslie ve ark., 1990; Malkoç 2006).

Tunica Vasküloza: Düz kaslar içeren pigmentli vasküler bir tabakadır. Koroid membran, siliyer cisim ve iristen oluşmaktadır. Koroid membran; suprakoroid, vasküler, koryokapiller ve camsı membran olarak dört tabakadan oluşur. Suprakoroid tabaka vasküler ve koryokapiller tabakalar büyük damarları ile sadece kapillerleri içermektedir. Camsı membran koroid ile retina arasında olup bazal lamina, kollagen ve elastik liflerden oluşur. Siliyer cisim tunika vaskülozanın orta serrata ve iris arasında yer alan bölgesidir. Siliyer cisim çok sayıda ışınal tarzda düzenlenmiş aköz sıvı oluşturan siliyer uzantılardan oluşmaktadır. Bu uzantılar beraberince siliyer tacı yaparlar ve bu da suspensör

ligamentten lense doğru uzanır. Koroidin vasküler tabakası ve camsı membranı siliyer cisime doğru devam eder. Siliyer cismin iç yüzü siliyer epitelin iç pigmentsiz ve dış pigmentli tabakası ile çevrilidir. İris ön ve arka kamarayı ayırarak, dış çevresi boyunca siliyer cisime tutunur. İrisin ortasındaki açıklık, gözün pupillasını oluşturur. İris üç tabakadan oluşur, en dışta kornea epitelinin devamı tek katlı yassı epitelium tabakası, ortada damarsız ön stroma, çok sayıda melanosit ve fibroblast içeren damarlı olağan stromadan oluşan fibröz tabaka ve arkada pigment epiteli vardır. Pupillanın sfinkter ve dilatör kasları pigment epitelinden köken alan miyoepitelial hücrelerden ibarettir (Leslie ve ark., 1990; Malkoç, 2006).

Tunika Retina: Üç tabakanın en derininde bulunur ve tunika retina, pars iridika, pars siliyaris ve pars optikadan oluşur. Pars optika pigment epiteli, çubuk ve koni hücreleri tabakası, dış sınırlayıcı membran, dış çekirdek tabakası, dış pleksiform tabaka, iç çekirdek tabakası, iç pleksiform tabaka, gangliyon hücre tabakası, optik sinir lifleri tabakası, iç sınırlayıcı membran olarak on tabakadan oluşur. Pars siliyaris ve pars iridika retina tabakaları ise siliyer cisim ve irisin prizmatik ve pigmentli tabakalarından oluşan ince epitelium tabakası haline gelir (Leslie ve ark., 1990; Malkoç 2006).

Lens: Gelen ışınları retina üzerinde odaklamaya yarar. Bazal membran, tek katlı kübik epitel ve modifiye lens fibrillerinden oluşmaktadır (Leslie ve ark., 1990; Malkoç 2006).

Gözyaşı bezleri: Gözün dışında orbitanın üst dış bölgesinde yerleşiktir. Seröz salgı oluşturan birleşik tubulo alveoler bir bez yapısındadır (Leslie ve ark., 1990; Malkoç 2006).

Göz kapakları: Dış yüzeyinde ince deri, iç yüzeyinde mukoza membranı olan konjunktiva ile örtülü, kalın sıkı fibröz bağ dokusundan oluşmuş yapıdır. Tarsal plak göz kapağını korur ve kuvvetlendirir. Tarsal plakla bağlantılı tarsal bezler göz kapağının kenarına yağsı sebum salgısı yapmaktadır. Göz kapağını kontrol eden kaslar göz kapağında bulunmaktadır. Kirpikler ise yağ bezleri arasına yerleşmiştir (Leslie ve ark., 1990; Malkoç 2006).

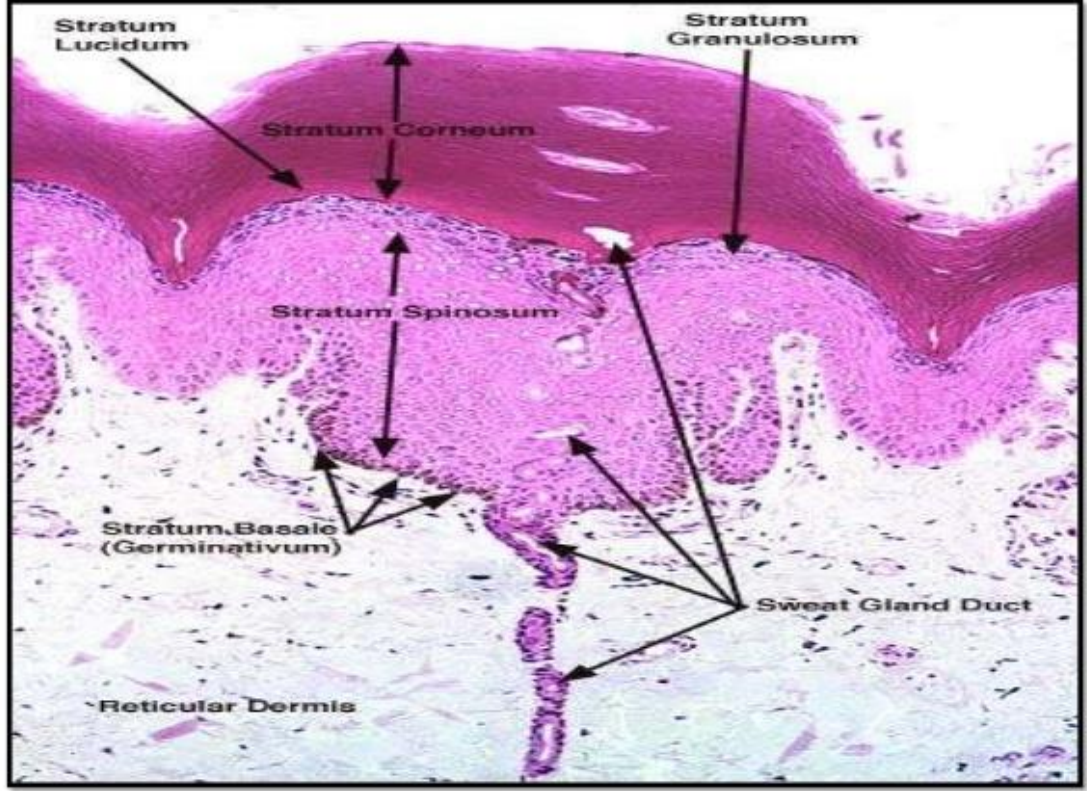
2.10.Deri Histolojisi

Deri vücudun en büyük organı olup, vücudu zararlı etkenlere karşı koruyan doğal bir bariyer olarak fonksiyon yapmaktadır. Aynı zamanda, ultraviyole ve radyasyon gibi zararlı etkenlere karşı vücudu korumak, D vitamini sentezini sağlamak, vücut ısısını düzenlemek ve savunma yapmak gibi önemli görevleri vardır (Taşkın, 2006). Histolojik

olarak epidermis ve dermis olarak adlandırılan iki önemli katmana sahiptir. Epidermis keratinize çok katlı yassı epitelden, altındaki dermis ise özellikle bağ dokusundan oluşur. Epidermis ve dermis bazal membranın bulunduğu bölgede dermal papillalar ile birbirlerine sıkıca bağlanmıştır. Epidermis, en alt tabakadan başlayarak, stratum (str) bazale (germinativ tabaka), str. spinosum, str. granulosum, str. lucidum ve str. corneum olmak üzere beş katmandan ibarettir. Bazal tabaka tek sıralı kübik hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler mitoz yoluyla yenilenmeden sorumlu olup yüzeye doğru itilerek, daha kalın bir tabaka olan str. spinosumu oluşturur. Bu tabaka komşu hücrelerin uzantıları ile desmozomlar oluşturan çok yüzlü, çok sayıda dikensi çıkıntıları (interselüler köprüler) ile tanınan hücrelerden oluşmuştur. Bazal tabaka ve spinosum tabakası genellikle malpighi tabakası olarak da adlandırılmaktadır. Str. spinosumu örten granulozum tabakasındaki hücreler keratohiyalin granülleri ile doludur. Str. lucidum, diğer tabakalara kıyasla daha ince bir tabakadır. Str. granulozum ve corneum arasında ince yarı şeffaf bir tabaka olarak insanlarda görülür. Epiderminin en üst tabakası ölü yapılardan oluşan stratum corneumdur (Philip ve ark., 2005; Taşkın, 2006). Epidermiste keratinositlerin yanı sıra, melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücreleri bulunmaktadır. Keratinositler en fazla bulunan hücreler olup, ektodermden köken alırlar ve keratin üretiminden sorumludur. Krista nöralisten köken alan melanositler melanozom isimli organellerde sentezlenen ve cildi zararlı ultraviyole ışınlarına karşı koruyan melanin pigmentinin yapımından sorumludur. Dendritik uzantılara sahip melanositler, keratinositlerden sonra en fazla bulunan epidermal hücrelerdir. Bazal tabakada keratinositlerin arasında dağılmış olarak bulunurlar ancak kıl folikülleri ile dermiste de bir miktar bulunmaktadır. Langerhans hücreleri genellikle stratum spinosum tabakasında bulunurlar. Kemik iliğinden kaynaklanan bu hücreler immün yanıt oluşmasında antijen sunan hücreler olarak bilinirler. Kökenleri bilinmeyen Merkel hücreleri bazal tabakada keratinositler arasına yerleşmiş olup, görevleri tam olarak bilinmemektedir (Carlos ve ark., 1997; Taşkın, 2006).

Dermis, epidermise sıkıca bağlı mezoderm kökenli bir tabakadır. Altında hipodermise bağlanmasını sağlaştıran tip bir kollagen ve elastik lifler içeren sıkı düzensiz bağ dokusundan oluşmaktadır. Bağ doku arasında kıl folikülleri ile ter ve yağ bezleri bulunmaktadır. Dermis yüzeyde epidermal uzantılarla iç içe giren gevşek örgülü papiller ve retiküler tabakadan oluşur. Papiller ve retiküler tabakalar arasındaki sınır belirgin değildir. Dermal papillalarda, meissner cisimcikleri denilen kapsüllü sinir sonlanmaları

ve damarsız epidermisin beslenmesini sağlayan kapiller halkalar bulunur (George ve ark., 2005; Taşkın, 2006).



Şekil 2: Derinin normal histolojik yapısı (Latha, 2017).

2.11. İmmünohistokimyasal Boyamalarda Kullanılan Spesifik İşaretleyiciler

2.11.1. Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin (HMWCK)

Epitel hücrelerinde bulunan HMWCK bazal hücrelerin sitoplazmalarındaki keratin ve ara filament proteinlerini boyayan bir markırdır. Sitokeratin antikorlarının kullanıldığı immünohistokimyasal tekniklerde bazal hücreler seçici şekilde boyanır ancak sekretorik hücrelerde herhangi bir boyanma izlenmez (Coşkun, 2004; Beşer, 2006). Yassı epitel hücreli karsinomalarda tümör hücreleri yoğun pozitif reaksiyon vermektedir. İdentifikasyonunda zorluk yaşanan ve özellikle hafif diferansiye epitel hücre kökenli tümöral vakalarda ayırıcı tanı için önemli bir belirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Coşkun, 2004; Beşer, 2006).

2.11.2.Sitokeratin 5/6 (CK5/6)

CK5/6 başlıca keratinize ve non-keratinize yassı epitel epitel, prostat bazal hücreleri, tükrük bezi ve meme hücrelerinde üretilen sitoplazmik bir ara filamenttir. Bu markır, yassı epitel hücre karsinomları ve adenoskuamöz karsinomlarda kuvvetli pozitif boyanma verirken, adenokarsinomlarda negatif reaksiyon vermektedir. Yassı epitel hücreli karsinomların identifikasyonunda pozitif işaretleyici olarak kullanılmaktadır (David, 2003; Akpınar, 2010).

2.11.3.Pan-Sitokeratin (PanCK)

AE1/AE3 klon numaraları içermekte ve özellikle epitel hücreleri boyamaktadır. Ayrıca malign tümörlerde epitelyal farklılaşmayı göstermek için kullanılmaktadır. Pan-sitokeratin antikorları normal ve tümör dokularında mezenkimal hücrelerden epitelyal ve mezotelyal hücreleri ayırmada da kullanılmaktadır (Bunton, 1993).

2.11.4. p53

Tümör baskılayıcı protein olarak bilinen p53, genomda mutasyonu önleyerek genomun stabilitesini sağlayan, hasarlı DNA'nın tamir edilmesi için gerekli proteinlerin uyarımı ve apoptoziste rol oynayan önemli bir gen dir (İrwin ve ark., 2001; Batinac ve ark., 2004; Carvalho ve ark., 2005). p53 genindeki mutasyon, normal fonksiyonların kaybı ve kontrol edilemeyen hücre çoğalmasına neden olur. Kanserde en sık değişikliğe uğrayan anahtar gen olarak kabul edilmekte ve tümörlerin yarısından fazlasında p53 mutasyonları görülmektedir. Normal dokularda DNA'ya hasar verici ajanlara yanıt vermek için hızla çoğalan bir fonksiyona sahiptir (Batinac ve ark., 2004). Ancak p53 fonksiyonu genetik değişiklikler ve viral onkoproteinlerle oluşan protein kompleksleri gibi birçok mekanizma ile bozulabilir (Lu ve ark., 1999; İrwin ve ark., 2001; Batinac ve ark., 2004).

2.11.5.Ki-67

Hücre proliferasyonunun değerlendirilmesinde mükemmel bir markır olarak kullanılan nonhiston yapısında nükleer bir protein olan Ki-67 hücre siklusunun aktif olduğu dönemlerde (G1, S, G2, M fazı) salınan nükleer bir proteindir (Carvalho ve ark., 2005; Oran, 2008). Ki-67 tonsil germinal merkez hücrelerinde, epitelyum bazal hücreleri ve intestinal epitelin kript hücreleri gibi proliferatif hücrelerde bulunmaktadır (Oran, 2008).

Birçok meme, akciğer, özefagus, böbrek, prostat, malign melanom, lenfoma gibi tümörlerde yüksek Ki-67 boyanma oranı kötü prognostik faktör olarak kabul edilmiş, ayrıca pre-neoplastik lezyonlarda displastik değişikliklere paralel olarak arttığı açıklanmıştır (Dağıstan, 2002; Batur, 2004; Oran, 2008).

2.11.6.Vimentin

Sitoplazmik intermediate filamentlerin 5 ana tipinden biri olup, tüm mezenkimal embriyonel hücrelerde ilk eksprese edilen tip 3 ara filamenttir. Endotelyal hücreler, fibroblast ve vasküler düz kas hücreleri gibi mezenkimal kökenli hücrelerde bulunur ve bu hücrelerin önemli iskelet yapısını oluşturur (Rosai, 1996; Tosun, 2009). Vimentin spesifik histogenetik tümör diferansiyasyonunu kısmen açıklayacak özellikte olduğu için, ayırıcı tanıda yardımcı markır olarak kullanılmaktadır (Rosai, 1996; Tosun, 2009).

2.11.7.CD3

CD3 T lenfositlere özgü bir yüzey antijeni olup dokulardaki T hücre dağılımını göstermektedir. Normalde CD3 olgun periferel T lenfositlerde hem indükleyici hem de baskılayıcı sitotoksik etkiye sahiptir. İmmünohistokimyasal analizlerde epsilon zinciriyle etkileşime girerek T hücrelerde reaksiyon vermektedir (Beverley, 1981).

2.11.8.CD79 α

CD79 bir transmembran proteini olup B hücre reseptörleri ile kompleks oluşturur ve CD79A ve CD79B olmak üzere iki zincirden meydana gelir. CD79 antijeni B lenfosit reseptör kompleksinin bir kısmını oluşturur ve IgM'nin hücre yüzeyine taşınmasına aracılık etmede rol oynar. Myeloid ve T hücrelerinde bulunmazlar. Bu yüzden B hücre neoplazmlarının tanımlanması için kullanılmaktadır (Milner ve ark., 1996; Astsaturov ve ark., 1996).

2.11.9.Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF α)

TNF α , endotoksin ile karşılaşmış makrofajlar tarafından meydana getirilen güçlü bir biyolojik madde olup kaşektin olarak da bilinir (Suzuki ve ark., 1993; Özoran, 1994). İnflamatuvar mediatörler veya sitokinlerin uyarımı sonucu salınan polipeptit olup birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Bu yüzden enfeksiyon ve neoplastik

olgulardaki etkenlere karşı oluşan inflamasyonların saptanmasında polipeptit mediatör olan TNF α kullanılmaktadır (Yenen, 1990).



3.MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına tanı için sunulan ve arşivlenen 30 sığira ait oküler yassı hücreli kanser olgusu materyal olarak kullanılmıştır. Tümöral kitlelerin alındığı sığırlara ait bilgiler Tablo 1’de verilmiştir. Kitlelerden alınan doku örnekleri histopatolojik incelemeler için %10’luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edilerek rutin yöntemlerle parafin bloklar hazırlanmıştır. Hazırlanan parafin bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin ve eozin ile boyandıktan sonra ışık mikroskobunda incelenmiştir.

3.1.Hematoksilen-Eozin (HE) Boyama Yöntemi

Histolojide rutin olarak kullanılan başlıca boyama tekniği olup, nükleus ve sitoplazma ayrımını yapan ve tıpta tanıda en yaygın kullanılan boya yöntemidir. Parafin bloklardan hazırlanan 4 µm kalınlığındaki kesitler 70 °C’lik etüvde 15 dakika bekletildikten sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirilerek HE boyaması yapılmıştır.

1. Ksilol – 5 Dakika
2. Ksilol – 5 Dakika
3. %100’lük Alkol – 2 Dakika
4. %95’lik Alkol – 1 Dakika
5. %90’lik Alkol – 1 Dakika
6. Distile Suda Yıkama-1 Dakika
7. Hematoksilin -5 dakika
8. Çeşme Suyunda Yıkama – 1 Dakika
9. Asit Alkol (%1’lik) – 15-20 Saniye
10. Distile Suda Yıkama -1 Dakika
11. Amonyaklı Su (%1’lik) – 30 Saniye
12. Distile Suda Yıkama – 2 Dakika
13. Eozin -2-3 Dakika
14. %70’lik Alkol – 1 Dakika
15. %80’lik Alkol – 1 Dakika
16. %95’lik Alkol – 1 Dakika
17. %100’lük Alkol – 1 Dakika
18. Ksilol – 2 Dakika

19. Ksilol – 5 Dakika
20. Ksilol – 5 Dakika
21. Entellan ile kapatma

3.2.İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Histopatolojik incelemeden sonra, tüm OYHK olgularına ait parafin bloklardan poly-l-lysine ile kaplı lamlara alınan kesitler, Avidin-Biotin Peroksidaz Kompleks (ABC) tekniği ile anti-keratin (Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokereatin-HMWCK, Sitokeratin 5/6, Pan-sitokeratin), p53, Ki-67, Vimentin, CD3, CD79 α y, Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α) için hazırlanan ticari antikorlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan primer antikorlara ait klon numaraları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları Tablo 2’de verilmiştir.

Poly-l-lysine ile kaplı lamlara alınan kesitler sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabii tutulmuştur.

1. Etüvlenmiş kesitler üç ayrı temiz ksilolde 5’er dakika deparafinize edildi
2. Dereceli alkol serisinde (%100, %96, %90, %80, %70’lik) 5’er dakika rehidrasyon yapıldı
3. Distile suda bir dakika bekletildi
4. 3 ayrı temiz Triss-Buffered-Saline (TBS, pH. 7.6) 5’er dakika bekletildi.
5. Hidrojen peroksit solüsyonunda (H₂O₂) (%3) 20 dakika inkübe edilerek endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi
6. Distile suda 5 dakika yıkandı
7. Daha sonra kesitler citrat buffer solüsyonunda (pH, 6.0) 10 dakika kaynatılarak antijenlerin açığa çıkartılması sağlandı ve 20 dakika soğumaya bırakıldı
8. TBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı
9. Kesitler W block solüsyonunda 20 dakika bekletildi ve yıkama yapılmadan üretici firmaların önerdiği şekilde primer antikorlarla oda ısısında (30 dakika) veya bir gece buzdolabında 4°C de inkübe edildi
10. TBS ile 10 dakika yıkandı
11. Biotin solüsyonu (link 2) damlatıldı, 20 dakika inkübe edildi
12. TBS ile 10 dakika yıkandı
13. Strepteavidin solüsyonu (link 3) damlatıldı ve 20 dakika inkübe edildi

14. TBS ile 10 dakika yıkandı
15. Kromojen (3,3'-diaminobenzidine (DAB) ve 3-amino-9-ethylcarbazole) damlatılarak 10 dakika inkübe edildi
16. Distile su ile 10 dakika yıkandı
17. Mayer's hematoksilende 3-5 dakika tutuldu
18. Çeşme suyunda 5 dakika yıkandı
19. DAB kullanılan kesitler dereceli alkol ve ksilol serisinden geçirilerek temizlendi.
20. DAB kullanılan kesitler entellan ile yapıştırıldı
21. AEC ile inkübe edilen kesitler alkol ve ksilolden geçirilmeden özel şeffaf yapıştırıcı ile kapatıldı.



4.BULGULAR

4.1.Makroskobik Bulgular

Çalışma kapsamında tedavi amaçlı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesine sunulan OYHK'li sığırların anamnezinde genellikle hayvanların göz kapaklarında önce kabartı olduğu ve devamında küçük doku üremelerinin (Resim 1) geliştiği, zaman içerisinde lezyonların hızla büyüdüğü, kanama, gözyaşı akıntısı, görmede güçlük görüldüğü ve bunların verimde azalmaya neden olduğu öğrenildi. Çalışmada, OYHK tespit edilen tüm sığırların dişi olduğu belirlendi. Sığırların 24'ünün Simental, üçünün Simental melezi, ikisinin yerli ve birisinin holstein ırkı olduğu saptandı. OYHK saptanan sığırlarda yaş aralığının genellikle 4-7 arasında değiştiği ancak iki vakada tümörün daha genç yaşta olduğu belirlendi. Kitlelerin sıklıkla göz kapaklarında geliştiği ve gözün tamamen tahribatına neden olabilen büyüklüklere ulaştığı görüldü (Resim 2). Kitlelerin mercimek büyüklüğünden yaklaşık yumurta büyüklüğüne kadar değiştiği, yüzeylerinin kanamalı (Resim 3), ülseratif ve bazı vakalarda irinli olduğu gözlemlendi. Kitlelerin, 11 sığırdaki sol gözde, 14'ünde ise sağ gözde olduğu, özellikle göz kapakları, konjunktivalar ve üçüncü göz kapaklarından kaynaklandığı belirlendi. Kitlelerin sekiz sığırdaki alt göz kapağında geliştiği, yedi vakada tüm göz bölgesine yayılan ve gözün deformasyonuna neden olan iri kitleler halinde olduğu, beş vakada üçüncü göz kapağında, dört vakada üst göz kapağında iki vakada konjunktivada olduğu tespit edildi. Küçük kitlelerin genellikle oval yapıda, özellikle iri ve yaklaşık 5-6 cm büyüklüğüne ulaşan kitlelerin karnabahar görünümünde, çoğunlukla yüzeysel kanamalar gösteren ve yer yer üzerleri mukopurulent akıntı ile kaplı olduğu görüldü. Kitlelerin sıklıkla tüm göze yayılması nedeniyle göze baskı oluşturularak gözün tamamen deformasyonu ve atrofisine neden olduğu saptandı. Atrofik gözlerde purulent panoftalmi ve sıklıkla göz çevresindeki dokularda yangısal ödem olduğu belirlendi. Kesime sevk edilen iki vakada kafanın nekropsisi yapılmış ve kitlelerin karnabahar görünümünde, solid yapıda, orbita ve çevresine yayıldığı belirlenmiştir (Resim 4,5). Gözünde kitle bulunan sığırlardan alınan total biyopsi örneklerinde kitlelerin bazen nekrozlu oldukları izlendi (Resim 6).

Yassı hücreli kanser teşhis edilen görme fonksiyonu etkilenmeyen sığırlarda tümöral kitleler çevre kas dokusu ve eklenti bezleri ile birlikte rutin cerrahi yöntemle total olarak ekstirpe edilerek tedavileri yapıldı. Çevre dokularında yangı ve purulent panoftalmi gibi lezyonlar için hayvanlara antibiyotik tedavisi uygulandı. Ancak bazı vakalarda göz

küresine yayılan, gözün deformasyonu ve atrofisine neden olan kitle bulunan sığırların ise damızlık değeri yok ise genellikle kesime sevk edildiler. Ancak kesime sunulan sığırlarda, hayvan sahiplerinin kesim zamanını hayvan hastanesi veya Patoloji Anabilim Dalına bildirmemeleri nedeni ile tümörlerin bölgesel lenf düğümleri veya diğer dokulara metastaz yapıp yapmadıkları değerlendirilememiştir.

4.2.Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirmelerde çalışma kapsamındaki olguların invaziv oküler yassı hücreli karsinoma olduğu belirlendi. İnvaziv OYHK'larda neoplastik odakların merkezinde hastalık için tanısal özellik taşıyan ve iyi diferansiyasyon için önemli bir gösterge olarak kabul edilen değişen büyüklük ve sayıda keratin incileri tespit edildi. Neoplastik proliferasyonların epidermisten kaynaklandığı, dermis ve subkutise invazyon yapmış lobüler veya papiller keratinosit proliferasyonları halinde olduğu görüldü (Resim 7). Keratin incilerinin tipik olarak eozinofilik görünümde ve çoğunlukla iğsi görünüme sahip parakeratotik hücrelerden oluşan lamellasyon yapıları olduğu belirlendi. OYHK olgularında neoplastik hücrelerin genellikle oldukça iri, oval veya poligonal şekilli hiperkromatik çekirdek ile çoğunlukla sayıları 2-3 arasında değişen çekirdeciğe sahip oldukları belirlendi. Tümör hücre çekirdekçiklerin pembemsi görünümde, oval ve değişen büyüklüklerde olduğu, yer yer çekirdek membranlarının açık olarak kalınlaştığı saptandı. İyi diferansiye tümöral kitlelerde tümör hücrelerinin belirgin şekilde morfolojik benzerlik gösterdikleri saptandı. Tümöral dokunun iyi diferansiye olduğu olgularda hafif anaplazi, tümör hücrelerinin sitoplazmik membranlarında desmozomlar, tipik histolojik bulgu olarak hemen tüm neoplastik odaklarda çok sayıda eozinofilik lamellasyonlu keratin incileri ve iri adacık oluşumları tespit edildi (Resim 8). Buna karşın kötü diferansiye OYHK olgularında en belirgin özellik olarak çok az veya tipik lamellasyon göstermeyen keratin incisi oluşumları belirlendi (Resim 9). Tümöral odaklarda neoplastik hücrelerin belirgin olarak nükleer pleomorfizm gösterdikleri, iyi diferansiye olgularda olduğu gibi belirgin iri adacık oluşturmadıkları ve sıklıkla tubuler yapıda proliferasyon gösterdikleri saptandı (Resim 10). Ayrıca, tümör hücrelerinde çok sayıda anormal mitozlar, anizonükleozis ve anizositozis dikkati çekti. Tümöral proliferasyonlarda nekroz alanları, yaygın kanamalar, ödem ve fibröz bağ doku artışları görüldü. Orta diferansiye olarak değerlendirilen olgularda ise tümör adacıklarının daha küçük ve keratin incilerinin az olduğu görüldü. Tümöral dokularda neoplastik proliferasyonlar arasındaki destek dokuda

yaygın yangısal hücre infiltrasyonunun bulunduğu ve infiltratif hücrelerin baskın olarak lenfosit ve plazma hücrelerinden oluştuğu görüldü (Resim 11). Neoplastik dokularda sık nekrozlar ve kanama ile tümöral proliferasyonlarda damarlarda yaygın trombüs görüldü. Şiddetli nekroz, kanama ve yoğun bakteri kümeleri arasında sadece keratin incilerinin bulunduğu görüldü. Neoplastik odaklarda bazı tümör hücrelerinde çekirdek kromatinlerinin tanecikler halinde sitoplazmaya dağıldığı, anormal mitoz görünümünde oldukları ve yer yer boya alma yeteneklerini kaybetmeleri nedeniyle silindikleri gözlemlendi. OYHK olgularında genellikle adacık oluşturan tümör hücrelerinin bazı vakalarda papiller biçimde proliferasyon yaptıkları (Resim 12), keratin incilerinin oluşmadığı ve şiddetli lenfoid hücre infiltrasyonları arasında veziküler sitoplazmaya sahip oldukça iri çekirdekli tümör hücrelerinin bulunduğu görüldü. Bu olgularda özellikle tümöral destek dokunun zayıf olmasına karşın yangısal infiltratın çok şiddetli ve yaygın olması nedeni ile neoplastik odakların infiltratif hücreler arasında adacıklar halinde ve güçlkle seçilebildikleri dikkati çekti. Yine bazı olgularda şiddetli kanamalar (Resim 13) ve buna bağlı olarak oluşan kahverengimsi hemosiderin pigmentasyonları saptandı. Bazı olgularda neoplastik proliferasyonlarda çok sayıda anormal büyüklükte tümör hücre çekirdekleri, tümör tipi dev hücreler ve anormal mitozlar görüldü (Resim 14).

Berrak hücre varyantlı OYHK olarak değerlendirilen olgularda neoplastik dokularda tümör hücrelerinin belirgin biçimde açık vakuoler bir sitoplazmaya sahip oldukları ve hidropik dejenerasyon benzeri bir görünüm sergiledikleri dikkati çekti (Resim 15). Tümör hücre proliferasyonlarının sıklıkla subkutanöz kas dokusuna invazyon gösterdiği, kas demetleri arasında fokal üremeler olduğu, bu nedenle kas hücrelerinin nekrotik ve silindikleri tespit edildi (Resim 16). Tümör hücre sitoplazmalarının değişen büyüklükte olmakla beraber sitoplazmanın genişlediği ve berrak ya da bazılarında pembemsi granüller halinde olduğu saptandı, Normal deride str. spinozum tabakası keratinositlerinde açık olarak görülen dezmozomların berrak hücreli karsinoma olgularında çoğunlukla silindikleri belirlendi. Hücre çekirdeklerinin yaygın olarak hiperkromatik, değişen büyüklüklerde oval veya poligonal morfolojili oldukları dikkati çekti. Bazı hücrelerde çekirdek kromatininin membran sınırında toplanması nedeniyle oldukça kalınlaştığı gözlemlendi. Bazı olgularda ise tümör hücrelerinin veziküler çekirdeğe sahip olduğu, sitoplazmalara benzer şekilde vakuoler ve çekirdekçiğin yüzer durumda olduğu görüldü. Özellikle sitoplazmaları aşırı sıvı ile dolu olan tümör hücrelerinde çekirdeklerin koilosit benzeri düzensiz, yassılaştı, küçük ve sitoplazmada yüzer

konumda veya perifere itildiği dikkati çekti. Çekirdekciik sayı ve büyüklüğünün değişmesiyle beraber genellikle 2-3 adet olduğu görüldü. Bu neoplastik odaklarda çok sayıda ve değişik şekilli diskeratotik hücrenin varlığı görüldü. Diskeratotik tümör hücrelerinde sitoplazmanın oldukça geniş, eozinofilik görünümlü ve çekirdeklerinin piknotik oldukları tespit edildi (Resim 17). Diskeratotik hücrelerde yine nükleusların sitoplazmaya dağılmış, oldukça parçalı ve hiperkromazik oldukları dikkati çekti. Tümör adacıklarının ortasında şekillenmiş olan keratin incilerinin genellikle parçalı çekirdekli ve eozinofilik sitoplazmalı nekrotik hücrelerden oluştuğu dikkati çekti. Bazı olgularda keratin incilerinin kalsifiye oldukları, mor renkte boyandıkları ve parçalandıkları görüldü (Resim 18). Tümör adacıklarında en dıştaki neoplastik hücrelerin sitoplazmaları daha bazofilik olmasına rağmen, adacıkların merkezine doğru gidildikçe sitoplazmik eozinofilinin belirgin olarak arttığı görüldü. Özellikle keratin incileri çevresinde ilk hattı oluşturan tümör hücrelerinde sitoplazmanın lif benzeri eozinofilik amorf materyalle (tonofibril) dolduğu, sitoplazmik membranın açık olarak ayırt edildiği ve yer yer keratin incisine yakın hücrelerde sitoplazmik vakuol artışı tespit edildi. Berrak hücreli karsinoma olgularında da, kitlelerinin yüzeyinde yara oluşumları, şiddetli kanama ve ödem görüldü. Nekrotik alanlar etrafında granülasyon dokusunun yaygın ve kapillarizasyon oluştuğu, tümör parankimine yayıldığı, neoplastik dokunun nekroze olduğu ve gelişen granülasyon dokusu ile çevrelendiği tespit edildi. Özellikle nekroz bulunan tümör dokularında yaygın nötrofilik eksudasyon belirlendi. Şiddetli yangısal reaksiyon oluşan alanlarda artan hücre infiltrasyonu, granülasyon dokusu ve nekroz nedeni ile az sayıda hücreden oluşan tümöral odaklar güçlükle seçilebildi (Resim 19). Ayrıca tümöral destek doku ve nekrotik bölgelerde kalsifikasyon görüldü. Bazı berrak hücreli karsinoma olgularında tümör hücrelerinin tubul benzeri proliferasyonu olduğu, lümenin çoğunlukla boş ya da az sayıda hiperkeratotik hücre bulunduğu görüldü. Bu tip olgularda tümör hücrelerinin kötü diferensiyasyon gösterdiği ve keratin incilerinin oluşmadığı gözlemlendi. Bazı olgularda tümör hücrelerinin oldukça iri (yakaşık 3-4 nükleus büyüklüğünde) çekirdeğe sahip oldukları belirlendi. Diğer OYHK olgularında olduğu gibi, berrak hücre varyantlı tümör adacıklarında lenfoplazmasiter infiltrasyonlar ile birlikte bağ dokusu artışı ve dev hücreleri görüldü. İki olguda tümöral kitlede, nekrotik değişiklikler olmamakla beraber, tümör destek dokusunda lenfositik seriden hücrelerin yanı sıra, diffüz eozinofil lökosit infiltrasyonu görüldü. Özellikle şiddetli sitoplazmik vakuolizasyon gösteren olgularda tümör hücrelerinin subkutan kas demetlerine invazyon gösterdiği, kas hücrelerinin normal struktürünü kaybettiği, nekroze oldukları ve yaygın tümör hücre proliferasyonları

arasında tek tük hiyalinize kas hücreleri kaldığı tespit edildi. Bu olgularda tümör hücre proliferasyonlarının genellikle tubul oluşturacak şekilde tek sıralı olarak düzensiz bir şekilde çoğalma gösterdikleri görüldü. Özellikle berrak hücre varyantlı karsinom olgularında diskeratotik hücre sayısını arttığı ve sitoplazmik vakuolizasyonun özellikle bu hücrelerde olduğu dikkati çekti. Bu tip tümör varyantlarında yangısal infiltratın çok şiddetli olduğu ve gerek tümöral proliferasyonları gerekse kas hücreleri arasında oldukça şiddetli olduğu görüldü. Kas doku invazyonun yanı sıra tümör hücrelerinin damar çeperlerine invazyon gösterdikleri, damar çeperlerini nekroze ettikleri ve bu nedenle damar çevresinde kanamalar olduğu görüldü. Damar lümeninde eritrositler arasında tümör hücre embolisi oluşturduğu tespit edildi (Resim 20). OYHK vakalarında neoplastik proliferasyonların özellikle dermal ve subkutanöz gelişmesine ilaveten, bazı berrak hücreli karsinomalarda proliferasyonların epidermiste spinozum tabakasında küçük adacıklar şeklinde geliştiği ve dermise yayıldığı dikkati çekti. Epidermal tabakada akantozis, çok sayıda düzensiz çekirdekli ve açık sitoplazmalı koilositler, dermisin derinliklerine kadar uzayan rete peg oluşumları ve şiddetli kanamalar belirlendi. OYHK'larda mitoz sayıları Tablo 3 de verilmiştir.

4.3.İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1.Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin (HMWCK) Boyama Sonuçları

İmmün boyamada destek doku ile çevrili lobuler proliferasyon gösteren neoplastik odaklarda tümör hücrelerinin HMWCK şiddetli sitoplazmik pozitif reaksiyonu görüldü (Resim 21). İmmün boyamalar ile tümöral alanlarda neoplastik hücrelerin şiddetli sitoplazmik pozitif olduğu ancak destek dokunun tamamen negatif olduğu görüldü. İmmün reaksiyon ürünlerinin tümör hücre sitoplazmasında ince granüler tarzda görülmesiyle birlikte, perinükleer alanlarda boyanma şiddetinin daha yoğun olduğu dikkati çekti. HMWCK ile yapılan boyamalarda geniş neoplastik odakların yanı sıra, destek bağ dokusu (Resim 22), nekrotik doku alanları ve şiddetli yangısal infiltrasyonla maskelenmiş bölgelerde az sayıda tümör hücresinden oluşan odaklar HMWCK pozitif boyanma sayesinde açık olarak belirlendiler (Resim 23). Özellikle invaziv berrak hücre varyantlı OYHK olgularında sadece birkaç hücreden oluşan ve kas dokusuna invazyon yaparak proliferen olan neoplastik hücreler HMWCK immün pozitif reaksiyon sayesinde açık olarak tanımlanabilirler (Resim 24). Keratin incilerinde merkezden periferine doğru genişleyen lameller yapılarında ve periferinde pozitif reaksiyonu görüldü. Destek dokuda

ve infiltratif yangı hücrelerinde herhangi bir reaksiyon görülmedi. Normal epidermal tabakalarda ve dermiste kıl folliküllerinde yassı epitel hücrelerinde de HMWCK reaksiyon görülmekle beraber, pozitif boyanmanın tümör hücrelerine kıyasla daha zayıf olduğu gözlemlendi. Tümör hücrelerinin yanı sıra çevrede bulunan normal bez epitellerinin de HMWCK için sitoplazmik pozitif reaksiyonları görüldü. Berrak hücre varyantlı OYHK olgularında HMWCK immün pozitif reaksiyonun neoplastik hücrelerin vakuollü kısımlarının çevresinde olduğu, HE boyamalarda olduğu gibi immün boyamada da berrak görünümlü tümör hücrelerinin ayırt edilebildiği dikkati çekti. Yine bazı olgularda HMWCK pozitif reaksiyonun damar lümenlerinde bulunan tümör hücre embolilerinde de oluşması tümör hücre embolilerini açık olarak teyit etti.

4.3.2.Sitokeratin 5/6 (CK5/6) Boyama Sonuçları

Tüm neoplastik hücrelerin CK5/6 için şiddetli sitoplazmik pozitif oldukları görüldü (Resim 25). Tümör hücreleri dışında kıl folliküllerinin çevresindeki yassı epitel hücrelerinde de sitoplazmik pozitif reaksiyon görüldü. Tümör hücrelerinde immün reaksiyonun açık olarak perinükleer bölgede olduğu, infiltratif hücrelerin ise negatif oldukları görüldü. Özellikle berrak hücre varyantlı OYHK olgularında vakuoler sitoplazmaya sahip tümör hücrelerinin kas dokuya invazyon yaptıkları ve dolayısıyla kas hücreleri arasına infiltre olmuş neoplastik hücrelerin CK5/6 immüno pozitif reaksiyonu ile kolayca tespit edilebilecekleri belirlendi (Resim 26). Neoplastik hücrelerde olduğu gibi, keratin incilerinin yoğun pozitif reaksiyon gösterdikleri, ayrıca bireysel diskeratotik hücrelerin de neoplastik doku içerisinde şiddetli sitoplazmik pozitif oldukları görüldü. İmmün reaksiyonun ürünlerinin sitoplazmada ince granüller halinde olduğu ancak çekirdek etrafında diğer sitoplazmik alanlara kıyasla daha şiddetli olduğu görüldü. Berrak hücre varyantlı OYHK olgularında sitoplazmik vakuolizasyon nedeni ile immün reaksiyonun sitoplazmik membranda olduğu belirlendi. Hem tümöral destek bağ doku hem de nekroz ve infiltratif yangı hücreleri arasında HE boyama ile tespit edilmeyen az sayıdaki tümör hücreleri CK5/6 immün reaksiyon sayesinde kolayca tespit edildi (Resim 27). Özellikle berrak hücreli tümörlerde infiltratif hücreler arasında tubul şeklinde çoğalan açık sitoplazmalı tümör hücreleri CK5/6 boyaması ile kolayca ayırt edildi. Normal epidermiste CK5/6 immün reaksiyonun özellikle malpigi hücre tabakasında kuvvetli pozitif olduğu, buna karşın üst tabakalarda ise reaksiyonun daha zayıf şekillendiği gözlemlendi. Bu markırın tümör hücrelerini spesifik boyaması nedeniyle non-

neoplastik dokularda invaziv tümör hücrelerinin saptanmasında oldukça önemli olduğu sonucuna varıldı.

4.3.3.Pan-Sitokeratin (PanCK) Boyama Sonuçları

Yapılan PanCK boyamada tüm OYHK dokularında tümör hücrelerinin şiddetli sitoplazmik pozitif reaksiyonu görüldü (Resim 28). Özellikle neoplastik odaklarda diskeratotik hücrelerde tümör hücrelerine kıyasla daha yoğun boyanma olduğu dikkati çekti. HMWCK ve CK5/6 markırlarında olduğu gibi, tüm neoplastik proliferasyonların PanCK ile pozitif boyandıkları ve buna bağlı olarak hem tümöral destek doku hem de yangısal infiltrasyonlar arasında kolayca neoplastik alanların ortaya konulabileceğini gösterdi. Tümöral dokunun yanı sıra, epidermal hücrelerde PanCK pozitif boyanma belirlendi. Özellikle stratum spinosumda tüm keratinsitlerin pozitif reaksiyonuna rağmen hücreler arasında dezmozomların negatif reaksiyonu dikkati çekti. Ancak dermal bağ dokusu, tümör destek dokusu ve yangısal infiltrasyonlarda herhangi bir pozitif boyanma görülmedi. Tümöral proliferasyonlarda boyanmanın tamamen sitoplazmik olduğu, nükleusun boyanmadığı, immün reaksiyonun oldukça spesifik ve sadece epitel doku ile sınırlandığı görüldü. Yine, diğer anti-keratin markırlarla yapılan boyamalarda olduğu gibi, destek dokusu veya yangısal infiltrasyon arasında az sayıda tümör hücresinden oluşan ve HE boyama ile identifikasyonu zor olan neoplastik dokular spesifik ve yoğun PanCK reaksiyon ile kolayca tespit edildi (Resim 29). Kas doku invazivli berrak hücreli OYHK olgularında tubuler yapıda proliferen küçük tümör adacıklarında neoplastik hücrelerin özellikle hücre membranına yakın sitoplazmik kısımlarda boyanmanın yoğun olduğu ve sitoplazmik vakuollerin kolayca ayırt edildiği dikkati çekti (Resim 30). PanCK ile keratin incilerinde de belirgin immün pozitif reaksiyon oluştuğu ancak tümör hücrelerine kıyasla boyanmanın daha zayıf olduğu belirlendi. Nekroz alanlarında tümör hücrelerinin, diğer neoplastik dokulardan farklı olarak, lobüler yapı oluşturmadığı, immün pozitif hücrelerin genellikle bireysel ve düzensiz oldukları ve reaksiyonun daha zayıf olduğu gözlemlendi. Normal ve neoplastik keratinsitlere ilaveten bez epitellerinde immün pozitif reaksiyonu saptandı.

4.3.4.p53 Boyama Sonuçları

Çalışma tüm OYHK olgularında tümöral proliferasyonlarda açık nükleer p53 immün pozitif reaksiyon görüldü (Resim 31). Neoplastik hücrelerde reaksiyonun tamamen

çekirdekte olduğu ve sitoplazmik boyanmanın olmadığı belirlendi. p53 immün pozitif reaksiyon ürünlerinin kaba granüler olduğu ve boyanma yoğunluğunun tümör hücreleri arasında değiştiği gözlemlendi. p53 boyamada tümör adacıklarında neoplastik hücrelerin genellikle keratin incisi etrafında sıralandıkları; keratin incisi bulunmayan odaklarda hücrelerin bezsel tarzda proliferasyon yaptıkları ve lümeninde yer yer papiller üremelerin olduğu görüldü. Özellikle HE boyamada yangısal infiltratif hücreler ve yaygın destek bağ dokusu arasında güçlükle seçilebilen az sayıdaki tümör hücresinden oluşan neoplastik odaklar p53 pozitif boyanma ile kolayca tespit edildiler. p53 immün pozitif reaksiyonun neoplastik adacıklarda hemen hemen tüm tümör hücrelerinde oluşması ile birlikte, özellikle adacıkların en dışında sıralı tümör hücrelerinde açık olarak daha şiddetli olduğu dikkati çekti (Resim 32). Neoplastik odaklarda mitoz evresindeki tüm tümör hücrelerinde reaksiyon oluşmasına karşın keratin incilerinde boyanmanın olmadığı gözlemlendi. Neoplastik odaklar çevresinde infiltratif yangı hücreleri ve bağ doku elementleri ve kas hücrelerinde reaksiyon oluşmadığı ancak kas dokusuna invazyon gösteren sınırlı sayıdaki tümör hücrelerinin p53 pozitif oldukları görüldü (Resim 33). Tümör hücrelerinin epidermal keratinositlerden köken almasına karşın normal epidermal tabakalarda herhangi bir hücrede reaksiyon oluşmadığı tespit edildi. Oysaki hem epidermisten bazal membranı bozarak dermise invazyon gösteren hem de neoplastik transformasyon gösteren keratinositlerin p53 pozitif reaksiyonu tespit edildi.

4.3.5.Ki-67 Boyama Sonuçları

Tüm neoplastik dokularda tümör hücrelerinin Ki-67 antikoruna karşı yaygın nükleer pozitif oldukları tespit edildi (Resim 34). Sadece nükleusta oluşan immün pozitif reaksiyonun özellikle keratin incilerini çevreleyen neoplastik proliferasyonlarda periferik hücrelerde daha yoğun olduğu dikkati çekti (Resim 35). Ki-67 immün reaksiyonun özellikle keratin incisi oluşmayan neoplastik odaklarda yaygın pozitif reaksiyonu gözlenmekle beraber, anormal mitoz ve telofaz evresinde birçok tümör hücresinin de nükleer pozitif olduğu görüldü. HE boyamada tümöral odaklarda kromatin taneciklerinin sitoplazmaya dağılması ile karakterize olan ve mitoz ya da apoptoz olarak değerlendirilen bazı hücrelerde Ki-67 pozitif reaksiyon görülmesi bunların anormal mitozlar olduğunu teyit etti. Yine bazı olgularda neoplastik odaklarda normal çekirdeklerin yaklaşık 3-4 katı büyüklüğündeki hücrelerin de yaygın Ki-67 pozitif oldukları belirlendi. Özellikle neoplastik proliferasyonlarda henüz hücre bölünmesinin başlamadığı, sadece kromatin

yoğunlaşması veya kromatinin düzensiz şekilde dağıldığı tümör hücre çekirdeklerinde yoğun Ki-67 pozitif reaksiyon görüldü. Neoplastik odakların yanı sıra tümöral destek dokusu ve yangısal infiltrasyon odaklarında da bazı hücrelerin Ki-67 için nükleer pozitif oldukları dikkati çekti. Bu hücrelerin olasılıkla infiltratif lenfositler ve fibroblastlar olabileceği düşünüldü.

4.3.6.Vimentin Boyama Sonuçları

Neoplastik odakları oluşturan tümör adacıkları arasında destek bağ dokusunun vimentin şiddetli pozitif olduğu görüldü. İmmün reaksiyonun özellikle fibroblast ve fibrositlerin sitoplazmasında geliştiği ve bu nedenle destek dokuda işsi görünüme sahip bağ doku hücrelerinin oldukça yoğun bulunduğu gözlemlendi. Tümöral destek dokusunda damar endotelleri başta olmak üzere, mezenkimal kökenli tüm hücrelerin sitoplazmik vimentin pozitif reaksiyon gösterdiği böylece kapiller damarların kolayca ayırt edilebildiği tespit edildi. Ancak neoplastik odaklarda ne keratin incileri ne de tümör hücrelerinde herhangi bir pozitif reaksiyonun oluşmadığı görüldü. Bununla birlikte bazı neoplastik proliferasyonlarda tek tük hücrelerin vimentin pozitif reaksiyon vermesi, bunların muhtemelen mezenkimal kökenli hücre olabileceğine işaret etti. Hem tümöral odakları çevreleyen hem de neoplastik hücreleri birbirinden ayıran ve HE boyamada kolayca seçilemeyen ince destek bağ dokusu vimentin pozitif reaksiyon ile açık olarak tespit edildi (Resim 36). Vimentin pozitif reaksiyon ile berrak hücre varyantlı OYHK vakalarında subkutanöz kas dokusuna invazyon gösteren neoplastik odaklarda destek dokusu içerisinde kan damarları ve fibroblastik dokunun yaygın sitoplazmik pozitif reaksiyon görüldü (Resim 37). Ancak tümör odaklarında yangı hücrelerinde herhangi bir pozitif reaksiyon oluşmamasına karşın bunlar arasında da az sayıda hücrenin pozitif olduğu görüldü. Dermal papillalarda vimentin pozitif reaksiyon oluşurken büyük çaplı arterlerde medial tabakada düz kas hücrelerinde negatif reaksiyon görüldü. Ayrıca tümör dokusunda oluşan nekrozlara karşı gelişen genç bağ dokusunda çok sayıda kapiller damar endotelinin vimentin pozitif reaksiyonu ile buralarda gelişen genç granülasyon dokusu ortaya konuldu.

4.3.7.CD3 Boyama Sonuçları

Histopatolojik olarak yangısal infiltrasyonların görüldüğü OYHK olgularında, gerek tümöral destek dokusu gerekse neoplastik proliferasyonların oluşturduğu tümör

lopçuklarında şiddetli CD3⁺ T lenfosit infiltrasyonu görüldü (Resim 38). T lenfosit infiltrasyonu ve boyanma yoğunluğunun olgular arasında değişmesi ile birlikte, immün reaksiyonun tümör olgularında spesifik ve yaygın olduğu gözlemlendi. İmmün boyama sonuçlarına dayanılarak CD3⁺T lenfositlerin baskın infiltratif yangı hücresi olduğu ve nekroz şekillenmeyen tümöral adacıklarda da tümöral proliferasyonlar arasına infiltre oldukları belirlendi (Resim 39). CD3⁺ T hücre infiltrasyonlarının hem skuamöz hem de berrak hücreli OYHK olgularında yaygın olduğu ancak infiltrasyon yoğunluğunun tümör alt varyantları arasında bir farklılık oluşturmadığı tespit edildi. İnfiltratif T lenfosit artışlarının genellikle tümör parankiminde diffüz olarak geliştiği, tümör destek dokusu ve non-neoplastik alanlarda yer yer germinal merkezli lenfoid folliküller oluşturduğu saptandı. Tümör hücreleri arasına infiltre olan CD3⁺ T lenfositlerin keratin incileri içerisinde bulunmadığı dikkati çekti. T hücre infiltrasyonların dermal bağ doku elementlerinin yanı sıra, epidermal tabakalar arasına da sıkça infiltre olduğu izlendi.

4.3.8.CD79 α cy Boyama Sonuçları

Lenfoid hücre infiltrasyonunu karakterize etmek için kullanılan CD79 α cy boyamalarına dayanılarak, HE boyamalarda tümöral dokuya yayılmış yangısal hücrelerin baskın biçimde lenfoid hücrelerden oluştuğu görüldü. Dolayısıyla B lenfositleri karakterize eden CD79 α cy boyaması, T hücrelere kıyasla, OYHK dokularında yangısal infiltratın daha az oranda B lenfosit içerdiğini teyid etmiştir (Resim 40). CD79 α cy⁺ B lenfositlerin özellikle tümöral destek dokuya yerleştiği, kısmen de tümör hücre proliferasyonları arasına infiltre olduğu gözlemlendi. Pozitif immün reaksiyonun B hücrelerin membranlarında ince linear tarzda oluştuğu (Resim 41), ayrıca B hücrelerine ilaveten yangısal infiltratta plazma hücrelerinin de CD79 α cy sitoplazmik pozitif reaksiyon verdiği saptandı. Tümöral dokularda lenfosit infiltrasyonların diffuz olmalarının yanı sıra, bazı olgularda lenfoid folikülü oluşturdukları görüldü. Lenfoid folliküller infiltrasyonlarda CD79 α cy⁺ B hücrelerin daha çok orta bölgelerde yoğunlaştığı dikkati çekti. Lenfoid hücre infiltrasyonlarına ilaveten, damarların medya tabakalarında düz kas hücrelerinin de CD79 α cy pozitif reaksiyon verdiği dikkati çekmiştir.

4.3.9.Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) Boyama Sonuçları

Neoplastik adacıklarda tümör nekroz faktörünün tümör hücreleri tarafından oluşturulan adacıklarda değişen oranlarda salgılandığı görüldü (Resim 42). İmmün reaksiyonun

tümör hücrelerinin sitoplazmasında oluştuğu ve bazı tümör hücrelerinde boyanmanın zayıf olduğu görülürken diğer bazılarında şiddetli reaksiyon oluştuğu belirlendi. Tümör lopcuklarında tüm neoplastik hücrelerin pozitif boyanmadığı, lopcuklarda özellikle periferik tümör hücrelerinde pozitifliğin çok şiddetli olduğu görüldü (Resim 43). Bazı olgularda keratin incilerini çevreleyen tümör hücrelerinde yoğun immün reaksiyon gelişmesine karşın, keratin incilerinde herhangi bir boyanmanın oluşmadığı açık olarak saptandı. Anti-keratin antikorlarla yapılan boyamalarda olduğu gibi, berrak hücreli OYHK'larda tubuler proliferasyon gösteren tümör hücrelerinde sitoplazmik membran sınırında reaksiyon oluştuğu ve berrak sitoplazmanın rahatlıkla ayırt edilebileceği dikkati çekti (Resim 44). Berrak hücreli OYHK vakalarında sitoplazmik vakuolizasyonun henüz tamamlanmadığı tümör hücrelerinde pozitif boyanma ile sitoplazmanın adeta kalburumsu bir görünüm kazandığı gözlemlendi. Tümör hücrelerine ilaveten immün pozitif reaksiyonun sıklıkla destek bağ dokusu ve infiltratif yangısal hücrelerde de geliştiği görüldü. Bunlara ilaveten, epidermal tabaka keratinositleri ile dermiste kıl follikül ve bez epitelleri de pozitif reaksiyon gösterdi.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Oküler yassı hücreli kanserler, sığırlarda en yaygın epitelyal kökenli kanser tipi olup, keratinositlerin neoplastik hücrelere farklılaşması ile gelişmektedir. Sığır OYHK özellikle göz kapaklarında gelişen bir deri kanseri olarak kabul edilmekte (Khodaram ve ark., 2013; Pugliese ve ark., 2014; Gautam ve ark., 2016; Wilcock ve Njaa, 2016; Fornazari ve ark., 2017; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017) ve özellikle gözün limbusu, 3. göz kapağı, alt ve üst göz kapakları ve mukokutanöz sınırdır oluşmaktadır (Bier ve ark., 1979; Heeney ve Valli, 1985; Vala ve ark., 2001; Wilcock ve Njaa, 2016; Fornazari ve ark., 2017; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). OYHK prekürsör lezyon olarak başlamakta ve bu lezyonlardan sadece yarısı 4. evre olan kanserlere dönüşmektedir (Heeney ve Valli, 1985; Hill ve ark., 2006; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017). Hastalığın ortaya çıkmasında predispoze faktörler olduğu, bunlar arasında kalıtsal faktörlerin kısmen etkili olmasının yanı sıra bazı sığır ırklarında daha sık görüldüğü ileri sürülmüştür (Bier ve ark., 1979; DPI, 2004; Grahn, 2019). Hastalığın en çok Hereford, Friesian ve Simental ırklarında oluştuğu ileri sürülmüştür (Heeney ve Valli, 1985; Radostits ve ark., 2000; Taş ve ark., 2009; Sağlıyan ve ark., 2010; Gautam ve ark., 2016; Wilcock ve Njaa, 2016; Fornazari ve ark., 2017; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017; Grahn, 2019). Hastalığın sık görüldüğü bu ırklarda deri ve gözlerde melanin pigmentinin yetersiz olduğu bildirilmiş, pigment yetersizliği olmayan Angus gibi ırklarda ise görülmediği açıklanmıştır. Zira gözlerinin çevresinde yetersiz pigment bulunan ırkların OYHK'a duyarlı oldukları; lezyonun genellikle gözlerin pigmentless bölgelerinde başladığı ve daha sonra pigmentli bölgelere yayıldığı belirtilmiştir. (Heeney ve Valli, 1985; Hill ve ark., 2006; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017).

Hastalığın oluşmasında ırk duyarlılığının yanı sıra, uzun süreli güneşe maruz kalma, tümörün geliştiği dokularda melanin yetmezliği ve bu bölgelerde yetersiz kıl bulunması en önemli etiyolojik faktörler olarak belirlenmiştir (Russell ve ark., 1976; Hill ve ark., 2006; Foster, 2007; Taş ve ark., 2009; Sağlıyan ve ark., 2010; Ceylan ve ark., 2012; Pugliese ve ark., 2014; Goldschmidtve Goldschmidt, 2017; Grahn, 2019). Ancak hastalığın oluşmasında özellikle uzun süreli ultraviyole ışınlarına maruz kalmanın en önemli sebep olduğu açıklanmış ve tümör gelişim yerlerinde güneşe bağlı dermatit görülmesi ile bu hipotez desteklenmiştir (Bier ve ark., 1979; Vala ve ark., 2001; Carvalho ve ark., 2005; Hill ve ark., 2006; Foster, 2007; Taş ve ark., 2009; Ceylan ve ark., 2012;

Wilcock ve Njaa, 2016; Grahn, 2019). Zira yüksek rakımlarda yetiştirilen duyarlı sığır ırklarının güneşe maruz kalmasında hastalık riskinin arttığı, deride pigmentsiz alanların oluştuğu; benzer mekanizmaların vulvar yassı hücreli kanserlerin oluşmasında da etkili olduğu açıklanmıştır (Capen, 2002; Grahn, 2019). Bunlara ilaveten, papilloma virusların prekanseröz lezyonlardan sık izole edildiği (Carvalho ve ark., 2005; Pugliese ve ark., 2014), fakat ileri virolojik yöntemler kullanılarak yapılan araştırmalarda tümör oluşması ve papilloma viruslar arasında doğrudan bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (Fornazari ve ark., 2017). Bu çalışmada papilloma virusların OYHK oluşmasında muhtemel rolüne yönelik herhangi bir değerlendirilme yapılmamıştır. Ancak, farklı hayvan türleri ve insanlarda derinin YHK'larında papilloma virusların tümörle birlikte bulunduğu ayrıca kadınlarda serviks tümörlerinde HPV-16,18'in primer rol oynadıkları saptanmıştır (Khodakaram ve ark., 2013).

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi, OYHK oluşmasında ileri yaş önemli bir faktördür. Bugüne kadar yayımlanan OYHK çalışmalarında, yaşla beraber sığırlarda hastalık riskinin arttığı, 3 yaş altındakilerde az görüldüğü ve 4-9 yaş aralığındaki sığırlarda sık görüldüğü bildirilmiştir (Russell ve ark., 1976; Heeney ve Valli, 1985; Radostits ve ark., 2000; Vala ve ark., 2001; Hill ve ark., 2006; Gharagozlu ve ark., 2007; Ceylan ve ark., 2012; Khodakaram ve ark., 2013; Pugliese ve ark., 2014; Gautam ve ark., 2016; Fornazari ve ark., 2017). Benzer şekilde, çalışmamızda OYHK belirlenen sığırların 4-7 arasında ve tüm olguların dişi olduğu saptanmış; 24 sığırın Simental, üçünün Simental melezi, ikisinin yerli ve birisinin Holştayn ırkı olduğu belirlenmiş, daha önce yayımlanan çalışmalarla (Gharagozlu ve ark., 2007) paralellik gözlenmiştir. Benzer şekilde ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda (Sağlıyan ve ark., 2010; Ceylan ve ark., 2012) da OYHK vakalarının önemli bir kısmını Simental ve Holştayn ırkı ineklerin oluşturduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada (Heeney ve Valli, 1985) OYHK için erkek ve dişi hayvanların eşit oranda duyarlı olduğu, ancak erkek sığırlarda hastalığın daha az görülmesinin erken yaşta kesime sevk edilmelerine bağlı olabileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızda OYHK'lı sığırların göz çevresinde küçük kabartı ile başlayan, hızlı gelişim gösteren, gözyaşı akıntısı, görmede güçlük ve verimde azalmaya neden olan tümör kitlelerinin sıklıkla göz kapaklarında geliştiği ve gözün tahribatına neden olabilen büyüklüklere ulaştığı görülmüştür. OYHK'lı sığırlarda tümörlerin nodüler veya karnabahar manzarasında ve farklı ebatlarda olmakla beraber, 1-2 mm'den 9 cm

büyüklüğüne kadar ulaştıkları, bazılarının kolayca parçalanabilen, göz kapakları veya konjunktiva ile bağlantılı, gözyaşı ve irin akıntısı ile kanama ve ülserasyona eğimli oldukları bildirilmiştir (Gharazoglou ve ark., 2007; Taş ve ark., 2009; Ceylan ve ark., 2012; Pugliese ve ark., 2014; Gautam ve ark., 2016; Yakan ve ark., 2017). Çalışmamızda tümörlerin benzer özelliklerde olduğu, kitlelerin 11 sığırdan 14'ünde sağ gözde geliştiği görülmüştür. Kitlelerin 7 sığırdan tüm orbitaya yayılarak gözün deformasyonuna neden olduğu, 8 sığırdan alt göz kapağı, 5 vakada üçüncü göz kapağı, 4 vakada üst göz kapağı ve 2 vakada ise konjunktivada olduğu tespit edilmiştir. Ceylan ve ark. (2012) OYHK'lı 15 sığırdan 10'unda tümörün sağ gözde, 5 sığırdan ise sol gözde görüldüğünü; bir başka çalışmada (Gharazoglou ve ark., 2007) ise her iki gözün de hemen hemen aynı oranda etkilendiği bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda (Heeney ve Valli, 1984; Taş ve ark., 2009; Ceylan ve ark., 2012; Fornazari ve ark., 2017) OYHK'nın baskın olarak 3. göz veya göz küresinde gelişebileceği, kitlelerin prekürsör lezyonlardan ibaret olduğu ve bunlardan az bir kısmının kansere dönüştüğü belirtilmiştir. Ayrıca diğer bazı çalışmalarda (Gharazoglou ve ark., 2007; Fornazari ve ark., 2017) ise OYHK lezyonlarının %70 oranında 3. göz kapağı ile alt ve üst göz kapakları konjunktivasında geliştiğini; 32 olgunun 12 sinde tümörün non-invaziv, 18 vakada ise invaziv YHK olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda OYHK lezyonlarının tümünün invaziv tipte olduğu ancak vakaların genellikle geç dönemde sunulması nedeni ile prekürsör lezyonların bulunmadığı belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda (Heeney ve Valli, 1985; Misdorp ve ark., 1985; Vala ve ark., 2001; Fornazari ve ark., 2017) prekanseröz lezyonların baskın olarak 3. göz kaynaklı olduğu, bunu gözün limbusu, korneası ve göz kapaklarının izlediğini açıklanmıştır.

Mikroskopik olarak, tümörlerin değişen derecelerde diferensiyasyon gösteren neoplastik keratinositlerin meydana getirdiği adacıklar, kordlar ve trabekülalardan oluştuğu görülmüştür. Önceki çalışmalarda (Gharazoglou ve ark., 2007; Taş ve ark., 2009; Devi ve ark., 2010; Oliveira ve ark., 2011; Ceylan ve ark., 2012; Gautam ve ark., 2016; Tiwari ve ark., 2016; Vara ve ark., 2016; Yakan ve ark., 2017) OYHK olgularında bildirildiği gibi, tümöral proliferasyonların merkezinde lamellasyonlu keratin incileri ile diskeratotik hücreler, neoplastik hücrelerde çekirdekciği sayısı ve büyüklüğünde artış, çok sayıda mitoz, yangısal infiltrasyon ve değişen derecelerde dezmoplazi bildirilmiştir. Bu çalışmada da, neoplastik hücrelerin bazal membranı bozarak dermise ve özellikle subkutanöz dokulara invazyon yaparak kas hücrelerinde nekroza yol açtığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda (Vala ve ark., 2001; Capen, 2002; Carvalho ve ark., 2005; Goldenberg ve ark., 2010;

Khodaram ve ark., 2013; Pugliese ve ark., 2014) tümör hücreleri tarafından üretilen keratin incisi miktarının oldukça değişken olduğu ve bunun tümör diferensiyasyonu ile doğrudan ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Zira invaziv YHK'lerde keratin incisi oluşumları iyi diferansiyasyon için gösterge olarak kabul edilirken (Kwan ve Mihm, 1979; Capen, 2002), kötü diferansiye YHK'lerde çok az keratin incisi oluştuğu, tümör hücresinde sitoplazmik tonofibrillerin bulunduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla, diferensiyasyon belirlenmesinde esas kriter olarak iri keratin incisi ve adacık oluşması ile pleomorfizm dikkate alındığında 30 olgudan 11'inin iyi, 14'ünün kötü ve 5 olgunun ise orta diferansiye OYHK oldukları sonucuna varılmıştır. Her ne kadar çalışmamızda in situ karsinoma lezyonu görülmemekle birlikte, Gharazoglou ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada 32 vakanın 12'sinde in situ karsinoma, 18'inde ise invaziv OYHK belirlemişler, bulgularımıza benzer biçimde, tümörlerde keratin incisi oluşumları, prematüre keratinizasyon, nükleer pleomorfizm, iri nükleus ve nükleolus sayısında artış bildirmişlerdir. Ancak, her ne kadar Gharazoglou ve ark. (2007) tarafından kötü diferansiye OYHK'larda kerten incisi bildirilmekle birlikte, bir çok yazar (Kircher ve ark.,1974; Capen,2002; Khodaram ve ark., 2013; Wilcock ve Njaa, 2016; Vara ve ark., 2016) kötü diferansiye YHK vakalarında keratin incisi oluşmadığı veya sınırlı görüldüğünü bildirmiştir. Özellikle çalışmamızda berrak hücre varyantlı OYHK vakalarında tümör hücrelerinin subkutanöz kas dokusuna invazyon gösterdikleri, kas hücrelerini nekroze ettiği ve küçük tümör hücre grupları arasında eozinofilik hiyalini düzensiz yapılar halinde kaldıkları saptanmıştır. Bazı yazarlar (Kwan ve Martin, 1979; Capen, 2002) subkutanöz dokulara invazyonun dezmoplastik yanıtı uyarabileceği, tümörün invaziv sınırının neurotropizme yol açabileceği ve subkutanöz lenfatikleri invaze edebileceğine işaret etmişlerdir. Çalışmamızda diferansiyasyon farklılığı olmaksızın tüm olgularda yüksek mitotik indeks saptanmış (ortalama mitoz oranı; 2.6-10.6), mitozun dört evresini gösteren çok sayıda mitotik figürün açık olarak Ki-67 nükleer pozitif oldukları görülmüştür. Yine HE boyamalarda tümör hücrelerinin sitoplazmasında dağınık kromatin taneciklerinin Ki-67 pozitif reaksiyon göstermesi, OYHK'da anormal mitoz oluşmasına bağlanmıştır. Ancak neoplastik dokuda oluşan yangısal reaksiyonun şiddeti, tümör invazyonu ve anaplastik özellikleri arasında bir paralellik olmadığı görülmüştür. Bulgularımıza paralel olarak, bazı yazarlar (Misdorp ve ark., 1985; Fornazari ve ark., 2017) OYHK'da mitozun yüksek, ancak invazyon ve diferansiyasyonun düşük olduğunu açıklamışlardır.

Çalışmamızda sıklıkla tümöral kitlelerin yüzeysel kısımlarında nekroz, kanama ve ülserasyon ile birlikte yaygın nötrofilik infiltrasyon ve bazı olgularda eozinofil lökosit artışları görülmüştür. Benzer sekonder lezyonlar diğer çalışmalarda (Gharazoglou ve ark., 2007; Taş ve ark., 2009; Devi ve ark., 2010) da gözlenmiş ve tümör invazyonun lenfoplazmositik infiltrasyon ve bazen eozinofilik artışla birlikte olduğu açıklanmıştır. Özellikle tüm invaziv OYHK dokularında sabit bir bulgu olarak gözlenen lenfoplazmositer hücre artışının muhtemelen konjunktivitise bağlı çevresel faktörler ve parazit larvalarına ilgili olabileceği (Fornazari ve ark., 2017), tümörün normal bir komponenti olduğu ve iyi diferansiye YHK'lerde daha şiddetli olduğu açıklanmıştır (Masuda ve ark., 2010). Ayrıca bazı araştırmacılar (Hill ve ark., 2006; Masuda ve ark., 2010; Wilcock ve Njaa, 2016; Yakan ve ark., 2017) OYHK'da özellikle lenfoplazmositler infiltrasyonun tümör antijenlerine karşı konakçıda gelişen hücre immüniteyi işaret ettiğini, bu tip yangısal reaksiyonların olasılıkla pre-kanseröz lezyonların regrese olmasında önemli olduğunu belirtmişlerdir. Grahn (2019) da invaziv tümör hücrelerince uyarılan lenfoplazmositik infiltrasyonun fibroblastik proliferasyonu uyarabileceğini ileri sürmüştür. Yine çalışmamızda bazı vakalarda görülen ve Masuda ve ark. (2010) tarafından YHK'larda bildirilen eozinofilik infiltrasyon, insan baş ve boyun YHK'lerinde prognoz ile ilişkilendirilmiş ve T hücreleri veya tümör hücreleri tarafından salınan eozinofilik kemotaktik faktör salınımına yorumlanmıştır.

Memelilerde farklı hücelere ait karakteristik özelliklerin belirlenmesi için özellikle ara filamentler önemli bir yere sahiptir. Transforme olmuş keratinositler tarafından salınan yüksek molekül ağırlıklı keratinler hemen tüm epitel hücre grupları için önemli ara filamentler olup, kimyasal bileşimi, hücre farklılaşma evreleri, hücre tipi ve hastalık durumuna göre değişim göstermektedir (Grace ve ark., 1985; El-Mohamady ve ark., 1991; Velden ve ark., 1997; Sassi ve ark., 2008; Frohwitter ve ark., 2016). Özellikle epitel hücre tiplerinden kaynaklanan karsinomalar için karakteristik olan farklı sitokeratin polipeptitleri tümörlerin ayırıcı tanısı ve prognozu açısından önemli markırlar olarak tanımlanmıştır (Grace ve ark., 1985; El-Mohamady ve ark., 1991; Vala ve ark., 2001; Sassi ve ark., 2008; Masuda ve ark., 2010; Frohwitter ve ark., 2016). Çalışmamızda OYHK olgularında tümör hücrelerinin identifikasyonu için kesitler, literatürde (Niku ve ark., 2006; Sassi ve ark., 2008; Frohwitter ve ark., 2016; Ramos-Vara ve Borst, 2017; Goldschmidt ve Goldschmidt, 2017) yassı epitel hücreleri için en uygun anti-keratin markırlar olarak belirlenen, HMWCK, sitokeratin 5/6 ve PanCK ile boyanmış, markırlara

karşı tümör hücrelerinin sitoplazmasında diferansiyasyon farklılığı gözetilmeksizin benzer ve şiddetli immün pozitif reaksiyon saptanmıştır. Geniş neoplastik odakların yanı sıra, destek bağ dokusu, yaygın nekroz alanları ve yangısal infiltrasyonlar nedeni ile HE boyamda saptanması güç olan az sayıda tümör hücresinden oluşan neoplaziler keratin markırları sayesinde rahatlıkla tespit edilebilmişlerdir. Özellikle kas hücreleri arasına infiltrasyon gösteren berrak hücreli invaziv OYHK vakalarında neoplastik keratinositler pozitif immün reaksiyon ile kolayca saptanmıştır. Çalışmada OYHK olgularının metastaz potansiyeli değerlendirilememekle birlikte; tümöral odaklarda yer yer damar lümenlerinde markırlara için pozitif bulunan tümör hücre embolileri, bazı çalışmalarda da (Kircher ve ark.,1974; Heeney ve Valli, 1985; Misdorp ve ark., 1985; Gharagozlu ve ark., 2007; Grahn, 2019) belirtildiği gibi, OYHK'ın metastaz yapma potansiyelini ortaya koymuştur. Çalışmamızda elde edilen verilere paralel olarak, diğer araştırmalarda (Vala ve ark., 2001; Devi ve ark., 2010) diferansiyasyon durumuna bakılmaksızın OYHK olgularında keratin markırlarına karşı pozitif immün reaksiyon elde edildiği bildirilmiştir. Yine sonuçlarımıza uygun olarak, sığır (Kiani ve ark., 2010; Masuda ve ark., 2010) ve köpeklerde (Sassi ve ark., 2008) deri YHK'larında neoplastik hücrelerde PanCK immün pozitif reaksiyon saptanmış ve özellikle küçük tümör odaklarının pozitif boyanma sayesinde kolayca identifiye edilebildiği açıklanmıştır.

Hem insan hekimliği hem de veteriner hekimlikte, hücre proliferasyonları ve bunların tümör patogenezisindeki rolünün araştırılması gittikçe önem kazanmaktadır. Bu durum bilimsel araştırmalarda hücre proliferasyonu ve siklus markırlarının değerini arttırmış, tümör baskılama proteini p53 ve Ki-67 yaygın olarak kullanılmıştır (Coulter ve ark., 1995; Mosunic 2003; Carvalho ve ark., 2005; Azarabad ve ark., 2011; Fornazari ve ark., 2017). Çalışmamızda neoplastik keratinositlerin belirgin p53 immün pozitif reaksiyonu tespit edilerek OYHK'da ilgili gendeki mutasyon doğrulanmıştır. p53 proteini negatif transkripsiyon faktör olarak görev yapar ve DNA hasarından sonra salınımı artar. Bu nedenle immünohistokimyasal olarak aşırı ekspresyonu malignite için önemli bir gösterge olarak kabul edilir (Mosunic 2003). p53 immün boyama ile hem epidermal tabakada neoplastik transformasyon gösteren keratinositler, hem de bazal membranı bozarak dermal invazyon gösteren neoplastik hücrelerin çekirdeklerinde immün pozitif bulunmuştur. İmmün reaksiyon tümör adacıklarının oluşturan hücrelerde yaygın görülmekle birlikte, tümör adacıklarının periferal kısımlarındaki hücrelerde daha şiddetli olduğu dikkati çekmiştir. Sonuçlarımıza uygun olarak, invaziv OYHK'lı sığırlar (Teifke

ve L hr, 1996; Carvalho ve ark., 2005; Fornazari ve ark., 2017) ile insanların cilt YHK'lerinde (Coulter ve ark., 1995) p53 ekspresyonunun tümör adacıklarında dış tabakadaki hücrelerde yoğun olduğu; epitel hücrelerinde p53 gen mutasyonunda ultraviole ışınları, karsinogenik kimyasallar ve papilloma virusların etkili olabileceği açıklanmıştır. Yine Sironi ve ark. (1999) da değişik hayvan türlerinin iyi diferansiye OYHK vakalarında p53 immün reaksiyonunun özellikle tümör adacıklarında periferik neoplastik hücrelerde olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, sığırların oküler (Sironi ve ark., 1999; Carvalho ve ark., 2005; Azarabad ve ark., 2011) ve vaginal (Oliveira ve ark., 2011) YHK'lerinde neoplastik keratinositlerin yaygın nükleer p53 pozitif oldukları açıklanmıştır. Bir diğer araştırmada (Teifke ve L hr, 1996) ise tümör hücrelerinin % 23 oranında p53 pozitif olduğu, bunun gen mutasyonundan kaynaklandığı ve p53 geninin ultraviole ışınlarının hedefi olduğunu gösterebileceği belirtilmiştir. Bazı yazarlar (Smith ve ark., 2003; Oliveira ve ark., 2011) tümör hücrelerinde p53 aktivasyonundan sonra asıl hücresel yanıtın, hücre siklusunun düzenlenmesi, DNA onarımı ve apoptozisin uyarılmasını kapsadığı, ayrıca DNA mutasyonunu müteakip p53' n hücre siklusunu durdurabileceği ve DNA hasarını onarabileceği ifade edilmiştir. p53 mutasyonu ile ilgili birçok durumda bu proteininin modifikasyon göstereceği ve tümör hücresindeki birikimi nedeniyle immünohistokimyasal olarak tespit edilebileceği bildirilmiştir (Teifke ve L hr, 1996).

Prolifere hücrelerin nükleer matriksinden salınan Ki-67, hücre siklusunun tüm aktif dönemlerinde bulunan ancak hücrenin istirahat döneminde saptanamayan nükleer protein olup malignite değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Carvalho ve ark., 2005). Dolayısıyla hücre popülasyonunda proliferasyon indeksini ortaya koymak için Ki-67 m kemmел bir markır olarak kabul edilmektedir (Birner ve ark., 2001; Mosunic 2003; Carvalho ve ark., 2005; Azarabad ve ark., 2011). Bu çalışmada tüm OYHK olgularında tümör hücrelerinin Ki-67 nükleer pozitif oldukları açık olarak görülmüştür. Keratin incisi bulunmayan neoplastik proliferasyonlarda kısmen yoğun pozitif reaksiyon olduğu, anormal mitoz veya telofaz evresindeki birçok tümör hücresinin de nükleer pozitif olduğu saptanmıştır. HE boyamalarda bazı tümör hücrelerinin sitoplazmasında dağılmış olarak görülen kromatin taneciklerinin Ki-67 pozitif reaksiyon göstermesi bunların anormal mitozlar olabileceğine yorumlanmıştır. Tümöral dokunun yanı sıra, destek doku ve yangısal infiltratta Ki-67 pozitif reaksiyon görülmüş, bunlar lenfoid hücreler ile stromayı oluşturan fibroblastlar olarak değerlendirilmiştir. Bazı yazarlar (Azarabad ve ark., 2011;

Carvalho ve ark., 2011) OYHK'larda Ki-67 pozitif hücre indeksinin tümöral dokunun histolojik diferansiyasyonu ile ilişkili ve kötü diferansiye vakalarda Ki-67 pozitif hücre sayısının yüksek olduğunu bildirmekle birlikte; Pugliese ve ark. (2014) kötü diferansiye vakalardada mitoz sayısının düşük olduğunu açıklamamıştır. Çalışmamızda vakaların ağırlıklı olarak kötü diferansiye invaziv OYHK olduğu, mitoz sayısının ortalama 7.6 olduğu belirlenmiş; proliferasyon göstergesi olarak kabul edilen Ki-67 boyama sonuçlarının genel literatür verileri ile uyumu görülmüştür.

Vimentin sitoplazmik ara filamentlerden olup mezenkimal kökenli hücrelerin identifikasyonu için kullanılan önemli bir markıdır. Çalışmamızda başta bağ doku elementleri olmak üzere, endotelial hücreler ve vasküler düz kas hücreleri gibi neoplaziyi çevreleyen ve dezmoplazi olarak tanımlanan destek bağ doku unsurlarının vimentin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Mezenkimal kökenli damar endotellerinin vimentin sitoplazmik pozitif reaksiyonu sayesinde proliferatif kapiller damarlar kolayca identifiye edilmiştir. Özellikle neoplastik proliferasyonlar arasında HE boyama ile görülemeyen sınırlı dezmoplastik doku vimentin pozitif reaksiyon ile kolayca belirlenmiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak, sığır üst sindirim kanalı YHK'ları (Masuda ve ark., 2010) ile koyun (Perez ve ark., 1997) OYHK'larında tümöral dokuyu çevreleyen dezmoplazinin vimentin pozitif olduğu, reaksiyonun özellikle iyi diferansiye olgularda şiddetli olduğu bildirilmiş, destek dokunun esasen neoplastik proliferasyonu sınırlama yanıtı olduğu ileri sürülmüştür. Benzer şekilde Sassi ve ark. (2008) da köpek deri YHK'larında destek dokuda vimentin pozitif reaksiyon saptanmış ancak tümör parankiminin negatif olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda tümör hücreleri ve yangısal infiltratta vimentine karşı reaksiyon oluşmaması ile birlikte, infiltratif hücreler arasında az sayıda iğsi hücrede pozitif reaksiyon saptanmış ve yeni gelişen bağ dokuya yorumlanmıştır. Ayrıca, çalışmamızda nekrotik alanlarında granülasyon dokusundaki kapiller damar endotellerinde görülen vimentin pozitif reaksiyon ile kapiller filizler kolayca ayırt edilmiştir.

Memeli hayvanlarda YHK'nın yüksek antijenik özelliğe sahip olduğu, invaziv sığır OYHK ile (Hamir ve ark., 1980), koyun (Perez ve ark., 1997), at (Perez ve ark., 1999a) ve kedi (Perez ve ark., 1999b) YHK'larında peritümöral yangısal reaksiyona neden olan infiltratın baskın T lenfosit içeren mononükleer hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir. Çalışmamızda OYHK'larda yangısal infiltrat, T ve B lenfosit fenotipleri için değerlendirilmiş, hem destek dokusu hem de neoplastik odaklarda şiddetli CD3⁺ T

lenfosit infiltrasyonu saptanmıştır. Dolayısıyla peritümöral reaksiyonlarda T lenfositlerin baskın yangı hücresi olduğu ve tümöral dokularda nekrotik değişiklikler olmaksızın neoplastik dokulara infiltre oldukları görülmüştür. CD3⁺ T hücre artışının hem invaziv skuamöz hücreli hem de berrak hücre varyantlı OYHK'larda yaygın olduğu ancak infiltrasyonun şiddeti açısından farklı diferansiyasyon gösteren olgular arasında belirgin bir farklılık oluşmadığı dikkati çekmiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak, at (Perez ve ark., 1999a) ve kedilerin (1999b) değişik vücut bölgelerinde görülen YHK'larında yangısal infiltratın özellikle CD3⁺T hücrelerden oluştuğu; yangısal infiltrat, tümör invazyonu ve diferansiyasyon derecesi arasında bir paralellik olmadığı ve tümöre karşı oluşan yangısal yanıtın invazyon ve metastazı engellemediği belirtilmiştir. Çalışmada B lenfosit identifikasyonu için kullanılan CD79^{acy} monoklonal antikoru infiltratif hücreler arasında az sayıda CD79^{acy}⁺ B lenfosit ve plazma hücresi bulunduğunu ortaya koymuş, ancak T lenfositlere kıyasla oldukça sınırlı sayıda olduğu saptanmıştır. Bulgularımıza paralel olarak, yine YHK'li koyunlarda (Perez ve ark., 1997), atlarda (Perez ve ark., 1999a) ve kedilerde (Perez ve ark., 1999b) tümöral dokularda yangısal infiltratta az sayıda CD79^{acy}⁺ B lenfosit ve plazma hücresinin bulunduğu ve plazmositlerin yoğun reaksiyon gösterdiği belirtilmiş, iyi diferansiye tümörlerde infiltrasyonun daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Özellikle yangısal reaksiyonlarda immün cevap oluşmasında önemli bir sitokin olan TNF α için bu çalışmada tümör hücrelerinde değişen oranlarda immün pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Literatürde, sığır OYHK veya diğer vücut bölgelerinde oluşan YHK'larda TNF α salınımının araştırılmadığı, sadece kedilerin oral YHK'lerinde incelendiği ve 32 kediden 4'ünde TNF α pozitif reaksiyon görüldüğü bildirilmiştir (Martin ve ark., 2010). Çalışmamızda sitoplazmik TNF α pozitif reaksiyonun tümöral odaklarda özellikle periferik neoplastik hücrelerde şiddetli, buna karşın keratin incileri çevresindeki hücrelerde ise zayıf oluştuğu dikkati çekmiştir. Ayrıca neoplastik hücrelerin yanı sıra, infiltratif yangı hücrelerinde de TNF α immün pozitif reaksiyon geliştiği görülmüştür. Yangısal infiltratta TNF α 'nın tümöre karşı reaksiyonda önemli bir mediatör olduğu, tümör gelişimi, progresyonu, neoplastik hücre çoğalması ve damarlaşmada etkili olduğu ileri sürülmüştür (Song ve ark., 2012). Shibahara ve ark. (2005) da, insan YHK'lerinde tümör hücreleri tarafından salınan TNF α ve diğer sitokinlerin tümörün invazyonunda önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Sonuç olarak, OYHK olgularında hastalığın erken evrelerinde tümöral kitle cerrahi yolla uzaklaştırıldığı takdirde prognoz genellikle iyi kabul edilmektedir. Ancak bu çalışmada kitlelerin kanser evresinde olması ve iyileşmenin mümkün olmaması nedeniyle olguların büyük bir kısmında göz küresi de kitleler ile birlikte ekstirpe edilmiştir. Olgularda tümöral kitlelerin tipik histopatolojik karakteristikleri ve özellikle keratin antikorlarına karşı neoplastik hücrelerin pozitif reaksiyonlarına dayanılarak tüm olgular OYHK olarak tanımlanmıştır. Bazı vakalarda hem neoplastik hücrelerin az sayıda olması hem de kitlelerde gelişen yaygın nekroz, kanama ve şiddetli yangısal infiltrasyonların neoplastik proliferasyonları maskeleyesi nedeni ile HE boyamalarda tümör hücrelerinin tanınmasının güç olduğu görülmüştür. Çalışmada tüm OYHK vakalarının immun boyamalarında kullanılan HMWCK, CK5/6 ve PanCK ile p53 markırları sırasıyla tümöral kitlelerin yassı epitel hücre kökenli olmasını ve epidermal skuamöz keratinositlerin neoplaziye dönüşümünü açık olarak ortaya koymuştur. Ayrıca OYHK'ya karşı konakçı savunmasında infiltratif lenfoid hücrelerin tümöre karşı hücrel savunmadaki önemi ortaya konulmuştur. Dolayısıyla, sığırların oküler yassı hücreli karsinomlarında özellikle immün peroksidaz tekniği ile keratin markırlarının kullanılmasının neoplastik hücrelerin ayırıcı tanısı açısından oldukça önemli olduğu ve bu tip neoplazilerin en erken evrede cerrahi yolla uzaklaştırılmasının ekonomik olarak önem arz ettiği sonucuna varılmıştır.

6.TABLULAR

Tablo 1: Biyopsi yapılan sığırların cinsiyeti, ırkı ve tümörün olduğu göz.

No	Kayıt No	Yaş	Cinsiyet	İrki	Sağ/Sol Göz
1.	84/2010	6	Dişi	Simental	Sol göz
2.	85/2010	7	Erkek	Simental	Sol göz
3.	86/2010	6	Dişi	Simental	Sağ göz
4.	105/2010	7	Dişi	Yerli	Sağ göz
5.	137/2010	5	Dişi	Simental	Sağ göz
6.	34/2011	6	Dişi	Simental	Sağ göz
7.	99/2011	7	Dişi	Simental	Sağ göz
8.	111/2011	7	Dişi	Simental	Sağ göz
9.	112/2011	4	Dişi	Simental melezi	Sağ göz
10.	115/2011	5	Dişi	Simental melezi	Sol göz
11.	179/2011	6	Dişi	Simental	Belirlenemedi
12.	09/2012	6	Dişi	Simental	Sol göz
13.	26/2012	7	Dişi	Simental	Sol göz
14.	68/2012	5	Dişi	Brown Swiss	Belirlenemedi
15.	69/2012	1	Dişi	Simental	Belirlenemedi
16.	70/2012	2	Dişi	Simental	Sol göz
17.	88/2012	6	Dişi	Holstein melezi	Sol göz
18.	175/2012	?	Dişi	Simental	Sağ göz
19.	115/2012	5	Dişi	Simental	Sağ göz
20.	76/2013	?	Dişi	Belirlenemedi	Belirlenemedi
21.	115/2016	6	Dişi	Holstein	Belirlenemedi
22.	182/2016	4	Dişi	Simental	Sol göz
23.	224/2016	3	Dişi	Simental	Sağ göz
24.	226/2016	9	Dişi	Simental	Sağ göz
25.	46/2017	?	Dişi	Montofon	Sol göz
26.	48/2017	5	Dişi	Simental	Sağ göz
27.	89/2017	?	Dişi	Simental melezi	Sağ göz
28.	114/2017	?	Dişi	Yerli	Tespit edilemedi
29.	Numarasız 21	?	Dişi	Simental	Tespit edilemedi
30.	Numarasız-22	?	Dişi	Simental melezi	Tespit edilemedi

Tablo 2: İmmünohistokimyasal boyamalarda kullanılan primer antikorların klon numaraları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları.

Sıra no:	Antikor Adı	Clon/katalog Numarası	İnkübasyon süresi	Dilüsyon oranları
1	Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin	Clone DE-SQ	30 dakika	Kullanıma hazır
2	Sitokeratin 5/6	Clone D5/16 B4	30 dakika	Kullanıma hazır
3	Pansitokeratin	Clone AE1/AE3	1 saat	Kullanıma hazır
4	p53	SPM590	2 saat	1/400
5	Ki-67	MM1/PA0118	2 saat	Kullanıma hazır
6	Vimentin	Clone SP20	1 saat	Kullanıma hazır
7	CD3	Clone SP7	1 saat	Kullanıma hazır
8	CD79 α cy	HM47/A9	2 saat	1/400
9	TNF	Ab19139	2 saat	1/1000

Tablo 3: OYHK olgularında 40x objektif ile belirlenen ortalama mitotik hücre sayıları.

No:	Olgu No	Diferansiyasyon	1.Saha	2.Saha	3.Saha	Ortalama Mitoz Sayısı
1.	84/2010	Kötü	7	6	9	7.3
2.	85/2010	İyi	7	7	8	7.3
3.	86/2010	İyi	9	7	10	8.6
4.	105/2010	Kötü	7	10	8	12.5
5.	137/2010	Orta	7	7	7	7
6.	34/2011	Kötü	10	6	7	7.6
7.	99/2011	Orta	10	6	7	7.6
8.	111/2011	Orta	10	12	10	10.6
9.	112/2011	Kötü	8	10	9	9
10.	115/2011	Kötü	9	8	9	8.6
11.	179/2011	İyi	8	5	6	6.3
12.	26/2012	İyi	7	8	6	7
13.	68/2012	Orta	10	12	10	10.6
14.	69/2012	İyi	9	7	11	9
15.	70/2012	İyi	10	6	9	8.3
16.	88/2012	İyi	5	6	5	5.3
17.	175/2012	İyi	4	3	6	4.3
18.	115/2012	Kötü	8	6	7	7
19.	76/2013	Kötü	8	12	13	11
20.	115/2016	Kötü	2	2	4	2.6
21.	182/2016	Orta	9	7	7	7.6
22.	224/2016	Kötü	9	7	6	7.3
23.	226/2016	Kötü	4	3	4	3.6
24.	46/2017	İyi	9	7	11	9
25.	48/2017	İyi	10	12	10	10.6
26.	89/2017	Kötü	9	8	7	8
27.	114/2017	İyi	1	3	3	2.3
28.	Numarasız 21	Kötü	5	6	7	6
29.	Numarasız 22	Kötü	7	6	6	6.3
30.	Numarasız 23	Kötü	11	10	10	10.3

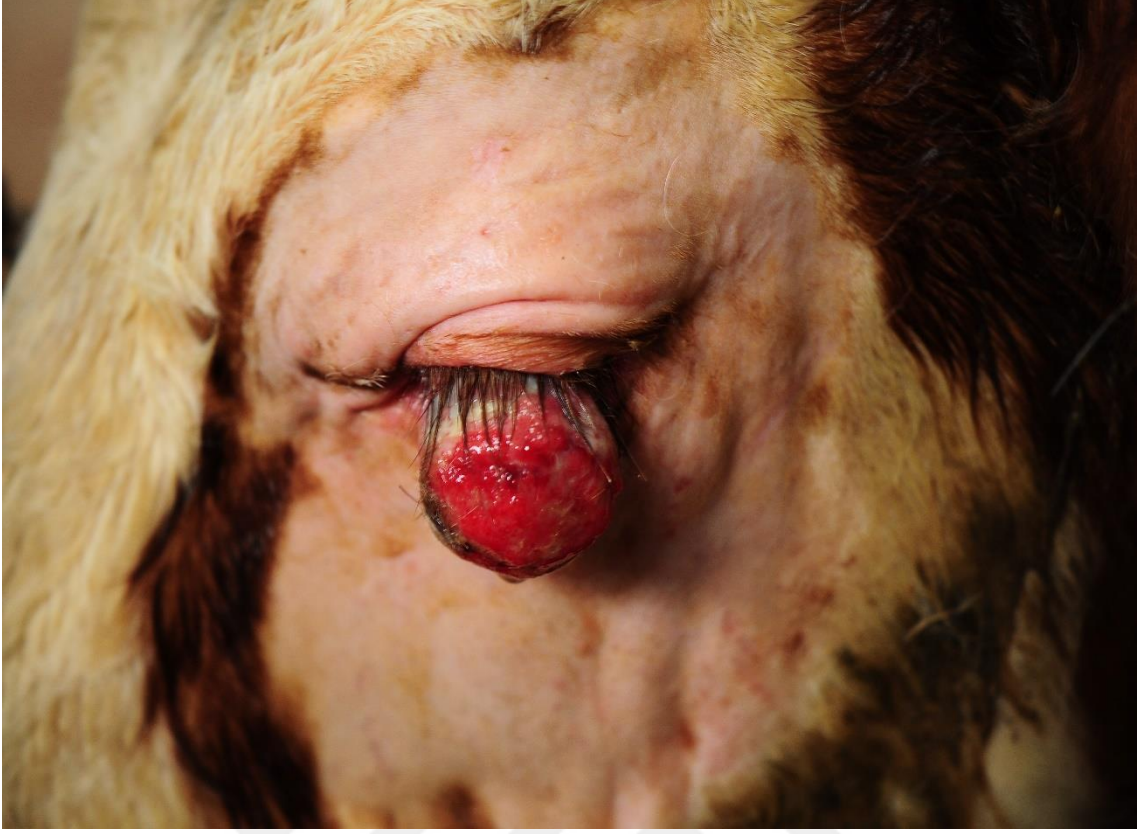
7.RESİMLER



Resim 1: Simental bir inekte karnabahar şeklinde görülen tümöral proliferasyonlar.



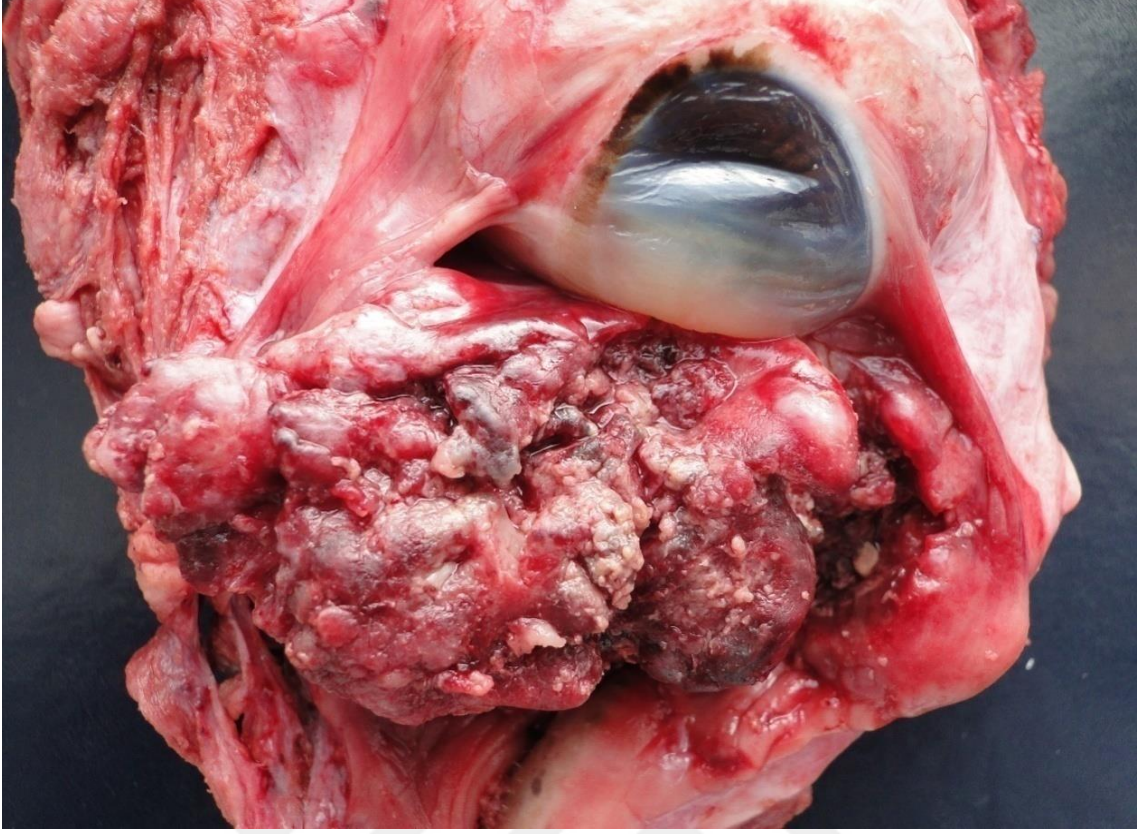
Resim 2: Simental inekte orbitayı deforme eden kanamalı ve irinli kitle.



Resim 3: Simental inekte sol gözde gelişen kanamalı tümöral kitle.



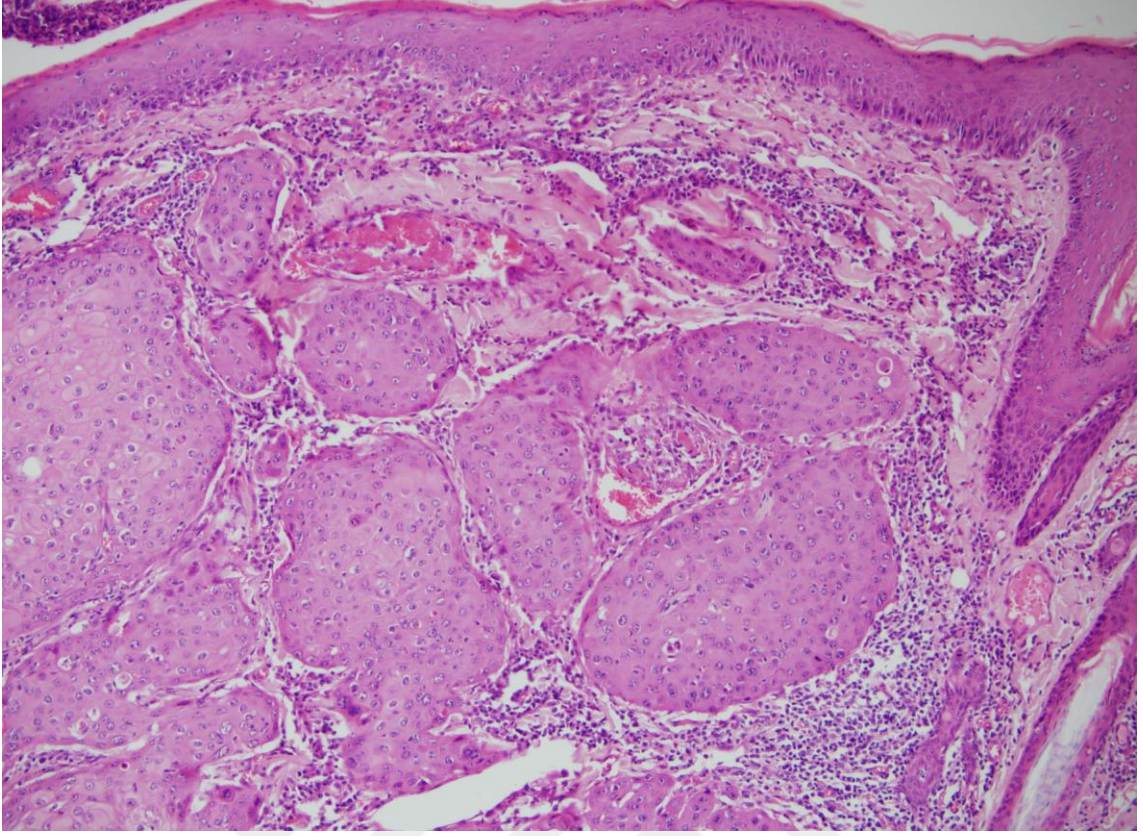
Resim 4: Konjunktiva ve üçüncü göz kapağında tümöral kitle.



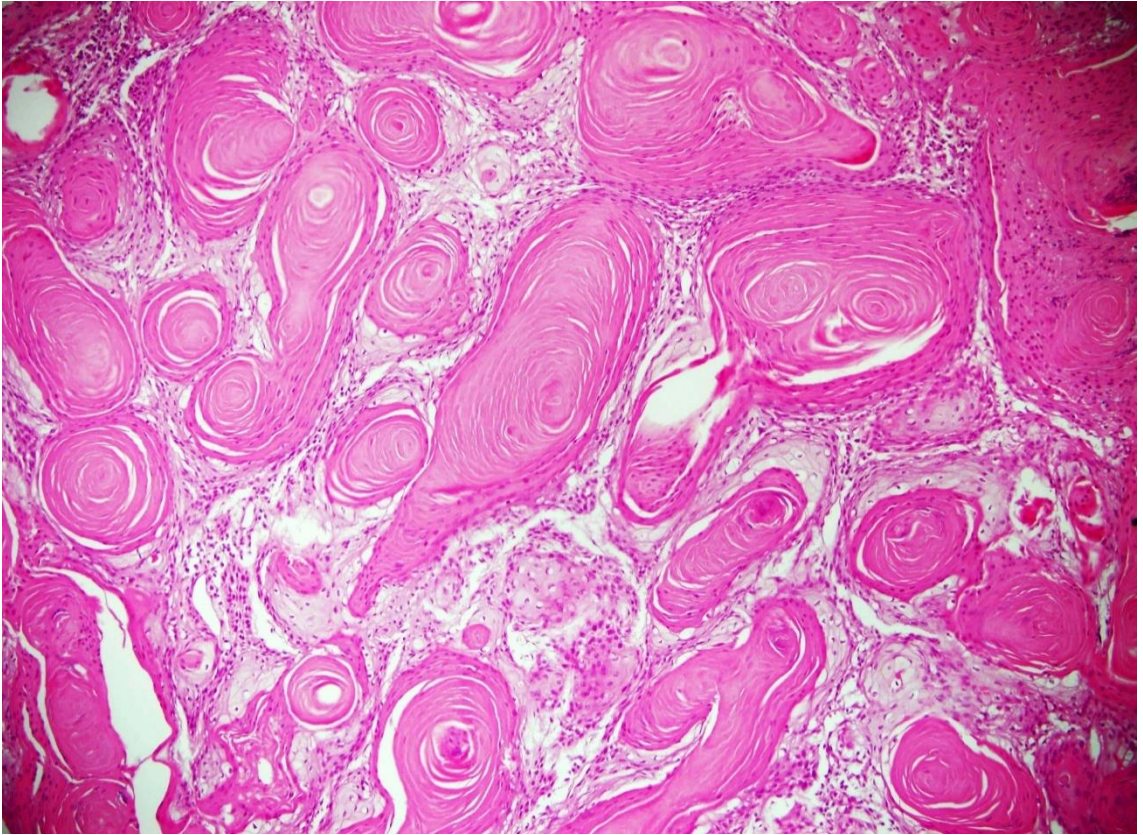
Resim 5: Nekropsi sonrasında ortaya konulan alt göz kapağında gelişen tümöral kitle.



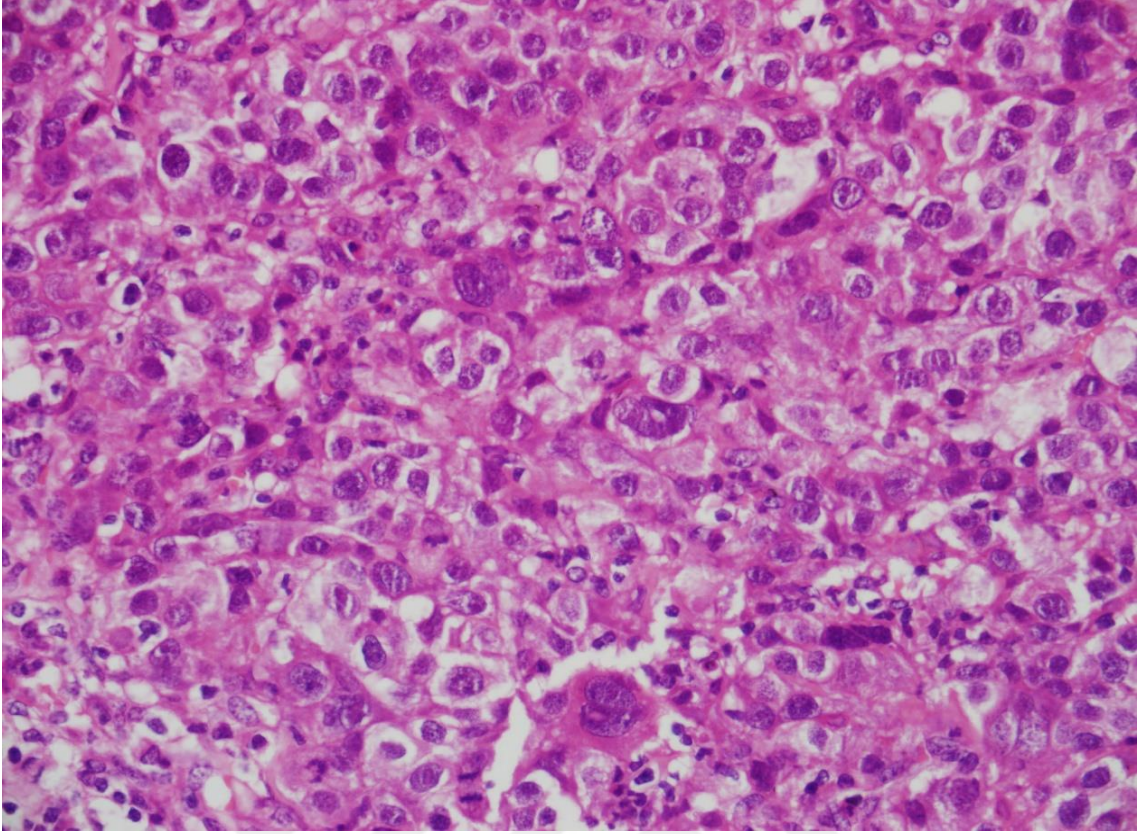
Resim 6: Biyopsi ile alınan solid tümöral kitlede yoğun kanama ve nekroz.



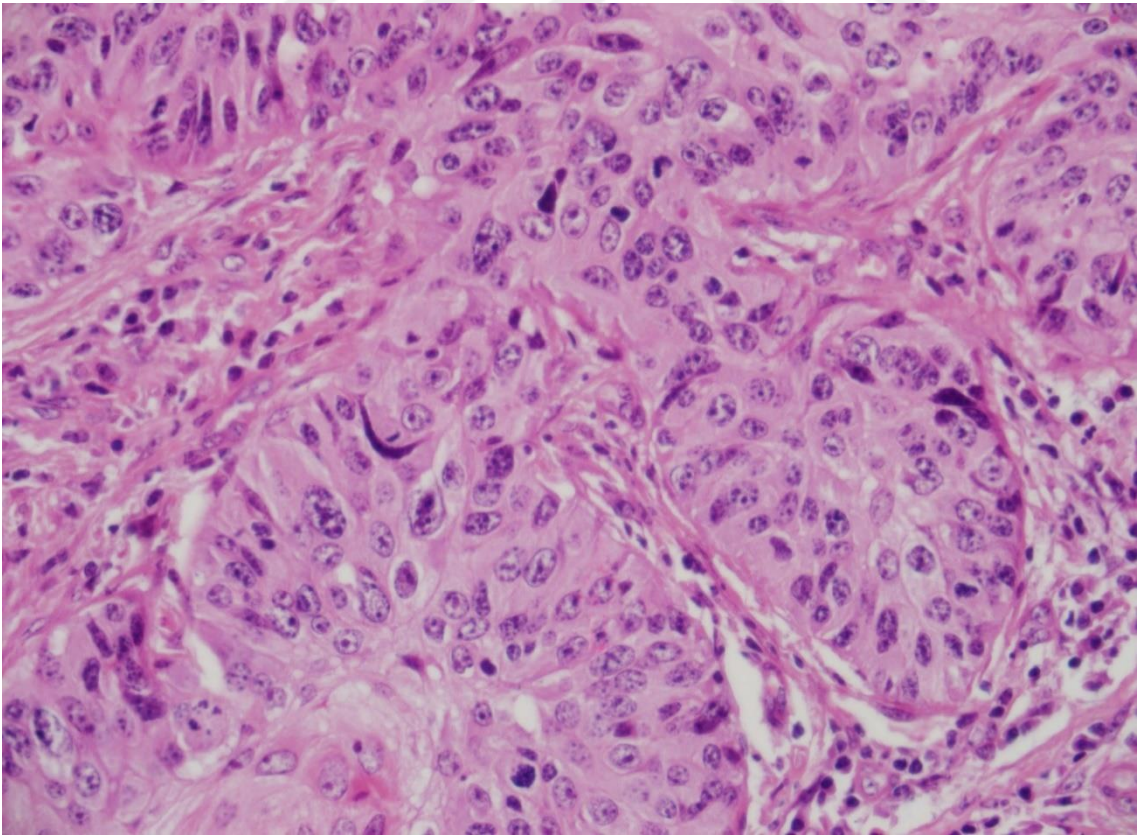
Resim 7: Epidermisten köken alan dermal invazyon gösteren OYHK (HEx10).



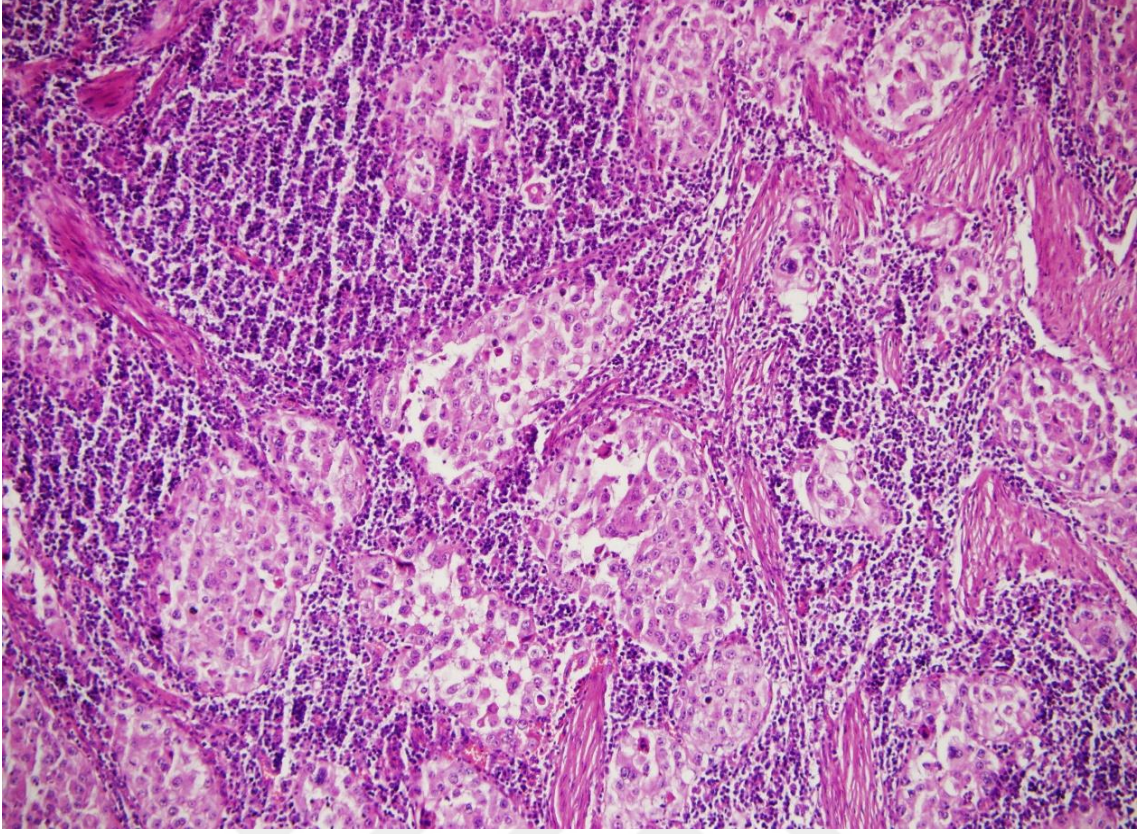
Resim 8: Çok sayıda parakeratotik keratin incili iyi diferansiye OYHK (HEx10).



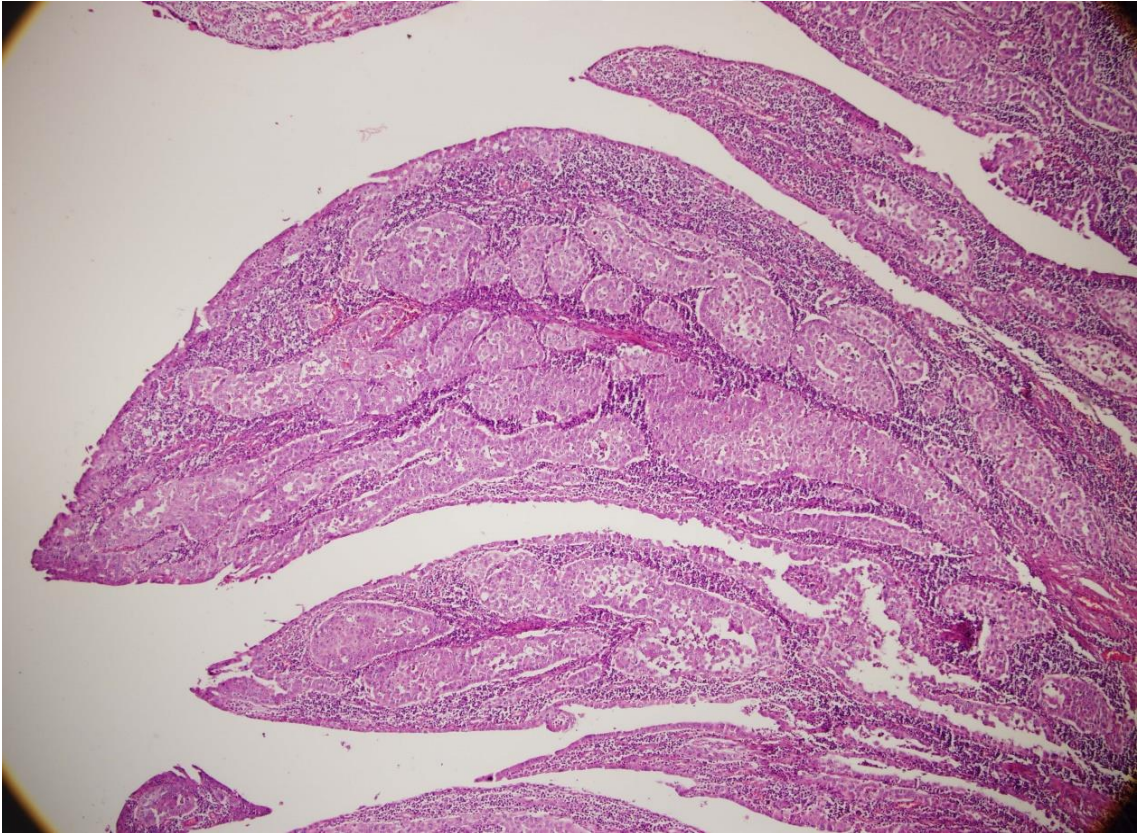
Resim 9: Keratin incisi oluşmamış kötü diferansiye OYHK (HEx40).



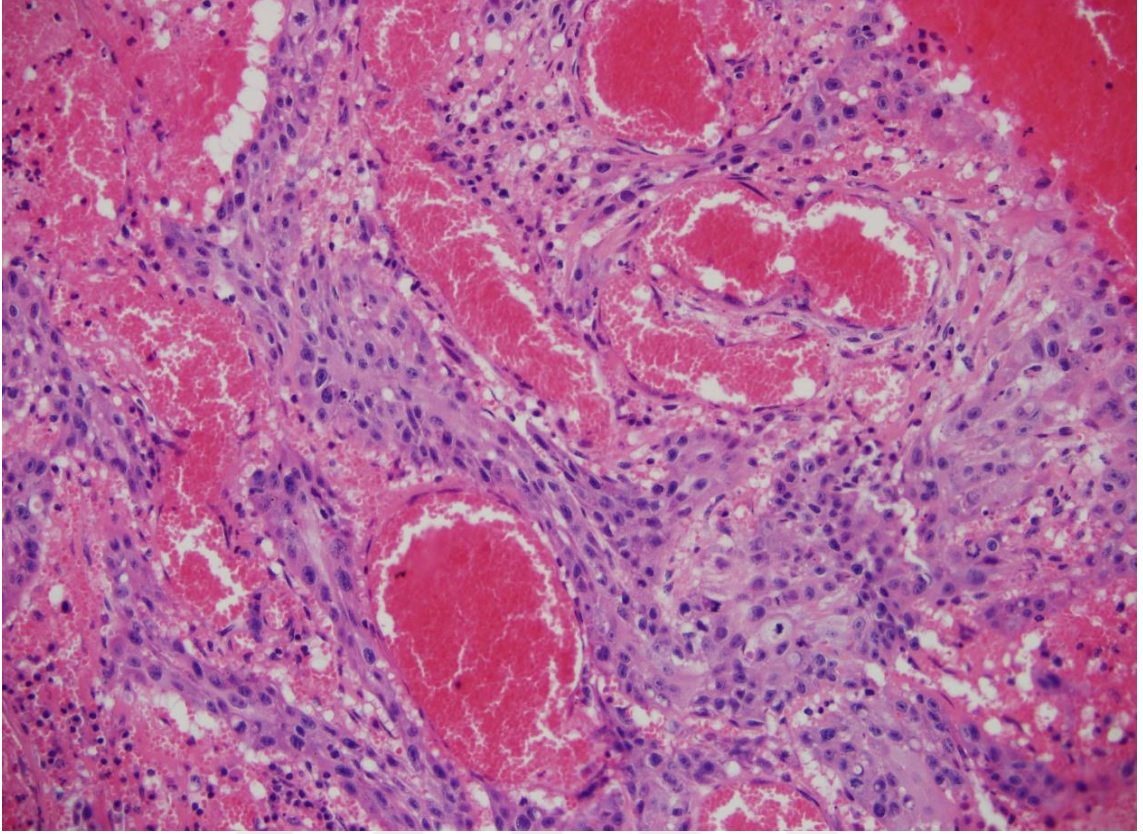
Resim 10: Kötü diferansiye tümöral dokuda yaygın nükleer pleomorfizm. (HEx40)



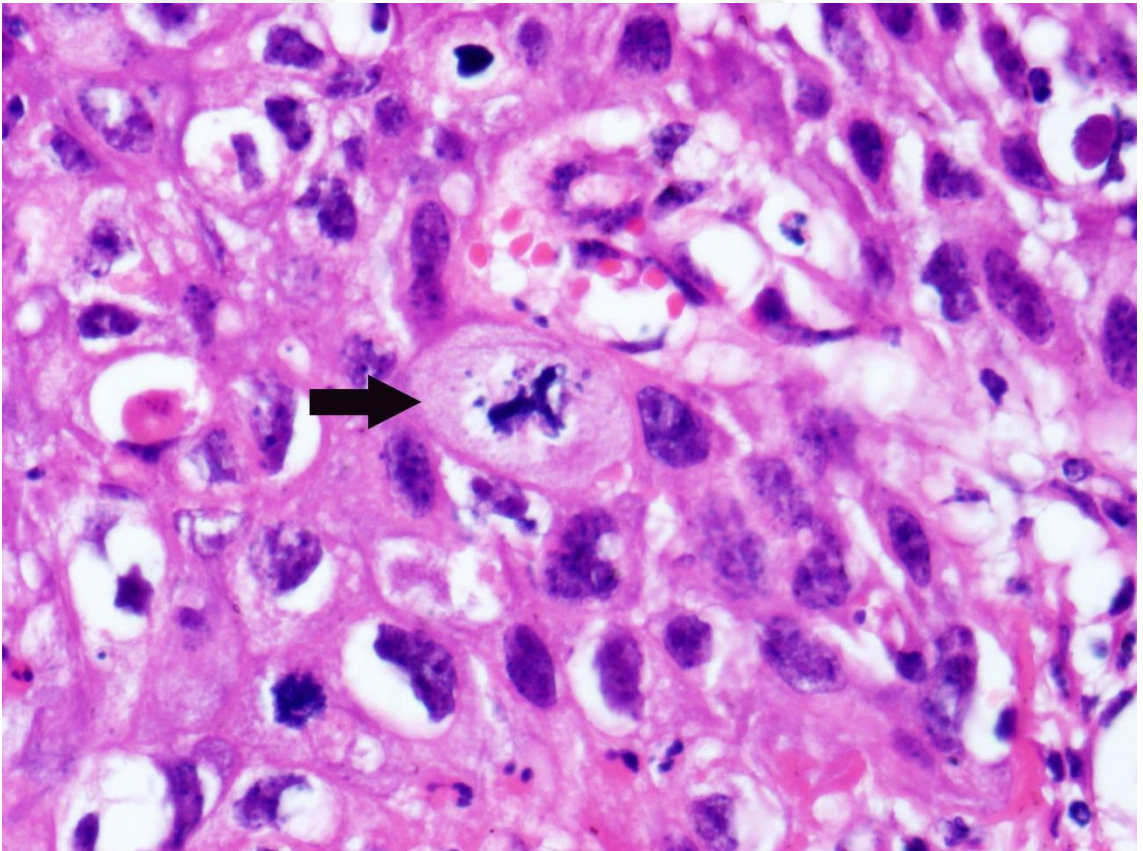
Resim 11: Neoplastik destek dokuda şiddetli lenfoid hücre infiltrasyonu (HEx10).



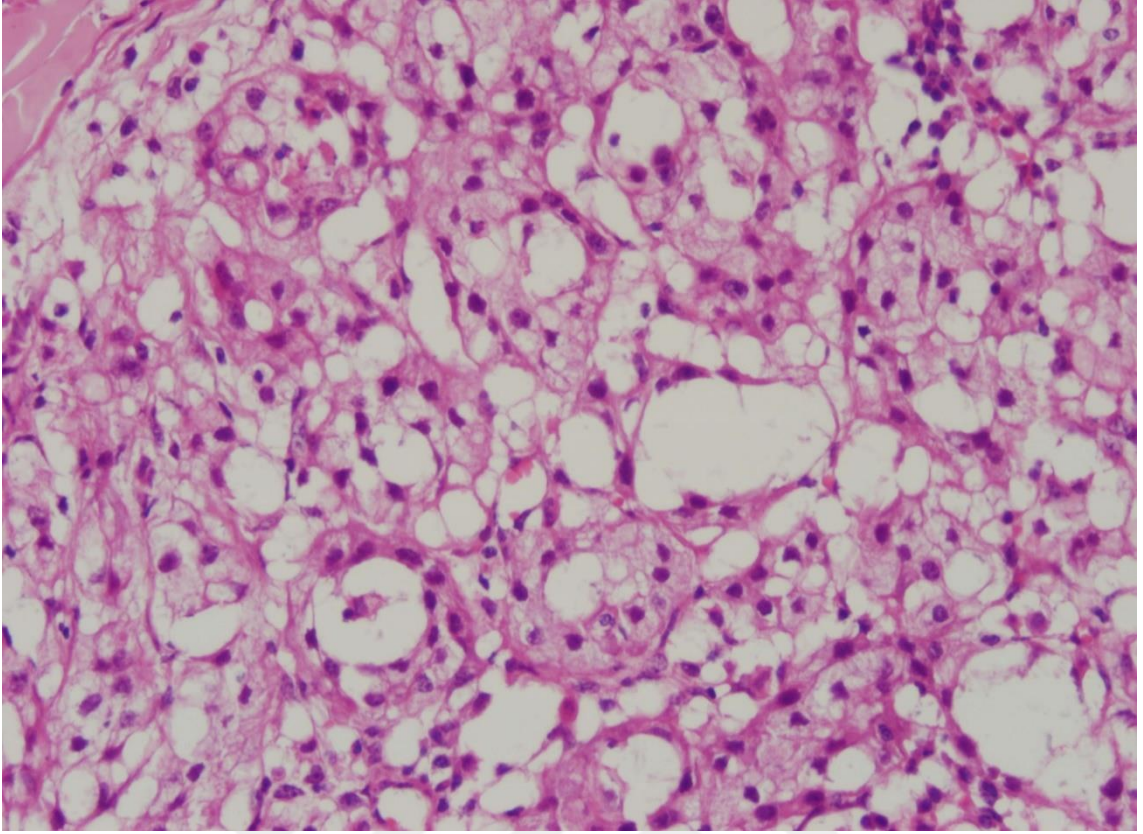
Resim 12: Kronik yangısal infiltratla çevrili papiller proliferasyonlu kitle (HEx10).



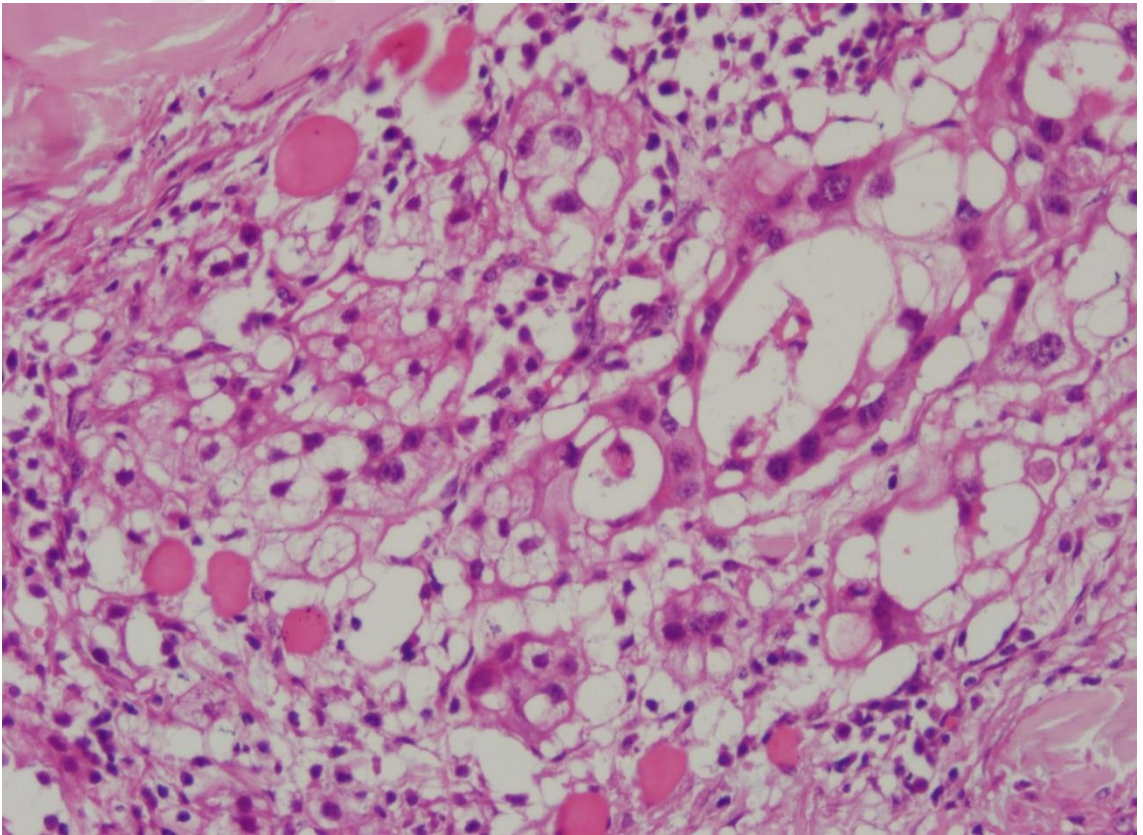
Resim 13: Neoplastik dokuda şiddetli kanama odakları (HEx20).



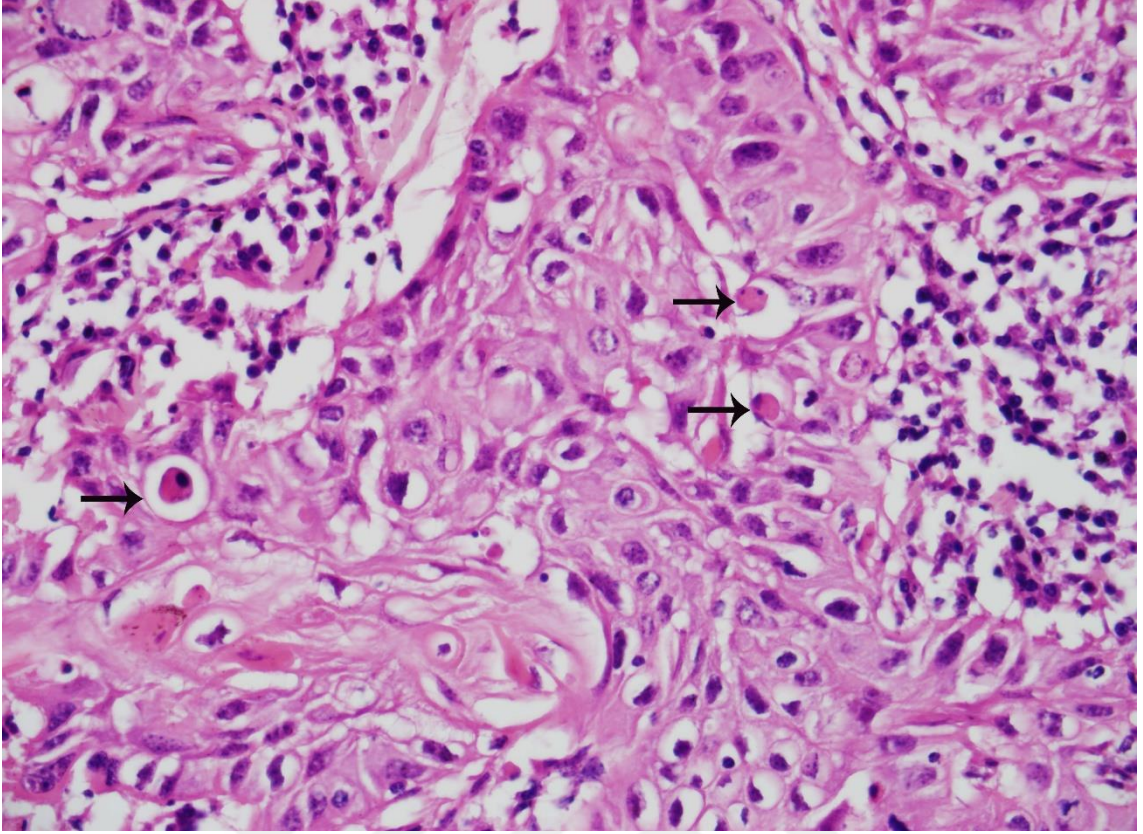
Resim 14: Anormal tripolar görünümlü mitotik figür (ok) (HEx40).



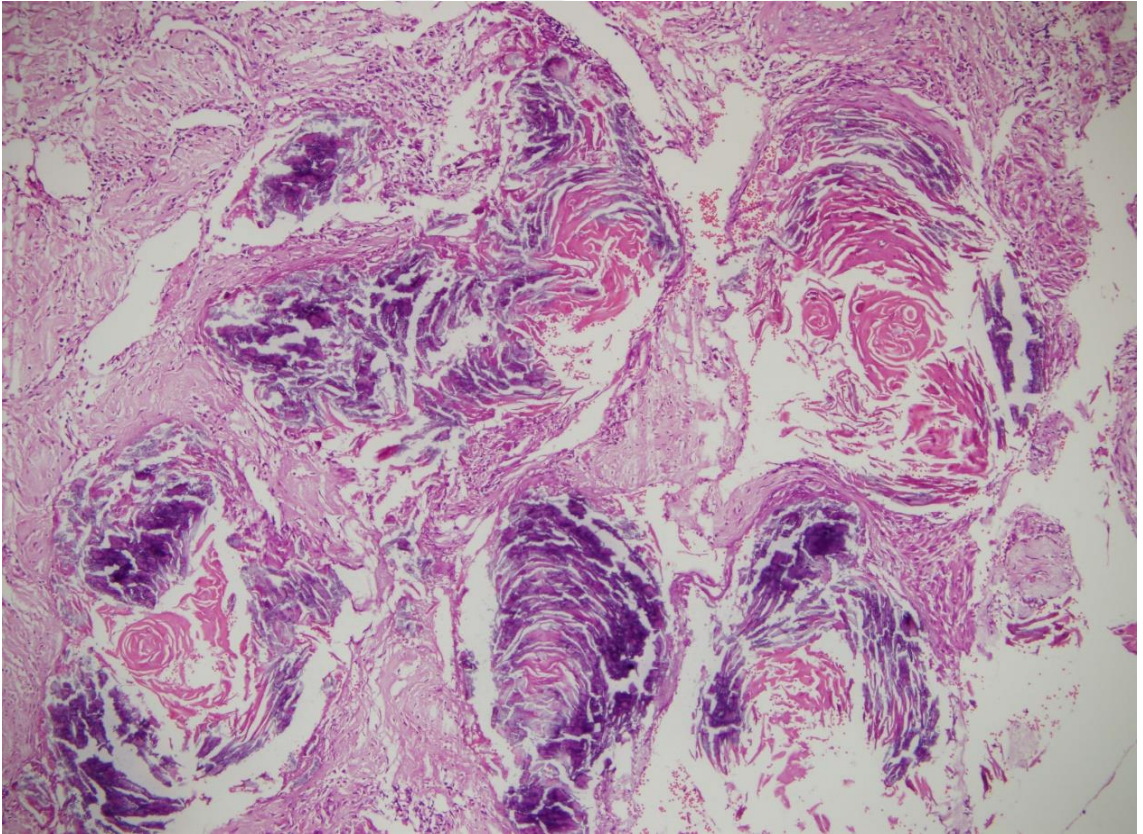
Resim 15: Şiddetli sitoplazmik vakuolizasyon gösteren berrak hücreli OYHK (HEx40).



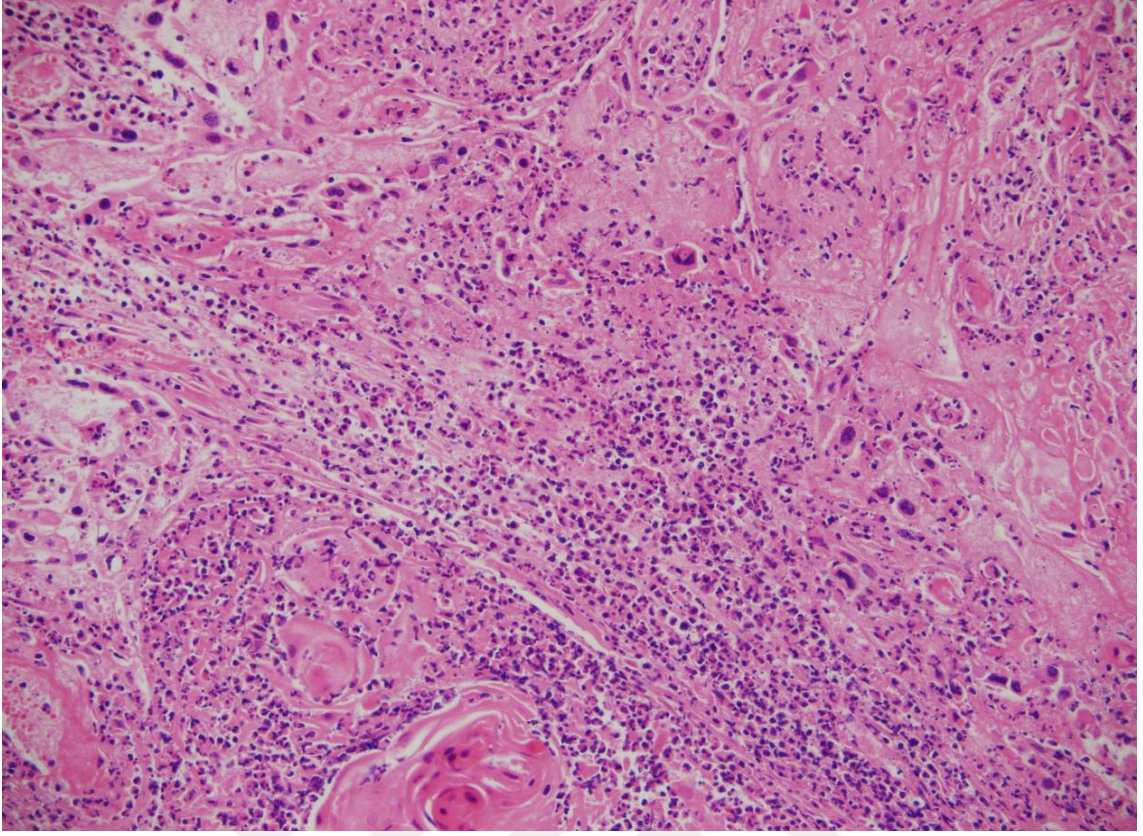
Resim 16: Subkutanöz kas dokusuna invazyon gösteren ve kas hücrelerini nekroze eden berrak hücreli OYHK (HEx40).



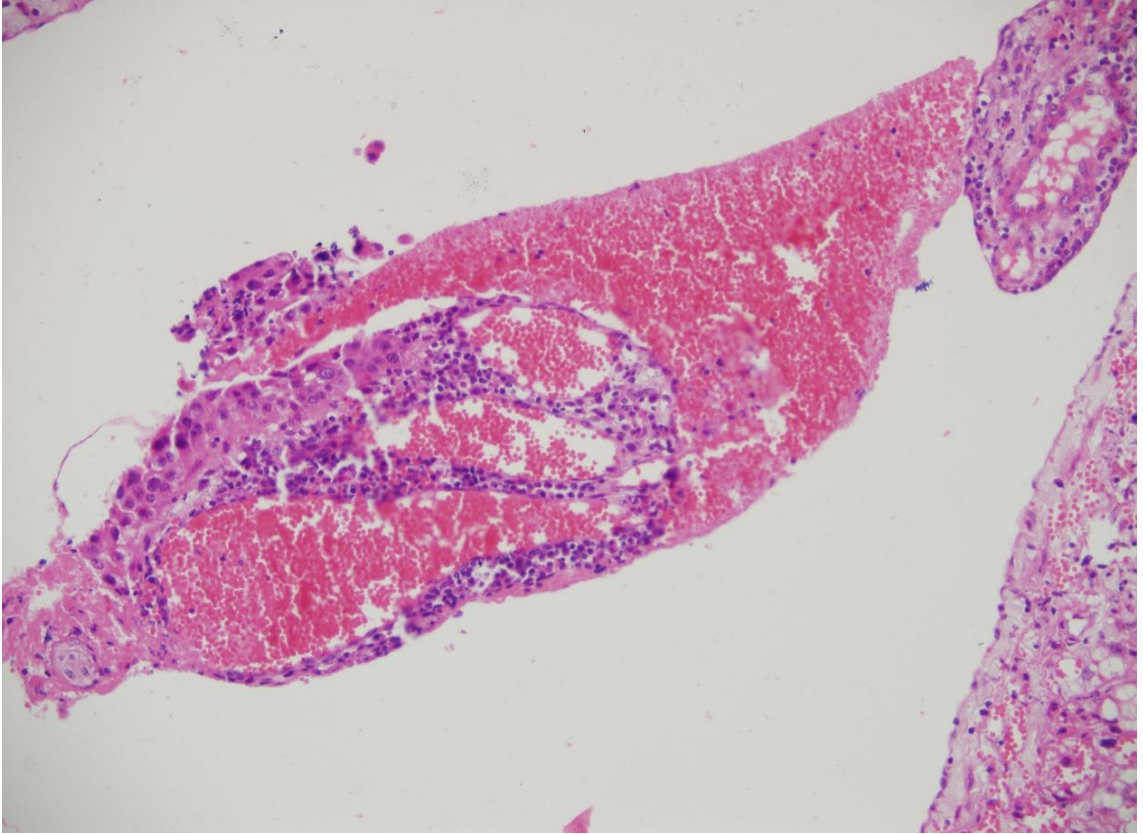
Resim 17: Neoplastik dokuda eozinofilik sitoplazma ve piknotik nükleusa sahip diskeratotik hücreler (oklar) (HEx40).



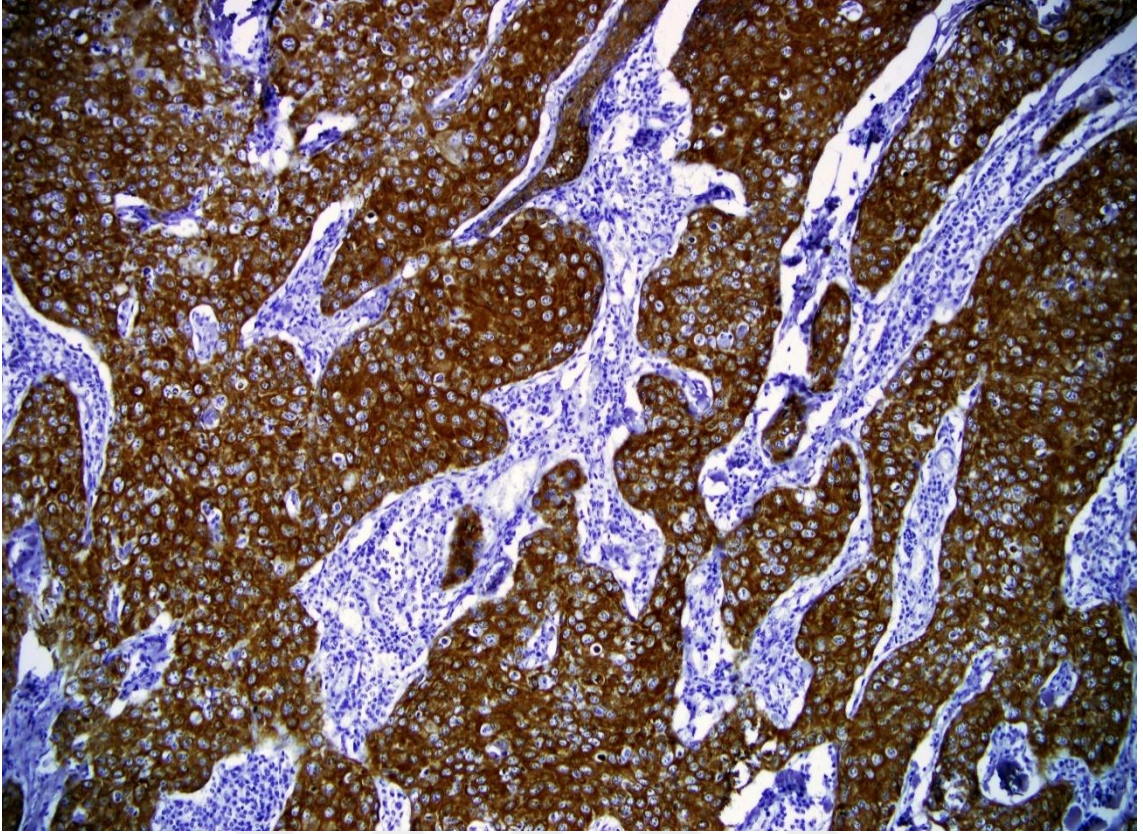
Resim 18: Neoplastik dokuda kalsifiye olmuş keratin incisi oluşumları (HEx10).



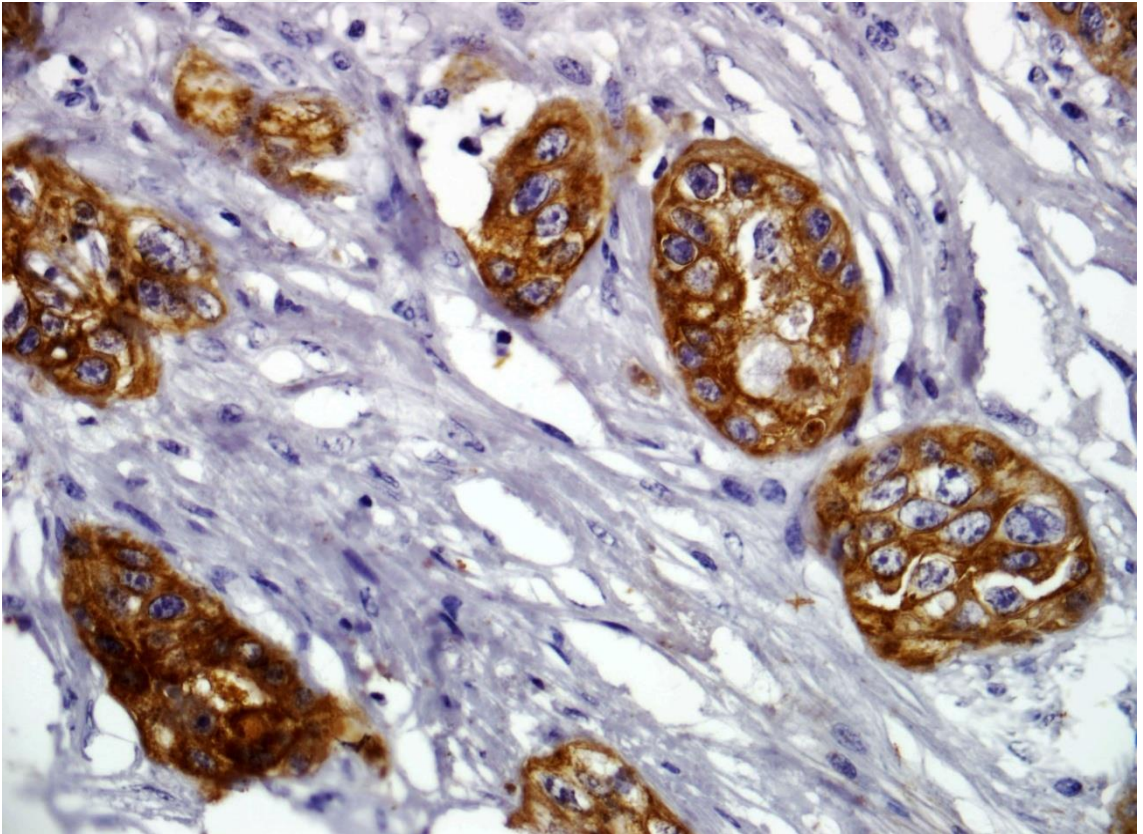
Resim 19: Tümöral dokuda şiddetli nekroz ve yangısal infiltrat arasında az sayıda neoplastik hücre ve keratin incisi (HEx20).



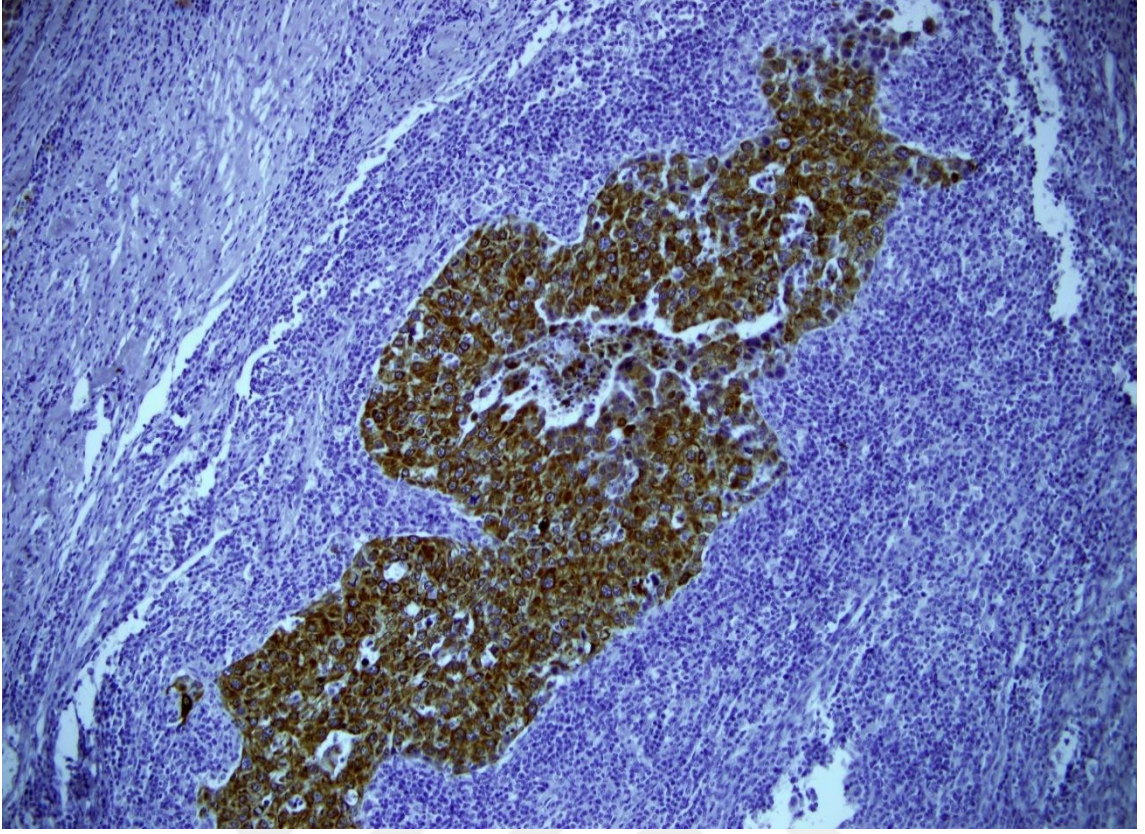
Resim 20: Damar lümeninde eritrositlerle çevrili tümör hücre embolisi (HEx20).



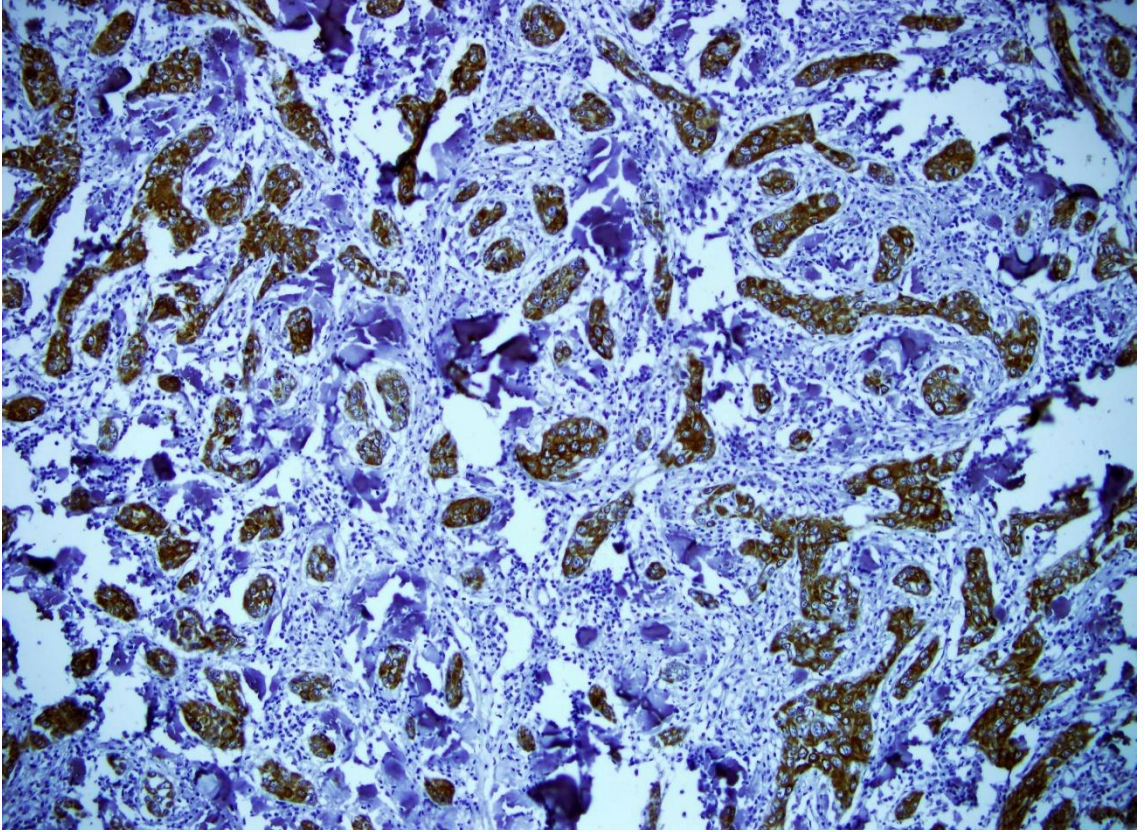
Resim 21: Neoplastik hücrelerde şiddetli sitoplazmik HMWCK pozitif reaksiyon. (ABCx10).



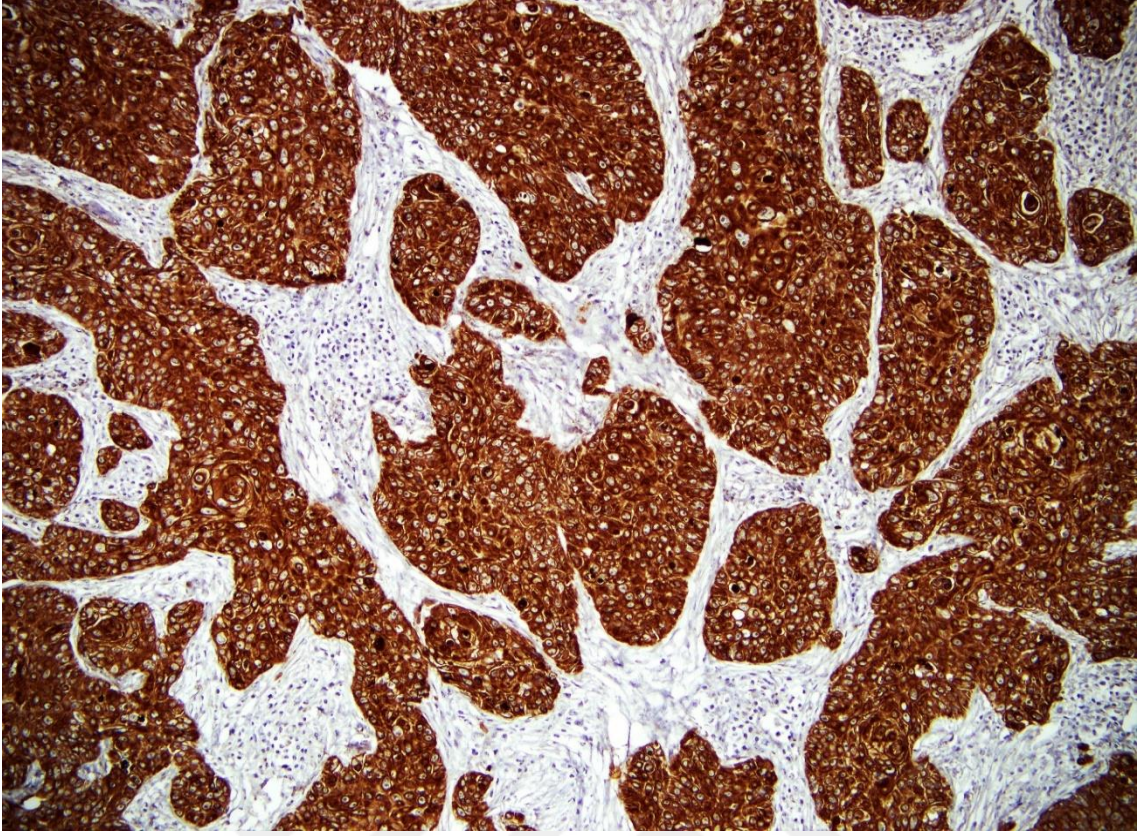
Resim 22: Destek dokuda az sayıda hücreden oluşan küçük tümöral odaklar (ABCx40).



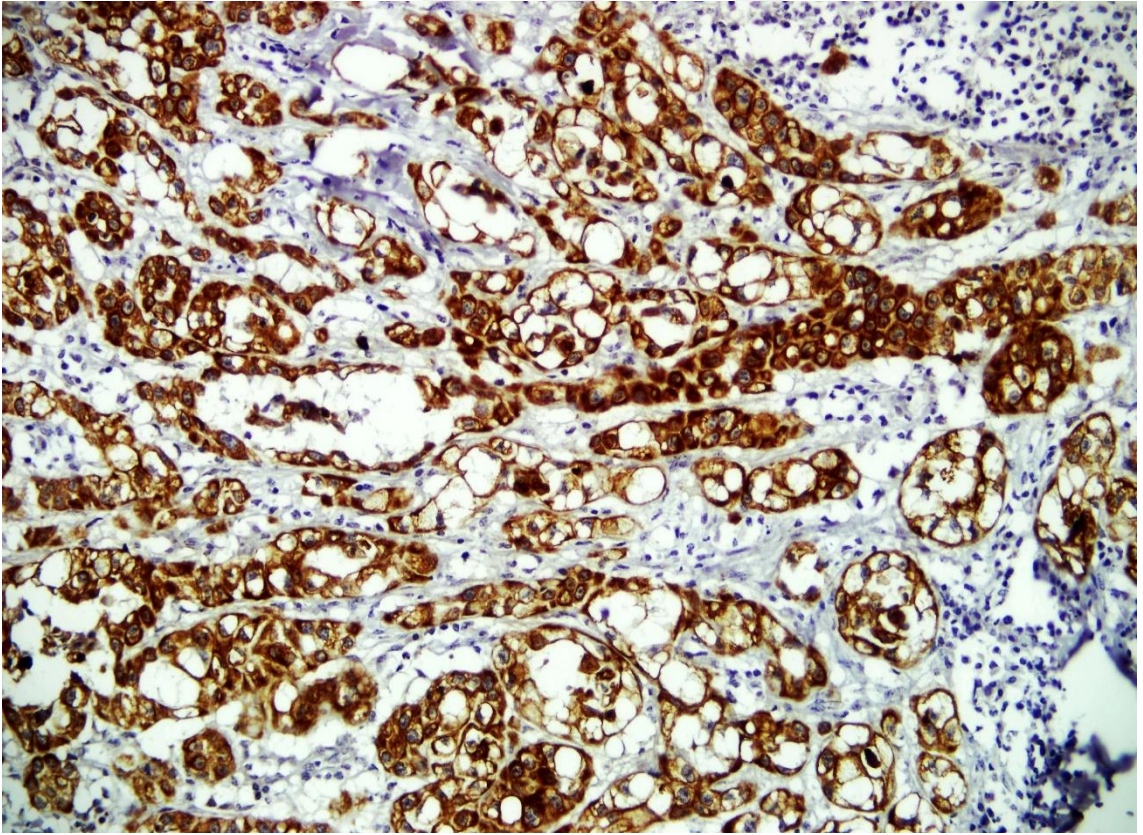
Resim 23: Şiddetli yangısal infiltrat arasında HMWCK pozitif tümör odağı (ABCx10).



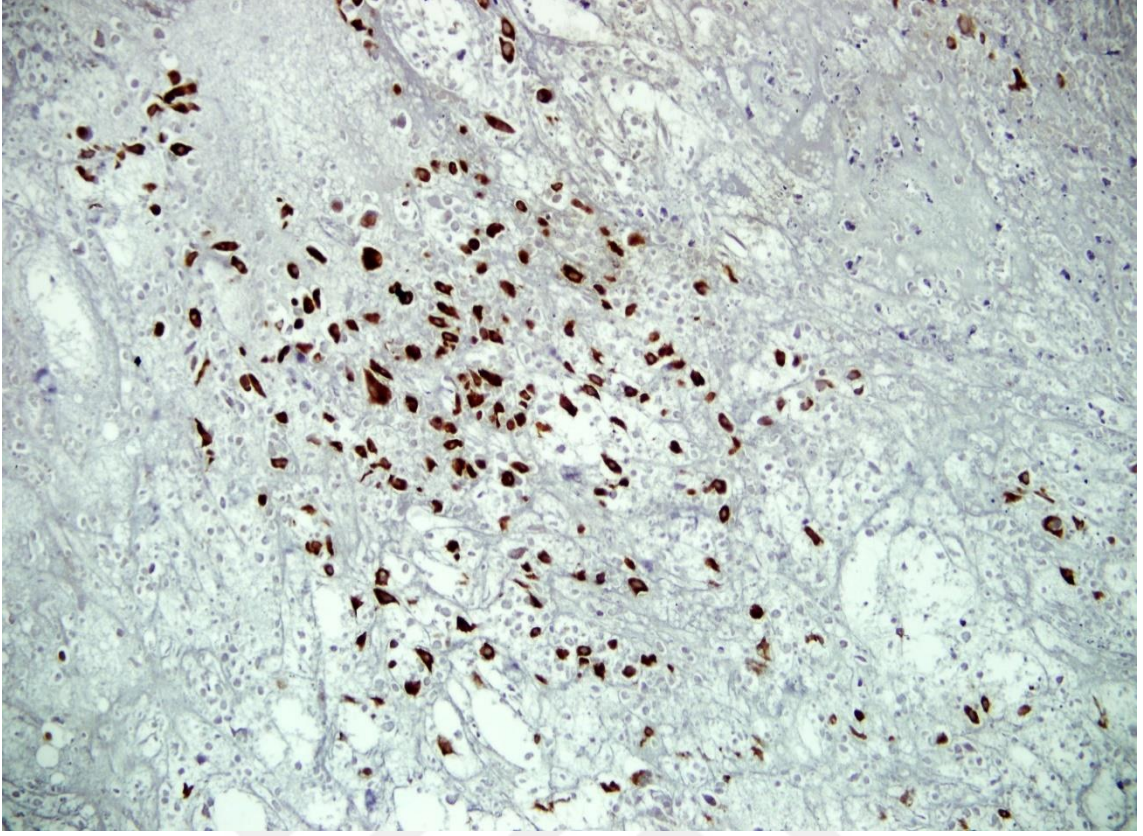
Resim 24: Kas dokusuna invazyon gösteren tümör hücrelerinde HMWCK pozitif reaksiyon (ABCx10).



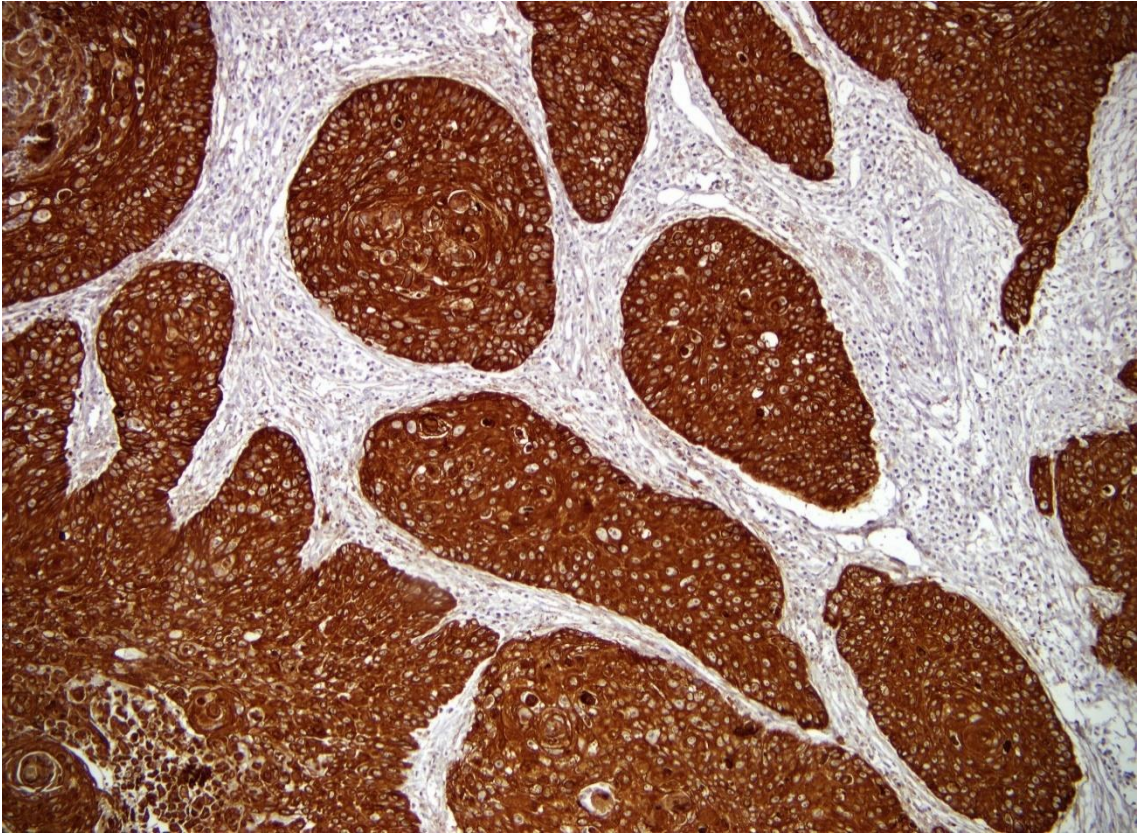
Resim 25: Neoplastik odalarda şiddetli CK5/6 pozitif reaksiyon (ABCx10).



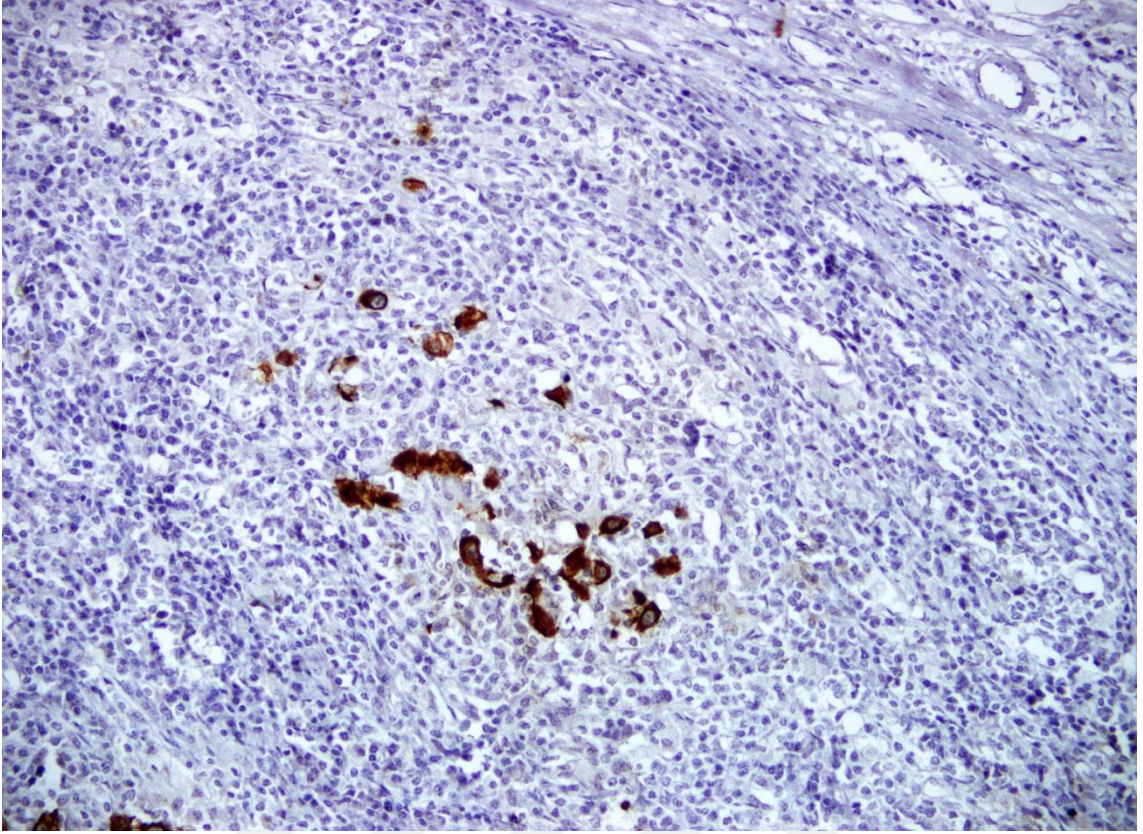
Resim 26: Berrak hücreli OYHK da tümör hücrelerinde sitoplazmik CK5/6 pozitif reaksiyon (ABCx20).



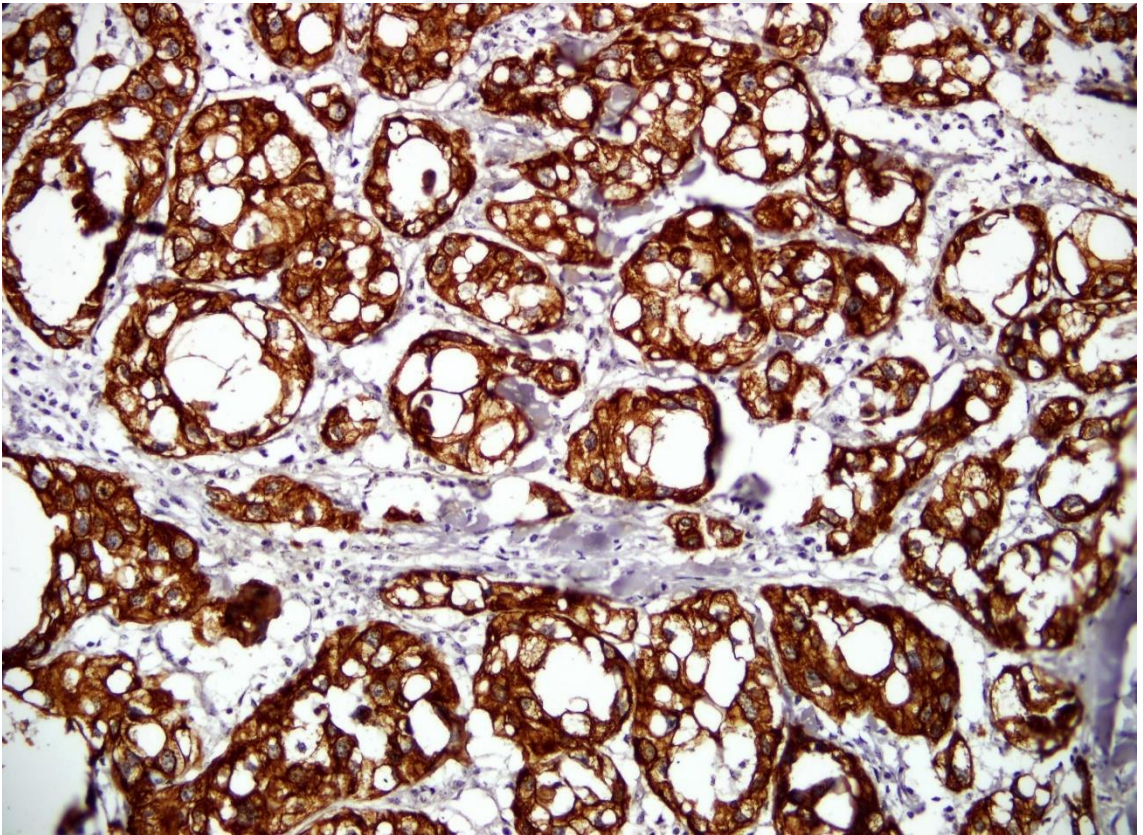
Resim 27: Nekrotik dokuda CK5/6 immün pozitif az sayıda tümör hücresi (ABCx20).



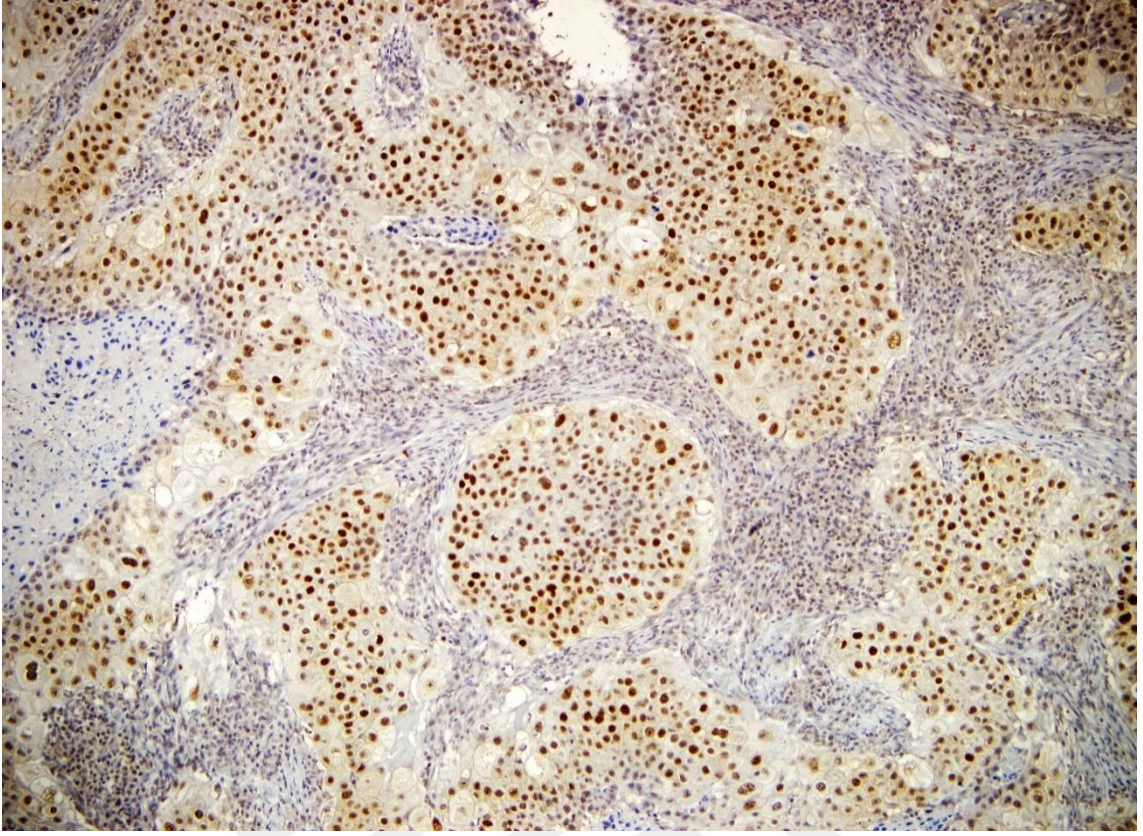
Resim 28: Neoplastik proliferasyonlarda şiddetli PanCK pozitif reaksiyon (ABCx10).



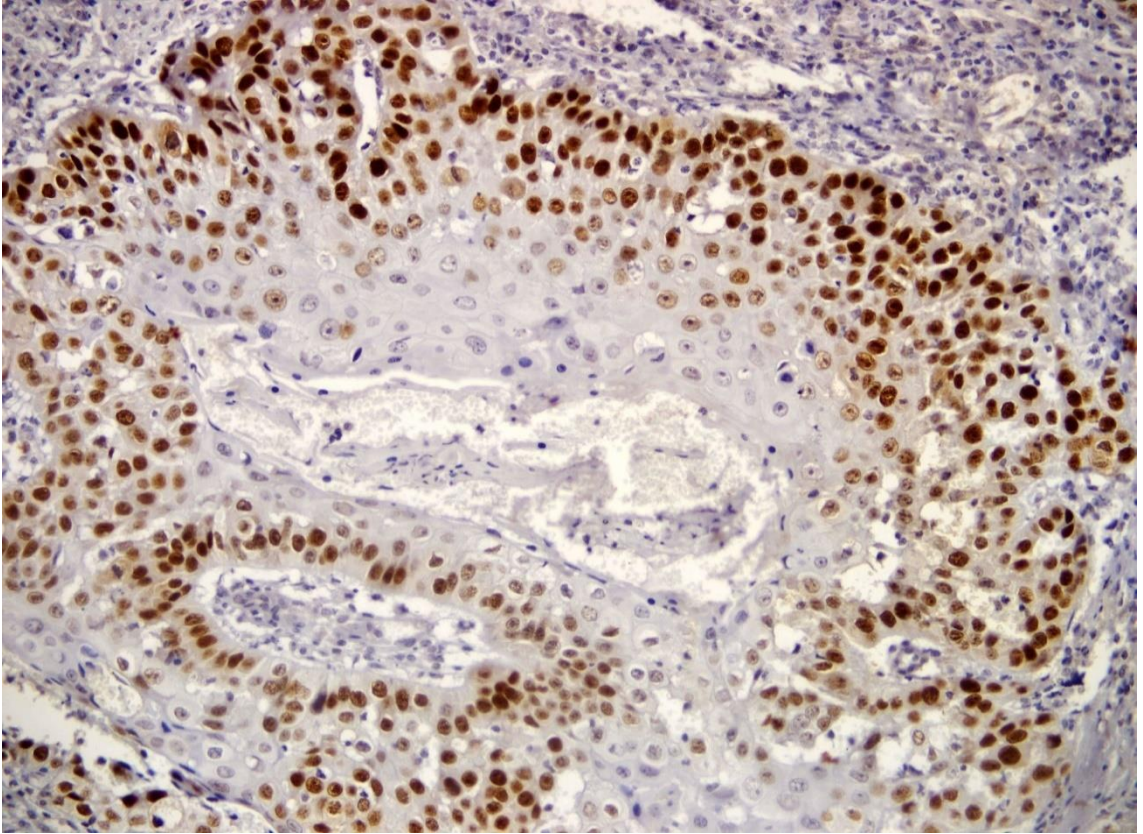
Resim 29: Yangısal infiltratla çevrili PanCK immün pozitif tümör hücreleri (ABCx10).



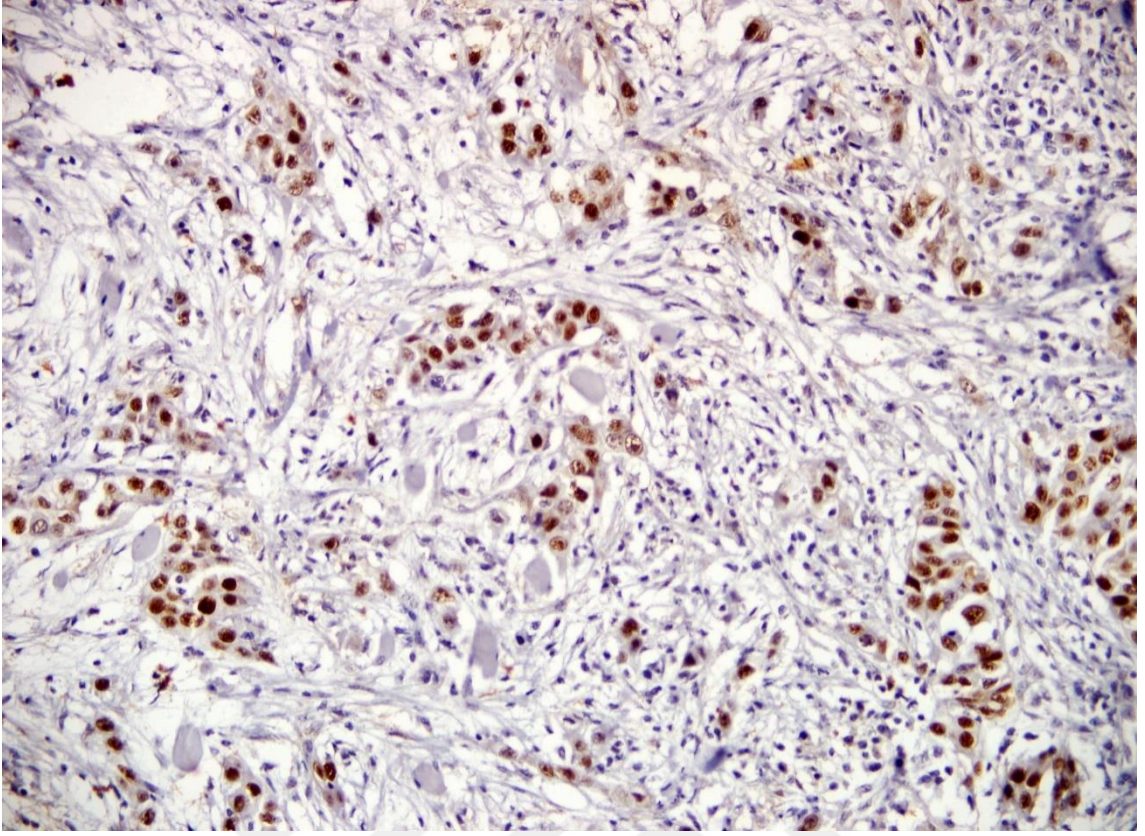
Resim 30: Tubuler proliferasyon gösteren berrak hücreli tümöral dokuda PanCK immün pozitif reaksiyon (ABCx20).



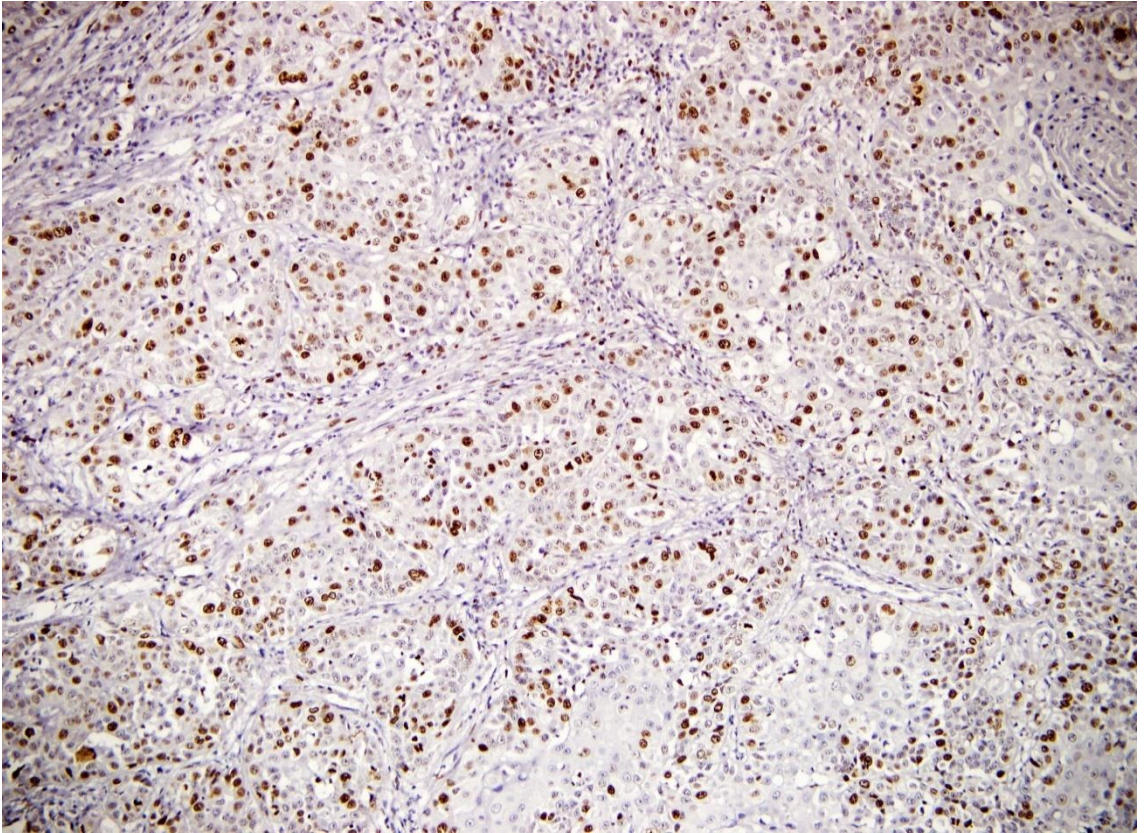
Resim 31: Neoplastik odakta tümör hücrelerinin çekirdeklerinde p53 immün pozitif reaksiyon (ABCx10).



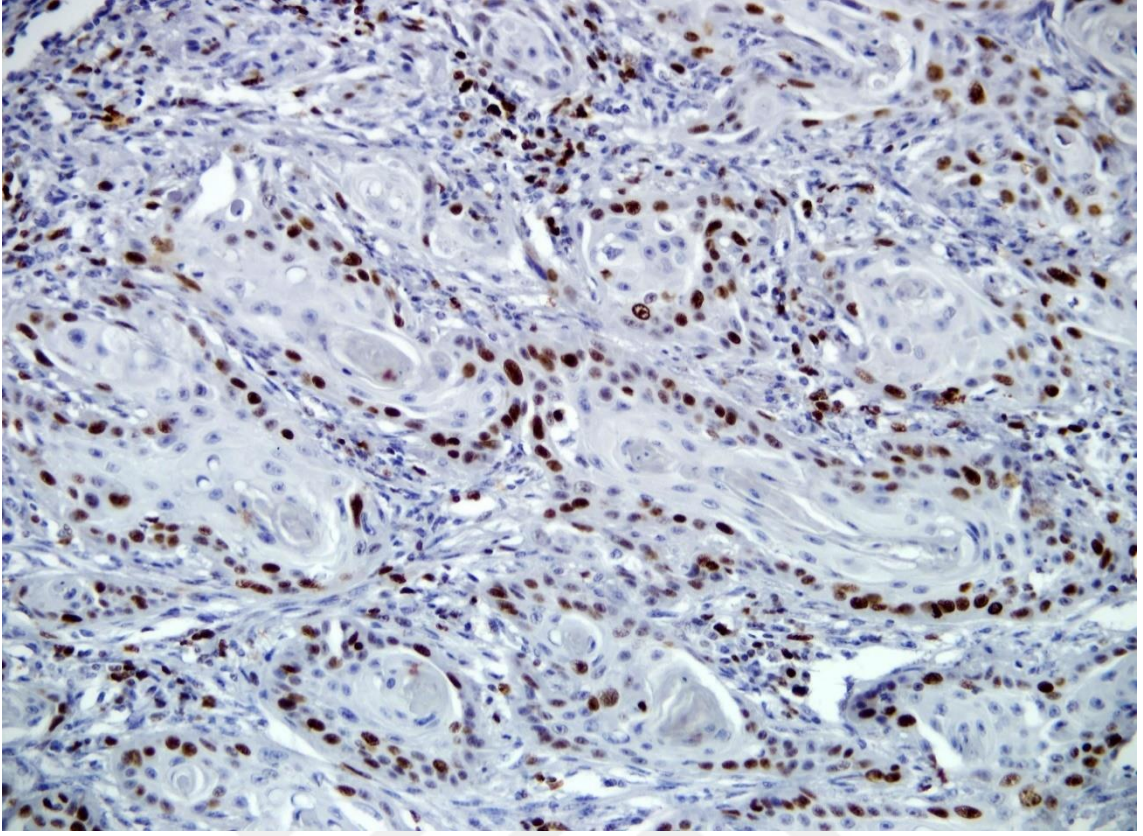
Resim 32: Tümöral adacıkda periferel hücrelerde belirgin p53 reaksiyon (ABCx20).



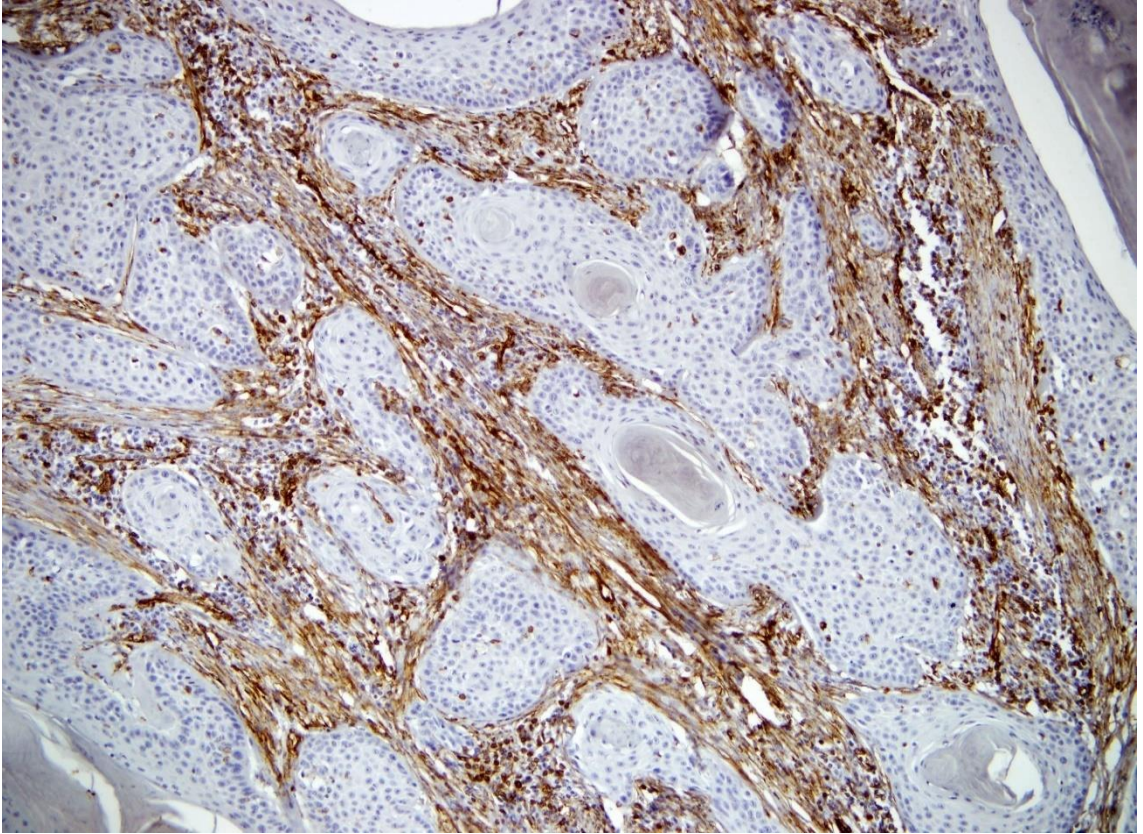
Resim 33: Kas dokuya invazyon gösteren tümör hücrelerinde p53 reaksiyon (ABCx20).



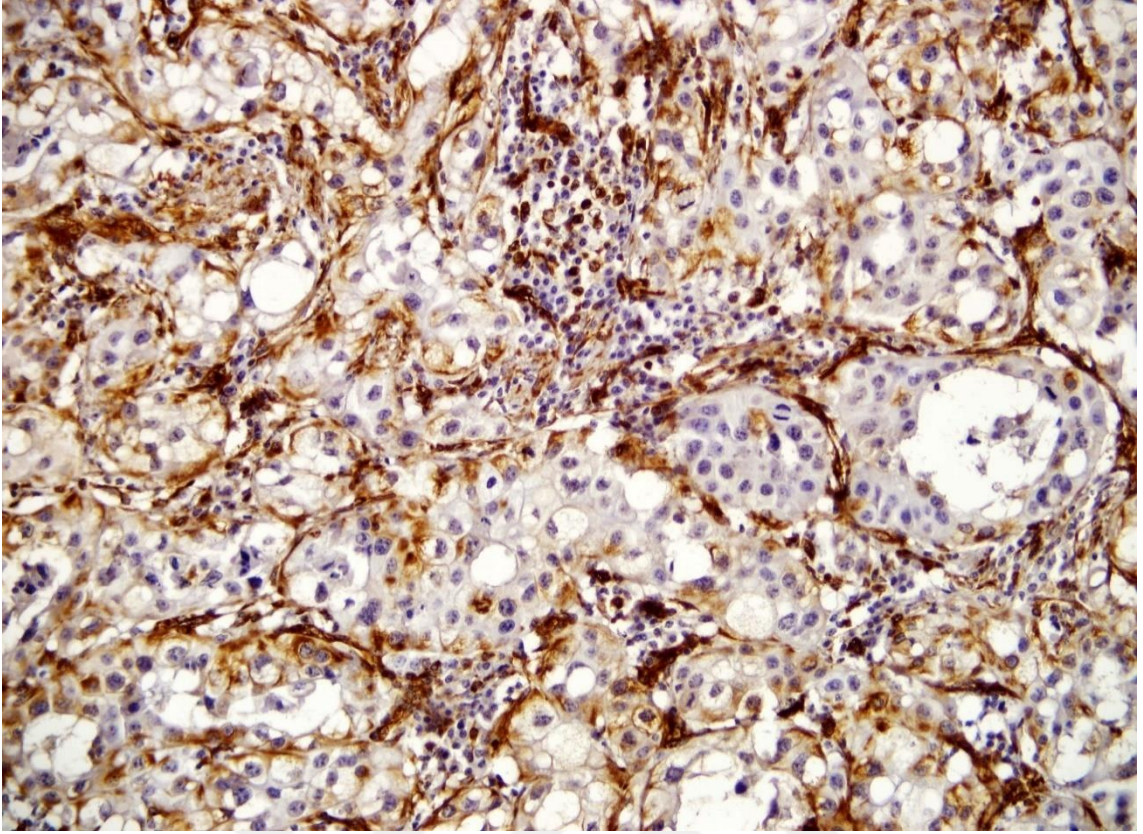
Resim 34: Neoplastik hücrelerde yaygın nükleer Ki-67 immün pozitif reaksiyon (ABCx10).



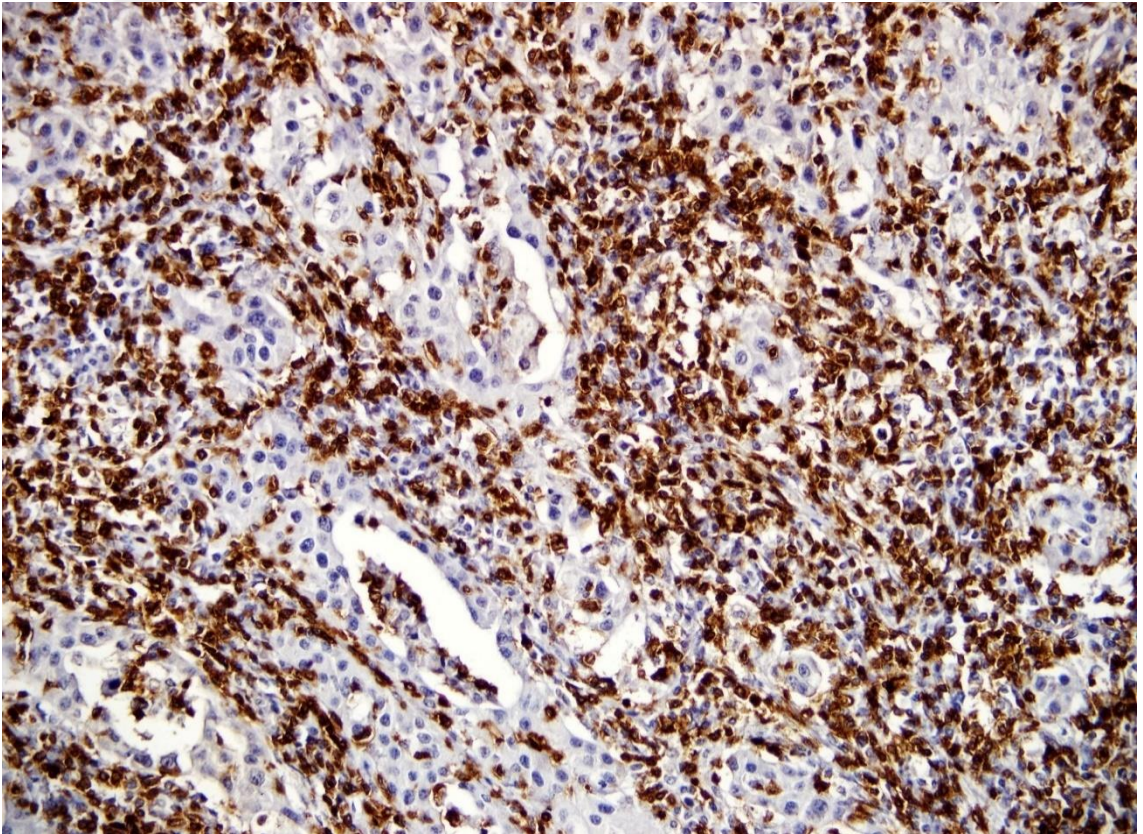
Resim 35: Neoplastik dokuda periferel tümör hücrelerinde Ki-67 pozitif reaksiyon (ABCx10).



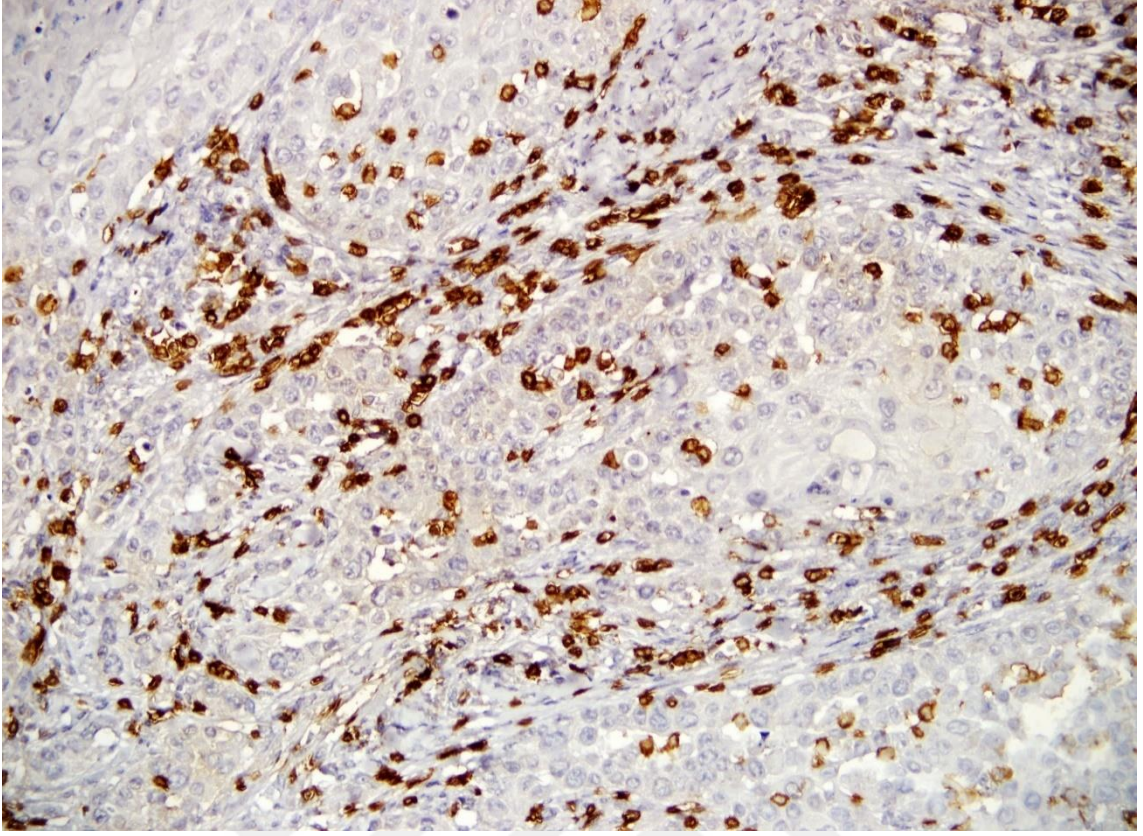
Resim 36: Tümör odağında destek dokuda vimentin pozitif reaksiyon (ABCx10).



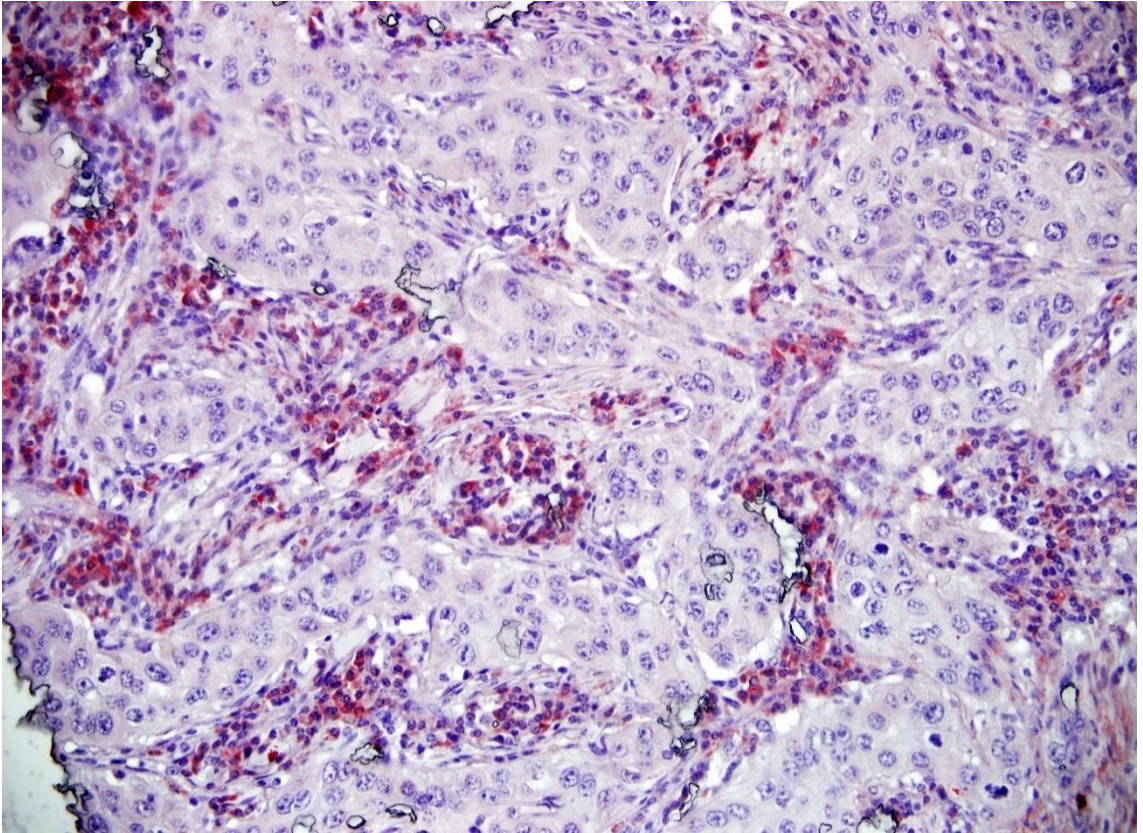
Resim 37: Berrak hücreli tümöral proliferasyonlar arasında vimentin pozitif boyanma (ABCx10).



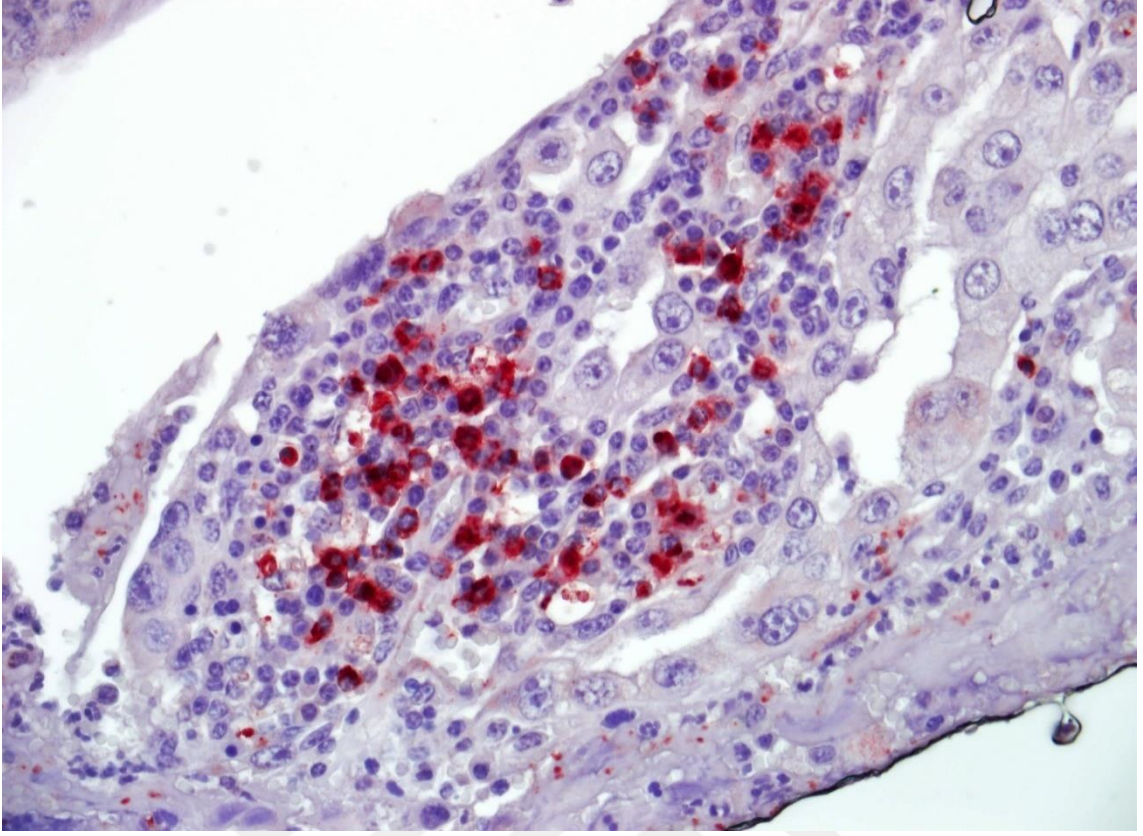
Resim 38: Tümöral dokuda şiddetli CD3⁺ T hücre infiltrasyonu (ABCx20).



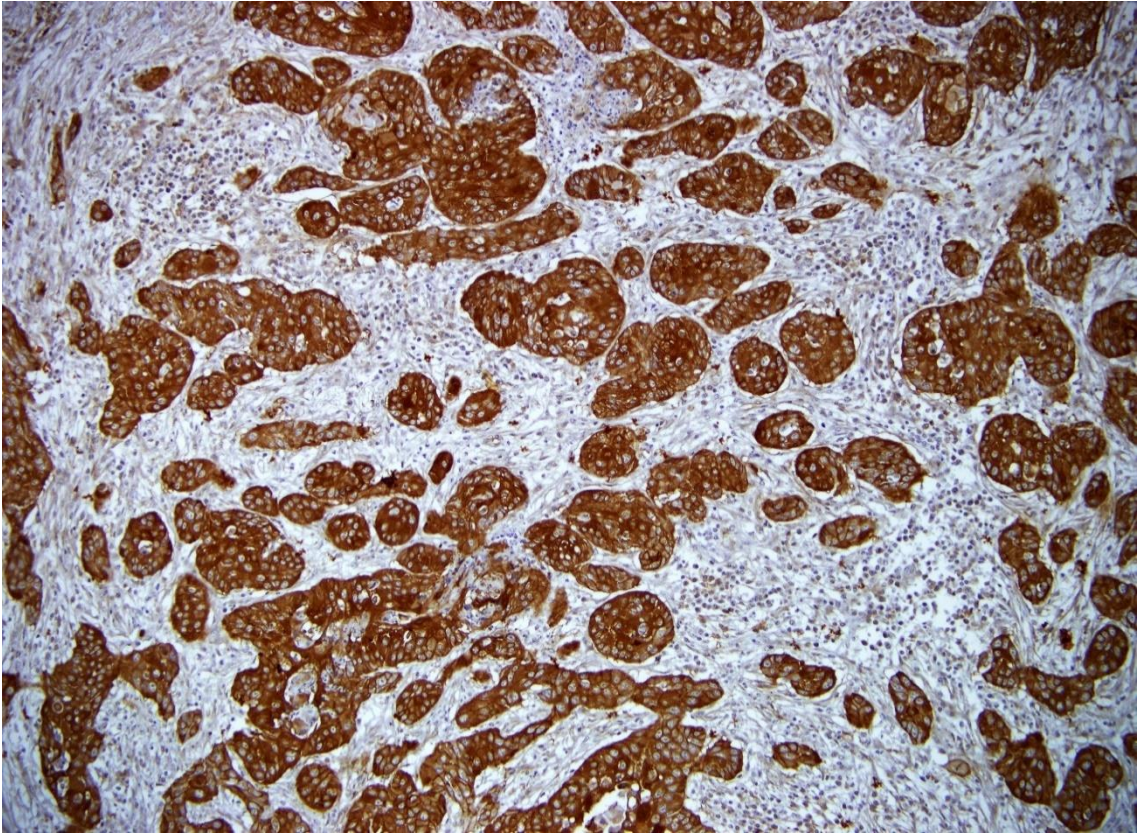
Resim 39: Neoplastik parankime infiltre olmuş CD3⁺ T lenfosit artışı (ABCx20).



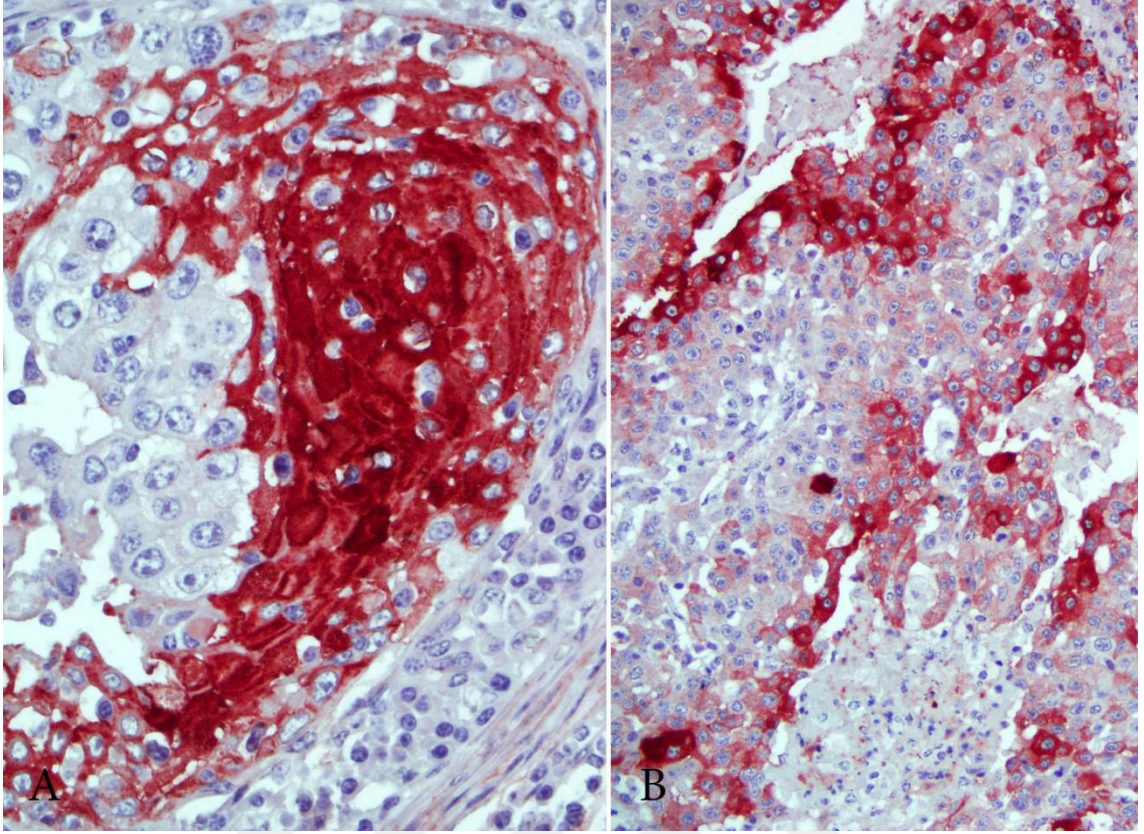
Resim 40: Destek dokuda yangısal infiltratta CD79acy⁺ B hücre infiltrasyonu (ABCx20).



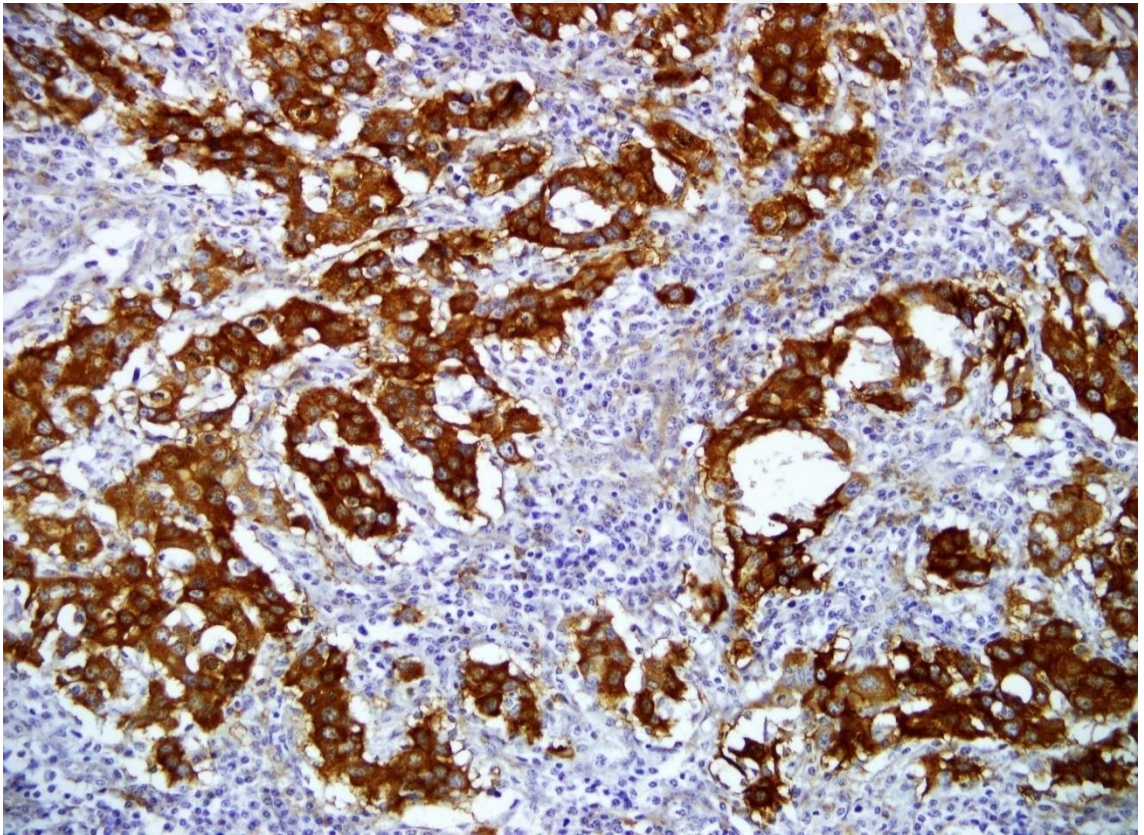
Resim 41: Tümöral parankimde CD79 α cy⁺ infiltratif B lenfosit artışı (ABCx40).



Resim 42: Tümör adacıklarında yaygın TNF α ⁺ reaksiyon (ABCx10).



Resim 43: Tümöral dokuda periferik hücrelerde TNF α ⁺ reaksiyon (ABC; Ax40, Bx20).



Resim 44: Berrak hücreli OYHK hücrelerinde pozitif TNF α eaksiyon (ABCx10).

8. KAYNAKLAR

Akpınar E: Malign plevral mezoteyomlarda doku mikroaray yöntemlerle immünohistokimyasal incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2010.

Astsaturov IA, Matutes E, Morilla R, Seon BK, Mason DY, Farahat N, Catovsky D: Differential expression of B29 (CD79b) and mb-1 (CD79a) proteins in acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia*, 10(5): 769 -73, 1996.

Azarabad H, Gharagozlou MJ, Nowrouzian I, Seyedjavad MR: p53 and Ki67 protein expression in ocular squamous cell carcinomas of dairy cattle. *International Journal of Veterinary Research*, 5(4): 226-231, 2011.

Batinac T, Zamolo G, Jonjic N, Gruber F, Petroveckı M: p53 Protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. *Tumori*, 90(1): 120-7, 2004.

Batur Ş: Larinks skuamöz hücreli karsinomlarında fas, fas ligand ve Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması. Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2004.

Beşer O: Radikal prostatektomi spesimenlerinde Amacr/P63/HMWCK üçlü kokteyli 'double staining' ile immünohistokimyasal analiz. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.

Beverley PCL: Anti-CD3 (T Cell). *European Journal İmmunology*, 11: 329-334, 1981.

Bier J, Kleinshuster SJ, Corbett R: Radical surgery of bovine ocular squamous cell carcinoma (Cancer Eye): A new procedure. *Veterinary Science Communications*, 3: 221-230, 1979.

Birner P, Ritzi M, Musahl C, Knippers R, Gerdes J, Voigtlander T, Budka H, Hainfellner JA: İmmünohistochemical detection of cell growth fraction in formalin- fixed and parafin-embedded murine tissue. *Amerikan Journal of Pathology*, 158(6): 199-1996, 2001.

Breen T, Mckee PH: Tumors of the surface epithelium. In: Philip HM, Eduardo Calonje, Scott RG (Edt): Pathology of the Skin with Clinical Correlations. Vol.2 4th Edition, China, 2005.

Bunton TE: The İmmünoocytochemistry of cytokeratin in fish tissues. Veterinary Pathology, 30(5): 418-25, 1993.

Capen CC: Tumors of the endocrine glands. In: Meuten DJ (Edt): Tumors in Domestic Animals, 4th Edition, USA, p.51–54, 2002.

Carlos D: Normal skin. In: Stephen S. Sternberg (Edt): Histology For Pathologists. 5th Edition. Lippincott-Raven Publishers, China, p.125-145, 1997.

Carvaolho T, Vala H, Pinto C, Pinho M, Peleterio MC: İmmünohistochemical studies of epithelial cell proliferation and p53 mutation in bovine ocular squamous cell carcinoma. Veterinary Pathology, 42 (1): 66–73, 2005.

Ceylan C, Özyıldız Z, Yılmaz R, Biricik HS: Clinical and histopathological evaluation of bovine ocular and periocular neoplasms in 15 cases in Şanlıurfa region. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(3): 469-474, 2012.

Coulter LK, Wolber R, Tron VA: Specific comparison of p53 immünostaining in squamous cell carcinomas. Human Pathology, 26 (5): 531-533, 1995.

Çoşkun G, Bozkurt ER, Gür D: Prostat adenokarsinomlarında HMWCK (34BE12) immün reaktivitesi. Göztepe Tıp Dergisi, 19: 216-218, 2004.

Dağıstan E: Meme kanserinde hücre proliferasyonunun değerlendirilmesi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Uzmanlık Tezi, İstanbul,2002.

David EE, Rosalie E, George FM, Xiaowei X: Benign Pigmented Lesions and Malignant Melanoma. In: David EE (Edt): Lever's Histopathology of the Skin. 9th Edition, USA, p.715-804, 2003.

Devi RV, Veeraiah G, Annapurna P, Estheru S: Squamous cell carcinoma of ear in an Indian water buffalo (*Bubalus bubalis*). Brazilian Journal of Veterinary Pathology, 3(1): 60-62, 2010.

DPI: Cancer eye in cattle. Agfact, NSW Department of Primary Industries, Third Edition, Updated (<https://www.dpi.nsw.gov.au/animals-and-livestock/beef-cattle/health-and-disease/general/cancer-eye-in-cattle>), 11: 1-4, 2004.

Dursun N: Veteriner anatomi kitabı. 3. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 2000.

El-Mohamady H, Basta MT, Seddek MN, Helmy H, Al- Hilaly E, Atallah AM, Ghoneim MA: UNME/K1: An IgG2a monoclonal antibody specific to cytokeratin of human urinary bladder squamous cell carcinoma. *Urological Research*, 19(2):145-50, 1991.

Fornazari GA, Kravetz J, Kiupel M, Sledge D, Roque I, Filho B, Montiani F: Ocular squamous cell carcinoma in holstein cows from the south of Brazil. *Veterinary World*, 10(12): 1413-1420, 2017.

Foster L: "Cancer Eye"-It's treatment and prevention. In: Foster L (Edt): *Beef Cattle Handbook*. New Mexico State University, 2007.

Frohwitter G, Buerger H, Diest PJV, Korsching E, Kleinheinz J, Fillies T: Cytokeratin and protein expression patterns in squamous cell carcinoma of the oral cavity provide evidence for two distinct pathogenetic pathways. *Oncology Letters*, 12: 107-113, 2016.

Gartner LP, Hiatt JL: Göz ve deri histolojisi. In: Dağdeviren A, Mütfüoğlu S, Karabay G (Edt): *Renkli Histoloji Atlası*. 4.Baskı, Güneş Tıp Kitap Evleri, Ankara, Syf: 387-401, 1990.

Gautam D, Dushyant Y, Zahoor W, Pawde AM, Sharma AK: Ocular squamous cell carcinoma in a cross bred cow: A case report. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5(5): 3026-3029, 2016.

George F: Murphy- Histopathology of the skin In: David E. Elder (Edt): *Lever's Histopathology of the Skin*. 9th Edition USA, p.9-58, 2005.

Gharagozlu MJ, Hekmati P, Ashrafihelan J: A clinical and histopathological study of ocular neoplasms in dairy cattle. *Veterinarski Arhiv*, 77(5): 409-426, 2007.

Ginn PE, Hargis AM: Pathologic basis of veterinary diseases In: James F. Zachary M, Donald MG (Edt). 5th Edition, Elsevier, China, 2012.

Goldenberg G, Golitz LE, Fitzpatrick J: Histopathology of skin cancer. In: Stockfleth E, Rosen T, Schumrak S (Edt): *Managing Skin Cancer*. 5th Edition. Springer-Verlag Berlin. p.17-22, 2010.

Goldschmidt MH, Goldschmidt KH: Epithelial and melanocytic tumors of the skin. In: Donald J. Meuten (Edt): *Tumors In Domestic Animals*. North Carolina State University Raleigh, USA, p.88-142, 2017.

Grace MP, Kim KH, True LD, Fuchs E: Keratin expression in normal esophageal epithelium and squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer Research*, 45(2): 841-846, 1985.

Grahn B: *Histologic basis of ocular disease in animals*. 1th Edition. Wiley Blackwell, Canada, p.122, 2019.

Hamir AN, Parry OB: An abattoir study of bovine neoplasms with particular reference to ocular squamous cell carcinoma in Canada. *Veterinary Record*, 106(26): 551-3, 1980.

Harwood CA, Proby CM, Leigh IM: Aggressive spindle cell squamous carcinoma in renal transplant recipients. *British Journal of Dermatology*, p.135-223, 1996.

Heeney JL, Vali VEO: Bovine ocular squamous cell carcinoma: An epidemiological perspective. *Canadian Journal Comparative Medicine*, 49(1): 21-26, 1985.

Hendrix DVH: *Equine ocular squamous cell carcinoma*. Elsevier Saunders, p. 87-94, 2005.

Stewart RJ, Hill FWG, Masztalerz A, Jacobs JJJ, Koten JW, Otter WD: Treatment of ocular squamous cell carcinomas in cattle using interleukin-2. *Veterinary Record*, 159(20): 668-672, 2006.

Irwin MS, Kaelin WG: Role of the newer p53 family proteins in malignancy. *Apoptosis*, 6(1-2):17-29, 2001.

Jennings PA, Lavint MF, Hughest HJ, Spradbrow PB: Bovine ocular squamous -cell carcinoma: lymphocyte response to phytohaemagglutinin and tumor antigen. *British Journal of Cancer*, 40: 608-614, 1974.

Khodakaram A, Motaghypisheh M, Shirian S: Pathological study of naturally occurring vulvar and vaginal squamous cell carcinoma (SCC) in cattle. *Comparative Clinical Pathology*, 22(4): 713-716, 2013.

Kircher CH, Garner FM, Robinson FR: Tumors of the eye and adnexa. *Bull World Health Organ*, 50(1-2):135-42, 1974.

Kiani K, Dezfoulian O, Skookhthezari A, Jahanzad I, Vaziri S: Acantholytic squamous cell carcinoma in a cow. *Comparative Clinical Pathology*, 19(4):397-400, 2010.

Kirkham N: Tumors and cysts of the epidermis. In: David E. Elder (Ed): *Lever's Histopathology of The Skin*. 9th Edition, USA, p. 805-866, 2005.

Kuchroo VK, Halliday WJ, Philip AJ, Peter BS: Serum blocking factors in bovine ocular squamous cell carcinoma demonstrated by inhibition of erythrocyte rosette augmentation. *Cancer Research*, 43: 1325-1329, 1983.

Kuo T: Clear cell carcinoma of the skin: A variant of the squamous cell carcinoma that stimulates sebaceous carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 4(6): 573-83, 1980.

Kusewitt DF, Rush LJ: Neoplasia and tumor biology. In: Louis ST (Edt): *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Mosby Elsevier, p.1263-1315, 2007.

Kwan TH, Martin CM: The skin, In: Robbins SL, Cotran RS: *Pathologic Basis of Disease*. 5th, London, p. 1417-1461, 1979.

Latha S: Skin Normal Histology. Updated ([https:// www. slideshare.net/ ShinyLatha1/normal-skin-histology](https://www.slideshare.net/ShinyLatha1/normal-skin-histology)), 2017

Lu S, Tiekso J, Hietanen S, Syrjanen K, Havu VK, Syrjanen S: Expression of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA and Ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement. *Acta Dermato Venereologica*, 79: 268-273, 1999.

Malkoç İ: Göz küresinin tabakaları: Anatomik ve histolojik bir derleme. *The Eurasian Journal of Medicine*, 38: 124-129, 2006.

Martin CK, Tannehill-Gregg SH, Wolfe TD, Rosol TJ: Bone-Invasive oral squamous cell carcinoma in cats: Pathology and expression of parathyroid hormone-related protein. *Veterinary Pathology*,48(1): 302-12, 2011.

Masuda EK, Kommers GD, Martins TB, Barros CS, Piazer JVM: Morphological factors as indicators of malignancy of squamous cell carcinomas in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium Aquilinum*). *Journal of Comparative Pathology*, 144(1): 48-54, 2011.

Mauldin EA, Kennedy JP: Integumentary system. In: Maxie MG, Kennedy JP (Edt) : *Palmer's Pathology of Domestic Animals*, 6th edition Elsevier (2016).

Milner RJ: Immunophenotypic classification of canine malignant lymphoma on formalin-fixed paraffin wax-embedded tissue by means of CD3 and CD79a cell markers. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 63(4): 309-13, 1996.

Misdorp W, Klein WR, Ruitenber EJ, Hart G, Jong WH, Steerenberg PA: Clinico-Pathological aspects of immunotherapy by intralesional injection of BCG cell walls or live BCG in bovine ocular squamous cell carcinoma. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 20(3):223-30, 1985.

Mosunic CB: *Equine ocular squamous cell carcinoma: Retrospective and diagnostic studies*. B A Bucknell University, 2003.

Najarneshad V, Aslani M: Unusual case of cutaneous squamous cell carcinoma in an ewe. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 4(2): 49-53, 2012.

Nappi O, Pettinato G, Wick MR: Adenoid (Acantholytic) squamous cell carcinoma of the skin. *Journal of Cutaneous Pathology*, 16(3): 114-21, 1989.

Newton R: A review of the aetiology of squamous cell carcinoma of the conjunctiva. *British Journal of Cancer*, 74(10): 1511-1513, 1996.

Niku M, Ekman A, Pessa-Morikawa T, Livanainen A: Identification of major cell in paraffin sections of bovine tissues. *BMC Veterinary Research*, 2(5): 1746-6148, 2006.

Oliveira AP, Cagnini DQ, Badial PR, Cisneros-Alvarez E, Laufer-Amorim R, Prestes NC: Squamous cell carcinoma in vaginal fundus in a Brahman cow. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootécnica*, 63(3): 749-752, 2011.

Oran GÖ: Serviks biyopsilerinde p16 ve Ki67 ekspresyonunun ayırıcı tanıdaki yeri. Haseki Eğitim Hastahanesi, Patoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008.

Özoran K, Tülek N, Düzgün N: Romatoid artrit (RA) ve sitokinler: İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF-A) ve interferon gama (IFN- γ). *The Journal of the Faculty of Medicine*, 47: 495-504, 1994.

Perez CA, Kraus FT, Evans JC, Powers WE: Anaplastik transformation in verrucous carcinoma of the oral cavity after radiation therapy. *Radiology*, 86(1): 108-115, 1966.

Perez J, Mendez A, Chacon M, De-Lara F, Martin MP, Mozos E: Ovine squamous cell carcinoma: İmmünocharacterization of neoplastic cells and peritumoural cellular infiltrate. *Research in Veterinary Science*, 63: 43-47, 1997.

Perez J, Mozos E, Martin MP, Day MJ: İmmünohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with equine squamous cell carcinoma. *Journal of Comparative Pathology*, 121(4): 385–97, 1999a.

Perez J, Day MJ, Martin MP, Gonzales S, Mozos E: İmmünohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with feline cutaneous squamous cell carcinomas and precancerous lesions (Actinic Keratosis). *Veterinary İmmunology and İmmünopathology*, 69(1): 33-46, 1999b.

Philip HM, Eduardo C, Scott RG: The structure and function of the skin, pathology of the skin with clinical correlations. 4th Edition, China, Elsevier Limited, 1: 1-36, 2005.

Pugliese M, Mazzullo G, Niutta PP, Passantino A: Bovine ocular squamous cellular carcinoma: A report of cases from the Caltagirone area, Italy. *Veterinarski Arhiv*, 84(5):449-457, 2014.

Radostits OM, Gay CC, Blood DC: *Veterinary medicine: A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9th Edition, London, p. 1813-1815, 2000.

Ramos- Vara JA, Miller MA, Boucher M, Roucher M, Roudabush A, Johnson GC: İmmünohistochemical detection of uroplakin III, cytokeratin 7 and cytokeratin 20 in canine urothelial tumors. *Veterinary Pathology*, 40(1): 55-62, 2003.

Rinker MH, Frenkse NA, Scalf LA, Glass LF: Histologic variants of squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer Control*, 8(4): 354-63, 2001.

Roewert-Huber J: Histopathology of skin cancer. In: Stockfleth E, Rosen T, Schumrak S (Edt): *Managing Skin Cancer*. 5th Edition. Springer-Verlag Berlin, p.20-26, 2010.

Rosai J: Gastrointestinal tract. In: Rosai J.(Edt): *Ackerman's Surgical Pathology*.8th Edition, p.589-816, 1996.

Russell WC, Brinks JC, Kainer RA: Incidence and heritability of ocular squamous cell tumors in Hereford cattle. *State University, Journal of Animal Science*, 43: 1156-1162, 1976.

Sağlıyan A, Günay C, Han MC: Sığırlarda oküler yassı hücreli karsinom olgusu: İki olgu. *E- Journal New World Sciences Academy*, 5(5): 67-72, 2010.

Sassi F, Sarli G, Brunetti B, Morandi F, Benazzi C: İmmünohistochemical characterization of mammary squamous cell carcinoma of the dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20 (6):766-73, 2008.

Sironi G, Riccaboni P, Mertel L, Cammarate G, Brooks D: p53 expression in conjunctival squamous cell carcinoma of domestic animals. *Veterinary Ophthalmology*, 2(4): 227-231,1999.

Smith ND, Rubenstein JN, Eggener SE, Kozlowski JM: The p53 tumor suppressor gene and nuclear protein: Basic science review and relevance in the management of bladder cancer. *Journal of Urology*, 169(4): 1219-28, 2003.

Song K, Zhu F, Zhang HZ, Shang ZJ: Tumor necrosis factor- α enhanced fusions between oral squamous cell carcinoma cells and endothelial cells via VCAM-1/VLA-4 pathway. *Experimental Cell Research*, 318(14): 1707-15, 2012.

Stratigos A, Garbe C, Lebbe C, Malvehy J, Marmol V, Pehamberger H, Peris K, Becker JC, Zalaudek I, Saiag P, Middleton MR, Bastholt L, Testori A, , Grob JJ:

Diagnosis and treatment of invasive squamous cell carcinoma of the skin: European consensus-based interdisciplinary guideline. *European Journal Cancer*, 51(14): 1989-2007, 2015.

Sun EC, Fears TR, Goedert JJ: Epidemiology of squamous cell conjunctival cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers Prevention*. 6(2): 73-7, 1997.

Suzuki N, Kansas G, Engleman EG: Lymphocytes. In: Mccarty DJ, Koopman WJ (Edt): *Arthritis and Alhed Conditions*. Lea and Febiger, p: 377-387, 1993.

Taş A, Karasu A, Aslan L, Atasoy N, İlhan F: İki sığırdada oküler yassı hücreli karsinom olgusu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20: 69-71, 2009.

Taşkın T: İntraepidermal ve invaziv neoplastik deri lezyonlarında p53 ve p63'ün immünohistokimyasal analizi. Şişli Eftal Eğitim Araştırma Hastahanesi, Patoloji Laboratuvarı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.

Tavassoli FA: General consideration. In: Tavassoli FA (Edt): *Pathology of the Breast*. Connecticut, Appelton & Lange, p.43-46, 1999.

Teifke JP, Löhr CV: İmmünohistochemical detection of p53 overexpression in parafin wax-embedded squamous cell carcinomas of cattle, horses, cats and dogs. *Journal of Comparative Pathology*, 114(2): 205-10, 1996.

Tiwari DK, Saharan S, Sharma S, Choudhary RN, Sindhu N, Jaglan V, Potaliya S: Ocular squamous cell carcinoma in a buffalo: A case report. *Buffalo Bulletin*, 35(1): 11-14, 2016.

Tosun İ: Gastrointestinal stromal tümörlerde immünohistokimyasal yöntemle saptanan P16 protein ekspresyonunun prognostik önemi. Haydar Paşa Numune Eğitim Araştırma Hastahanesi, Patoloji Laboratuvarı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2009.

Vala H, Fondevilla D, Carvalho T, Pinto C, Peleterio C, Pinho M, Ferrer L: İmmünohistochemistry studies on bovine squamous cell carcinoma morphological characterization of epidermal cell proliferation and differentiation markers and characterization of cytokeratins. *International Symposium, Research in Veterinary Science*, 24-25 May 2001.

Velden LA, Schaafsma HE, Manni JJ, Ruiters DJ, Ramaekers FC, Kuijpers W : Cytokeratin and vimentin expression in normal epithelium and squamous cell carcinomas of the larynx. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 254(8):376-83, 1997.

Wilcock BP: Special senses, eye. In: Maxie GM (Edt): Jubb, Kennedy and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. 6th Edition. St. Louis, MO, USA, p. 408-488, 2016.

Yakan S, Aksoy Ö, Karaman M, Kılıç E, Ermutlu CŞ: Ocular squamous cell carcinoma case in three cattle. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(2): 80-185, 2017.

Yalvaç IS: Gözün Yapısı. Erişim Adresi (<https://ilgazyalvac.com/goz-anatomisi/>), 2014.

Yenen ŞO: Kaşektin (Tümör nekroz faktörü) I: Yapısı, biyosentezi ve biyolojik etkileri. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1: 132-148, 1990.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Kars Merkez doğumluyum. İlk öğrenimimi Kars'ta tamamladım. Orta öğretiminden Kars Serhat Sağlık Meslek Lisesi, Laboratuvar Teknisyenliği bölümünden 2009 yılında mezun oldum. Daha sonra Kafkas Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Bölümünden 2011 yılında mezun oldum. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazanarak 2015 yılında mezun oldum. 2010 yılından beri Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastahanesi, Patoloji Laboratuvarında Laborant/Biyolog olarak çalışmaktayım.

