



ARAŞTIRMA MAKALESİ

Transmissible venereal tümörlü dişi köpeklerde otojen aşı uygulaması

Sakine Ülküm Çizmeçi^{1*}, Ayşe Merve Köse¹, İbrahim Aydın¹, Dursun Ali Dinç¹,

Mehmet Maden², Serkan İrfan Köse²

Özet

Çizmeçi SÜ, Köse AM, Aydın İ, Dinç DA, Maden M, Köse Sİ. Transmissible venereal tümörlü dişi köpeklerde otojen aşı uygulaması. *Eurasian J Vet Sci*, 2012, 28, 4, 220-223

Amaç: Yapılan bu çalışmada transmissible venereal tümör (TVT) tedavisinde otojen aşı uygulamalarının başarısının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmanın hayvan materyalini 8 adet TVT'li dişi köpek oluşturdu. Köpeklere uygulanan otojen aşı bovine papillomatozis aşısı esas alınarak yapıldı. Yaklaşık 24 g tümör dokusuna 48 mL tris buffer (pH: 7.5) solüsyonu eklenerek otoklavize edilmiş steril kum yardımıyla soğuk şartlarda (+4 °C) 15-20 dakika havan içerisinde ezilerek parçalandı. Karışımın yarısı (36 mL) alınıp tris buffer ile 60-65 mL'ye tamamlandı ve %0.5 oranında formalin katılıp 10 mL'lik 6 kısma ayırdı. Hazırlanan aşı 1 hafta ara ile 4 kez (SC) uygulandı. Köpekler 4. uygulamanın ardından 3 aylık takibe alındı ve tümörün gerilemesi yönünden değerlendirmeler yapıldı.

Bulgular: Köpeklerde otojen aşı uygulaması öncesinde serosanguinöz veya hemorajik genital akıntı tespit edildi. Vagina ve vulvada bulunan kitleler karnabahar biçiminde ve dokunulduğunda kolayca kanayan bir yapıda gözlemlendi. Otojen aşı uygulamaları sonrasında köpeklerin dış genital organlarında bulunan kitlelerden gelen serosanguinöz veya hemorajik genital akıntının kesilmediği ve kitlenin frajilitesinde bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Otojen aşı uygulaması yapılan hayvanlarda, uygulanan 4 doz aşı sonrasında vagina ve vulvada bulunan kitlelerde herhangi bir gerileme ve iyileşmenin olmadığı belirlendi.

Öneriler: TVT oluşumunda viral bir ajanın etken olabileceğine inanılmaktadır. Orijini bovine papilloma virüs olan sığırların papillomatozisinin tedavisinde başarılı sonuçlar alınan otojen aşı uygulama tekniğinin köpeklerde TVT tedavisinde etkili olamayabileceği kanaatine varıldı.

Abstract

Cizmeçi SU, Kose AM, Aydın I, Dinc DA, Maden M, Kose SI. Application of autogenous vaccine in bitches with transmissible venereal tumor. *Eurasian J Vet Sci*, 2012, 28, 4, 220-223

Aim: The aim of the study was to determine the success of autogenous vaccine application in treatment of TVT.

Materials and Methods: The study was conducted on 8 bitches with TVT. The autogenous vaccine applied on the dogs was maddened the based on the bovine papillomatozis vaccine. Approximately 24 g of tumor tissue and 48 mL Tris buffer (pH 7.5) solution were crushed in cold conditions (+4 °C) during 15-20 minutes in mortar disintegrated with autoclaved sterile sand. Half of the mixture (36 mL) was completed with tris buffer to 60-65 mL. 0.5 percent formalin was added this mixture and mixture was portioned to 6 each has 10 mL. The prepared vaccine was administered 4 times (SC) with an interval of 1 week. Dogs were followed up 3 months after 4th application and evaluations were performed for tumor regression.

Results: Serosanguineous or hemorrhagic genital discharge was determined in dogs prior to application of autogenous vaccine. The lesions in external genital organs are like cauliflower, rubescent, fresh-looking and easily bleed on touched. After administration of the autogenous vaccine, serosanguineous or hemorrhagic genital discharge from the masses on the external genital organs of dogs continued, and there were no changes in the mass fragility. After the application of autogenous vaccines at four times, there was no any decline and improvement in the masses on the vagina and vulva.

Conclusions: It is believed that a viral agent may contribute to the etiology of TVT. Prepared autogenous vaccine technique used in the treatment of bovine papillomatozis derived from bovine papilloma virus may not be suitable in the treatment of bitches with TVT.

¹Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, ²İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Selçuk Üniversitesi, Kampüs, 42003, Konya, Türkiye

Geliş:17.09.2012, Kabul: 26.09.2012

*ulkumata@selcuk.edu.tr

Anahtar kelimeler: Transmissible venereal tümör, otojen aşı

Keywords: Transmissible venereal tumor, autogenous vaccine

► Giriş

Transmissible venereal tümör (TVT); enfeksiyöz sarkoma, venereal granuloma, transmissible lenfosarkom ya da sticker tümör olarak bilinen (Martins ve ark 2005, Murgia ve ark 2006) ve her iki cinsiyetteki köpeklerin özellikle dış genital organların mukozalarını nadiren de iç genital organları etkileyen bir benign reticuloendotelial tümördür (Nak 2001, Mukaratirwa ve Gruys 2003, Eze ve ark 2007). Onkolojide özel bir yere sahip olan TVT, 1876 yılında Rusya'da Veteriner Hekim Nowinsky tarafından deneysel olarak oluşturulan ilk tümördür (Martins ve ark 2005). Tümör daha çok dişi ve erkeklerde dış genital organlara yerleşir. Dış genital organlar haricinde yanak, burun ve anüs mukozasında, konjüktiva ve deride de görülebildiği bildirilmektedir Hayvanlarda genellikle serosanguinöz veya hemorajik genital akıntı bulunur (Nak 2001, Martins ve ark 2005, Nak ve ark 2005). Dış genital organlarda bulunan tümörler 0.5 mm - 15 cm çaplı karnabahar biçiminde, kızarıklık, taze görünümlü, dokunulduğunda kolayca kanayan bir yapıya sahiptir (Konuk ve ark 2001, Nak 2001). TVT genellikle cinsel yolla bulaşır, fakat bulaşma yalama, koklama, ısırma, tümörden etkilenmiş bölgenin tırmalanması ya da yaralı deri ve mukozalar yoluyla da olabilir (Martins ve ark 2005, Eze ve ark 2007, Özyurtlu ve ark 2008).

TVT'nin hücre orijini bilinmemektedir. Tümörün lenfosit, histiyosit, retikulum hücreleri gibi hücrelerden köken aldığı değişik araştırmacılar tarafından ortaya atılmış ancak kesin kaynağı belirlenememiştir (Erer ve Kıran 2000). Bulaşma direk olarak canlı tümör hücrelerinin transplantasyonu ile gerçekleşir (Erer ve Kıran 2000, Murgia ve ark 2006) ve fiziksel yolla bulaşma enfektif yolla bulaşmadan daha sık görülür (Erer ve Kıran 2000, Goldschmidt ve Hendrick 2002). Buna karşın dondurulan, ısıya maruz bırakılan ve gliserinle muamele edilen tümör hücreleri veya hücresiz filtratlar verildiğinde tümör oluşturulamamaktadır (Murgia ve ark 2006, Eze ve ark 2007). Buna karşın tümör hücrelerinin içerisinde bulunan sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri nedeniyle bazı araştırmacılar bu hastalığı bir viral ajana bağlamaktadırlar (Martins ve ark 2005).

TVT, immunokomponent allojenik yetişkin köpeklerde canlı tümör hücrelerinin subkutan inokulasyonu ile deneysel bulaşma oluşturulabilmektedir. Deneysel enfeksiyonların büyük çoğunluğunda tümör spontan regresyona uğramıştır. Hastalığın doğal oluşumunda spontan regresyon daha az sıklıkta oluşmaktadır. Regresyonun tümör antijenleri tarafından gerçekleştirildiğine inanılmaktadır. Bu yüzden, immun cevap direk tümör antijenlerine karşı enfeksiyonun gidişatını ya da sonucunu belirlemede büyük rol oynamaktadır (Katzır ve ark 1985, Harmelin ve ark 2002). Hastalığı atlatmış hayvanlardan alınan kan ya da serumun TVT taşıyan bir diğer köpeğe verilmesiyle pasif immunité yoluyla tümör regresyonunun sağlanabildiği de bildirilmektedir (Konuk ve ark 2001). TVT antijenlerine

karşı gelişen spesifik antikorlara tümör taşıyan hayvanların kanlarında rastlanmıştır ve bu antikorların doğal regresyon mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör antikor taşıyan annelerin yeni doğan yavrularının tümör gelişimi için daha uzun bir latent döneme ihtiyacı vardır ve bu yavru da tümör dokusunun boyutları daha küçüktür ve daha hızlı spontan regresyon görülür (Das ve Das 2000).

TVT'den tamamen iyileşen bir hayvandan tam kan veya serum nakli ya da bir tümör dokusu homojenatından hazırlanan otokutenöz aşının uygulanması ile tedavi edilebilirler. Ancak sonuçlar oldukça değişkenlik arz etmektedir (Johnston ve ark 2001, Eze ve ark 2007). TVT tedavisinde bakteriyel toksinlerde kullanılabilir. Bu amaçla *Chromobacterium prodigiosum*'un ölü süspanسیونlarının ya tek başına ya da diğer organizmalarla kombine uygulanması ile tatmin edici sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Das ve Das 2000). Tümör dokusu içine Calmette-Guérin's Bacillus (BCG)'un üç hafta süreyle uygulanması ile sporadik bir başarı sağlandığı bildirilmiştir (Martins ve ark 2005, Mukaratirwa ve Gruys 2011). *Staphylococcus protein A*, BCG ya da tümör hücrelerinden yapılan aşı kullanılarak yapılan immunoterapi sonrasında nüksler görüldüğü bildirilmiştir. Biyoterapi uygulamaları genellikle nükslerle sonuçlanmaktadır (Martins ve ark 2005). Bovine papilloma virüs (BPV) sığırların özellikle memelerine yerleşerek ve sigil benzeri oluşumlarla papillomatozise neden olur. Papillomatozisin birçok tedavi şekli vardır. Bunlardan birisi de aşıdır ve tümör hücrelerinde tümör antijenleri bulunduğundan tümör dokusundan hazırlanan otojen aşılar ile sistem uyarılabilmektedir (Dinç 1995).

TVT hücrelerinin içerisinde bulunan sitoplazmik inklüzyonlar nedeniyle bazı araştırmacılar bu hastalığı bir viral ajana bağlamaktadırlar (Martins ve ark 2005). TVT dokusundan yapılan elektron mikroskopik incelemelerde virüs partiküllerine rastlandığını bildiren yayınlar bulunmaktadır (Erer ve Kıran 2000). Bazı araştırmacılar ise elektron mikroskobu ile tümör hücrelerinde virüs partiküllerine kesinlikle rastlanmadığını, cell-free filtratlar ve C tip partiküllerle bulaşmanın bu tümör ile bağlantılı olabileceğini ve öneriler bu ajanın tip C retrovirüs olabileceğini bildirmektedirler (Eze ve ark 2007).

Mevcut araştırmada TVT'nin hücre orijininin bilinmemesi, yapılan çalışmalarda virüs partiküllerine rastlanması, bulaşıcı özellik göstermesi ve virüs kaynaklı bazı tümör tiplerinin tedavisinde otojen aşılardan kullanılabiliyor olması dikkate alındığında TVT tedavisinde de otojen aşının kullanılabileceği hipoteze edildi.

Çalışmanın amacı TVT tedavisinde otojen aşı uygulamasının etkinliğini araştırmaktır.

► Gereç ve Yöntem

Çalışmanın hayvan materyalini Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen farklı ırk, yaş

ve ağırlıkta 8 adet TVT'li dişi köpek oluşturdu. TVT klinik ve sitolojik muayeneler yapılarak teşhis edildi. Ultrasonografik ve radyografik bulgulara göre metaz-taz tespit edilmeyen hayvanlar çalışmaya dahil edildi.

Köpeklere uygulanan otojen aşı sığırların papilloma-tosisine karşı geliştirilen papillom aşısı esas alınarak yapıldı (Dinç 2005). Köpeklerin vulvasında bulunan tümör dokularından alınan kitleler aseptik şartlarda PBS içinde laboratuara taşındı. Hayvanın vulvasından alınan yaklaşık 24 g tümör dokusuna 48 mL tris bufer (pH: 7.5) solüsyonu eklenerek otoklavize edilmiş steril kum yardımıyla soğuk şartlarda (+4 °C) 15-20 dakika havan içerisinde ezilerek parçalandı. Karışımın yarısı (36 mL) alınıp tris buffer ile 60-65 mL'ye tamamlandı ve %0.5 oranında formalin katılıp 10 mL'lik 6 kısma ayrıldı. Böylece her doz aşıda 2 g tümör dokusunun bulunması sağlanmış oldu. Her köpeğin vulvasında bulunan kitleden hazırlanan otojen aşı yine aynı hayvana uygulandı. Hazırlanan otojen aşı 10 mL'lik dozlarda 1'er hafta ara ile 4 kez (SC) uygulandı. Köpekler 4. uygulamanın ardından 3 aylık takibe alındı ve tümörün klinik olarak gerilemesi yönünden değerlendirmeler yapıldı.

► Bulgular

Köpeklerde otojen aşı uygulaması öncesinde serosanguinöz veya hemorajik genital akıntı gözlemlendi. Vaginalarında bulunan kitleler 5-17 cm çapında, karnabahar biçiminde, kızarıklık, taze görünümlü, dokunulduğunda kolayca kanayan bir yapıya sahipti (Resim 1). Yapılan vaginal sitolojide TVT hücreleri büyük, yuvarlak, poligonol veya oval olarak görüldü. Bu hücrelerin içinde vakuoller ve büyük bir çekirdek vardı (Resim 2). Otojen aşı uygulaması sonrasında köpeklerin dış genital organlarında bulunan kitlelerden gelen serosanguinöz veya hemorajik genital akıntının kesildiği ve kitlenin frajilitesinde bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Aşı uygulaması yapılan köpeklerin genel durumlarında her hangi bir değişikliğe rastlanmadı. Otojen aşı uygulaması yapılan hayvanlarda, uygula-

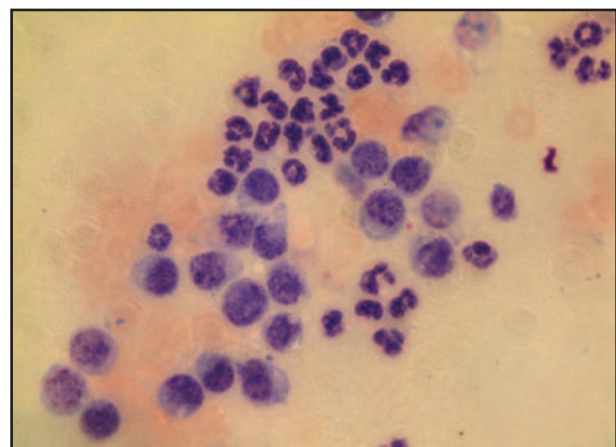
nan 4 doz aşı sonrasında genital organlarda bulunan kitlelerde herhangi bir gerileme ve iyileşmenin olmadığı tespit edildi.

► Tartışma

Transmissible verenereal tümörde bulaşma direkt olarak canlı tümör hücrelerinin transplantasyonu ile gerçekleşir (Erer ve Kıran 2000, Murgia ve ark 2006). Yapılan çalışmalarda tümör hücrelerinin içerisinde bulunan sitoplazmik inklüzyonlar nedeniyle bazı araştırmacılar bu hastalığı viral bir ajana bağlamaktadırlar (Martins ve ark 2005). TVT dokusundan yapılan elektron mikroskopik incelemelerde virüs partiküllerine rastlandığı, ancak viral etioloji kesin olarak kanıtlanamadığı bildirilmektedir (Erer ve Kıran 2000). Bazı araştırmacılar ise elektron mikroskopi ile tümör hücrelerinde virüs partiküllerine kesinlikle rastlanmadığını, cell-free filtratlar ve C tip partiküllerle bulaşmanın bu tümör ile bağlantılı olabileceğini ve öneriler bu ajanın tip C Retrovirüs olabileceğini bildirmektedirler (Eze ve ark 2007). TVT'nin hücre orijininin tespit edilememiş olması ve virüs kaynaklı olabileceği düşünüldüğünden yapılan otojen aşının TVT'yi tedavi edebileceği düşünüldü. Deneysel olarak TVT bulaştırılan hayvanlara aynı anda parvovirüs aşısı uygulandığında deneysel tümör bulaşmasına karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (Mukaratirva ve Gruys 2011). Ayrıca aşı ile bulaşmanın aynı zamana denk geldiği çalışmada TVT kitesinin beklenenden önce gerilediği ancak bulaşmanın aşından daha sonraki bir zamanda olması halinde kitle boyutunun ve gerilemesinin etkilenmediği tespit edilmiştir (Yang 1987). Fakat bu aşının rutin kullanıldığı bildirilmemiştir. İmmunoterapi için interlöykin-2'nin (IL-2) lokal enjeksiyonu ile %32'lik bir başarı sağladığı bildirilmektedir (Mukaratirva ve Gruys 2011). Yapılan başka bir çalışmada, TVT'li köpeklerden cerrahi yolla tamamen uzaklaştırılan kitlelerden hazırlanan otojen aşının, hayvanlara 3 doz (SC) uygulanması ve buna ilave olarak levamisol enjeksiyonu yapılması ile düzenlenen tedavi protokolü sonrasında 18 ay süre-



Resim 1. Tümörün klinik görünümü.



Resim 2. Tümör hücrelerinin sitolojik görünümü.

le nüks görülmediği bildirilmiştir (Panchbhai ve ark 1990). Sunulan çalışmada 1'er hafta arayla 4 doz (SC) uygulanan otojen aşı sonrasında 8 köpeğin de tümör kitlelerinde bir gerileme olmadığı tespit edildi (Resim 1 ve 2). Papillom aşısı hazırlanırken virüsün tip ve tümörün gelişim evresi tanımlanmalıdır. Aşı hazırlamak amacıyla kullanılacak papillomun gelişim dönemi oldukça önemlidir. Çünkü virüslerin hücre içerisinde tespit edilemediği bir dönem bulunmaktadır. Söz konusu dönemde hazırlanan aşı ile bütün gizli hücre tipleri taşınmadığı için tedavide başarısız olabilmektedir (Dinç 1995). Sunulan bu çalışmada, tümör kitlesinin gelişim döneminin tespiti ve kitleden virüs izolasyonu için bir çalışma yapılamadığından, TVT'li köpeklerde tedavi amacıyla uygulanan bu otojen aşıdan beklenen başarı elde edilememiş olabilir.

TVT tedavisinde cerrahi operasyonlar, yeteri kadar başarı sağlanamadığından, çok tercih edilmemektedir (Murgia ve ark 2006). Ayrıca vakaların yaklaşık %30'unda nükslere rastlandığı bildirilmiştir (Das ve Das 2000). Radyoterapi uygulamasında her üç hastadan birinde tam iyileşme sağlandığı ancak cihaz ile uzman personele gereksinim duyulduğu ve köpeklerin kimyasal immobilizasyonu gerektiği için uygulanması oldukça güç bir tedavidir (Das ve Das 2000, Morris ve Dobson 2000). Tedavi için kemoterapi kullanılması sırasında ise hayvanlarda ölümcül olabilecek yan etkilerin (nefrotoksitite, ototoksitite, parezis, myelopati, taşikardi v.b.) görülmesi ve hayvanın genel durumunun bozulması gibi sorunlarla karşılaşılabilir (McEntee 2002, Batatnuzi ve Kristensen 2008). Aşı uygulaması sırasında köpeklerin immobilizasyonuna gerek olmadığı için hayvanlara anestezi yapılmadı. Uygulanan aşının hayvanın genel durumunda herhangi bir bozukluğa yol açmadığı tespit edildi. TVT'nin tedavisinde kullanılan yöntemlerin uygulama zorluğu ve yan etkileri dikkate alındığında otojen aşının uygulama bakımından daha avantajlı olduğu görüldü.

► Öneriler

Orijini viral bir ajana bağlanan TVT tedavisinde, orijini viral bir etken olan sığırların papillomatozisinin tedavisinde kullanılan otojen aşı ile benzer teknikte hazırlanan otojen aşının tedavide etkili olmadığı belirlendi. Ancak etkili aşının tümör dokusundan virüs izolasyonu ve identifikasyonu yapılarak geliştirilmesi durumunda etkili olabileceği kanaatine varıldı.

► Kaynaklar

- Das U, Das K, 2000. Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Res Commun*, 24, 545-556.
- Dinç DA, 1995. Meme ve meme başı derisinin lezyonları, In: Evcil hayvanlarda memenin deri hastalıkları, dolaşım bozuklukları ve operasyonları, Ed; Dinç DA, Birinci Baskı, Ülku Matbaa, Konya, Türkiye, pp; 31-64.
- Erer H, Kiran MN, 2000. Diğer tümörler ve neoplastik hastalıklar, In: Veteriner Onkoloji, İkinci Baskı, Damla Yayınevi, Konya, Türkiye, pp; 133-134.

- Eze CA, Anyanwu HC, Kene ROC, 2007. Review of canine transmissible venereal tumour (TVT) in dogs. *Nigerian Vet J*, 28, 54-70.
- Goldschmidt MH, Hendrick MJ, 2002. Tumors of the skin and soft tissues, In: Tumors in Domestic Animals, Ed; Meuten DJ, Iowa State Press, USA, pp; 116-117.
- Harmelin A, Pinthus JH, Friedman-Morvinski D, Kaufman K, Brenner O, 2002. Lack of MHC expression and retention of ultrastructural characteristic by xenograft transmissible venereal tumour cells in SCID mice. *Vet Immunol Immunop*, 86, 245-249.
- Jonston SD, Kustritz MVR, Olson PNS, 2001. Disorders of the canine vagina, vestibule and vulva, In: Canine and Feline Theriogenology, Ed; Kersey R, W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA, pp: 225-242.
- Katzir N, Rechavi G, Cohen JB, Unger T, Simoni F, Segal S, Cohen D, Givol D, 1985. 'Retroposon' insertion into cellular oncogene c-myc in canine transmissible venereal tumor. *Proc Natl Acad Sci*, 82, 1054-1058.
- Konuk CS, Gürbulak K, Kılıçarslan MR, Gürel A, Senünver A, 2001. Treatment of transmissible venereal tumors in the bitch using the combination of triple chemotherapeutic agents. *Istanbul Univ Vet Fak Derg*, 27, 139-149.
- Martins MIM, Ferreira de Souza F, Gobello C, 2005. The canine transmissible venereal tumor: Etiology, pathology, diagnosis and treatment. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, www.ivis.org, Erişim tarihi; 17.12.2010.
- McEntee MC, 2002. Reproductive Oncology. *Clin Tech Small Anim Prac*, 17, 133-149.
- Morris J, Dobson J, 2001. Pathogenesis and Tumour Biology, In: Small Animal Oncology, Eds; Morris J, Dobson J, Blackwell Science Ltd, UK, pp; 4-14.
- Mukaratirwa S, Gruys E, 2003. Canine transmissible venereal tumour: cytogenetic origin, immunophenotype, and immunobiology. A review. *Vet Q*, 25, 102-111.
- Murgia C, Pritchard JK, Kim SY, Fassati A, Weiss RA, 2006. Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *NIH Public Access*, 126, 477-487.
- Nak D, 2001. Dişi köpeklerde transmissible venereal tumor. *YYU Vet Fak Derg*, 7, 152-155.
- Nak D, Nak Y, Cangül İT, Tuna B, 2005. A clinico-pathological study on the effect of vincristine on transmissible venereal tumour in dogs. *J Vet Med*, 52, 366-370.
- Özyurtlu N, Bademkiran S, Ünver O, Yıldız F, İçen H, 2008. Dişi bir köpekte transmissible venereal tümörün abdominal ve subkutan inguinal bölgeye metastazı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1, 48-51.
- Panchbhai VS, Karpe AG, Kulkarni GB, Kulkarni PE, 1990. Use of autogenous vaccine in transmissible canine venereal tumour. *Indian Vet J*, 67, 983-984.
- Yang TJ, 1987. Parvovirus-induced regression of canine transmissible venereal sarcoma. *Am J Vet Res*, 48, 799-800.