



ARAŞTIRMA

F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.
2010; 24 (3): 157 - 161
http://www.fusabil.org

Meme Tümörlü Köpeklerde Serum 17 β -estradiol Kolesterol ve Trigliserid Düzeylerinin Klinik Önemi*

Ümit YAŞATÜRK
Arif ALTINTAŞ

Ankara Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Ankara, TÜRKİYE

Çalışmada, Ankara ve çevresinden Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Serbest Veteriner kliniklerine getirilen ve klinik ve histopatolojik muayene sonunda meme tümörü tanısı konmuş ve klinik olarak sağlıklı görünen dişi köpekler için (n=15/grup) kan serumlarında 17 β - estradiol, toplam kolesterol ve trigliserid değerleri incelenmiştir. Kan örnekleri köpeklerin ön ayak venalarından alınmış, 4000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları elde edilmiştir.

Serum 17 β - estradiol analizleri kompetitif kemiluminesan enzim immünoassay (c-CLEIA), trigliserid analizleri bikromatik, toplam kolesterol analizleri ise polikromatik son nokta teknikleri kullanılarak otoanalizörde gerçekleştirilmiştir.

Meme tümörlü köpeklerde serum ortalama değerleri 17 β - estradiol için 142,70 \pm 16,00 pg/ml; toplam kolesterol için 250,10 \pm 17,60 mg/dl; trigliserid için 106,20 \pm 7,50 mg/dl olarak hesaplanmıştır. Klinik olarak sağlıklı görünen köpeklerde ise, serum 17 β - estradiol düzeyi 59,30 \pm 6,50 pg/ml; toplam kolesterol düzeyi 204,90 \pm 13,20 mg/dl; trigliserid düzeyi 77,00 \pm 4,50 mg/dl olarak bulunmuştur. Mann-Whitney U Testi ile kontrol ve deneme grupları karşılaştırılmış ve meme tümörlü köpeklerde parametrelerin kontrol grubuna oranla önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (p<0,001). Ayrıca, Spearman Korelasyon Testi ile parametreler arasındaki ilişki araştırılmış ve trigliserid ile 17 β -estradiol değerleri arasında pozitif yönde zayıf bir doğrusal ilişki bulunmuştur (r=0,44 p<0,005). Çalışmada, meme tümörlerinin orta yaşlı (5-12) köpeklerde gözlemlendiği saptanmıştır.

Bu araştırmadan elde edilen verilere göre, serum 17 β - estradiol, toplam kolesterol ve trigliserid değerlerindeki artışların, veteriner klinikte meme tümörlerinin etiyojisi, prognozu ve tedavisinin izlenmesinde yol gösterici ve yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: 17 β - estradiol, kolesterol, köpek, meme tümörü, serum, trigliserid.

Clinical Importance of Serum 17 β -estradiol Total Cholesterol and Triglyceride Levels in Dogs with Mammary Gland Tumors

In the study, serum samples from 15 healthy dogs and 15 dogs with mammary tumors from Ankara and surrounding Faculty and Veterinary clinics were analyzed. From these samples the serum levels of 17 β -estradiol, total cholesterol and triglyceride were determined to investigate the relationship between these parameters and canine mammary tumors.

Blood samples taken from the left front foot vena of each dog were centrifuged with 4000 revolutions for 10 minutes. The analysis of 17 β -estradiol was carried out based on competitive chemiluminescent enzyme immunoassay (c-CLEIA), triglyceride on bichromatic end point technique and total cholesterol on polychromatic end point technique and performed by an autoanalyser.

In tumorous dogs, the mean serum level of 17 β -estradiol was found 142,70 \pm 16,00 pg/ml, the mean level of total cholesterol was 250,10 \pm 17,60 mg/dl and the mean level of triglyceride was 106,20 \pm 7,50 mg/dl. In healthy dogs, the mean levels for the same parameters in the same order were 59,30 \pm 6,50 pg/ml, 204,90 \pm 13,20 mg/dl and 77,00 \pm 4,50 mg/dl. Control and experimental groups were compared statistically by Mann-Whitney U Test and levels of all parameters mentioned above were found higher for the dogs with mammary tumors than healthy dogs (p<0,001). In addition to this, the correlations between the control and the experimental groups were investigated by the Pearson Correlation Test. The positively linear correlation was found for the levels of 17 β -estradiol and triglyceride (r=0,44 p<0,005).

Examining the average age of the dogs which took part in this study, we observed that older dogs from five to twelve years were more likely to have mammary tumors than the younger dogs.

According to observed results, it could be concluded that serum 17 β -estradiol, total cholesterol and triglyceride levels play a key role for the etiology, prognosis and treatment methods of mammary tumors.

Keywords: 17 β -estradiol, mammary tumors, serum, total cholesterol, triglyceride.

Geliş Tarihi : 04.10.2010
Kabul Tarihi : 08.12.2010

Yazışma Adresi Correspondence

Arif ALTINTAŞ
Ankara Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Ankara - TÜRKİYE

altintas@veterinary.ankara.edu.tr

* Çalışma, Etik Kurul Kararı gereğince gerçekleştirilen "Köpek meme tümörlerinde plazma 17 β -estradiol ve bazı lipid değerleri" başlıklı yüksek Lisans tezi özetinden güncelleştirilerek hazırlanmıştır.

Giriş

Meme bezi tümörü, daha çok dişi hayvanlarda gözlenen (1, 2), meme bezinin salgılatıcı epitellerinden ve bazen de mezenşimal yapıdan köken alan ve hücrel farklılaşma süreci bozulmuş kitlesel bir yapıdır (1). Meme tümörleri, deri ve lenfoid doku tümörlerinden sonra köpeklerde en sık rastlanan tümörlerdir (3).

Etçillerin meme tümörleri, insanların meme bezi kanserleri için, özellikle histomorfolojik temelde (4, 5) ve aynı ortamı paylaşma ve benzer yeme alışkanlıkları nedeniyle (6) önemli bir model oluşturmakta ve köpek meme tümörleri üzerine yapılan çalışmalar insan meme tümörleri açısından yönlendirici olmaktadır (4, 7). Gerçekten de, insan ve köpek meme tümörleri arasında histopatolojik, klinik karakter ve sıklığa dayanan benzerlikler vardır (8).

Östrojen ve progesteron gibi cinsiyet hormonlarının köpek meme tümörlerinin patogeneziindeki rolü iyi tanımlanmış (9, 10) ve bunların farklılaşmamış epitel hücrelerinin çoğalmasını uyararak meme tümörü oluşumunu hızlandırdığı belirlenmiştir (9). Serum hormon düzeyi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin aktif estradiol için çok güçlü olduğu rapor edilmiştir (10). Bununla birlikte, steroid hormonların dişi köpeklerde meme kanseri gelişiminde otokrin/parakrin rol oynayabilecekleri belirtilmiş (8, 11), 17β-estradiol'un östrojen-sorumlu meme tümör hücrelerinde çoğalmayı uyardığı ve apoptozu engellediği bildirilmiştir (12).

Hormonal farklılıklar göz önünde tutularak, kadınlardaki yüksek meme kanseri riskine neden olarak serum östrojen kalıntılarının oranları ile ilgili hipotez köpeklerde de doğrulanabilir. Bu bağlamda, 17-β estradiol'un meme bezi hücrelerinin proliferasyonuna neden olan ve hücrelerin hücre döngüsüne girmelerini emreden bir sinyal olduğu (13, 14) kabul edilerek meme bezi tümörlerinde 17-β estradiol'un serum düzeylerinde artış beklenebilir. Ayrıca, dolaşımdaki lipidlerin ve lipoproteinlerin köpeklerde meme kanseri ile ilişkili olduğu da düşünülebilir.

Lipid salgılayan meme tümörlerinin varlığı ile alakalı olarak (15, 16) meme tümörlerinden salgılanan lipidlerin doğal olarak süte veya dolaşıma katılması beklenebilir.

İnsan meme tümörlerinde serum toplam lipid, toplam kolesterol ve trigliseridde düzensizliklere ve bilhassa değerlerde artışlara literatürde rastlanmaktadır (17, 18, 19). Meme tümörlerinde gözlenen bu değişikliklerden insan hekimliğinde klinik olarak hastalığın etiolojisinde ve prognozunu belirlemede yararlanılabileceği görüşü hakimdir (20). Ancak, bu güne kadar yapılan literatür taramada köpeklerde meme tümörleri ile kolesterol dışındaki serum lipid düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösteren tam bir çalışmaya rastlanamamıştır. Sadece, meme tümörü ile serum serbest kolesterol düzeyleri arasında istatistik anlamlı ilişki bulunduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (15).

Bu nedenle çalışmada, 17-β estradiol, trigliserid ve kolesterolün meme tümörlü ve sağlıklı köpeklerde serum

düzeylerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi ve elde edilecek sonuçların veteriner pratikte kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada, meme bezinde kitle şikayetiyle özel ve fakülte kliniklerine getirilen ve meme tümörü tanısı konan değişik ırktan, 5-12 yaşlı (ortalama 8,4) 15 dişi köpek ile klinik olarak sağlıklı görünen 4-10 yaşlı (ortalama 6,8) 15 dişi köpekten materyal olarak yararlanılmıştır. Meme tümörlü köpeklerde klinik tanı; konusunda uzman veteriner hekimler tarafından klinik muayene ve histopatolojik analiz sonucunda konulmuştur. Çalışma planında meme tümörü tanısı konan köpeklerde herhangi bir tümör tiplmesi yapılmasına gerek duyulmamıştır.

Çalışma, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin 'Etik Kurul Yönergesi' uyarınca alınan Etik Kurul kararı esaslarına uygun olarak yürütülmüştür.

Hasta köpeklerin her biri farklı mekanlarda değişik diyetlerle ve daha ziyade yemek artıkları ve ilave köpek besisi ile beslendikleri kaydedilmiştir. Klinik olarak sağlıklı görünen ve kontrol grubu oluşturan köpeklerin ise, bir barınakta içeriği aynı olan ve hastalara göre daha dengeli bir diyet ile beslendikleri tespit edilmiştir.

Silikon jel içeren vakumlu tüplere (Vacutte®) her köpeğin ön ayak venasından yaklaşık 5ml kan örnekleri alınmış ve 4000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir.

Serum 17 β-estradiol (E₂) analizleri, kompetitif kemiluminesan enzim immunoassay (competitive chemiluminescent enzyme immunoassay, c-CLEIA) test kiti (21) ile ölçülmüştür. Serum trigliserid ve toplam kolesterol analizleri ticari test kitleri kullanılarak otoanalizörde gerçekleştirilmiştir.

Gruplar arası farkların önemliliği Mann-Whitney U Testi ile, parametreler arası ilişkiler Spearman Korelasyon Analizi ile incelenmiştir (22).

Bulgular

Histopatolojik raporda, araştırma materyali köpeklerde meme tümörlerinin klinik görünümünün değişken, bir kısmının tekli diğerlerinin de çoklu nodüller şeklinde olduğu ve bazı nodüllerde sınırların belirgin ve büyümenin sabit, diğer bazı nodüllerde sınırların geniş ve büyümenin hızlı olduğu kaydedilmiştir. Tümörlü köpeklerde yaş ortalamasının (8,4) kontrol gruba göre (6,8) yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı ve meme tümörlü gruplara ait ortalama değerler ile gruplar arası farkın istatistik önemliliği Tablo 1'de verilmiş ve Şekil 1'de özetlenmiştir.

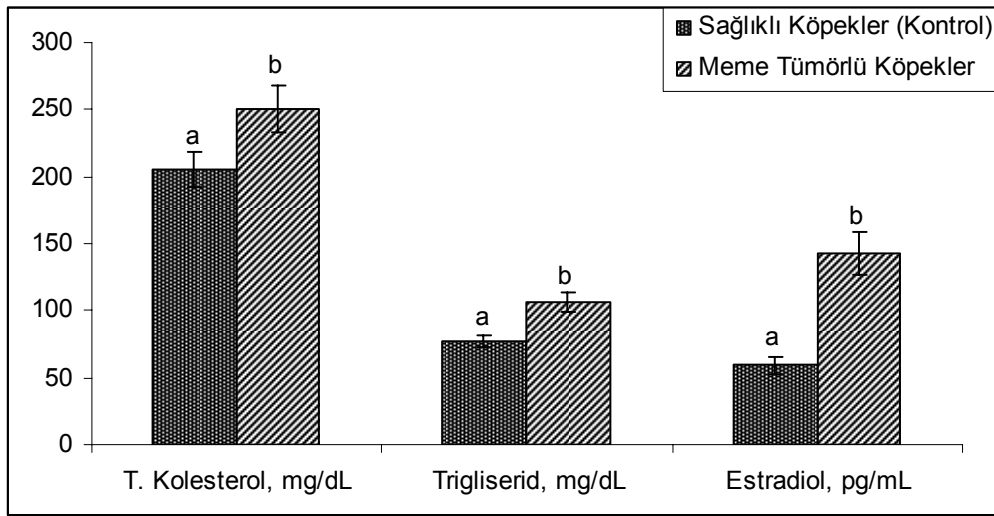
Meme tümörlü gruba ait serum parametrelerinde kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.01) artışlar saptanmış (Şekil 1) ve sadece trigliserid ve 17β-estradiol arasında pozitif yönde zayıf bir doğrusal ilişki hesaplanmıştır (r = 0.44, p<0.05).

Serum 17 β -estradiol düzeyleri sağlıklı köpeklerde 20,00–100,20 (59,30 \pm 6,50) pg/ml; tümörlü köpeklerde 39,50–276,02 (142,70 \pm 16,00) pg/ml olarak kaydedilmiş (Tablo 1) ve gruplararası fark istatistik önemli bulunmuştur (p<0,001). Serum toplam kolesterol ve trigliserid ortalama değerleri kontrol ve deneme

gruplarında sırasıyla 204,90 \pm 13,20 (135,00-308,00) mg/dl ve 77,00 \pm 4,50 (56,00-112,00) mg/dl; 250,10 \pm 17,60 (128,00-331,00) mg/dl ve 106,20 \pm 7,50 (64,00-149,00) mg/dl olarak hesaplanmış (Tablo 1) ve gruplar arası farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (p<0.01).

Tablo 1. Gruplara ait ortalama değerler ile değerler arası farkın istatistik önemliliği

| Parametreler | Sağlıklı Köpekler (Kontrol) | | | Meme Tümörlü Köpekler | | | P |
|--------------------------|-----------------------------|-------|---------------------------|-----------------------|-------|---------------------------|--------|
| | n | x | Sx | n | x | Sx | |
| Toplam kolesterol, mg/dL | 15 | 204,9 | 13,2 (min-max=135-308) | 15 | 250,1 | 17,6 (min-max=128-331) | 0,005 |
| Trigliserid, mg/dL | 15 | 77,0 | 4,5 (min-max=56-112) | 15 | 106,2 | 7,5 (min-max=64-149) | 0,004 |
| Estradiol, pg/mL | 15 | 59,3 | 6,5 (min-max=20-100) | 15 | 142,7 | 16,0 (min-max=39-276) | 0,0001 |



Şekil 1. Sağlıklı ve meme tümörlü köpeklere ait serum parametrelerine ait değişimler. a, b : gruplararası fark istatistik önemlidir (p<0.01)

Tartışma

Meme tümörlerinin etiyolojisinde çevresel kirlenmelerin olası rolü, çevreye salınan ve canlıların doğrudan veya dolaylı olarak maruz kaldıkları sentetik kimyasal maddelere karşı ilgiyi bilinçli olarak artırmaktadır (6).

Meme tümörü şikayeti ile kliniğe getirilen köpeklerin literatür (1) ile uyumlu şekilde daha çok dişi oldukları, zaman zaman erkek köpeklerin de aynı şikayetle kliniklere getirildiği anamnezde kaydedilmiştir. Gerçekten, erkek köpeklerde meme tümörlerinin nadir görüldüğü rapor edilmiştir (2).

Burada başta östrojen olmak üzere hormonal düzensizliğin etkili olduğu düşünülebilir. Östrojen ve progesteron gibi cinsiyet hormonlarının köpek meme tümörlerinin patogeneziindeki rolü iyi tanımlanmış (9, 10) ve serum hormon düzeyi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin aktif estradiol için çok güçlü olduğu bildirilmiştir (10). Nitekim çalışmada, meme tümörlü köpeklerde serum 17 β -estradiol değerlerinin kontrol köpeklerdeki

oranla istatistik önemli düzeyde (p<0.001) yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 1 ve Şekil 1). Değerler sağlıklı köpeklerde 20,00 – 100,20 (59,30 \pm 6,50) pg/ml; tümörlü köpeklerde ise, 39,50 – 276,02 (142,70 \pm 16,00) pg/ml hesaplanmıştır (Tablo 1). Değerler literatür bulguları ile (9, 10, 23) uyumlu bulunmuştur.

Serum 17 β -estradiol artışının Santen ve ark, (24) ve Thijssen ve ark, (25) ile aynı görüşü paylaşarak tümörlü meme dokusunda östrojen sentezinin artışından kaynaklandığı görüşündeyiz. Çünkü, meme dokusu estron sülfatı estrona çeviren sülfataz enzimi içerir ve estron daha sonra estradiole dönüştürülür ve böylece memede estradiol düzeyi artar (24). 17 β - estradiol dehidrogenazı da içeren ek enzimatik süreçler, meme dokusunda cinsiyet hormonlarının yüksek düzeylerde bulunmasına neden olur. Meme bezinde östrojen sentezindeki artış, meme tümörlerinde gözlenen kan estradiol artışına yol açar (25). 17 β -estradiol'un östrojen-sorumlu meme tümörü hücrelerinde büyümeyi uyardığı ve apoptozu engellediği bilinmektedir (12).

Östrojen ve progesteragenlerin meme hücrelerinin bölünmesi üzerine etkileri hücre kültürü sistemlerinde de çalışılmış ve E₂ tek başına DNA sentezinde büyük bir artışa neden olurken Progesteron ve östrojen birlikte, östrojenin tek başına etkisinden daha fazla mitoz bölünmeyi indüklediği gözlenmiştir (9).

Çalışmada meme tümörlü köpeklerin yaşları ve hastaların kontrol gruba ait köpeklerden daha yaşlı olmaları meme tümörlerinin daha çok 6-10 yaşlı köpeklerde rastlanır şeklindeki literatür bilgisi ile (26, 27, 28, 29) uyumaktadır.

Ülkemizde değişik ırk, yaş ve cinsiyette 182 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada (28) meme tümörlü köpeklerin %52'sinin 6-10 yaş arası, %28'inin 1-5 yaş arası, %15'inin 11-15 yaş arası, %4'ünün 1 yaş altı ve %1'inin 15 yaş üstü olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Srivastava ve ark. (29) köpeklerde meme tümör olgularının çoğunu 4-10 yaş grubunda kaydetmişler ve bu yaş grubundaki tümör gelişiminde risk faktörleri olarak üreme hormonlarının rolünü öne çıkarmışlardır.

Köpeklerde tespit edilen meme tümörlerinin çeşitli klinik görünümünde olması ve nodüllerde gözlenen hareketliliğin tekli veya çoklu olması ve sınırlarının özellikleri literatür bilgisi ile (3) uyumlu bulunmuştur.

Çalışmanın materyalini oluşturan hasta köpeklerin her birinin farklı mekanlarda değişik diyetlerle beslendikleri düşünülürse, bu çalışma ile ilgili olarak tümör oluşumu ile beslenme şekli ve yağ, protein vb. diyet içeriği arasında bir ilişki kurmak mümkün olmamıştır. Ancak hasta köpeklerin dengesiz diyetle beslenmelerinin muhtemelen meme bezinde tümör oluşumu ile (2) ilişkilendirilebileceği görüşündeyiz.

Diğer taraftan, lipid salgılayan meme tümörlerinin varlığı da bilinmektedir (15). Tümörden salgılanan lipidler doğal olarak süte veya dolaşıma katılabilir. Nitekim çalışmada, serum toplam kolesterol ve trigliserid düzeylerinin tümörlü köpeklerde istatistik önemli düzeyde (p<0.01) yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 1; Şekil 1).

Köpeklerde meme tümörleri ile ilgili biyokimyasal parametreler üzerine bir kaç çalışmaya rastlanabilmiş (15, 30, 31, 32, 33) ve konunun incelenmeye gereksinim duyduğu kanısına varılmıştır. Karayannopoulou ve ark (30); 79 yetişkin dişi köpekte serum ALP düzeylerini ölçmüşler ve meme tümörlü köpeklerde artış tespit etmişler, ancak bu artışın malignite ile ilgili olmadığını savunmuşlardır. Brodzi ve ark. (31) meme bezinin kötü huylu tümör dokusunda, kontrol dokuya oranla daha yüksek magnezyum düzeyi tespit etmişler fakat kan serumunda magnezyum düzeyinin düştüğünü

saptamışlardır. Seyrek ve ark. (32), köpek meme tümörlerinde serum sialik düzeylerinden klinik yararlanım yollarını aramışlardır. Todorov ve Dinev (33) ise, meme tümörlü (adenokarsinoma) köpeklerde kemoterapi ve antioksidan vitamin (Vit C ve Vit E) uygulamasından sonra oksidan ve antioksidan durumun değerlendirilmesi amacıyla serum örneklerinde MDA, GSH, CAT ve eritrositte SOD aktivitelerini ölçmüşler ve değerlendirmişlerdir. Dişi köpeklerde meme tümörlerinin son yıllarda gösterdiği artışa paralel olarak hayvan sağlığını korumak için hızlı tanı ve etkin tedavi talepleri de büyük ölçüde artmaktadır (6).

Bu çalışmada da serum kolesterol, trigliserid ve estradiol düzeyleri incelenmiş ve kolesterol ortalama düzeyleri kontrol ve hasta köpeklerde sırasıyla 204,90±13,20 ve 250,10±17,60 mg/dl olarak hesaplanmıştır. Serum trigliserid ortalama değerleri ise kontrol ve hasta köpeklerde sırasıyla 77,00±4,50 ve 106,20±7,50 mg/dl bulunmuştur (Tablo 1). Köpeklerde serum normal değerleri toplam kolesterol için 125-250 mg/dl ve trigliserid için 50-100 mg/dl bildirilmiştir (34). Kontrol grubu oluşturan köpeklerde değerlerin normal değerler için bildirilen düzeyler arasında olduğu ve meme tümörlü köpeklerde ise referans değerlerin üzerinde olduğu söylenebilir. Meme tümörü ile serum serbest kolesterol düzeyleri arasında istatistik anlamlı ilişkiden söz edilmektedir (15).

Serum kolesterol artışı ile ilgili bulgu literatürle (15) uyumlu bulunmuştur. Fakat, köpeklerde meme tümörleri ile kolesterol dışındaki serum lipid düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösteren tam bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; meme tümörlü köpeklerde serum 17β-estradiol, toplam kolesterol ve trigliserid düzeylerinin, sağlıklı köpeklere göre istatistik anlamlı (p<0.01) yüksek ve tümörlerin hormon bağımlı olduğu saptanmış ve trigliserid ve kolesterol artışlarının tümör dokudan lipid salgılanması ile ilişkili olduğu ve değerlerin klinik olarak hastalığın etiyolojisinde, prognozunda ve tedavisinin izlenmesinde yol gösterici olabileceği, dolayısıyla veteriner pratikte kullanımının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Teşekkür

Çalışma materyali köpeklerin temininde, klinik muayenesinde ve meme tümörü tanısının konmasında bize yardımcı olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof Dr Ayhan ÖZKUL'a, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, Serbest çalışan uzman klinisyenlere ve emeği geçen herkese teşekkürü borç biliriz.

Kaynaklar

1. Perez-Alenza MD, Pena L, Del Castillo N, et al. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. J Small Anim Pract 2000; 41: 287-291.
2. Hoskins, JD. Prognosis, treatment of canine mammary tumors. DVM NEWSMAGAZINE, News Center, Jun 1, 2008.

3. Brody RS, Goldschmidt MH, Roszel JR. Canine mammary gland neoplasia. *J Am Anim Hosp Assoc* 1985; 19: 61-90.
4. Parodi AL, Mialot JP, Martin PM, et al. Canine and feline mammary cancers as animal models for hormone-dependent human breast tumors: relationships between steroid receptor profiles and survival rates. *Progr Cancer Res Ther* 1984; 31: 357-365.
5. Pierrepoint CG. Possible benefits to veterinary medicine of considering the dog as a model for human cancer. *J Small Anim Pract* 1985; 26: 43-47.
6. Andrade FHE, Figueiroa FC, Bersano PRO, Bissacot DZ, Rocha NS. Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. *Diagnostic Pathology* 2010; 5: 45 doi:10.1186/1746-1596-5-45.
7. Vinothini G, Balachandran C, Nagini S. Evaluation of molecular markers in canine mammary tumors: correlation with histological grading. *Oncol Res* 2009; 18 (5-6):193-201.
8. Pena L, Perez-Alenza MD, Rodriguez-Bertos A, et al. Canine inflammatory mammary carcinoma. Histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 78: 141-148.
9. Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 29-43.
10. Cauley JA, Lucas FL, Kuller LH et al. Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for breast cancer. *Ann Intern Med* 1999; 130: 270-277.
11. Queiroga FL, Perez-Alenza MD, Silvan G, et al. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *J Steroid Biochem & Mol Biol* 2005; 94: 181-187.
12. Anderson E, Clarke RB. Steroid receptors and cell cycle in normal mammary epithelium. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2004; 9: 3-13.
13. Cheskis BJ. Regulation of cell signalling cascades by steroid hormones. *J Cell Biochem* 2004; 93: 20-27.
14. Song RX, Santen RJ. Membrane initiated estrogen signaling in breast cancer. *Biol. Reprod.* July 1, 2006; 75 (1): 9-16.
15. Aboumradi MH, Horn RC, Fine G. Lipid secreting mammary carcinoma. *Cancer* 1963; 16: 521-525.
16. Espinosa De Los Monteros A, Hellmen E, Ramirez GA et al. Lipid-rich carcinomas of the mammary gland in seven dogs: Clinicopathologic and immunohistochemical features. *Vet Pathol* 2003; 40: 718-723.
17. Mady EA. Association between estradiol, estrogen receptors, total lipids, triglycerides and cholesterol in patients with benign and malignant breast tumors. *J Steroid Biochem & Mol Biol* 2000; 75: 323-328.
18. Bahl M, Ennis M, Tannock IF et al. Serum lipids and outcome of early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 94: 135-144.
19. Hasija K, Bagga HK. Alterations of serum cholesterol and serum lipoprotein in breast cancer of women. *Ind J Clin Biol* 2005; 20: 61-66.
20. Shah FD, Shukla SN, Shah PM, et al. Significance of alterations in plasma lipid profile levels in breast cancer. *Integr Cancer Ther* 2008; 7(1): 33-41.
21. Immulite 2000 Analyzer, Diagnostic Products Corporation; DPC, Los Angeles, CA, USA
22. Kutsal A, Alban O, Arpacık R. İstatistik Uygulamalar. Ankara: Bizim Büro Basımevi, 1990.
23. Thijssen JHH, Van Landeghem AA, Poortman J. Uptake and concentration of steroid hormones in mammary tissues. *Ann NY Acad Sci* 1986; 46 (4): 106-116.
24. Santen RJ, Leszczynski D, Tilson-Mallet N, et al. Enzymatic control of estrogen production in human breast cancer: Relative significance of aromatase versus sulfatase pathways. *Ann NY Acad Sci* 1986; 46: 126-137.
25. Thijssen JHH, Blankenstein MA, Donker GH, et al. Endogenous steroid hormones and local aromatase activity in breast. *J Steroid Biochem & Mol Biol* 1991; 39: 799-804.
26. Schneider R. Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer* 1970; 26: 419-426.
27. Zaninovic P, Simcic V. Epidemiology of mammary tumours in dogs. *ZB Vet Fak Univ Ljubljana* 1991; 1: 57-72.
28. Gülçubuk A, Gürel A. 1995-2000 yılları arasında İstanbul'da saptanan köpek tümörleri. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 2003; 29 (1): 83-91.
29. Srivastava AK, Sharma AK, Singh Bharat Canine mammary tumours: A study on occurrence and distribution pattern. *Indian Journal of Veterinary Pathology* 2009; 33 (1): Online ISSN : 0973-970X.
30. Karayannopoulou M, Koutinas AF, Polizopoulou ZS, et al. Total Serum Alkaline Phosphatase Activity in Dogs with Mammary Neoplasms: a Prospective Study on 79 Natural Cases. *Journal of Veterinary Medicine Series A.* 2003; 50 (10): 501-505.
31. Brodzki A, Pasternak K, Sztanke M, Brodzki P, Szponder T Magnesium concentrations in mammary tumours in dogs. *Magnesium Research*, 2004; 17 (2): 79-84.
32. Seyrek K, Seyrek-Intas K, Keskin A, et al. Biochemical and histochemical detection of the sialic acids in mammary tumours of bitches. *Revue Méd Vét* 2005; 156(5): 258-263.
33. Todorova I, Dinev D Comparison of the intensity of oxidative stress during chemotherapy alone and chemotherapy combined with antioxidant therapy in spontaneous mammary tumours in dogs. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2010; 161(1): 43-48.
34. Altıntaş A, Fidancı UR. Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1993; 40 (2): 173-186.