



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEDİLERİN KRONİK GİNGİVOSTOMATİTİSİ ÜZERİNE PATOLOJİK İNCELEMELER

Veteriner Hekim Gözde OKUYUCU

DOKTORA TEZİ

VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR-2026

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEDİLERİN KRONİK GİNGİVOSTOMATİTİSİ ÜZERİNE
PATOLOJİK İNCELEMELER**

Veteriner Hekim Gözde OKUYUCU

DOKTORA TEZİ

VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0891-DR-23 numaralı proje ve TÜBİTAK tarafından 2214-A Yurtdışı Doktora Sırası Araştırma Bursu ile desteklenmiştir.

BURDUR-2026

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Gözde OKUYUCU tarafından **Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ** yönetiminde hazırlanan “**Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi Üzerine Patolojik İncelemeler**” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı Tarihi: .../.../...

Prof. Dr. Özlem ÖZMEN
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
Başkan

Prof. Dr. Nuri MAMAK
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD

Jüri

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji AD

Jüri

Prof. Dr. Hikmet KELEŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji AD

Jüri

Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Patoloji AD

Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ... / ... / Tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ramazan ADANIR
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve tez dönemim süresince bana her konuda destek veren, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ'a, yine bu süreç boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak tez çalışmamın bütün aşamalarında yardımını benden esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e, Sayın Doç. Dr. Volkan İPEK'e, Sayın Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT'a ve Sayın Uzm. Biyolog Dilnur İLERİ'ye, değerli çalışmalarıyla beni etkileyen yurtdışı danışmanım Sayın Prof. Dr. Iwona OTROCKA-DOMAGAŁA'ya, ayrıca doktora eğitimim boyunca birlikte çalıştığım başta Büşra GÜLBENLİ ve Melike ALTINTAŞ olmak üzere tüm yüksek lisans ve doktora arkadaşlarıma destekleri için teşekkür ederim. Hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ailem Bayram OKUYUCU, Fatma OKUYUCU, Gamze OKUYUCU ve Gizem OKUYUCU'ya ve bu süreçte desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili nişanlım Hürkan HÜR'e teşekkür ederim. Tez çalışma süresinde yararlandığım 2214-A Yurtdışı Doktora Sırası Araştırma Bursu desteği dolayısıyla Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK) teşekkür ederim.

ETİK BEYAN

“*Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi Üzerine Patolojik İncelemeler*” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Gözde OKUYUCU

Tarih:

İmza:

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ağız Boşluğu ve Mukozası	2
2.2. Gingiva (Diş Eti)	3
2.3. Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi	4
2.3.1. Etiyopatogenez	4
2.3.2. Klinik Bulgular	7
2.3.3. Makroskobik Bulgular	7
2.3.4. Mikroskobik Bulgular	9
2.3.5. Tanı	10
2.3.6. Tedavi	10
2.4. Rapamisinin Memelilerdeki Hedefi (<i>mTOR</i>) Yolağı	11
2.4.1. <i>mTOR</i> 'un Tarihçesi	11
2.4.2. <i>mTOR</i> 'un Yapısı ve Özellikleri	12
2.4.3. <i>mTOR</i> Kompleksinin Fizyolojik Fonksiyonları	13
2.4.3.1. Protein Sentezi	13
2.4.3.2. Lipit Sentezi	14
2.4.3.3. Glikoliz Artışı	14
2.4.3.4. Otofaji	15
2.4.3.5. İmmun Sistemin Düzenlenmesinde <i>mTOR</i> 'un Rolü	15
2.4.3.6. <i>mTOR</i> 'un Patofizyolojik Olaylardaki Rolü	17
2.5. FKBP-12 Proteini	19
2.6. CD3	20
2.7. CD79a	21
2.8. IBA1 (İyonize Kalsiyum Bağlama Adaptör Molekülü)	21
2.9. EGFR (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Gereç	23
3.2. Yöntem	25
3.2.1. Histopatolojik Yöntemler	25
3.2.1.1. Hematoksilen & Eozin	25
3.2.1.2. Periodic Acid Schiff (PAS)	25
3.2.1.3. Toluidin Blue	26
3.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	26
3.2.3. Semikantitatif Analiz Yöntemi	28
3.2.4. İstatiksel Analiz Yöntemi	29

4. BULGULAR	30
4.1. Mikroskopik Bulgular	30
4.1.1. Hematoksilen & Eozin Boyama Bulguları	30
4.1.2. Toluidin Blue Boyama Bulguları	34
4.1.3. PAS (<i>Periodic Acid-Schiff</i>) Boyama Bulguları	36
4.1.4. İmmunohistokimyasal Boyama Bulguları	40
4.1.4.1. CD79a Ekspresyonu	40
4.1.4.2. CD3 Ekspresyonu	44
4.1.4.3. IBA1 Ekspresyonu	45
4.1.4.4. mTOR Ekspresyonu	47
4.1.4.5. FKBP-12 Ekspresyonu	51
4.1.4.6. EGFR Ekspresyonu	54
4.1.5. Semikantitatif Analiz Bulguları	57
4.1.6. İstatiksel Analiz Bulguları	60
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	84

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Kedilerin kronik gingivostomatitisi, proliferatif form (Lee ve ark., 2020).	8
Şekil 2.2.	Kedilerin kronik gingivostomatitisi, palatoglossal bölgede ülser (Soltero-Rivera ve ark., 2023).	8
Şekil 2.3.	Submukozal hücre infiltrasyonları, X10, Barr:100µm, (Lee ve ark., 2020).	9
Şekil 4.1.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, tüm katmanlar normal görünümde, H&E, X4, Barr:200µm.	30
Şekil 4.2.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, epitelde görülen akantozis (beyaz yıldız), nekrotik alanlar (siyah yıldızlar) ve bakteri kümeleri (siyah oklar), (Olgu no: 8), H&E, X10, Barr: 100µm.	31
Şekil 4.3.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozasında görülen yangısal hücre infiltrasyonları: lenfosit (sarı oklar), plazma hücresi (siyah oklar), mott hücresi (kırmızı oklar), (Olgu no: 3), H&E, X40, Barr:20µm.	32
Şekil 4.4.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozasında görülen yangısal hücre infiltrasyonları: nötrofil lökositler (siyah oklar) ve mononükleer hücre infiltrasyonları (kırmızı oklar), (Olgu no:1), H&E, X40, Barr:20µm.	32
Şekil 4.5.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada yer alan displazik şekilli bağ doku proliferasyonu (yıldızlar) ve yeni damar oluşumları (oklar), (Olgu no: 2), H&E, X4, Barr:200µm.	33
Şekil 4.6.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, damar çevresinde yangısal hücre infiltrasyonları, vaskulitis (siyah oklar), (Olgu no: 6), H&E, X20, Barr:50µm.	33
Şekil 4.7.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada bulunan kistik (siyah oklar) ve hiperplazik (beyaz ok) tükürük bezleri, (Olgu no: 25), H&E, X10, Barr:100µm.	34
Şekil 4.8.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim) (Grade 3), (Olgu no:20), Toluidine Blue, X20, Barr:50µm.	35
Şekil 4.9.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada dağınık yerleşimli mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:22), (Grade 2), Toluidine Blue, X20, Barr:50µm.	35
Şekil 4.10.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, intraepitelyal alandaki mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:16), Toluidine Blue, X40, Barr:20µm.	36
Şekil 4.11.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, epitel katmanındaki stratum spinosum hücreleri arasında hafif glikojen birikimleri (ok), PAS, X20, Barr:50µm.	37

Şekil 4.12.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, lamina propriada PAS pozitifliği görülmemekte, PAS, X20, Barr:50µm.	37
Şekil 4.13.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, akantotik epitel katmanı içerisindeki, kontrol grubuna kıyasla daha yoğun gözüken glikojen birikimleri (oklar), (Olgu no:7), PAS, X20, Barr:50µm.	38
Şekil 4.14.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, PAS pozitif reaksiyon gösteren nötrofil lökositler (siyah oklar), biloblu nötrofil lökosit (küçültülmüş resim), (Olgu no:15), PAS, X40, Barr:20µm.	39
Şekil 4.15.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, PAS pozitif reaksiyon gösteren makrofajlar (oklar), yakınlaştırılmış PAS pozitif makrofaj (küçültülmüş resim), (Olgu no:9), PAS, X20, Barr:50µm.	39
Şekil 4.16.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, tükürük bezleri çevresinde PAS pozitif reaksiyon gösteren yangısal hücreler (oklar), (Olgu no:19), PAS, X40, Barr: 20µm.	39
Şekil 4.17.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, A: bazal membran hizasında anti CD79a'ya karşı immunopozitiflik gösteren lenfositler (ok), B: submukozada anti CD79a'ya karşı bir immunoreaktivite görülmemekte, DAB, X10, Barr: 100µm.	40
Şekil 4.18.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, intraepitelyal alanda anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:3), DAB, X20, Barr: 50µm.	41
Şekil 4.19.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propria katmanına infiltre olan yangısal hücrelerde şiddetli anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:6), DAB, X20, Barr: 50µm.	42
Şekil 4.20.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, yangısal hücre infiltrasyonu içerisindeki Mott hücrelerinde anti CD79a pozitifliği (oklar), Russel cisimcikleri içeren Mott hücresinin yakından görünümünü (küçültülmüş resim), (Olgu no:19), DAB, X20, Barr: 50µm.	42
Şekil 4.21.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alandaki damar çevrelerinde lokalize olan anti CD79a'ya karşı immunopozitiflik gösteren B lenfositler (oklar), (Olgu no:16) DAB, X20, Barr: 50µm.	43
Şekil 4.22.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alanda yer alan tükürük bezleri (yıldızlar) çevresindeki yangısal hücrelerde şiddetli anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:23) DAB, X20, Barr: 50µm.	43
Şekil 4.23.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, CD3'e karşı immunoreaktivite görülmemekte. DAB, X20, Barr: 50µm.	44
Şekil 4.24.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alana infiltre olan yangısal hücrelerde şiddetli anti CD3 ekspresyonu gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:19), DAB, X40, Barr: 20µm.	45
Şekil 4.25.	A: Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada anti IBA1'e karşı immunoreaktivite görülmemekte B: Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada gevşek bağ	46

	doku proliferasyonu içerisindeki yangısal hücrelerde anti IBA1 ekspresyonu, (oklar), (Olgu no:20), DAB, X40, Barr: 20µm.	
Şekil 4.26.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozadaki yangısal hücre infiltrasyonu içerisindeki makrofajlarda güçlü anti IBA1 ekspresyonu (oklar), (Olgu no:1), DAB, X40, Barr: 20µm.	46
Şekil 4.27.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda hafif derecede anti mTOR immunopozitifliği gösteren bazal hücreler (ok), DAB, X40, Barr: 20µm.	47
Şekil 4.28.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propria katmanında hafif şiddette anti mTOR ekspresyonu gösteren damar endotelleri (oklar), DAB, X40, Barr: 20µm.	48
Şekil 4.29.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda anti mTOR'a karşı immunopozitif spinozum hücreleri (kırmızı oklar) ve lamina propriada anti mTOR'a karşı immunopozitif yangısal hücreler (siyah oklar), (Olgu no:6), DAB, X40, Barr: 20µm.	49
Şekil 4.30.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada anti mTOR ekspresyonları gösteren yangısal hücreler (oklar), (Olgu no:19), DAB, X40, Barr: 20µm.	49
Şekil 4.31.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada yeni oluşan damar endotellerinde anti mTOR immunopozitifliği (oklar), (Olgu no:20), DAB, X40, Barr: 20µm.	50
Şekil 4.32.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yer alan tükürük bezleri çevresinde, anti mTOR ekspresyonu gösteren yangı hücreleri (oklar), immunopozitif yangı hücreleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:23), DAB, X20, Barr: 50µm.	50
Şekil 4.33.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanı içerisinde anti FKBP12 ekspresyonu gösteren hücreler (oklar), DAB, X40, Barr: 20µm.	51
Şekil 4.34.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yer alan damar endotellerinde hafif şiddette anti FKBP12 ekspresyonu (oklar), DAB, X20, Barr: 50µm	52
Şekil 4.35.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada anti FKBP-12 ekspresyonu gösteren yangısal hücreler (oklar), (Olgu no:24), DAB, X20, Barr: 50µm.	53
Şekil 4.36.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yeni oluşan damar endotellerinde (siyah oklar) ve bu damar çevrelerindeki yangısal hücrelerde (kırmızı oklar) anti FKBP12 immunopozitifliği, (Olgu no:6), DAB, X40, Barr: 20µm.	53
Şekil 4.37.	Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, anti FKBP12 immunopozitifliği gösteren epitel hücreleri (siyah oklar), lamina propria (yıldız) ve submukozadaki tükürük bezi çevresinde (kırmızı ok), anti FKBP-12 ekspresyonu gösteren yangısal hücreler, (Olgu no:25), DAB, X10, Barr:100µm.	54
Şekil 4.38.	Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda güçlü anti EGFR ekspresyonu sergileyen hücreler, DAB, X20, Barr: 50µm.	55

- Şekil 4.39.** Akantotik epitelde anti EGFR immunopozitifliği (yıldız), submukozal alandaki yangısal hücrelerde anti EGFR ekspresyonu (oklar), (Olgu no:9), DAB, X20, Barr: 50µm. 55
- Şekil 4.40.** Pozitif (A-G) ve negatif (H) kontrol, **A:** rat, anti FKBP12 ekspresyonu gösteren purkinje hücreleri (siyah oklar), **B:** rat, anti IBA1 ekspresyonu gösteren mikroglia hücreleri (kırmızı oklar), **C:** rat, dalak, anti CD79a ekspresyonu gösteren hücreler (koyu kırmızı oklar), **D:** kedi, dalak, anti CD79a ekspresyonu gösteren hücreler (mavi oklar), **E:** rat, ovaryum, anti mTOR ekspresyonu gösteren hücreler (beyaz oklar), **F:** kedi, ovaryum, anti mTOR ekspresyonu gösteren hücreler (sarı oklar), **G:** rat, dalak, anti CD3 ekspresyonu gösteren hücreler (kahverengi oklar), DAB, X20, 50µm. **H:** negatif kontrol, DAB, X10, Barr: 100 µm. 56
- Şekil 4.41.** Histopatolojik parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimini gösteren ısı grafiği. 61
- Şekil 4.42.** İmmunohistokimyasal parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimini gösteren ısı grafiği. 65

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	mTOR yolağının bağışıklık sistemi üzerine etkileri.	17
Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgiler ve tanımlar	23
Tablo 3.2.	Toluidin Blue skorumlama kriterleri	26
Tablo 3.3.	Histopatolojik değerlendirme kriterleri	29
Tablo 4.1.	Olgularda belirlenen lezyonların şiddetinin semikantitatif analiz tablosu. “0” yok, “1” hafif, “2” orta ve “3” şiddetli.	58
Tablo 4.2.	Total lezyon skoruna göre sınıflandırma	59
Tablo 4.3.	İmmünohistokimyasal bulguların H-skor değerleri	59
Tablo 4.4.	Pearson korelasyon katsayıları ve anlamlılık düzeyleri	62
Tablo 4.5.	Independent Samples T-Testi sonucu	62
Tablo 4.6.	Antikorların Spearman korelasyon sonuçları	64

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMBRA1	Activating molecule in beclin-1 regulated autophagy protein 1 (Beclin-1 Düzenlemeli Otofaji Aktivasyon Molekülü 1)
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated (Ataksi Telanjiektazi Mutantı)
BCR	B Cell Receptor (B hücre reseptörü)
°C	Santigrat
CHS	Chédiak-Higashi Syndrome
DAB	3,3'-diaminobenzidin
Deptor	DEP- domain-containing mTOR-interacting protein (DEP domain içeren mTOR ile etkileşen protein)
EF3	Elongation factor 3 (uzama faktörü 3)
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)
FAT	Focal Adhesion Targeting
FCGS	Feline Chronic Gingivostomatitis (Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi)
FCoV	Feline Corona Virus
FCV	Feline calicivirus
FDA/EMA	Food and Drug Administration/ European Medicines Agency (Gıda ve İlaç Dairesi/ Avrupa İlaç Ajansı)
FeLV	Feline Leukemia Virus
FHV	Feline Herpes Virus
FIV	Feline Immunodeficiency Virus
FKBP12	FK506 Binding Protein 12 (FK506 Bağlayıcı Protein 12)
FRAP	FKBP12 rapamycin associated protein
FRB	FKBP12-rapamycin binding
FRL	Feline Resorptive Lesion (Kedi Rezorptif Lezyon)
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (Granülasit- Makrofaj Koloni- Uyarıcı Faktör)
H&E	Hematoksiklen & Eozin
HER1	Human Epidermal Growth Factor Receptor 1 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 1)
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2)
HER3	Human Epidermal Growth Factor Receptor 3 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 3)
HER4	Human Epidermal Growth Factor Receptor 4 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 4)
HIF1α	Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha (hipoksiye duyarlı faktör 1 α)
IBA1	Ionized Calcium Binding Adapter Molecule 1 (İyonize Kalsiyum Bağlama Adaptör Molekülü)
IHC	Immunohistochemistry (İmmünohistokimya)
kDa	Kilodalton
MHCII	Major Histocompatibility Complex Class II (Majör doku uyum kompleksi II)
MKH	Mezenkimal kök hücreler
mLST8	Mammalian Lethal with Sec13 protein 8
mSIN1	Mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1 (Memelilerde Stresle Aktive Edilen Protein Kinaz ile Etkileşen Protein 1)

mTOR	Mechanistic/Mammalian Target Of Rapamycin (Rapamisin protein kompleksinin memeli/mekanistik hedefi)
mTORC1	mTOR complex 1 (mTOR kompleks 1)
mTORC2	mTOR complex 2 (mTOR kompleks 2)
NK	Natural killer
NSAID	Nonsteroid antiinflamatuvar
PAS	Periodic Acid Schiff
PBS	Phosphate-Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuzlu Solüsyon)
PIKK	Phosphatidylinositol 3-Kinase-Related Kinase (Fosfatidil inozitol kinaz ilişkili kinaz)
PP2A	Protein Phosphatase 2A (Protein fosfataz 2A)
PRAS40	Prolinerich AKT substrate 40 kDa (40 kilodaltonluk Prolin Zengin Akt Substratı)
Protor-1	Protein observed with Rictor-1 (Rictor ile Gözlenen Protein 1)
Raptor	Regulatory-associated protein of Mtor (mTOR'un düzenleyici ilişkili proteini)
Rictor	Rapamycin-insensitive companion of mTOR
S6K	S6 Kinase
SLE	Systemic Lupus Erythematosus (Sistemik Lupus Eritematozus)
SREBP	Sterol Regulatory Element-Binding Protein (sterol duyarlı element bağlayıcı proteinler)
TCR	T Cell Receptor (T hücre reseptörü)
TH1	T helper 1
TH17	T helper 17
TH2	T helper 2
TREG	Regulatory T cells
TSC1-2	Tuberous Sclerosis Complex 1-2 (Tüberöz Skleroz Kompleksi 1-2)
$\alpha\beta$-TCR	Alpha-beta T Cell Receptor (Alfa-beta T Hücresi Reseptörü)
$\gamma\delta$-TCR	Gamma-delta T Cell Receptor (Gama-delta T Hücresi Reseptörü)
4EBP1	Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (Ökaryotik çeviri başlatma faktörü 4E-bağlayıcı protein 1)

ÖZET

Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi Üzerine Patolojik İncelemeler

Bu tez çalışmasında, kedilerin kronik gingivostomatitisinin patogenezi, çeşitli molekül ve biyobelirteçlerin birbiriyle olan ilişkileri FCGS'li (Kedilerin kronik gingivostomatitisi) kedilerin oral mukozalarına ait biyopsi doku blokları üzerinden incelenmiştir. Çalışmanın amacı, mTOR (mammalian target of rapamycin) sinyal yolunun FCGS patogenezindeki rolü ve bu yolun FKBP12 proteini ile olan etkileşimini ortaya koyarak, mTOR inhibitörleri aracılığıyla alternatif terapötik stratejilere yeni bir bakış açısı kazandırmaktır. Bu amaçla çalışmada, 5'i kontrol olmak üzere 30 kediye ait oral biyopsi dokuları Toluidin Blue (TB), Periyodik Asit-Schiff (PAS) Hematoksilen-Eozin (H&E) ve immunohistokimyasal (IHC) olarak boyanarak incelenmiştir. Histopatolojik incelemelerde TB boyamalarda mast hücreleri gradelendirilmiş ve FCGS kesitlerinde kontrol grubuna kıyasla şiddetli bir artış olduğu gözlenmiştir. PAS boyalı kesitler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epitel katman ve yángısal hücrelerde belirgin bir PAS pozitifliği mevcudiyeti dikkati çekmiştir. İmmunohistokimyasal analizlerde, çalışma grubunda CD3, CD79a, IBA1, mTOR ve FKBP12 ekspresyonlarının kontrol grubuna kıyasla arttığı görülmüştür. CD3 ile CD79a ve mTOR ile FKBP12'nin istatistiksel olarak pozitif yönlü korelasyonları dikkati çekmiş; mTOR ile FKBP12 arasındaki pozitif korelasyonun, istatistiksel anlamlılık eşiğine çok yakın olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki düzeyine ulaşamadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, mTOR ve FKBP12 proteininin benzer lokalizasyonlarda ekspresyon göstermesinin ortaya konması bu benzerliğin FCGS patogenezinde önemli bir rol üstlenebileceğini, dolayısıyla mTOR inhibitörlerinin, FCGS hastalığının yönetiminde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilebileceğini akla getirmiştir.

Anahtar Kelimeler: FKBP12 Proteini, Histopatoloji, İmmunohistokimya, Kedilerin kronik gingivostomatitisi, mTOR

ABSTRACT

Pathological Investigations of Feline Chronic Gingivostomatitis

In this thesis, the pathogenesis of feline chronic gingivostomatitis (FCGS) and the interrelationships among various molecules and biomarkers were investigated using oral mucosal biopsy tissue blocks obtained from cats affected by FCGS. The aim of the study was to elucidate the role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in the pathogenesis of FCGS and its interaction with the FKBP12 protein, thereby providing a novel perspective on alternative therapeutic strategies involving mTOR inhibitors. For this purpose, oral biopsy tissues from a total of 30 cats, including 5 control animals, were examined using Toluidine Blue (TB), Periodic Acid–Schiff (PAS), Hematoxylin–Eosin (H&E), and immunohistochemical (IHC) staining methods. In histopathological evaluations, mast cells were graded in TB-stained sections, and a marked increase in mast cell numbers was observed in FCGS tissues compared with the control group. In PAS-stained sections, prominent PAS positivity was noted in both the epithelial layer and inflammatory cells in the FCGS group relative to controls. Immunohistochemical analyses demonstrated increased expression of CD3, CD79a, IBA1, mTOR, and FKBP12 in the FCGS group compared with the control group. Statistically positive correlations were identified between CD3 and CD79a, as well as between mTOR and FKBP12; however, although the positive correlation between mTOR and FKBP12 was very close to the threshold of statistical significance, it did not reach a statistically significant level. In conclusion, the demonstration that mTOR and FKBP12 proteins exhibit expression in similar localizations suggests that this similarity may play an important role in the pathogenesis of FCGS. Accordingly, these findings indicate that mTOR inhibitors may be considered as potential therapeutic agents in the management of FCGS.

Keywords: Feline Chronic Gingivostomatitis, FKBP12 Protein, Histopathology, Immunohistochemistry, mTOR

1. GİRİŞ

Kedilerin kronik gingivostomatitisi (Feline chronic gingivostomatitis-FCGS) gingiva, kaudal veya bukkal mukoza gibi yüzeylerde, şiddeti değişkenlik gösteren kronik-proliferatif bir yangısal hastalıktır. Klinik olarak ağız içinde hiperemi, ülser, hipersalivasyon, anoreksi ve kilo kaybı gibi semptomlarla seyreden bu hastalık, etkilenen kedilerde yaşam kalitesini ciddi şekilde düşürmekte ve çoğu vakada agresif tedavi protokollerine rağmen iyileşme sınırlı kalmaktadır. Hastalığın etiopatogenezi hâlen tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, *Feline Calicivirus* (FCV), *Feline Leukemia Virus* (FeLV), *Feline Immunodeficiency Virus* (FIV) gibi viral enfeksiyonlar, bakteriyel kolonizasyon, dental plak, genetik yatkınlık ve immun disregülasyon gibi birçok faktörün rol oynayabileceği düşünülmektedir (Bellows, 2022; Lommer ve Verstraete, 2003). FCGS’de histopatolojik olarak genellikle lamina propria ve submukozada belirgin lenfoplazmasitik infiltrasyon, epitelial hiperplazi, ülserasyon ve granülasyon dokusu oluşumu gözlenmektedir. Bu yangısal yanıtın ortaya çıkmasında, T ve B lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar ve mast hücreleri gibi yangısal-immunolojik hücrelerin etkili olduğu bildirilmektedir (Özer, 1999; Winer ve ark., 2016).

mTOR (mechanistic/mammalian target of rapamycin) sinyal yolu, hücreSEL büyüme, proliferasyon, metabolizma ve immun yanıt gibi birçok biyolojik süreci düzenleyen merkezi bir yolaktır. Sitozolde bulunan FKBP12 proteini ise, rapamisin ile kompleks oluşturarak mTOR’un aktivitesini inhibe eden önemli bir immunofilindir. mTOR-FKBP12 etkileşiminin yangısal hastalıklarda kritik rol oynadığı gösterilmiştir (Banaszynski ve ark., 2005; Saxton ve Sabatini, 2017). Fakat bu etkileşimin FCGS’nin patogenezinde bir rolünün olup olmadığı henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu tez çalışmasında, kronik gingivostomatitis tanısı almış kedilere ait biyopsi örnekleri histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Immunohistokimyasal olarak yangılı dokularda: CD79a, CD3, Iba1, mTOR, FKBP12 ve EGFR antikörlerinin ekspresyonları incelenerek bu antikörlerin FCGS patogenezindeki potansiyel rolleri ve birbirleri ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Bu sayede, hastalığın moleküler mekanizmalarına ışık tutulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağız Boşluğu ve Mukozası

Ağız boşluğu, birbirinden farklı histolojik özellik gösteren, dudaklardan başlayıp lateralden bukkal mukoza, dorsalden damak, ventral kısımdan ise dille sınırlandırılan ve farenkse kadar uzanan bir boşluktur. Ağız boşluğu, dış vestibül ve asıl ağız boşluğu olmak üzere iki kısımdan oluşur. Dış vestibül dudak ve yanaklarla sınırlıdır. Asıl ağız boşluğu ise sert damak, yumuşak damak, dil ve ağız tabanından oluşur (Squier ve Brogden, 2011). Ağız boşluğu çoğunlukla mekanik etkilere, sıcak veya soğuğa ayrıca pH değişikliklerine devamlı maruz kalan bir yapıdır. Buna ek olarak dil üzerinde bulunan tat tomurcukları ile tat alma veya susuzluk gibi duysal değişimleri de algılayabilir. Yutma, besini geri çıkarma gibi refleks olaylar ve tükürük salgılama da bu dokunun karmaşıklığına katkı sağlar (Bergmeier, 2018).

Ağız mukozası, mukoperiosteumun özel bir formu olan diş eti haricinde, ağız yüzeyini kaplayan ve ağız içi mikroflorasının dengede tutulmasına katkı sağlayan bir dokudur. Ayrıca ağız ortamı ile derin dokular arasında ana bariyer görevi görür. Ağız mukozasının ana yapısı epitel katmanı, propria katmanı ve submukoza olmak üzere üçe ayrılır. Epitel katmanı çok katlı bir yassı epitelden oluşur ve ayrı katmanlar halinde düzenlenmiş, farklı morfolojilere sahip çok sayıda hücre tipi içerir. Epitel hücreleri birbirine sıkıca tutunmuştur ve bazal tabaka üzerine oturan hücre grupları sırasıyla aşağıdan yukarı olmak üzere spinozum, granulozum ve kornifiye tabaka olarak sıralanmıştır. En derin katmandaki bazal hücreler (progenitör hücreler) mitotik hücre bölünmesine sahiptir ve burada olgunlaşan hücreler yüzeye göç etmek amacıyla terminal farklılaşma geçirir. Farklılaşma geçiren hücreler, yüzeyden dökülen hücrelerin yerini alır. Bu olay ağız mukozasının kendi kendini yenileyen bir doku olduğunu kanıtlamaktadır. Çoğalmadan farklılaşmaya geçişin mikroRNA'lar tarafından kontrol edildiği düşünülmektedir (Bergmeier, 2018). Propria katmanında ise kan damarları, yoğun bağ doku ve kolajen bulunur. Submukoza, gevşek bağ dokusu, tükürük bez ve kanalları, kan damarları, kas lifleri, lenfatiklerden oluşur (Bellows, 2022).

Ağız mukozasını kaplayan çok katlı yassı epitel, her bir ana mukoza tipinin işlevini yansıtan olgunlaşma modeline göre bazı önemli bölgesel farklılıklar gösterir. Bu farklılıklar, fonksiyon ve histolojik görünümüne göre kategorize edilebilir. Buna göre ağız mukozasında; mastikatör mukoza, örtücü mukoza ve özelleşmiş mukoza olmak üzere üç tip mukoza görülür. Mastikatör mukoza çiğneme fonksiyonunu yerine getiren sert damak ve gingivada bulunur. Hafif hareketli olması sebebiyle çiğneme fonksiyonunu yerine getirirken mukozanın korunmasını sağlar ve keratinize çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Buradaki keratinize epitel derinin keratinize epiteline benzer bir yapıdadır ve keratinositlerden köken alır. Keratinositler, yoğun keratin lifleri ile paketlenerek korneum katmanını oluşturmak amacıyla birbirine bağlanır. Bu yapı mekanik hareketlere, çeşitli mikroorganizmalara veya kimyasal zedelenmelere karşı önemli bir koruma sağlar (Bergmeier, 2018). Dudaklar, ağız tabanı, yumuşak damak ve yanakların iç kısmı ise örtücü mukoza ile kaplıdır ve bu mukoza diğer mukozalardan farklı olarak keratinize olmayan çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Dilin dorsal kısmı çok sayıda tat tomurcuğu ve duyuşal sinir uçları içermesi sebebiyle özelleşmiş mukoza olarak adlandırılır (Bellows, 2022).

Ağız mukozasının çeşitli işlevleri vardır ve bunların en önemlisi ağız boşluğunun daha derin dokularını ve bezlerini korumaktır. Diğer işlevler arasında duyuşal algı, sentez ve mukozada yer alan bezlerden salgı gerçekleştirilmesidir. Ayrıca normalde ağız boşluğunda, dokulara ulaşabildikleri takdirde enfeksiyona neden olabilecek yerleşik bir mikroorganizma popülasyonu bulunur. Bu organizmaların çoğu dokular üzerinde toksik etkisi olan maddeler üretir. Ağız mukozasının epiteli mikroorganizmaların tutunmasına karşı ana bariyer görevi görür ve bu görevi ile mukozanın bağışıklık sisteminin koruyucu etkilerine de katkıda bulunur (Squier ve Kim Brogden, 2011).

2.2. Gingiva (Diş Eti)

Gingiva, dişin bağlayıcı dokusu periodontu oluşturan yapılardan biridir ve çenelerin alveolar çıkıntılarını kaplayarak diş çevreler. Keratinize epitel ile kaplı olan gingiva, sindirim kanalının epitel tabakasından farklı olarak emme kapasitesine sahip değildir. Ancak bitişindeki dokuları, mikroorganizmaların ve diğer yabancı

maddelerin zararlarından koruyan fizyolojik geçirgen bir bariyer görevi görür. Gingiva fizyolojik olarak pembe renklidir ve bazen pigmentli de olabilir (Bellows, 2022).

Histolojik olarak gingiva, epitel ve bağ dokudan oluşur. Epitel doku yapısı gereği ağırlıklı olarak hücresel yapıda iken, bağ dokusu daha az hücresellik gösterir. Bağ doku çoğunlukla lifli ve lissiz proteinler, büyüme faktörü, mineral, lipid ve sudan oluşan kompleks bir yapıdan oluşur. Bu iki bileşen, gingivitis ve periodontitis gelişimiyle ilişkili en erken yanıtların düzenlenmesinden sorumludur (Bartold ve ark., 2000). Gingiva, serbest ve bağlı gingiva olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Serbest gingiva, marjinal gingivanın koronal kenarıdır. Bağlı gingiva ise marjinal gingivanın apikalinde yer alır ve normalde alveol kemiğinin periosteumuna sıkı bir şekilde bağlanır. Bağlı gingiva çiğneme esnasında oluşan basınca dayanacak şekilde keratinize edilmiştir. Bağlı gingivanın genişliği, ağız içerisindeki bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Bu alan maksiller köpek dişlerinde en geniş şekilde yer kaplamaktadır (Bartold ve ark., 2000; Bellows, 2022).

Gingiva oluğu (sulkus), gingiva ile diş arasında bulunan sığ bir boşluktur. Oluk derinliği genellikle 1 mm'nin altındadır fakat bu derinlik kedilerde, kedinin dişine ve büyüklüğüne göre değişir (Bellows, 2022). Periodontal hastalıklarda anormal hale gelen oluk, periodontumun tahrip olması nedeniyle apikal olarak daha da genişler ve cep olarak adlandırılır (Niemic, 2010).

2.3. Kedilerin Kronik Gingivostomatitisi

Kedilerin kronik gingivostomatitisi (FCGS), etiyolojisi tam olarak bilinmediğinden dolayı iyi tanımlanamamış bir hastalıktır. Gingiva, kaudal veya bukkal mukoza gibi ağız mukozasının farklı yüzeylerinde şiddetli kronik yangı ve ülserasyon ile karakterizedir.

2.3.1. Etiyopatogenez

FCGS'nin etiyolojisi kesin olarak anlaşılamamakla birlikte yapılan araştırmalar genetik yatkınlık, çevresel stres, otoimmünite, diyet, diş hastalıkları, aşırı

duyarlılık (plak bakterilerine karşı reaksiyon, gıda alerjileri), viral veya bakteriyel enfeksiyon dahil olmak üzere çok faktörlü bir etiyolojiden şüphelenildiğini göstermektedir (Bellows, 2022; Lee ve ark., 2020).

FCGS'ye sahip kedilerin lokal olarak ve sistemik dolaşımında T lenfosit sayılarında tespit edilmesi, hastalığın viral etkenlerden kaynaklanan antijenik uyarıma karşı bir bağışıklık yanıtı olduğunu düşündürmektedir (Bellows, 2022; Winer ve ark., 2016). FCGS ile ilişkilendirilen viral etkenler arasında kedi kalisivirüs (FCV), kedi lösemi virüs (FeLV), kedi herpesvirüs (FHV), kedi immun yetmezlik virüs (FIV) ve kedi korona virüsü (FCoV) yer almaktadır (Lommer ve Verstraete, 2003). Bahsedilen virüsler için iyi bilinen risk faktörleri arasında kedilerin serbest dolaşım imkanı, barınaklar veya bir evde yaşayan kedi sayısının fazla olması gibi çok kedinin aynı ortamı paylaşması yer almaktadır (Peralta ve Carney, 2019).

Kedilerin kronik gingivostomatitisinin etiyolojisinde bakterilerin oynadığı rol belirsizdir. Bazı vakaların antibiyotiklerle tedavi yapıldığında klinik olarak iyileştiği fakat tedavi sonlandırıldığında tekrar ettiği görülmüştür. Bazı araştırmacılar ise bakterilerin FCGS'nin patogenezinde ikincil bir rol oynadığı hipotezini ortaya koymuşlardır (Harvey, 2004). Buna karşılık bazı araştırmacılar ise hastalığın patogenezinde bakterilerin daha baskın bir rol oynadığını ve hastalığın bakteriyel plağa karşı gelişen hiperimmün bir yanıt olduğu hipotezini öne sürmektedirler (Williams ve Aller, 1992; Diehl ve Rosychuk, 1993).

Klinik olarak sağlıklı kediler ile FCGS'li kedilerin oral mikrobiyomunun araştırıldığı bir çalışmada, sağlıklı kedilerin oral mikrobiyomunda en çok bulunan bakteri cinsleri *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Moraxella spp.* ve *Fusobacterium spp.* olarak saptanmıştır (Rodrigues ve ark., 2019). En yaygın türlerin ise sırasıyla *Capnocytophaga canimorsus*, *Xanthomonadaceae* ve *Bergeyella spp.* olduğu belirtilmiştir (Sturgeon ve ark., 2014). Buna karşın, gingivostomatitisten etkilenen kedilerde ise *Spirochaetes*, *Bacteroidetes* (Dewhirst ve ark., 2015) ve *Peptostreptococcaceae* (Harris ve ark., 2015) familyasının baskın durumda olduğu gösterilmiştir. *Spirochaetes*'lerin, ağız boşluğunda yaygın olarak görüldüğü ve çoğu türde gingivitis gelişimine katkı sağladığı bildirilmiştir (Hennet ve Harvey, 1991). Bu

organizmalara karşı oluşturulan yangısal yanıtın ise genellikle plazmasitik bir infiltrasyon ile karakterize olduğu belirtilmiştir (Fox ve ark., 1996). *Spirochaetes*'ler rutin bakteriyolojik muayenelerde kültüre edilemediği için kedilerde yapılan birçok bakteriyolojik çalışmada varlıklarının değerlendirilemediği görülmektedir. White ve ark. (1992), yaptıkları bir çalışmada kronik mukogingival hastalıklara sahip olan 29 kediden sadece ikisinin histopatolojik kesitlerinde *Spirochaetes* varlığına dair kanıt bulmuşlardır. Başka bir çalışma, *Pasteurella multocida subsp. multocida* etkenlerinin, hastalığa maruz kalan kedilerde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yaygın olduğunu göstermiştir (Dolieslager ve ark., 2011). Buna rağmen belirtilen tüm mikrobiyal etkenlerin FCGS etiopatogenezindeki rolü kesin olarak anlaşılamamıştır. Çünkü bu patojenlerin çoğu, klinik olarak kronik gingivostomatitis belirtileri olmayan kedilerden de izole edilmiştir. Ek olarak hastalığın oluşturulması için deneysel bir model üretme girişimleri de başarısız olarak sonuçlanmıştır (Knowles ve ark., 1991; Reubel ve ark., 1992).

FCGS'ye sahip kedilerde etiolojinin immunolojik bir anormallik olup olmadığını araştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Harvey (1991), yaptığı bir çalışmada FCGS lezyonları ile Chédiak-Higashi (CHS) sendromuna sahip vizonların lezyonları arasındaki benzerliklere dikkat çekmiştir. Otozomal resesif olan bu sendrom, nötrofillerin yeterli düzeyde işlev yapamamasına ve sistemik nötropeniye neden olmaktadır. CHS ayrıca İran kedilerinde de tanımlanmıştır. Ancak, Chédiak-Higashi sendromu olan kediler erken başlayan periodontal hastalık ve diş kaybı belirtileri gösterirken, FCGS' de bu tür belirtiler bildirilmemiştir (Prieur ve Collier, 1987). Ek olarak, FCGS'li kedilerin nötrofillerinin işlevini analiz eden çalışmalarda önemli bir anormalliğin görülmediği belirtilmiştir (Harvey ve Campbell, 1989).

Son yıllarda FCGS hakkında çok sayıda çalışma yayınlanmış olup, bunların büyük çoğunluğu etiopatogenez veya terapötik yaklaşımlara odaklanmıştır. Kaydedilen ilerlemeye rağmen, hastalığın etiyojisi bilinmemektedir ve mevcut tedaviler rasyonel bir temele sahip değildir (Lee ve ark., 2020; Rodrigues ve ark., 2019; Rolim ve ark., 2017).

2.3.2. Klinik Bulgular

Kedilerin kronik gingivostomatitisi, evcil kedilerin %26'sını etkileyen kronik bir ağız mukozası hastalığıdır (Girard ve ark., 2009; Healey ve ark., 2007). Gingiva, kaudal veya bukkal mukoza gibi ağız mukozasının farklı yüzeylerinde şiddetli kronik yangı ve ülserasyon ile karakterizedir. Bu yangı ve ülserasyon, gıda alımında azalma sonucu anoreksi ve genel durum bozukluğu, kilo kaybı, pityalizm, disfaji, ağız kokusu (halitozis) ve diş gıcırdatma gibi klinik belirtilere sebep olur (Bellows, 2022). Kedi duyduğu ağrı nedeniyle öz bakımını yapamaz hale gelir bu nedenle tüylerini yalayamaz ve tüyler genellikle karmaşık bir halde görünür (Bellows, 2022; Soltero-Rivera ve ark., 2023). Ayrıca etkilenen kedilerde sıklıkla şiddetli ve yaygın periodontitis buna ek olarak, diş rezorpsiyonu da görülebilir (Kouki ve ark., 2017; Krumbeck ve ark., 2021). İnsisiv ve kanin dişlerin gingivasından daha çok premolar ve molar dişlerin gingivasının daha şiddetli etkilendiği bildirilmektedir (Özer, 1999). Damak ve farinks yangısı genellikle mevcut değildir. Kaudal stomatitis, FCGS'den etkilenen kedilerin %85'inde mevcuttur. Mandibular lenfadenopati yaygındır. Nadiren bu sendrom tek taraflı olarak görünür (Bellows, 2022).

Klinik olarak hastalığın proliferatif ve ülseratif olmak üzere iki formu vardır. Bazen hastalığın proliferatif formu dilin geri çekilmesini önleyecek kadar şiddetli olabilir (Şekil 2.1.) (Lee ve ark., 2020). Veteriner tıp alanında, rapor edilen vakaların prevalansının %0,7 ile %12 arasında değiştiği bilinmektedir (Winer ve ark., 2016).

2.3.3. Makroskobik Bulgular

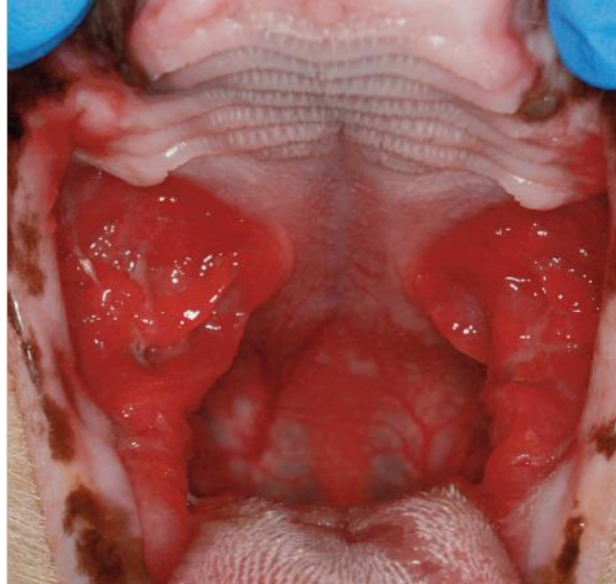
Kedilerin kronik gingivostomatitisinde makroskobik olarak ağız mukozasında eritem, ülserasyon, kanama ve gingival hiperplazi görülmektedir (Williams ve Aller., 1992). Agresif bir davranış sergileyen bu hastalık sadece diş etini etkileyebildiği gibi ağız mukozasının çeşitli bölgelerine yayılım gösteren stomatitis formlarına kadar değişkenlik gösterebilir. Bazı kedilerde, yangı sadece diş etinden başlayarak mukogingival sınırı aşan ve alveolar mukozaya kadar uzanan molar dişler etrafında belirgin görünmektedir. Diğer kedilerde ise kesici dişler, köpek dişler, premolar ve molar dişler etrafında 360° derecelik eksen boyunca belirgin gingivitis ve periodontal

hastalık gözlemlenir. Lezyonlar ülseratif, proliferatif ve hiperemik şekilde genellikle ağzın kaudal kısımlarında yoğunlaşır, bunun yanında palatoglossal kıvrımları da etkiler (Şekil 2.2.) (Soltero-Rivera ve ark., 2023). Şiddetli olgularda fibrinöz eksudasyon ve kötü kokulu purulent bir akıntı gözlenebilir (Sakis ve ark., 2019).

Kaudal stomatitis, FCGS'den etkilenen kedilerin %85'inde mevcuttur (Bellows, 2022). Yangısal reaksiyon sebebiyle sıklıkla odontoklastik reabsorpsiyon gözlenir ve bu durum diş kaybına yol açabilir (Sakis ve ark., 2019).



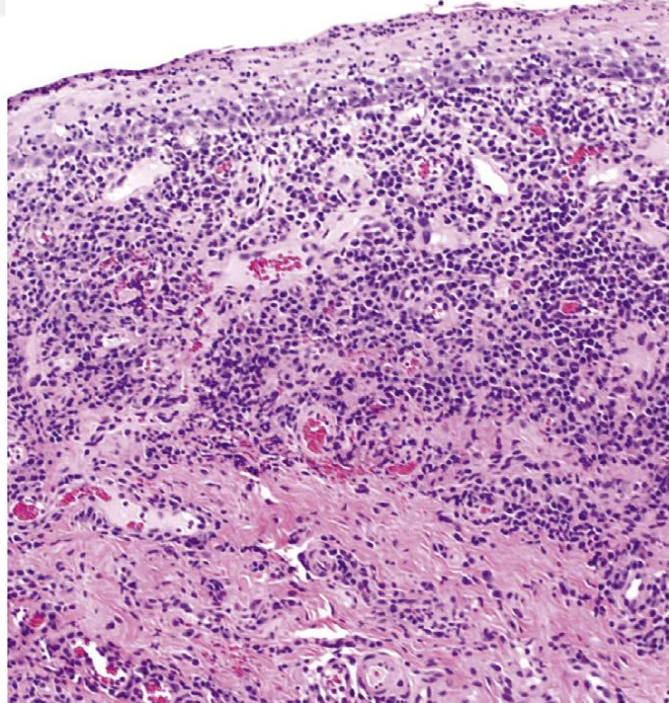
Şekil 2.1. Kedilerin kronik gingivostomatitisi, proliferatif form (Lee ve ark., 2020).



Şekil 2.2. Kedilerin kronik gingivostomatitisi, palatoglossal bölgede ülser (Soltero-Rivera ve ark., 2023).

2.3.4. Mikroskopik Bulgular

Mikroskopik olarak mukoza epitelinde şiddeti değişmekle birlikte hiperplazi, akantozis ve hiperkeratoz gözlemlenir. Ayrıca epitelde sıklıkla geniş alanlara yayılan vakuoler dejenerasyon, spongiyozis, ülser ve nekrozlara rastlanır. Genellikle şiddetli olgularda, epitel yüzeyinde çok sayıda makrofaj, nötrofil ve lenfosit içeren eksudatif bir birikim yer almaktadır. Bu birikime, intraepitelyal alanda da hafif ila orta derecede rastlanabilir. Lamina propria ve submukozada, perivasküler/interstisyel alana dağılan, yoğun bir yangısal hücre infiltrasyonu görülür. Bu yangısal hücre infiltrasyonu içerisinde lenfosit, plazma hücresi, mast hücresi, makrofaj ve nötrofil lökositler bulunur. Ek olarak infiltrat içerisinde hafif ila orta yoğunlukta Mott (aktifleşmiş plazma hücreleri) hücrelerine de rastlanabilir. İlerlemiş olgularda, yangısal hücrelerin submukozal alanda iskelet kası liflerinin çevresine kadar uzandığı görülebilir. Ayrıca submukozal alanın granülasyon dokusu ve fibrinonekrotik debris ile dolu olduğu gözlemlenebilir (Şekil 2.3.) (Özer, 1999). Histopatoloji, malignitenin dışlanması önemli bir avantaj sağlar (Bellows, 2022).



Şekil 2.3. Submukozal hücre infiltrasyonları, X10, 100µm, (Lee ve ark., 2020).

2.3.5. Tanı

FCGS hastalığının tanısı, klinik muayene, laboratuvar testleri, radyografik inceleme ve biyopsi gibi yöntemlerle konur. Kedinin oral muayenesinde ağız kokusu, salya artışı, diş eti yangısı, mukozada şişlik ve kanamanın görülmesi klinik olarak tanı konulması için yeterlidir. Ayrıca, intraoral radyografiler kullanılarak dişlerin ve çene kemiğinin durumu değerlendirilir bu sayede yangı veya yapısal bozukluklar gözlemlenir. Fakat FIV veya FeLV gibi birçok durumda da gingivitis gelişebileceği için ek testler ile bu hastalıklar dışlanmalıdır. Hastalığın doğrulanması, şiddetinin belirlenmesi ve tümör gibi nedenlerin elenmesi amacıyla histopatolojik inceleme gereklidir (Bellows, 2022; Özer, 1999).

2.3.6. Tedavi

FCGS tedavisi, genellikle medikal ve cerrahi bir yaklaşım gerektirir. Medikal tedavi çoğunlukla tek başına fayda sağlamayabilir bu nedenle cerrahi olarak diş çekimleri gerekebilir. FCGS, bağışıklık aracılı yangısal bir hastalık olduğundan, medikal tedavinin amacı bağışıklığı baskılamak veya bağışıklığın modülasyonunu sağlamak olmaktadır. Bu nedenle oluşan yangıyı kontrol altına almak için kortikosteroidler ve siklosporin gibi immunsupresif ilaçların kullanımı öne çıkmaktadır. Ağrıyı yönetmek için nonsteroid antiinflatuar ilaçlar (NSAID'ler) ve gerektiğinde antibiyotikler verilmektedir. FCGS'li kedilerde diş eti yangısının şiddetine bağlı olarak, etkilenen dişlerin çekilmesinin klinik belirtileri önemli ölçüde azalttığı düşünülmektedir. Ek olarak, ağız hijyenine dikkat edilmesi, diş temizliği ve düzenli veteriner kontrolleri tedavi sürecinin bir parçasıdır. Ayrıca, virüslerin potansiyel rolü göz önünde bulundurularak, bu enfeksiyonlar varlığında antiviral tedavi, aşı ve rekombinant kedi interferon omega da önerilmektedir (Krumbeck ve ark., 2021; Lommer, 2003; Winer ve ark., 2016).

Mezenkimal kök hücreler (MKH), son zamanlarda FCGS için alternatif bir tedavi olarak kullanılmaktadır. MKH'ler fibroblast benzeri, çok potansiyelli kök hücrelerdir. T hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi, B hücre fonksiyonunun değiştirilmesi, antijen sunan hücrelerde majör histo uyum kompleks II (MHCII)'nin

downregülasyonu ve dendritik hücre olgunlaşmasının inhibe edilmesi gibi immunomodülatör etkilere sahiptir (Arzi ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada hem otolog hem de allojenik olarak yağ dokusundan türetilmiş MKH'lerin dirençli FCGS vakalarında intravenöz olarak verilmesinin, kedilerde etkinliğinin sonuçları bildirilmiştir (Arzi ve ark., 2016). Yedi kedi üzerinde otolog yağ dokusundan türetilmiş MKH'lerle yapılan tedavide, 6 ila 24 ay süren izleme dönemi boyunca %71,4'lük bir olumlu yanıt oranı ile sonuçlandığı bildirilmektedir. Bu olumlu sonuçlar %42,8 oranında klinik remisyon, %28,6 oranında ise belirgin iyileşme olarak saptanmıştır. Aksine %28,6 oranında ise tedaviye yanıtın olmadığı bildirilmektedir (Arzi ve ark., 2016). Bu çalışmada desteklemektedir ki tedavi süreci, her kedinin klinik durumuna göre değişebilir ve tedaviye cevap genellikle bireyseldir (Lee ve ark., 2020).

2.4. Rapamisinin Memelilerdeki Hedefi (mTOR) Yolağı

Anabolik ve katabolik metabolizmalar arasında anahtar rol üstlenen rapamisin protein kompleksinin memeli/mekanistik hedefi (*mechanistic/mammalian target of rapamycin, mTOR*), hücre içi sinyal kaskatlarında merkezi bir noktaya yerleşmiş olan hücre içi bir serin/treonin protein kinazdır (Küçüköner, 2013).

2.4.1. mTOR'un Tarihçesi

Kanada'dan bir grup bilim insanı 1964 yılında, yeni antimikrobiyal ajanlar keşfetmek amacıyla izole bir Güney Pasifik Adası olan Rapa Nui'ye (yerli halkın diliyle) giderek toprak örneği toplamışlardır. Bu örneklerden birinde bir toprak bakterisi olan *Streptomyces hygroscopicus* izole edilmiştir. Sehgal ve meslektaşları 1975 yılında bu bakterinin yeni bir makrolid grubu antifungal ürettiğini keşfetmişlerdir (Martel ve ark., 1977; Vezina ve ark., 1975). Bu ajan, keşfedildiği yer olan Rapa Nui Adası'nın adıyla anılarak rapamisin (sirolimus) olarak adlandırılmıştır. Bu bileşiğin daha ileri düzey analiz sonucu, FKBP12 proteiniyle bir kompleks oluşturarak hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli sinyal yollarını inhibe ettiğini ortaya koymuştur (Chung ve ark., 1992). Ancak rapamisinin tam etkisi, 1994 yılına kadar tam olarak anlaşılamamıştır. O yıl yapılan biyokimyasal çalışmalarda, rapamisin-FKBP12 kompleksinin memelilerdeki doğrudan hedefinin rapamisinin mekanistik (önceden

memeli olarak adlandırılmıştır) hedefi (mTOR) olduğu belirlenmiştir (Sabatini ve ark., 1994). Ayrıca, mTOR'un, daha önce maya genetik taramalarında rapamisin direnci için tanımlanan TOR/DRR genlerinin homoloğu olduğu gösterilmiştir (Kunz ve ark., 1993). Bu keşiflerden sonraki 20 yılı aşkın sürede, dünya çapında birçok laboratuvarında yapılan çalışmalar, mTOR protein kinazının çevresel koşullarla hücre büyümesini koordine eden hem hücresel hem de organizmal fizyolojide temel rol oynayan büyük bir ökaryotik sinyal ağını oluşturduğunu ortaya koymuştur (Saxton ve Sabatini, 2017). mTOR'un işlevi ve düzenlenmesinin birçok yönü son zamanlarda açıklığa kavuşmuş olsa da, yanıtlanması gereken hala birçok soru bulunmaktadır.

2.4.2. mTOR'un Yapısı ve Özellikleri

mTOR, 290 kilodalton (kDa) ağırlığında atipik bir serin/treonin protein kinaz olup *fosfatidil inozitol kinaz ilişkili kinaz (PIKK)* ailesinin bir üyesidir (Yang ve Guan, 2007). Yapısal olarak antiparalel α sarma yapılarından oluşan *Huntingtin*, *Elongation factor 3 (EF3)*, *Protein fosfataz 2A (PP2A)* ve *The yeast kinase TOR1 (HEAT)* proteinlerinin 20 ardışık tekrarlarından oluşmaktadır. mTOR'un amino ucunda yine her biri PIKK ailesinin üyesi olduğu bilinen ve FRAP (*FKBP12 [FK506 binding protein 12]- rapamisin associated protein*), ATM (*ataxia telangiectasia mutated*), TRAP (*transformation/transcription domain-associated protein*) gibi proteinlerden oluşan FAT bölgesi bulunmaktadır. mTOR yapısındaki kinaz domain ise *FKBP12-rapamycin binding* (FRB) bölgesi ile *FAT C terminus* (FATC) bölgeleri arasında yer almaktadır. Sonuç olarak mTOR'un kinaz etkinliğinden sorumlu olan kısımlar FRB, FAT ve FATC olarak gösterilmektedir (Huang ve Houghton, 2003).

mTOR, hücre içinde mTOR kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR kompleks 2 (mTORC2) olmak üzere iki ayrı multiprotein kompleksi halinde bulunmaktadır (Saxton ve Sabatini, 2017). Bu komplekslerin bazı proteinleri ortaktır fakat rapamisine karşı duyarlılıkları arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. mTORC1, rapamisin tarafından seçici bir şekilde inhibe edilirken, mTORC2'nin rapamisine duyarsız olduğu bilinmektedir (Sabatini ve ark., 1994; Vezina ve ark., 1975). mTORC1 kompleksi, mTOR, mLST8 (mammalian lethal with Sec13 protein 8), Deptor (DEP-domain-containing mTOR-interacting protein), Raptor (regulatory-associated protein

of mTOR), PRAS40 (prolinerich AKT substrate 40 kDa) olmak üzere 5 proteinden oluşmaktadır. Raptor, mTOR'a bağlı proteinleri toplayarak mTORC1'in aktive olmasını sağlamaktadır. PRAS40 ve Deptor proteinleri ise mTORC1 kompleksinde negatif feed-back görevi görmektedirler. Aynı zamanda bu kompleksin aktivasyonunu bloke ettikleri bilinmektedir (Suto ve Karonitsch, 2020; Yang ve Guan, 2007).

mTORC2 kompleksinin ise mTORC1 ile ortak olan: mTOR, mLST8 ve Deptor proteinlerinin yanı sıra Rictor (*rapamycin-insensitive companion of mTOR*), mSIN1 (*mammalian stress-activated protein kinase inte-racting protein*) ve Protor-1 (*protein observed with Rictor-1*) olmak üzere toplam 6 farklı proteinden oluştuğu bilinmektedir (Peterson ve ark., 2009). Deptor proteini mTORC1 kompleksinde de olduğu gibi mTORC2 aktivasyonunu bloke ettiği görülmektedir (Peterson ve ark., 2009). mLST8 proteini ise bu kompleks için hayati önem taşımaktadır ve bu proteinin eksikliğinde mTORC2'nin aktivasyonu bozulmaktadır. mTORC1, hücre büyümesi ve metabolizmasını kontrol ederken, mTORC2 hücre çoğalmasını ve hayatta kalmayı kontrol etmektedir (Huang ve Houghton, 2003).

2.4.3. mTOR Kompleksinin Fizyolojik Fonksiyonları

Bir hücrenin bölünebilmesi için protein, lipid ve nükleotit üretimi gibi anabolik olayları arttırması, bunun yanında otofaji gibi çeşitli katabolik olayları baskılaması gerekmektedir. Bu süreçlerin tamamının düzenlenmesinde mTOR merkezi bir rol oynamaktadır. mTOR bu rolü, hücre içi besin seviyesi, enerji durumu, oksijen düzeyi ve stres gibi çevresel sinyaller sonucunda birçok molekülle etkileşime geçerek meydana getirmektedir (Saxton ve Sabatini, 2017; Yang ve Guan, 2007).

2.4.3.1. Protein Sentezi

Ribozomlarda protein translasyonunun kontrolünden sorumlu olan *Ribosomal S6 kinase (S6K)*, mTOR tarafından fosforillendiğinde aktifleşerek protein translasyonunu başlatır. *Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4EBP1)*, mRNA translasyonundan sorumludur ve aynı şekilde mTOR tarafından fosforillendiğinde, aktive olarak mRNA translasyonunu başlatır. Dolayısıyla protein

sentezi, S6K ve 4EBP1 molekülleri üzerinden gerçekleşmektedir. mTOR kompleksinin stimülasyonu ile hücre büyümesi, proliferasyonu ve hücrenin boyutsal olarak genişlemesi pozitif yönde etkilenmektedir (Chung ve ark., 1992; Dorrello ve ark., 2006; Holz ve ark., 2005).

2.4.3.2. Lipit Sentezi

Büyümekte olan hücre, yeni zar oluşumu için lipitlere ihtiyaç duymaktadır. Yağ asitleri, hücrenin yapısı ve iletişimini sağlamalarının yanında birer enerji kaynağı olarak da görev almaktadırlar. Buna ek olarak yağ asidi üretimi yardımcı, regülatuar ve hafıza T hücreleri gibi immun hücrelerin çoğalması ve farklılaşması için büyük önem taşımaktadır (Thomson ve ark., 2009).

Lipit ve kolesterol homeostazında görevli proteinleri kodlayan genlerin ekspresyon faktörlerinden biri olan, sterol duyarlı element bağlayıcı proteinler, (SREBP) mTOR'un uyarımı ile etkinleşir. mTORC1, SREBP aracılığıyla yeni lipit sentezini teşvik etmektedir. SREBP, normalde düşük sterol seviyelerinde aktive olmaktadır. Fakat, mTORC1 sinyali hem S6K1'e bağlı bir mekanizma yoluyla (Düvel ve ark., 2010) hem de Lipin1'in fosforilasyonu yoluyla SREBP'yi bağımsız olarak aktive edebilir. Lipin1, mTORC1 sinyalinin yokluğunda SREBP'yi inhibe etmektedir (Peterson ve ark., 2011). mTOR kompleksinin rapamisin ile inhibisyonu, adı geçen proteinin aktivitesini azaltmaktadır. Bunun sonucunda da adipogenez inhibe olmaktadır (Li ve ark., 2016).

2.4.3.3. Glikoliz Artışı

Hücre içindeki glikoz seviyeleri yeterli olduğunda, mTOR ve hipoksiye duyarlı faktör 1 α (HIF1 α) glikolizi teşvik etmektedir (Semenza, 2013). mTORC1, glikoliz ve de novo yağ asidi sentezi için gerekli olan genlerin ekspresyonunu artırır. Ayrıca, mTORC1 aracılığıyla pentoz fosfat yolundaki bazı enzimlerin de üretimi artar (Düvel ve ark., 2010).

2.4.3.4. Otofaji

Otofaji, hücre içindeki yapıların otofagozomlar içine alınıp, lizozomlar tarafından parçalanması sürecidir. Herhangi bir besin yetersizliğinde, çeşitli anabolik faaliyetlerin sürdürülmesi otofaji ile sağlanır. mTORC1, özellikle otofaji olmak üzere protein katabolizmasını baskılayarak hücre büyümesini destekler (Saxton ve Sabatini, 2017). Besin açısından zengin koşullarda mTORC1, Activating molecule in beclin-1 regulated autophagy protein 1 (AMBRA1) adlı proteini fosforile ederek aktivasyonunu sağlamaktadır. AMBRA1'de otofaji ilişkili genlerin hücre membranına bağlanmasını önleyerek, otofagozom oluşumunu inhibe etmektedir (Kim ve ark., 2011). Sonuç olarak, mTORC1 inhibisyonunun otofajiyi artırdığı buna ek olarak mTORC1 aktivasyonunun otofajiyi azalttığı gösterilmiştir (Yang ve Guan, 2007).

2.4.3.5. İmmun Sistemin Düzenlenmesinde mTOR'un Rolü

mTOR, immün sistemin düzenlenmesinde kritik rol oynayan merkezi bir hücresel yolak olarak bilinmektedir. Hem doğuştan gelen hem de kazanılmış bağışıklık yanıtları üzerinde önemli etkilere sahiptir. mTOR, özellikle mTORC1 ve mTORC2 olmak üzere iki ana kompleks aracılığıyla bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarını düzenler. mTORC1, hücresel metabolizma ve büyümeyi kontrol ederken, mTORC2 hücre motilitesi, hayatta kalma sinyalleri ve hücresel şekil değişikliği üzerinde etkili olmaktadır. Bu iki kompleks, bağışıklık hücrelerinin proliferasyonu, diferansiyasyonu ve aktivasyonunu etkileyerek bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde önemli bir işlev görür (Düvel ve ark., 2010; Perl, 2015; Saxton ve Sabatini, 2017).

mTORC1, T hücreleri ve makrofajlar gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunda, çoğalmasında ve farklılaşmasında kritik bir rol oynar (Thomson ve ark., 2009). T hücrelerinin farklılaşabilmesi için üç ana sinyal gerekli olmaktadır. Birincisi T hücre reseptörlerinin aktive olması diğerleri ise kostimülatör sinyallerin alınması ve sitokinlerin etkisinin görülmesidir. Bu üç sinyalin hepsi de mTOR tarafından düzenlenen süreçlerdir (Gümüş ve ark., 2019). Aktive olmuş mTOR, T hücrelerinin sinyal yollarıyla etkileşime girerek hücrenin diferansiyasyon, proliferasyon gibi hayati fonksiyonlarını düzenlemektedir (Perl, 2015). mTORC1,

TH1 ve TH17 hücrelerinin sayısını artırırken, CD8+ hafıza T hücrelerinin sayısını düşürmektedir. mTORC2 ise TH2 hücrelerinin aktivitesini artırmaktadır. Buna bağlı olarak mTOR inhibisyonu; TH1, TH2 ve TH17 hücrelerinin sayısının düşmesine, TREG hücrelerinin ise artmasına yol açar (Coquillard ve ark., 2015). TREG hücreleri, vücudun kendi dokularına karşı bağışıklık tepkisini engelleyerek otoimmün hastalıkların gelişmesini önlemektedir. Bu sebeple organ nakillerinde, organ reddini engellemek için mTOR inhibitörleri kullanılmaktadır (Coquillard ve ark., 2015). mTORC2 ise, T hücrelerinin hayatta kalmasını ve etkili bir şekilde çalışmasını sağlayan sinyal yollarını düzenler. Ayrıca mTORC2, bağışıklık hücrelerinin migrasyonunu da kontrol eder. Bu özellik, inflamasyonun düzenlenmesi ve bağışıklık yanıtının hedeflenen bölgelerde yoğunlaşmasını sağlamak için önemlidir (Sarbassov ve ark., 2006).

Makrofajlar, iki şekilde polarize olabilmektedir. Birincisi inflamatuvar M1 fenotipi ikincisi ise antiinflamatuvar M2 fenotipidir. İlginç bir şekilde mTOR, T hücrelerinde inflamatuvar bir etki sağlarken, makrofaj polarizasyonunu antiinflamatuvar özellik gösteren M2 fenotipine yönlendirir (Perl, 2016).

B hücrelerinin çoğalması için mTOR gereklidir. mTOR inhibe edildiğinde ise, B hücre reseptörlerinin fonksiyonu engellenir. Farelerde yapılan çalışmalarda, mTOR inhibisyonunun S6K1 aktivasyonunu ve DNA sentezini engellediği gösterilmiştir (Thomson ve ark., 2009). Ayrıca, B hücrelerinin lipopolisakkaride karşı duyarlılığı da mTOR aracılığıyla düzenlenir (Li ve ark., 2015). mTOR'un başka bir görevi hem nötrofillerin kemotaksisi hem de kemokinez sürecinde rol oynamasıdır. Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), kemotaksisi başlatan moleküldür ve ayrıca lökositlerin göçü için gerekli olan aktin filamentlerinin üretimini de arttırmaktadır (Thomson ve ark., 2009).

Tablo 2.1. mTOR yolağının bağışıklık sistemi üzerine etkileri.

Hücre tipi	mTOR etkisi
T helper 1 (Th1)	mTORC1 ile etkinliği ve sayısı artar.
T helper 2 (Th2)	mTORC2 ile etkinliği artar.
T helper 17 (Th17)	mTORC1 ile etkinliği ve sayısı artar.
Regülatuar T hücre	mTORC1 ile etkinliği ve sayısı azalır.
CD8+ hafıza T hücresi	mTORC1 ile etkinliği azalır.
B hücresi	Hücre çoğalması ve lipopolisakkaride olan yanıtı mTOR ile artar.
Makrofaj	M1 fenotipinden çok M2 fenotipine farklılaşmayı artırır.
Nötrofil	mTOR kemotaksis, kemokinezis, IL-8'e verilen yanıtı düzenler.

Sonuç olarak, mTOR yolağının bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkiler yaptığı bilinmektedir. Bağışıklık hücrelerinin metabolik durumunu, proliferasyonunu ve fonksiyonlarını etkileyerek, bağışıklık yanıtlarının düzgün bir şekilde sürdürülmesini sağlamaktadır. Ancak, mTOR'un aşırı aktivasyon göstermesi, otoimmün hastalıklar, inflamasyon ve kanser gibi patolojik durumların ortaya çıkma ihtimalini arttırabilir. Bu nedenle bu yolak üzerindeki sinyaller, bağışıklık yanıtının sağlıklı bir şekilde ortaya çıkması için kritik öneme sahiptir (Yang ve Guan, 2007).

2.4.3.6. mTOR'un Patofizyolojik Olaylardaki Rolü

Adaptif bağışıklık sistemi, özellikle T ve B lenfositlerinin fonksiyonlarına bağlıdır. mTOR, adaptif bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde anahtar bir sinyal yoludur. Bu yolaktaki düzensiz sinyaller, bağışıklık fonksiyonlarının düzgün bir şekilde çalışmasını engelleyerek immunolojik hastalıkların gelişmesine yol açabilmektedir. mTOR yolağının, sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıklarda aşırı aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bu da otoimmün hastalıkların tedavisinin daha karmaşık bir hâle gelmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle mTOR'un inhibe edilmesi, TREG hücrelerinin artışı sağlayarak otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel bir strateji olarak kabul edilmektedir. Örneğin, organ nakli sonrası organ reddini engellemek amacıyla mTOR inhibitörleri kullanılır. Bu inhibitörler, bağışıklık yanıtını baskılayarak transplante edilen organın reddini engeller (Coquillard ve ark., 2015; Eng ve ark., 1984; Perl, 2015).

Kardiyak hipertrofi, kalp kası hücrelerinin boyutunun artmasıyla karakterize edilen bir durumdur ve genellikle aşırı egzersiz veya inflamasyon gibi patolojik durumlarla ilişkilidir (Zachary ve McGavin, 2012). PI3K/Akt/mTOR sinyal yolu, fizyolojik ve patolojik kalp hipertrofisi sırasında önemli bir rol oynar. Bu yolak, kalp kası hücrelerinin boyutunu, inflamasyon düzeyini ve yeni kan damarlarının oluşumunu düzenler. Özellikle mTOR, kardiyomiyositlerin hayatta kalmasını sağlayarak kalp kasının büyümesine yol açabilmektedir. Fakat aşırı aktivasyon kalp yetmezliğine neden olabilmektedir. Bu nedenle mTOR sinyal yolunun düzenlenmesi, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde bir hedef olarak dikkat çekmektedir (Saxton ve Sabatini, 2017).

mTOR sinyal yolu, adipoz doku oluşumu ve adipogenezde esas rol oynar (Yang ve Guan, 2007). Adipogenez, yağ hücrelerinin gelişimini ve çoğalmasını tanımlamaktadır. In vitro yapılan çalışmalarda, mTORC1'in etkinliğinin inhibe edilmesinin, yağ hücrelerinin hayatta kalmasını ve çoğalmasını engelleyerek adipogenez tamamen bloke ettiği gösterilmiştir. Buna karşılık, mTORC1'in aşırı aktivasyonu, adipogenezin artmasına dolayısıyla obeziteye neden olmaktadır. Aşırı yağ hücresi üretimi ise insülin direncine yol açmaktadır. İnsülin direnciyle birlikte vücutta glikoz metabolizması bozulur ve sonucunda hepatik glikoz ve trigliserit birikimi oluşur. Bunun sonucunda hiperglisemi ve hiperlipidemi meydana gelir (Perl, 2015). Bir çalışmada (Pende ve ark., 2000), mTORC1'in aynı zamanda, insülin salgılanmasını düzenleyen pankreas β hücreleri üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu etki, β hücrelerinden insülin salgılanmasını kontrol eden bir pozitif düzenleyici olarak görev yapmaktadır.

Nörodejeneratif hastalıklar, nöronlarda toksik proteinlerin birikmesine yol açan bozukluklarla karakterizedir. Bu proteinlerin yeterince temizlenememesi, hücresel zedelenmeye ve sonucunda hücre ölümüne neden olur. Nörodejeneratif hastalıkların çoğunda, hücre içi protein yıkımının düzenlenmesinde bir azalma olduğu ve bunun da otofaji yolunun etkili çalışmaması ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Kim ve ark., 2011; Sarkar ve Rubinshtein, 2008). Otofaji, hücresel atıkların ve bozulmuş proteinlerin yıkımını sağlayan bir süreçtir ve mTORC1 bu sürecin en önemli düzenleyicisidir (Düvel ve ark., 2010). mTORC1 inhibisyonunun nörodejenerasyonun

şiddetini azalttığı gözlemlenmiştir (Sarkar ve Rubinsztein, 2008). Bu bulgular, mTOR sinyal yolunun nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir.

mTOR sinyal iletim yolu, kanserin gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir etkiye sahiptir. Onkojenik uyarım ya da tümör baskılayıcı proteinlerin yetersizliği nedeniyle anormal mTOR aktivasyonu, birçok in vitro hücre hattında ve in vivo murin ksenograft modellerinde tümör büyümesine, metastaz ve anjiyogenez gelişimine yol açmaktadır (Faivre ve ark., 2006; Hanahan ve Weinberg, 2011). Bu durum, mTOR'un tümör hücrelerinin hayatta kalması, çoğalması ve metastaz yapması için gerekli olan temel biyolojik süreçleri tetiklediğini göstermektedir.

mTORC1 ve mTORC2, farklı moleküler bileşenler aracılığıyla kanserin gelişiminde rol oynamaktadır. Özellikle, mTORC1'in çeşitli sinyalizasyon bileşenlerindeki genetik değişiklikler, kanserli hastalarda sıkça gözlemlenmektedir (Perl, 2015). PI3K, Akt ve TSC1/2 gibi genlerdeki mutasyonlar, mTOR sinyal yolunun disregülasyonuna ve dolayısıyla kanserin gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Feng ve ark., 2005). Bu genetik mutasyonlar, mTOR'un etkinliğini artırarak, kanser hücrelerinin büyümesini ve hayatta kalmasını sağlayan süreçleri uyarmaktadır. mTOR'un ribozom biyogenezini arttırması, hücrelerin büyümesini sürdürebilmesi için gerekli olan makro yapı ve mekanizmaların sağlanmasına katkıda bulunur. Bu sayede, tümörlerin büyümesini kolaylaştırdığı bilinmektedir (Yang ve Guan, 2007).

mTORC2'nin de kanser gelişiminde önemli bir rol oynadığı saptanmıştır. mTORC2'nin bir bileşeni olan Rictor'un, özellikle gliom gibi kanser türlerinde aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir (Hietakangas ve Cohen, 2008; Masri ve ark., 2007). Artan mTORC2 sinyal yolunun, kanser hücrelerinin agresyonunu arttırdığı ve metastaz yapmalarını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Masri ve ark., 2007).

2.5. FKBP-12 Proteini

FKBP12 (FK506 binding protein 12), 12 kDa moleküler ağırlığa sahip, hücre içi lokalizasyon gösteren ve immunofilin ailesine ait bir proteindir. Bu protein, çeşitli

protein katlanması ve konformasyonel düzenlenmesinde görev alır. FKBP12'nin en dikkat çeken özelliği, immunosupresif ajanlar olan takrolimus (FK506) ve sirolimus (rapamisin) ile yüksek affiniteyle bağlanabilmesidir. Bu ilaçlarla oluşturduğu kompleksler aracılığıyla sinyal iletim yollarını düzenlemektedir. Örneğin, rapamisin-FKBP12 kompleksi, hücre büyümesi, proliferasyonu, otofaji ve metabolizmayı kontrol eden merkezi bir serin-treonin kinaz olan mTOR'un (mammalian target of rapamycin) aktivitesini inhibe eder. Bu etkileşim, yalnızca mTORC1 kompleksine özgüdür ve translasyonel kontrol, hücre siklusu ve immun yanıt gibi süreçlerde kritik rol oynar. Ayrıca FKBP12 proteini, TGF- β reseptörleri gibi çeşitli hücre içi proteinlerle etkileşerek kalsiyum sinyalleme ve hücrel diferensiyasyon gibi birçok fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol alır. FKBP12'nin immun yanıt, doku rejenerasyonu, fibrozis ve neoplazi gibi çeşitli patofizyolojik durumlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Aghdasi ve ark., 2001; Banaszyński ve ark., 2005; Hausch ve ark., 2013; Kang ve ark., 2008).

2.6. CD3

T lenfositleri, kemik iliğinden köken alıp timusta olgunlaşarak periferik kan ve sekonder lenfoid dokularda görev yapan bağışıklık sistemi hücreleridir. T lenfositleri için kesin olan bir biyobelirteç mevcuttur. Bu da polimorfik antijen bağlayıcı molekül olan TCR (T hücre reseptörü)'dir. Bu molekül, T lenfositlerinin antijen özgüllüğünü belirler ve disülfid bağlarıyla bağlı heterodimerlerinin bileşimine göre, $\alpha\beta$ -TCR ya da $\gamma\delta$ -TCR olarak sınıflandırılır (Thomson ve ark., 2009). Memelilerin, periferik kanlarındaki T lenfositlerinin çoğunda $\alpha\beta$ -TCR bulunmaktadır. Fakat geniş getirenlerde ve domuzlarda, bu lenfositler periferik kanda sırasıyla sadece %10-50 ve %10 oranlarındadır. Her iki TCR'de, CD3 ile ilişkilidir ve birlikte TCR-CD3 kompleksini oluştururlar (Zachary ve McGavin, 2012). CD3, T lenfositlerinin yüzeyinde bulunan, T hücre reseptörünün (TCR) sinyal iletimine yardımcı olan önemli bir protein kompleksidir. CD3 kompleksi, TCR tarafından antijenik tanınma üzerine iç ortama sinyal iletimini sağlamaktan sorumludur. Ayrıca T hücresi çoğalmasına ve sitokin salınımına neden olur. Purkinje hücrelerinde ve aktive olmuş doğal öldürücü (natural killer) hücrelerinde zayıf bir ekspresyon dışında, CD3 yalnızca T hücrelerinde

bulunur ve T lenfositlerinin belirlenmesinde kullanılır (Naeim ve ark., 2018; Zachary ve McGavin, 2012).

2.7. CD79a

B lenfositlerinin gelişimleri, birincil lenfoid dokularda antijen bağımsız olarak, sekonder lenfoid dokularda ise antijen bağımlı aşamalarda gerçekleşir. B lenfositleri, kemik iliği ve Peyer plakları gibi birincil dokularda gelişirken, dalak ve lenf düğümleri gibi sekonder dokularda lenfoid folliküller içinde bulunurlar (Zachary ve McGavin, 2012). B hücrelerinin patojenler ve diğer yabancı maddelere yanıtı, hücre yüzeyinde bulunan B hücre reseptörü (BCR) aracılığıyla sağlanır. BCR, hetero-oligomerik yapıda bir kompleks oluşum ile karakterizedir. Ligant bağlanma bölgesi genellikle IgM veya IgD iken, sinyal iletim bölümleri ise CD79a ve CD79b'dir. BCR kompleksi, B hücre farklılaşmasını yönlendiren ve antijen uyarısına yanıt veren ana moleküldür. Bu nedenle CD79 proteinleri neredeyse tüm olgun ya da olgunlaşmamış B hücrelerinde, çoğu B hücre neoplazisinde ve Hodgkin lenfoma gibi tümörlerde ekspresyon göstermektedir (Chu ve Arber, 2001; Zachary ve McGavin, 2012). CD79a ekspresyonu, özellikle akut lenfoblastik lenfoma (Astsaturov ve ark., 1996; Buccheri ve ark., 1993), plazma hücre tümörleri (Mason ve ark., 1995) ve kronik lenfositik lösemi vakalarında (Kurtin ve ark., 1999), CD79b'ye göre daha sık görülmektedir.

2.8. IBA1 (İyonize Kalsiyum Bağlama Adaptör Molekülü)

1996 yılında keşfedilen IBA1, aktin çapraz bağlama aktivitesine sahip, yüksek oranda korunmuş bir sitoplazmik kalsiyum bağlayan proteindir. IBA1, özellikle mikroglia ve diğer monosit türevli hücrelerde, hücre hareket ve fagositoz gibi işlemleri düzenler. Ayrıca yangısal yanıtları kontrol etmede ve bağışıklık tepkilerini modüle etmede rol oynar. Bir immunohistokimyasal belirteç olarak IBA1, normal ya da patolojik koşullarda mikroglia tespiti için kullanılmıştır ve farklı türlerde, mikroglianın tespiti için halen yaygın olarak uygulanmaktadır. Son zamanlarda, IBA1'in, immunohistokimya ile yapılan hayvan çalışmaları sonucunda, monosit/makrofaj hattının neredeyse tüm alt popülasyonlarında yüksek özgüllükle ekspresyon gösterdiği kanıtlanmıştır (Zhang ve ark., 2021).

2.9. EGFR (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), epitel hücrelerinin ve epitel hücre kökenli tümörlerin davranışını yönlendiren sinyal iletimini başlatmada etkili rol oynayan bir proteindir (Salomon ve ark., 1995). EGFR, yapı ve fonksiyon bakımından benzerlikler taşıyan dört transmembran büyüme faktörü reseptör proteininden birisidir. Bu reseptör proteinleri grubu, c-erbB ailesi adı verilen tirozin kinaz reseptörlerini oluşturur. EGFR, aynı zamanda HER1 veya c-erbB-1 olarak da bilinir ve bu grubun tanımlanan ilk üyesidir. EGFR, 170 kDa ağırlığında bir glikoprotein olup, bir ekstraselüler reseptör bölgesi, bir transmembran bölgesi ve tirozin kinaz fonksiyonu bulunan bir intraselüler domen içerir. c-erbB grubunun diğer üyeleri arasında HER2 (c-erbB-2), HER3 (c-erbB-3) ve HER4 (c-erbB-4) yer almaktadır. EGFR, özellikle kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir çünkü bu reseptörün aşırı aktivasyonu veya mutasyonları, hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesine yol açabilir. HER2'nin aşırı ekspresyonu; meme, boyun, akciğer, böbrek, ovaryum ve kolon gibi kanser türlerinde görülmektedir. Yapılan çalışmalar, aşırı ekspresyonun kötü bir prognoz ve daha kısa sağkalım oranlarını göstermektedir (Herbst ve Langer, 2002; Slamon ve ark., 1987). Reseptörün aşırı ekspresyonu, mesane kanseri, pankreas kanseri ve gliomalar gibi daha küçük bir yüzde de görülür (Salomon ve ark., 1995). Bu tür aşırı ekspresyon daha agresif büyüme ve invazivlik özelliklerine sahip hücrelerin oluşmasına neden olmaktadır (Ethier, 2002).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın materyali, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen, gingivostomatitis tanısı konulmuş 25 adet kediye ait biyopsi materyallerinden oluştu. Oral mukozasında histopatolojik olarak lezyon bulunmayan 5 adet kediye ait parafin bloklar ise çalışmanın kontrol grubu olarak seçildi.

Çalışmanın materyalini oluşturan hayvanlara ait ırk, yaş, cinsiyet ve tanı bilgileri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgiler ve tanımlar

Vaka no	Protokol no	Tür	İrk	Cinsiyet	Yaş	Alınan Yer	Tanı
1	371-17	Kedi	İran	Erkek	9 yaş	Diş eti	pyogranulomatöz gingivostomatitis
2	388-17	Kedi	İran	Erkek	10 yaş	Diş eti	pyogranulomatöz gingivostomatitis
3	576-17	Kedi	Tekir	Erkek	2 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
4	720-17	Kedi	Melez	-	-	Diş eti	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
5	883-17	Kedi	Scotthi sh	Dişi	1 yaş	Diş eti	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
6	55-18	Kedi	iran	Dişi	12 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
7	97-18	Kedi	-	Dişi	11 yaş	Diş eti ve diş kökü	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
8	174-18	Kedi	İran	Erkek	7 yaş	Diş eti	Kronik gingivostomatitis
9	238-18	Kedi	Melez	Dişi	2 yaş	Oral kavite	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
10	410-18	Kedi	Melez	Dişi	13 yaş	Diş eti	Kronik lenfositik-plazmaaitik gingivostomatitis
11	421-18	Kedi	İran	Erkek	10 yaş	Oral kavite	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
12	449-18	Kedi	Tekir	Dişi	1 yaş	Molar diş kökü	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
13	533-18	Kedi	İran	Dişi	6 yaş	Dil	pyogranulomatöz gingivostomatitis
14	791-18	Kedi	Tekir	Erkek	2 yaş	Oral kavite	pyogranulomatöz gingivostomatitis

15	886-18	Kedi	Melez	Dişi	3 yaş	Oral kavite, dil ve yanak	pyogranulomatöz gingivostomatitis
16	978-18	Kedi	Sarman	Erkek	4 yaş	Oral kavite	pyogranulomatöz gingivostomatitis
17	1063-18	Kedi	British	-	6 yaş	Diş eti	pyogranulomatöz gingivostomatitis
18	1142-18	Kedi	Melez	Erkek	-	Dil ve diş eti	pyogranulomatöz gingivostomatitis
19	1179-18	Kedi	Ankara	Erkek	3 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
20	1293-18	Kedi	Melez	Erkek	1 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
21	1368-18	Kedi	Tekir	Dişi	4 yaş	Dil altı	Pyogranulomatöz gingivostomatitis
22	1550-19	Kedi	British	Dişi	2 yaş	Oral kavite	pyogranulomatöz gingivostomatitis
23	1567-19	Kedi	Tekir	Erkek	3 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
24	1648-19	Kedi	Melez	Dişi	2 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
25	1649-19	Kedi	Melez	Erkek	5 yaş	Oral kavite	Kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis
K1		Kedi	Sarman	Erkek	4 ay	Oral kavite	-
K2		Kedi	Melez	Erkek	1.5 yaş	Oral kavite	-
K3		Kedi	Tekir	Dişi	2 yaş	Oral kavite	-
K4		Kedi	Melez	Erkek	4 yaş	Oral kavite	-
K5		Kedi	Melez	Dişi	3 yaş	Oral kavite	-

Çalışmada kullanılan gingivostomatitisli kedilerin 13 (%52)'ü erkek, 12 (%48)'si dişiydi. Kedilerin yaşları 1'den 13'e kadar değişmekteydi. Kedilerin 6 tanesi (%24) İran, 5 tanesi (%20) Tekir, 8 tanesi (%32) Melez, 1 tanesi (%4) Scotthish, 1 tanesi Sarman (%4), 1 tanesi Ankara (%4), 2 tanesi Brithish (%8) ve 1 tanesinin (%4) ise ırkı bilinmemekteydi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Histopatolojik Yöntemler

Alınan biyopsi örnekleri %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku takip cihazında işlendi ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica Rotary Microtome RM2155, Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) yardımıyla normal lam üzerine 4-5µ kalınlığında kesitler alındı, rutin Hematoksilen & Eozin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS) (Histomed/Beslab, BS-346, Ankara, Türkiye) ve Toluidin Blue (Merck C.I. 52040, Darmstadt, Almanya) boyama kitleri yardımı ile boyandı. Tüm kesitler ışık mikroskopunda (Carl Zeiss Axioscope 5, 07745 Jena, Almanya) incelendi. Mikrofotografaları kaydedildi ve bulgular semikantitatif olarak değerlendirildi.

3.2.1.1. Hematoksilen & Eozin

Hematoksilen & Eozin yöntemi uygulanırken standart Harris Hematoksilen prosedürü kullanıldı (Presnell ve Schreiber, 1997). Bu amaçla normal lamlara alınan doku kesitleri, 30'ar dakikalık 3 adet ksilol serisiyle deparafinize ve sonrasında 2'ser dakikalık %100, %96, %80, %70'lik 4 adet alkol serisinden geçirilerek rehidre edildi. Suyunu geri kazanan doku kesitleri 5 dakika Harris hematoksilin'de boyanıp amonyaklı sudan geçirildi ve 1,5 dakika eozinle boyandıktan sonra distile suda yıkandı. Sonrasında %70, %80, %96 ve %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen doku kesitleri ksilolde parlatıldı, kurutulduktan sonra entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.2.1.2. Periodic Acid Schiff (PAS)

Parafin bloklardan normal lamlara alınan kesitler alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi. Distile suya getirildikten sonra 5 dakika periyodik asitte bekletildi. Distile suda yıkanan kesitler 15 dakika Schiff solüsyonunda tutuldu. Sonrasında dokular pembeleşinceye kadar yaklaşık 5-10 dakika çeşme suyunda yıkandı. Ardından Mayer's hematoksilinle (Merck, 109249) 20 saniye zıt boyama yapıldı. Sonrasında

%70, %80, %96 ve %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen doku kesitleri ksilolde parlatıldı, kurutulduktan sonra entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.2.1.3. Toluidin Blue

Mast hücrelerinde bulunan metakromatik granüllerin varlığı, Toluidin Blue kullanılarak değerlendirildi. Parafin bloklardan normal rodajlı lamlara alınan doku kesitleri, 30'ar dakikalık 3 adet ksilol serisiyle deparafinize ve sonrasında %100, %96, %80 ve %70'lik 4 alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi ve ardından distile suya alındı. Kesitler %0.5-1'lik Toluidin Blue çözeltisine daldırıldı ve 25-30 saniye kadar boya ile inkube edildi. Daha sonra dokular, fazla boyası gidene kadar çeşme suyunda yıkandı. Alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen kesitler ksilolle muamele edilip entellanla kapatıldı. Daha sonra lezyonların 4 dereceye kadar gradelendirmesi yapıldı. Buna göre 20'lik büyütme alanında 3 alan sayılarak, birden az mast hücresi grade 0; 1 ila 3 adet mast hücresi grade 1; 4 ila 8 adet mast hücresi grade 2; 8'den fazla mast hücresi ile grade 3 olarak değerlendirildi (Tablo 3.2.) (Rolim ve ark., 2017).

Tablo 3.2. Toluidin Blue skortlama kriterleri

Grade	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Mast hücre sayısı (10 HPF)	<1	1-3	4-8	>8

3.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal inceleme için, çalışma ve kontrol grubuna ait parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2155) yardımı ile 5 µm kalınlığındaki kesitler (3-aminopropyl) triethoxysilane ile adeziv özellik kazandırılmış lizinli lamalar üzerine alındı. Sonrasında etüvde 70°C'de, yarım saat bekletilmeyi takiben ksilollerde (Xylene-Merck Millipore:108661) deparafinize, dereceli alkol serilerinde (%100, %96, %80, %70'lik 4 adet alkol serisi) de rehidre edildi ve antigen retrieval işlemine

geçildi. Antigen retrieval için sitrat buffer (ph:6) solüsyonuna alınan lamalar otoklavda 120°C’de 15 dakika bekletildi. Bu işlemten sonra kesitler 20-30 dakika soğumaya bırakıldı. PBS (Phosphate buffered saline Sigma: P4417) solüsyonunda tek bir seri şeklinde 5 dakika yıkandı. Kullanılan primer antikor hostuna (mouse) uygun anti-mouse sekonder kit seçilerek (Vectorlabs MP-7602, Newark California, USA) kit protokolüne uygun immunohistokimyasal boyama gerçekleştirildi. Soğuyan kesitlere, endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için bloxall solüsyonu damlatılarak 15 dakika beklendi. İnkubasyon bitince kesitler tekrar PBS solüsyonuyla 5 dakika yıkamaya alınıp devamında nonspesifik bağlanmaları engellemek amacıyla %2,5’lik normal at serumu 20 dakika boyunca uygulandı. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmaksızın, antikor sulandırıcı (Large Volume UltrAb Diluent Plus Thermo Scientific: TA-125-UDX) ile, 1:50 oranında sulandırılan Santa Cruz Biotechnology (USA) firmasına ait primer antikorlar anti-CD3 (sc-101442), anti-FKBP12 (sc-133067), anti-CD79A (sc-20064), anti-mTOR (sc-517464), anti-EGFR (sc-373746) ve anti-Iba1 (sc-32725) primer antikor damlatılan dokular +4°C’de bir gece inkube edildi. Primer antikor inkubasyonundan sonra PBS ile tek seri, 5 dakika yıkanan kesitler üzerine amplifier antibody 15 dakika, ardından da Impress Polymer Reagent 30 dakika boyunca uygulandı. Ardından immun reaksiyonun gösterilmesi için DAB (3,3’-diaminobenzidin) kullanıldı. DAB solüsyonunu kesitlere dökmeyi takiben ışık mikroskobu altında kontrollü olarak ve tüm kesitlere eşit süre tutulacak şekilde beklendi. Mayer’s hematoksilinle (Merck, cat no: 109249) 20 saniye zıt boyama yapılan kesitler, çeşme suyunda yıkandıktan sonra alkol serilerinden geçirilerek kurutmaya bırakıldı. Kuruyan lamalar entellan ile kapatılıp mikroskop altında incelendi.

Üç adet Wistar albino ırkı, 8-9 haftalık dişi rata ait beyin, dalak ve ovaryum dokuları pozitif kontrol amacıyla kullanıldı. Negatif kontrol içinse primer antikor aşamasında antikor uygulaması yapılmadan prosedüre devam edildi.

İmmünohistokimyasal ekspresyonların değerlendirilmesinde, yarı kantitatif verilerin toplanması amacıyla epitel ve lamina propria olarak incelenen her bir dokunun ışık mikroskobu altında (Carl Zeiss Axioscope 5, 07745 Jena, Almanya) x20’lik büyütmede 3 farklı alanın mikrofotografı alındı. Görüntülerin analizi için QuPath görüntü analiz yazılımı (QuPath v0.6.0, University of Edinburgh, Edinburgh,

UK) kullanıldı. QuPath programı ile boyanmış alanların pozitiflik derecesi değerlendirildi. Pozitif hücrelerin yüzdesi ve histo (H) skor gibi yarı kantitatif veriler elde edildi. Elde edilen H-skorları arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla parametrik olmayan Spearman sıra korelasyon katsayısı kullanıldı. $P < 0.05$ olan değerler istatistik olarak önemli kabul edildi.

3.2.3. Semikantitatif Analiz Yöntemi

Çalışma ve kontrol gruplarının doku örnekleri histopatolojik olarak çok katlı yassı epiteldeki nekroz (N) ve akantozis (A), granulom (G), nötrofil infiltrasyonu (Nİ), lenfositik/plazmositik hücre (L/Pİ), Mott hücresi (MH), makrofaj (M), fibroblast (F) infiltrasyonu ve vaskulitis (V) yönünden ışık mikroskopunda incelenerek değerlendirme yapıldı.

Her bir kesit semikantitatif olarak ışık mikroskopunda değerlendirilip derecelendirildi. Derecelendirme sistemi, “0” lezyon yok, “1” hafif, “2” orta, “3” şiddetli olarak puanlama yapılarak ortalama bulgular kaydedildi. Histopatolojik değerlendirme kriterleri aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 3.3.) (Biner, 2023).

Tablo 3.3. Histopatolojik değerlendirme kriterleri

KRİTER	N	A	G	Nİ	L/Pİ	MH	M	F	V
0	Nekroz yok	Akantozis yok	yok	0 Nİ yok	0/0 L/Pİ yok	0 MH yok	0 M yok	Aktif fibroblast proliferasyonu yok	Vaskulitis yok
1	Var	İnce akantotik epitel (hafif)	İnce granülasyon dokusu (hafif)	0-5 Nİ	0-5 L/Pİ	0-5 MH	0-5 M	Nadiren (<%30)	Nadiren (<%30)
2	-	Akantotik epitel	Granülasyon dokusu	5-10 Nİ	5-10 L/Pİ	5-10 MH	5-10 MH	Orta düzey (%30-%60)	Orta düzey (%30-%60)
3	-	Kalın akantotik epitel	Kalın/çok kalın granülasyon dokusu (şiddetli)	>10 Nİ	>10 L/Pİ	>10 MH	>10 MH	Şiddetli (>%60)	Şiddetli (>%60)

N:nekroz, A:akantozis, G:granulom, Nİ:nötrofil infiltrasyonu, L/Pİ:lenfositik/plazmasitik infiltrasyon, MH:mott hücresi, M:makrofaj, F:fibroblast, V:vaskulitis

3.2.4. İstatiksel Analiz Yöntemi

Histopatolojik veriler Jamovi yazılımı (Jamovi v2.6.24, The Jamovi Project, Sydney, Australia) kullanılarak korelasyon matrisi analizi ve Independent samples T testi ile değerlendirildi.

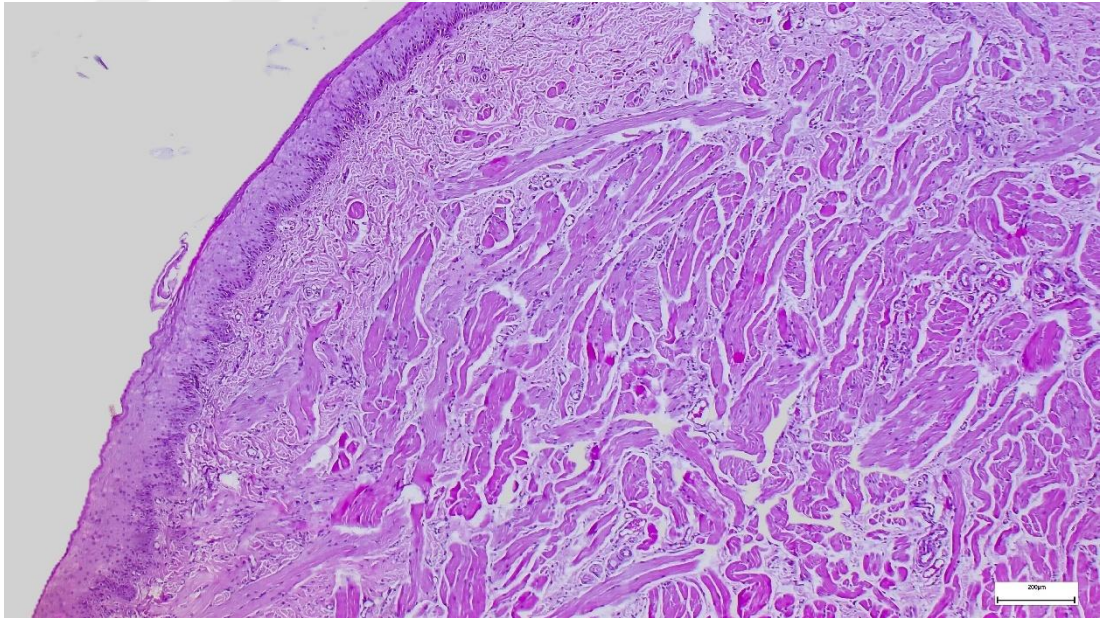
4. BULGULAR

4.1. Mikroskopik Bulgular

4.1.1. Hematoksilen & Eozin Boyama Bulguları

Çalışmadaki olguların histopatolojik değerlendirme kriterleri Tablo 3.2’de sunulmuştur. Bu kriterlere göre dokulardaki histopatolojik lezyonlar şiddetine göre 4 dereceye ayrıldı. Tüm çalışma ve kontrol grupları derecelendirilerek sonucunda total lezyon skorlarına ulaşıldı.

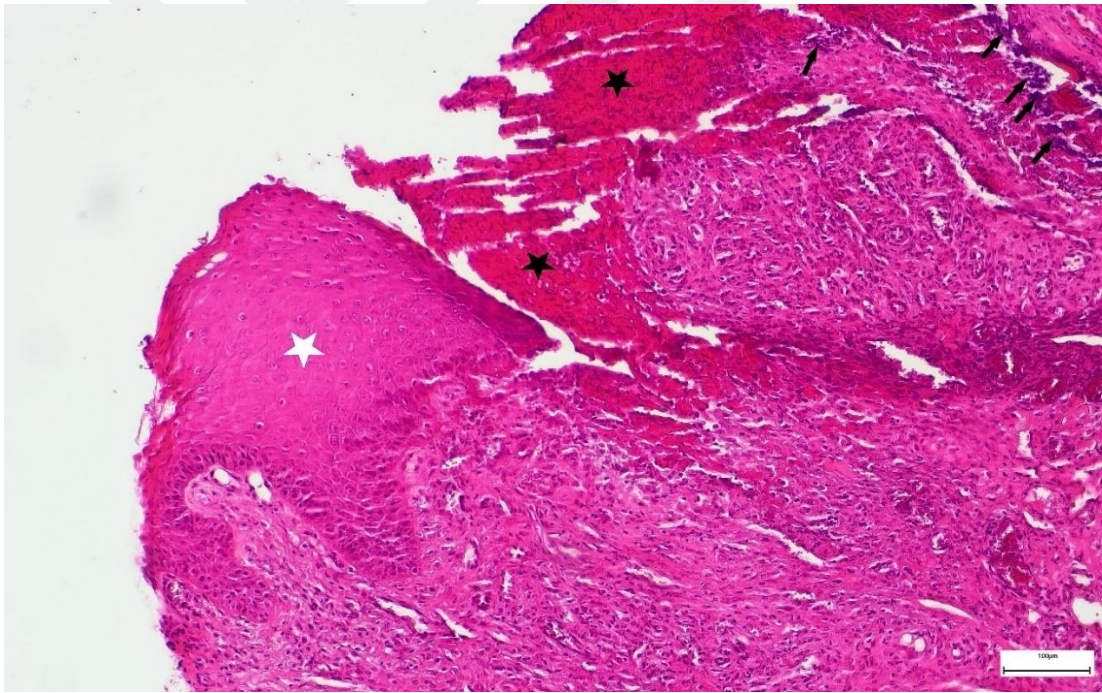
Hematoksilen & Eozin kesitlerin histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubundaki tüm kedilerin oral mukozası genellikle normal doku histolojisi görünümündeydi. Yalnızca bazı alanlarda tek tük lenfositler, hafif derecede akantozis ve çok ince bir parakeratotik hiperkeratoz mevcuttu. Bu bulgular normal olarak değerlendirildi (Şekil 4.1).



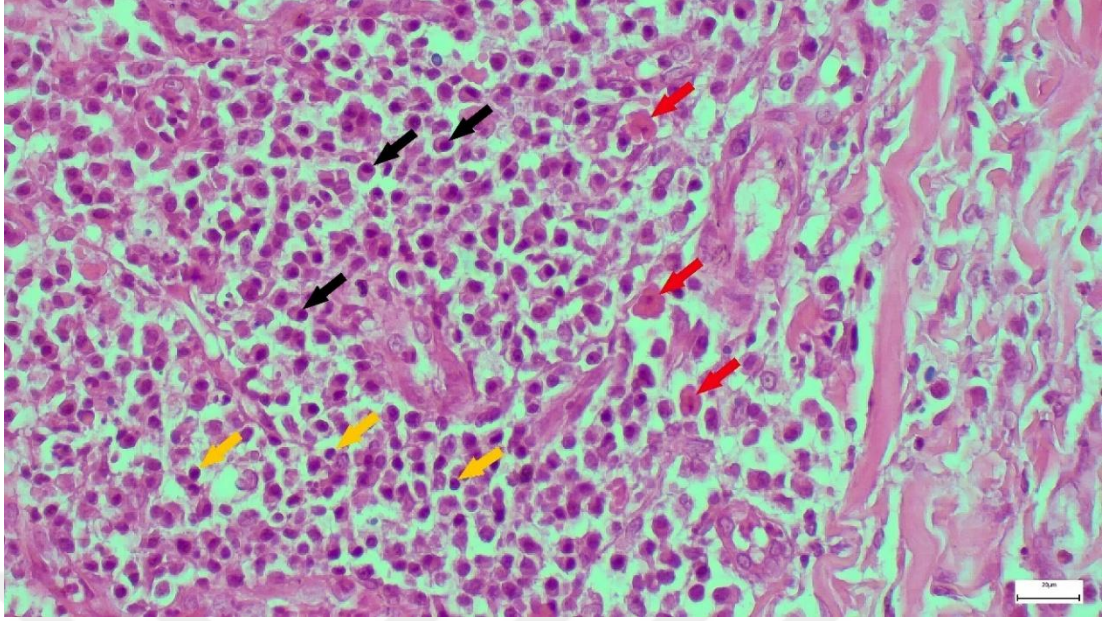
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, tüm katmanlar normal görünümde, H&E, X4, Barr: 200µm.

Çalışmada kullanılan dokuların 9 (%36)’una kedi kronik lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis geri kalan 16 (%64)’sına ise pyogranulomatöz gingivostomatitis

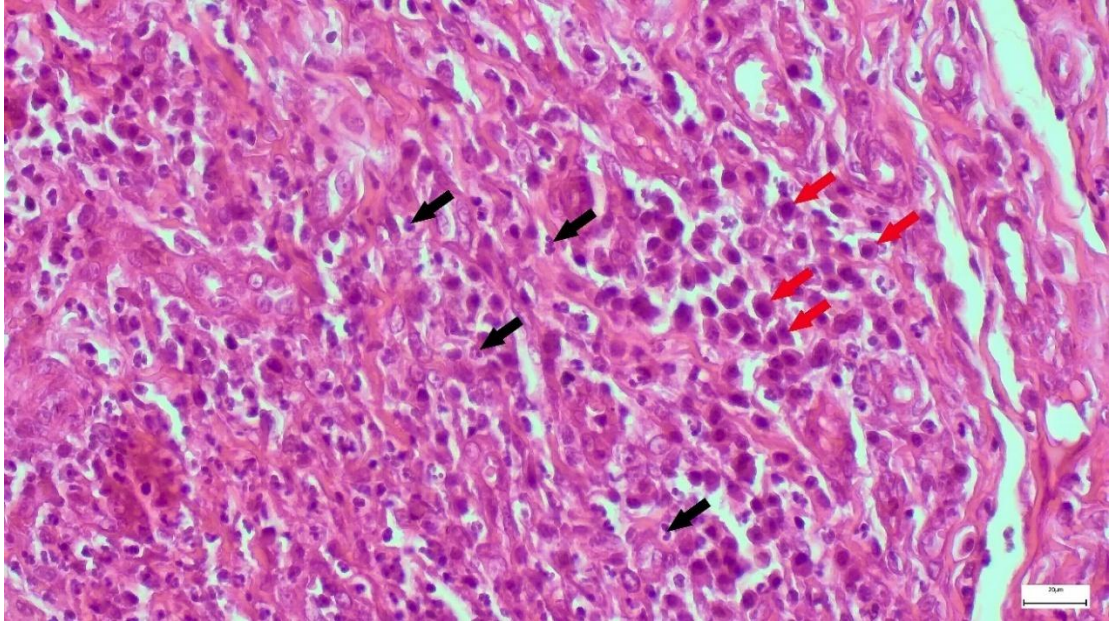
tanısı konuldu. Dokuların bazılarında ülser, nekroz ve bakteri ile birlikte değişken şiddette akantotik epitel tabakası gözlemlendi (Şekil 4.2.). Bazı epitellerde ise bunlara ek olarak hiperplazi ve displazi mevcuttu. Lenfositik-plazmasitik gingivostomatitis olgularında, lamina propria ve submukozada çoğunlukla lenfosit, plazma hücresi, dağınık alanlarda nötrofil ve değişken sayılarda mott hücrelerine rastlanırken (Şekil 4.3.), pyogranulomatöz gingivostomatitis olgularında bu alanlarda çoğunlukla nötrofil lökositler ve mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı (Şekil 4.4.). Olguların çoğunda mitoz içermeyen, displazik şekilli bağ doku proliferasyonu ve yeni damar oluşumları içeren granülomatöz reaksiyonlar mevcuttu (Şekil 4.5.). Ayrıca bazı olgularda (Olgu no: 6,7,19,21 ve 23) vaskulitis gözlemlendi (Şekil 4.6.). Bir olguda gingivitise ek olarak sialoadenitis (Olgu no: 19) bir olguda ise kistik hiperplazik sialoadenitis (Olgu no: 25) mevcuttu (Şekil 4.7.).



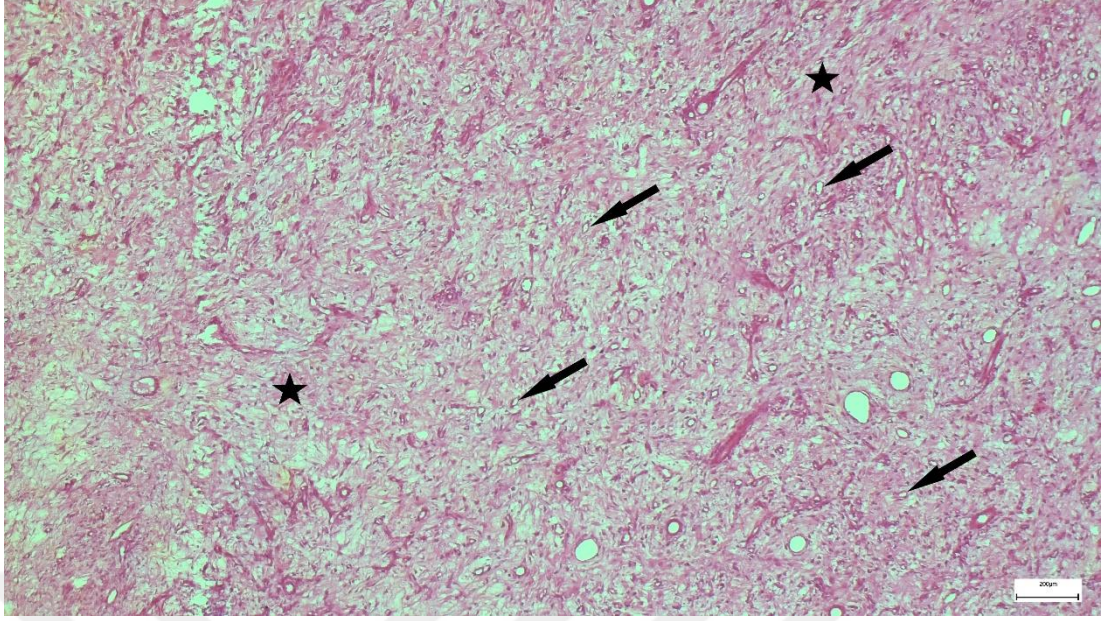
Şekil 4.2. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, epitelde görülen akantozis (beyaz yıldız), nekrotik alanlar (siyah yıldızlar) ve bakteri kümeleri (siyah oklar), (Olgu no: 8), H&E, X10, Barr: 100µm.



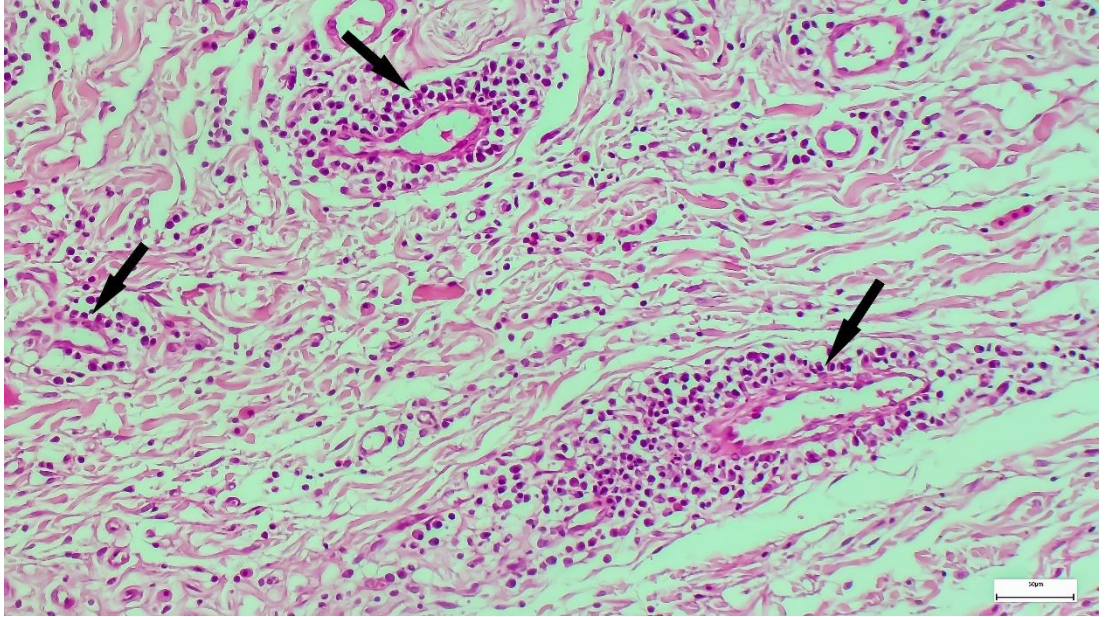
Şekil 4.3. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozasında görülen yangısal hücre infiltrasyonları: lenfosit (sarı oklar), plazma hücresi (siyah oklar), mott hücresi (kırmızı oklar), (Olgu no: 3), H&E, X40, Barr: 20µm.



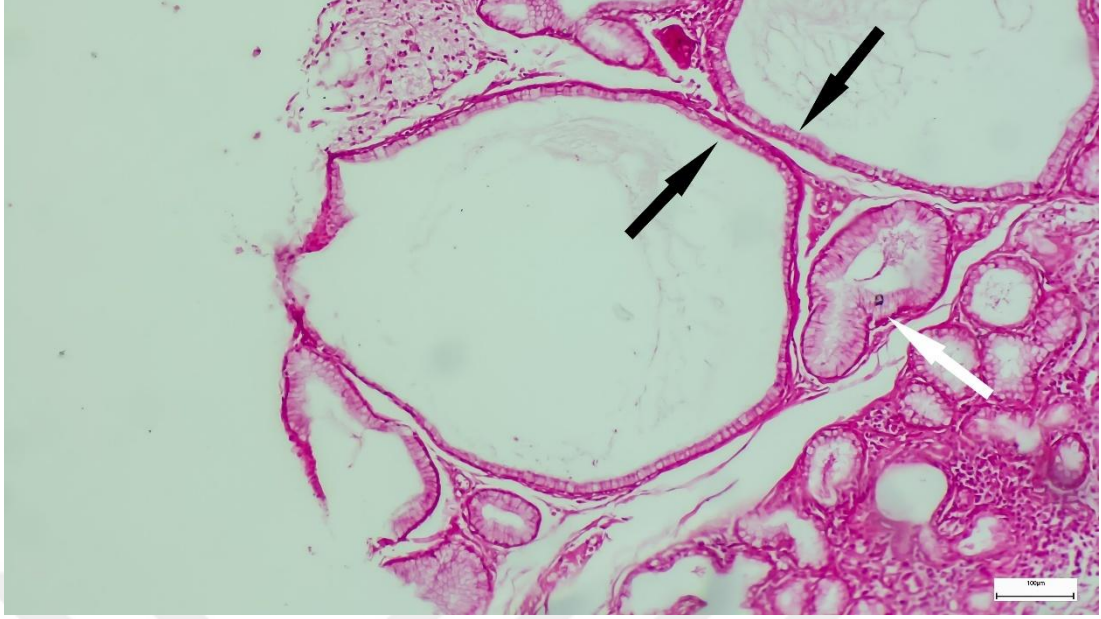
Şekil 4.4. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozasında görülen yangısal hücre infiltrasyonları: nötrofil lökositler (siyah oklar) ve mononükleer hücre infiltrasyonları (kırmızı oklar), (Olgu no:1), H&E, X40, Barr: 20µm.



Şekil 4.5. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada yer alan displazik şekilli bağ doku proliferasyonu (yıldızlar) ve yeni damar oluşumları (oklar), (Olgu no: 2), H&E, X4, Barr: 200µm.



Şekil 4.6. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, damar çevresinde yangısal hücre infiltrasyonları, vaskulitis (siyah oklar), (Olgu no: 6), H&E, X20, Barr: 50µm.

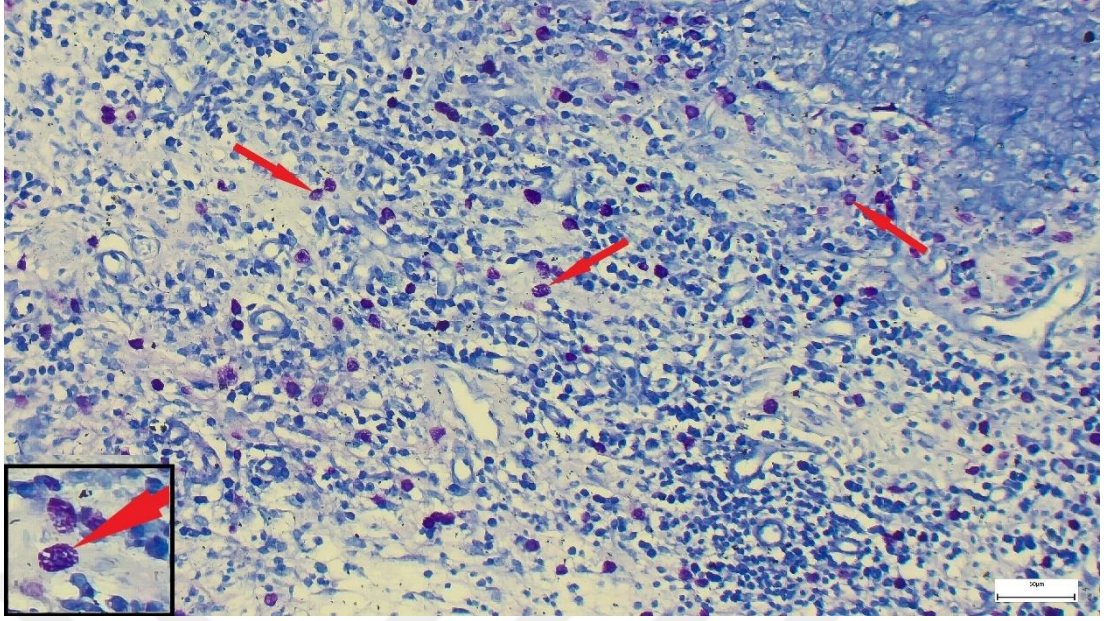


Şekil 4.7. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada bulunan kistik (siyah oklar) ve hiperplazik (beyaz ok) tükürük bezleri, (Olgu no: 25), H&E, X10, Barr: 100µm.

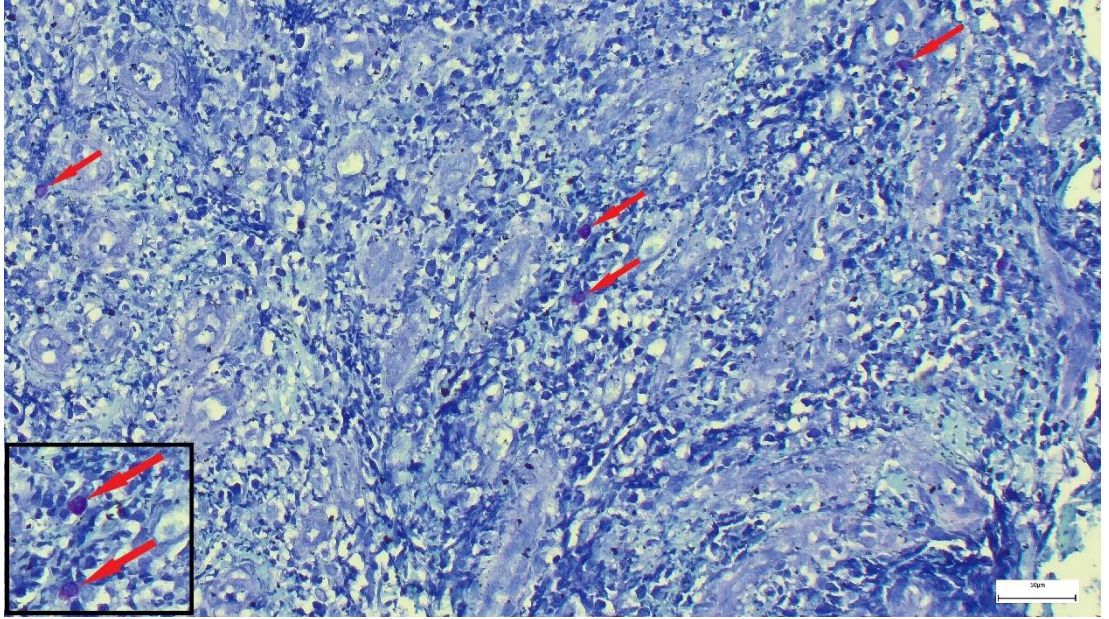
4.1.2. Toluidin Blue Boyama Bulguları

Toluidin Blue kesitlerinin değerlendirmesinde, kontrol grubundaki kedilerin intraepitelyal alanlarında mast hücreleri görülmezken, lamina propria ve submukozalarındaki damar çevrelerinde tek tük mast hücre varlığı dikkati çekti.

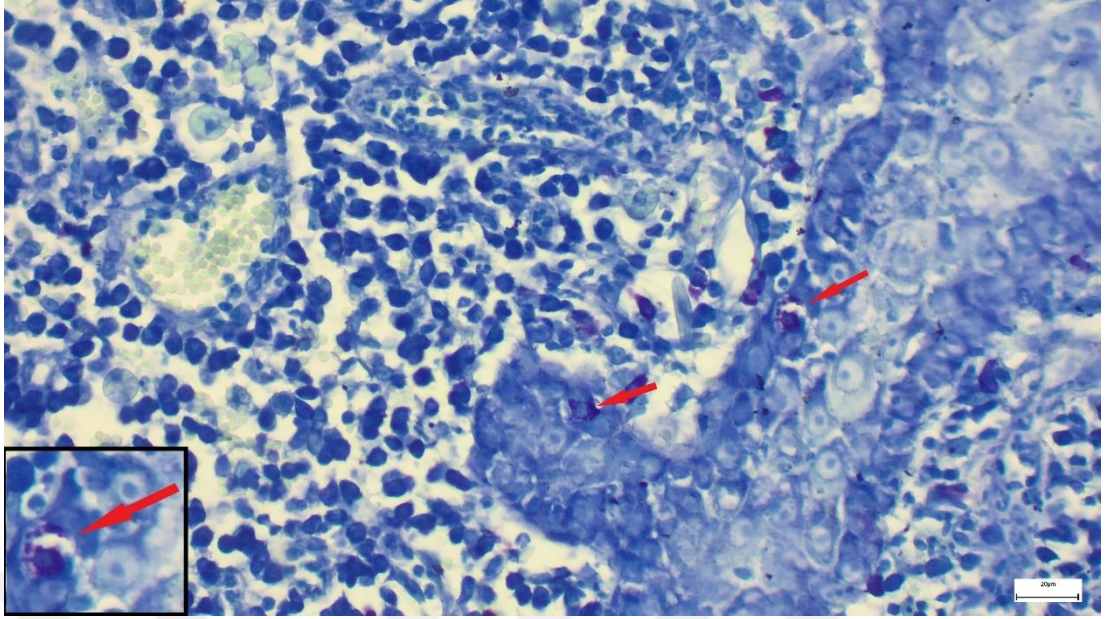
Çalışma grubunun Toluidin Blue kesitleri incelendiğinde ise, grade 0 olarak derecelendirilen 4 olgu (olgu no:1,2,11 ve 12) haricinde, mast hücrelerinin çoğunlukla lamina propria ve submukozal alanda mevcut olduğu görüldü. 2 olguda ise (olgu no:16 ve 20) ek olarak intraepitelyal alanda da mast hücrelerinin varlığına rastlandı. Olguların %68'i (17/25), belirgin mast hücre infiltrasyonu (grade 3), %8'i (2/25) orta şiddette (grade 2) ve yine %8'i (2/25) hafif (grade 1) derecede infiltrasyon olarak değerlendirildi. Mast hücre infiltrasyonu görülmeyen (grade 0) olgular ise örneklerin %16'sını (4/25) oluşturmaktaydı (Şekil 4.8-4.10).



Şekil 4.8. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim) (Grade 3), (Olgu no:20), Toluidin Blue, X20, Barr: 50µm.



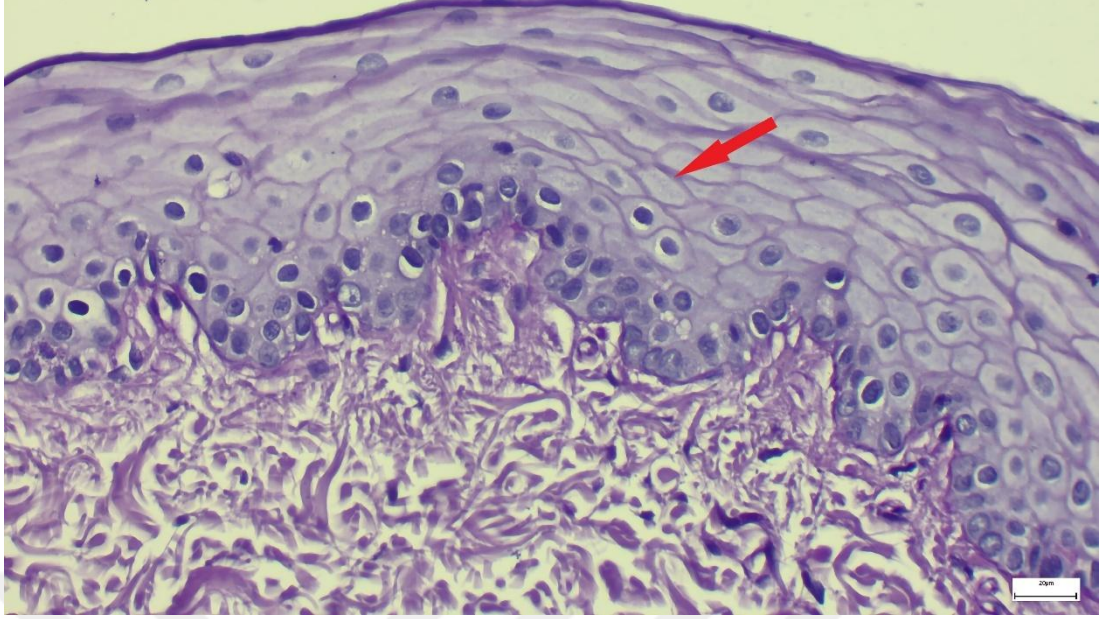
Şekil 4.9. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada dağınık yerleşimli mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:22), (Grade 2), Toluidin Blue, X20, Barr: 50µm.



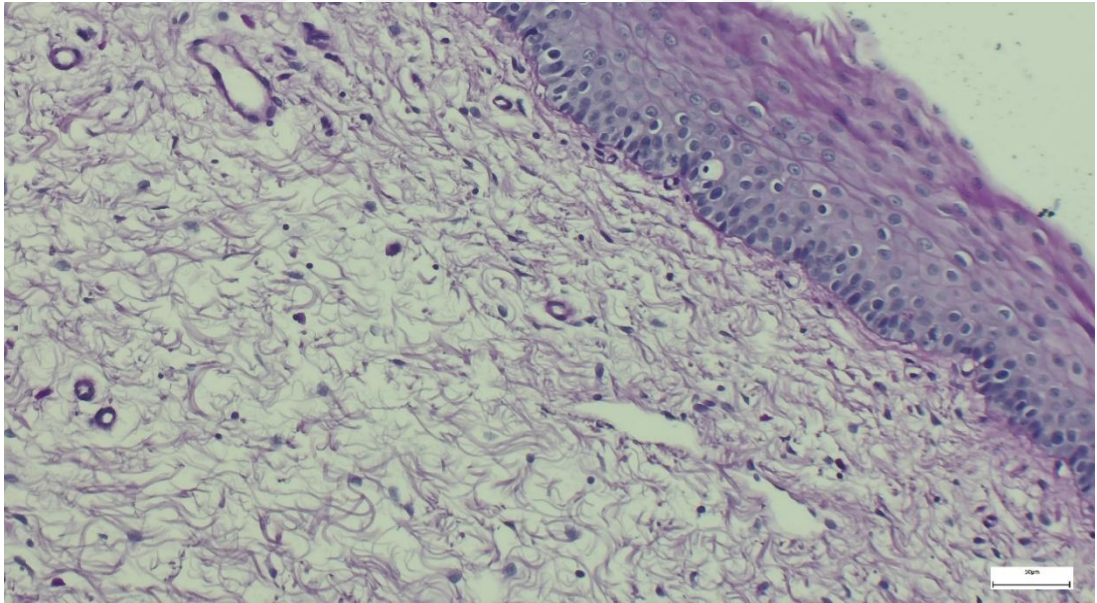
Şekil 4.10. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, intraepitelyal alandaki mast hücreleri (oklar), mast hücrelerinin belirgin metakromatik granülleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:16), Toludin Blue, X40, Barr: 20µm.

4.1.3. PAS (*Periodic Acid-Schiff*) Boyama Bulguları

Çalışma dokularına hem olası bir mantar etkenini saptamak amacıyla hem de glikojen birikimlerini gözlemlemek amacıyla PAS boyaması yapıldı. Kontrol grubundaki bazı dokularda epiteldeki stratum spinozum hücreleri arasında hafif şiddette glikojen birikimlerine rastlandı. Buna ek olarak lamina propria katmanında ise herhangi bir PAS pozitifliği görülmedi (Şekil 4.11- 4.12).



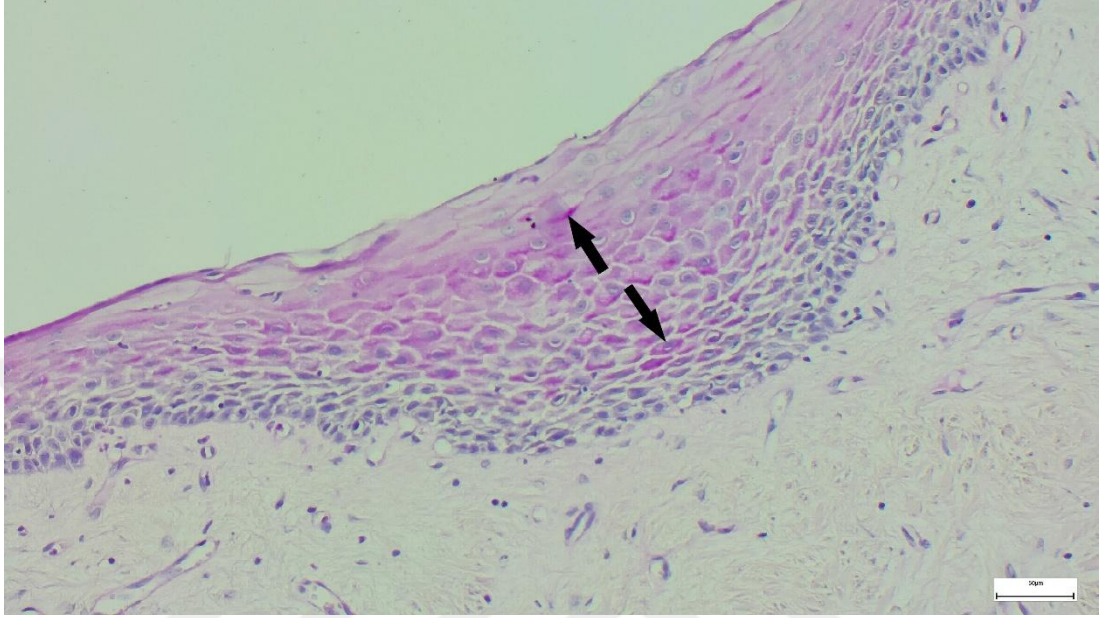
Şekil 4.11. Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, epitel katmanındaki stratum spinozum hücreleri arasında hafif glikojen birikimleri (ok), PAS, X20, Barr: 50µm.



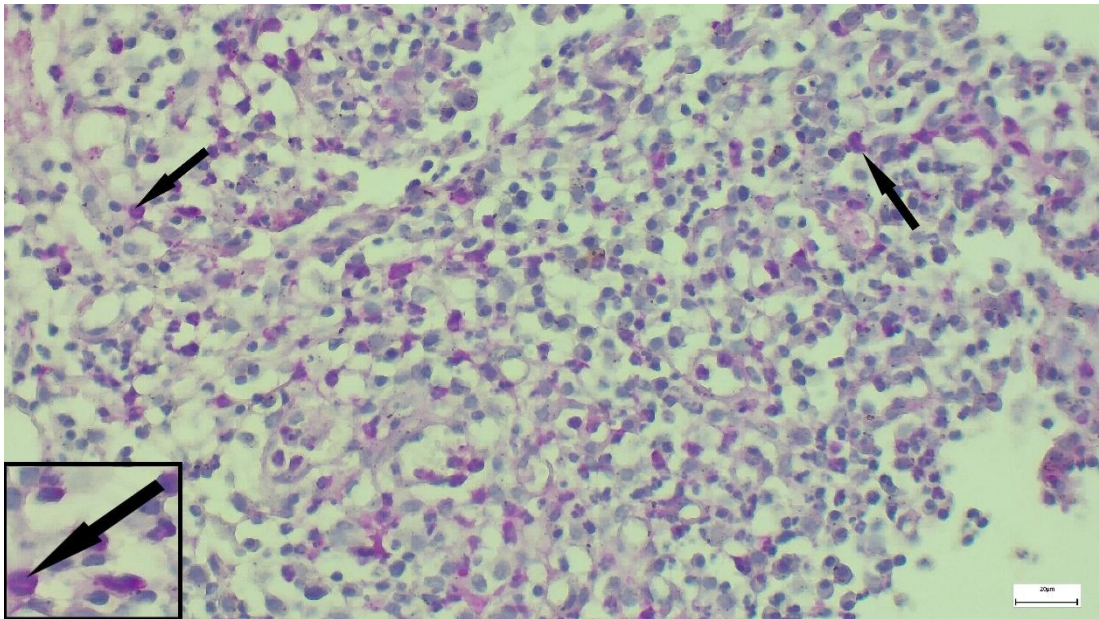
Şekil 4.12. Kontrol grubuna ait kedi oral mukoza, lamina propriada PAS pozitifliği görülmemekte, PAS, X20, Barr: 50µm.

Çalışma grubunun incelenen PAS kesitlerinde ise, akantotik epitel katmanı içerisinde kontrol grubuna kıyasla daha yoğun PAS pozitifliği gösteren stratum spinozum hücreleri mevcuttu. Lamina propria ve submuzokada yer yer gevşek olmak üzere bağ doku proliferasyonları çevresinde meydana gelen yangısal hücre

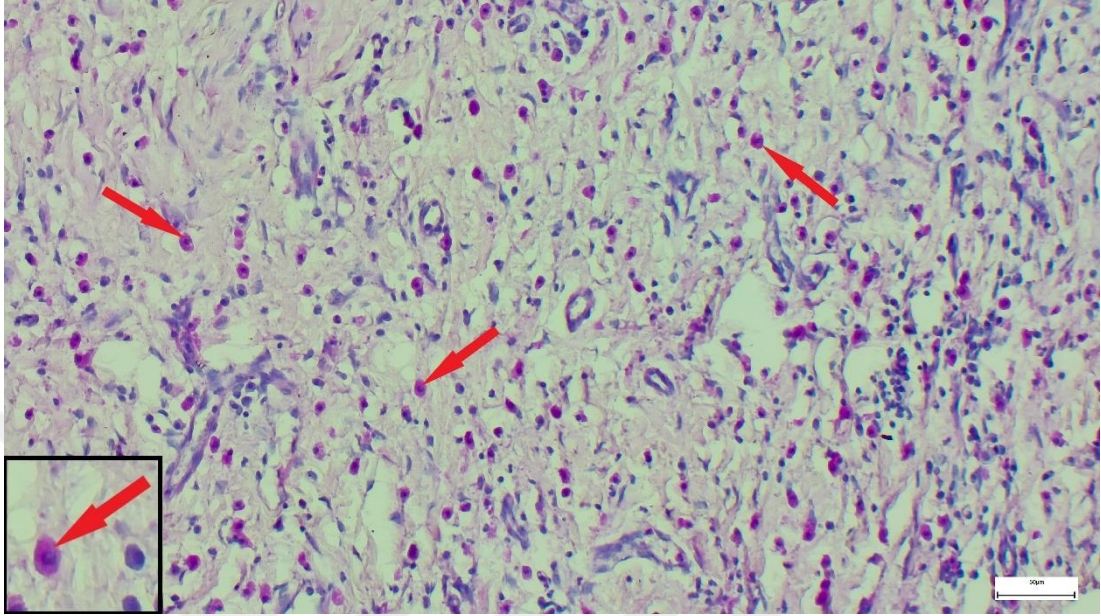
infiltrasyonlarında PAS pozitif makrofaj ve nötrofil lökositler gözlemlendi. Ayrıca gingivitise ek olarak sialoadenitis tanısı almış olgularda tükürük bezi çevresindeki yangısal infiltrasyonda da PAS pozitif hücelere rastlandı (Şekil 4.13- 4.16).



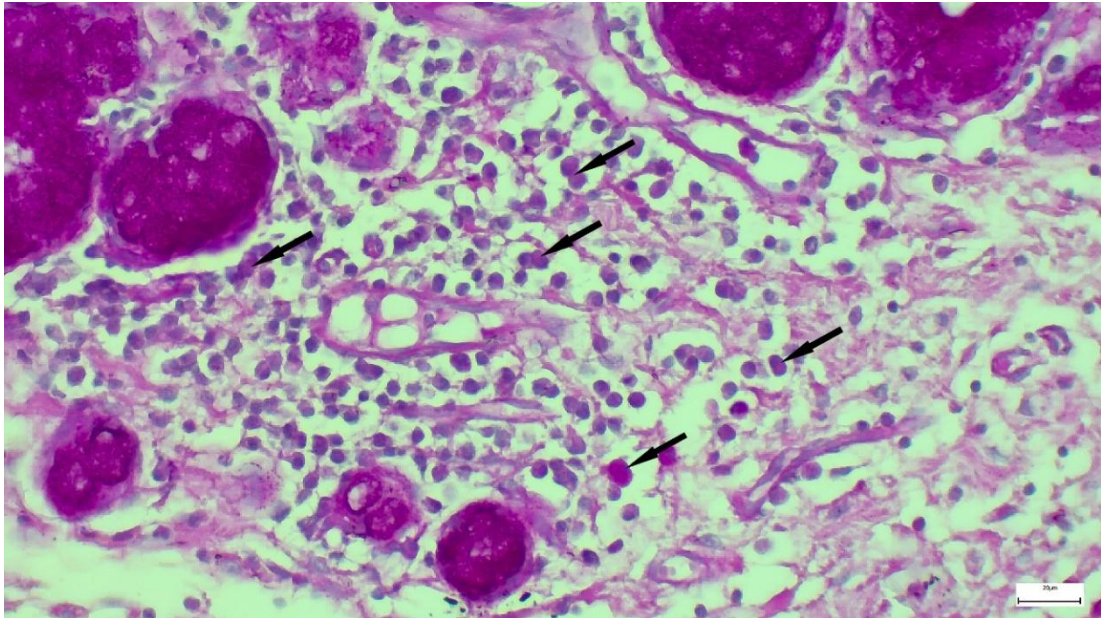
Şekil 4.13. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, akantotik epitel katmanı içerisindeki, kontrol grubuna kıyasla daha yoğun gözüken glikojen birikimleri (oklar), (Olgu no:7), PAS, X20, Barr: 50µm.



Şekil 4.14. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, PAS pozitif reaksiyon gösteren nötrofil lökositler (siyah oklar), nötrofil lökosit (küçültülmüş resim), (Olgu no:15), PAS, X40, Barr: 20µm.



Şekil 4.15. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, PAS pozitif reaksiyon gösteren makrofajlar (oklar), yakınlaştırmış PAS pozitif makrofaj (küçültülmüş resim), (Olgu no:9), PAS, X20, Barr: 50µm.



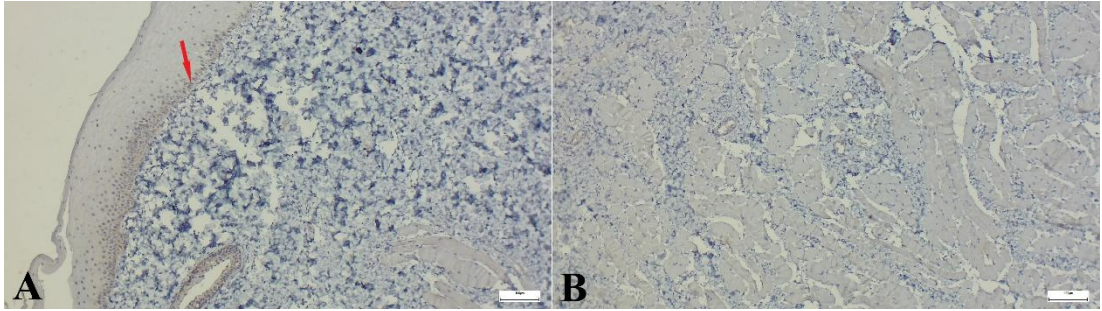
Şekil 4.16. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, tükürük bezleri çevresinde PAS pozitif reaksiyon gösteren yagısal hücreler (oklar), (Olgu no:19), PAS, X40, Barr: 20µm.

4.1.4. İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

İmmünohistokimyasal metotla yapılan boyamalarda, dokulardaki CD3, CD79a, IBA1, EGFR, mTOR ve FKBP-12 markerlerinin oral mukozadaki salınımları incelendi. Hem kontrol grubu hem de çalışma grubundaki dokular epitel ve lamina propria olmak üzere 2 kısımda incelenerek immunopozitif hücrelerin H-skor değerleri kaydedildi.

4.1.4.1. CD79a Ekspresyonu

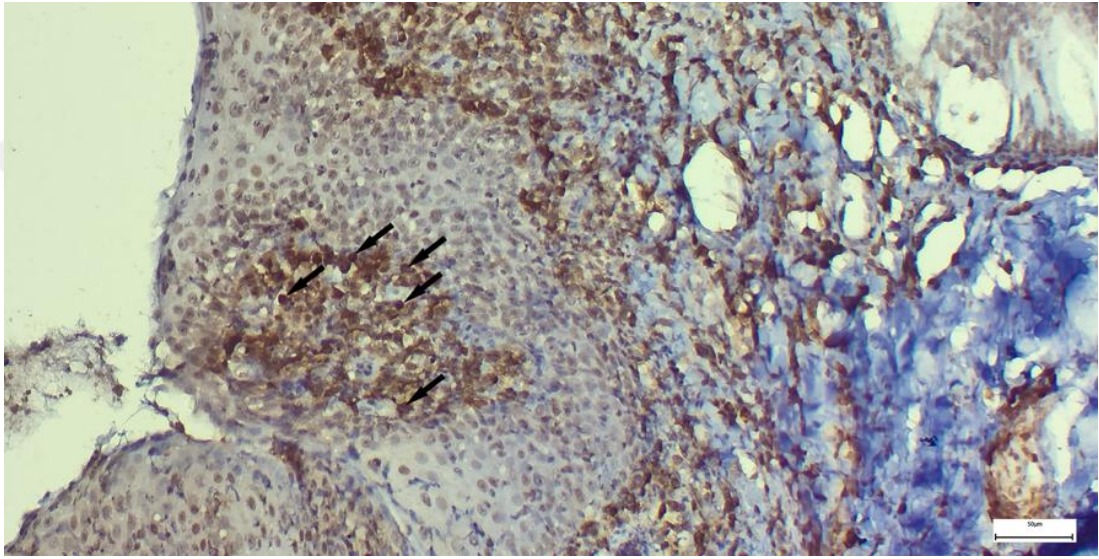
Oral mukozadaki anti CD79a ekspresyonları incelendiğinde, kontrol grubuna ait kedi oral mukoza epitelinin bazal membran hizasındaki birkaç hücrede immunopozitiflik görülürken lamina propria ve submukozada anti CD79a'ya karşı herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 4.17).



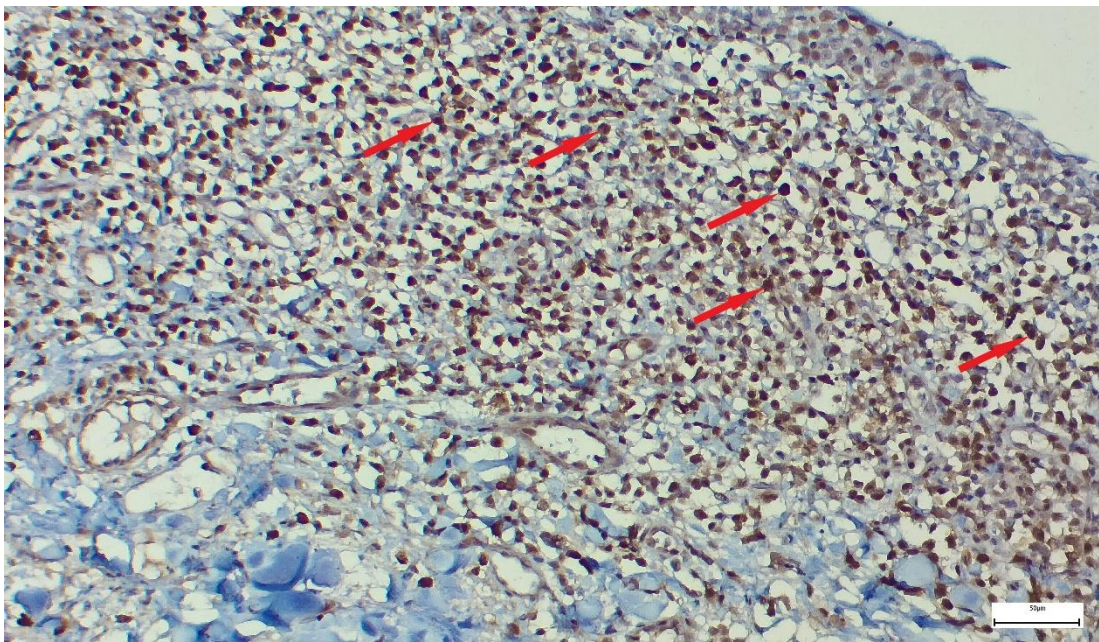
Şekil 4.17. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, **A:** bazal membran hizasında anti CD79a'ya karşı immunopozitiflik gösteren lenfositler (ok), **B:** submukozada anti CD79a'ya karşı bir immunoreaktivite görülmemekte, DAB, X10, Barr: 100µm.

Çalışma grubunu oluşturan FCGS'li kedilerin oral mukozasındaki anti CD79a ekspresyonları incelendiğinde ise, bir olguda (Olgu no: 3), hiperplazik ve akantotik epitel tabakası içerisinde lokalize olmuş lenfosit infiltrasyonuna rastlandı. Bu bölgedeki yangısal hücrelerde anti CD79a'ya karşı güçlü immunopozitiflik saptandı (Şekil 4.18.). Buna ek olarak olguların çoğunda lamina propria katmanında şiddeti ve yoğunluğu değişmekle birlikte, anti CD79a ekspresyonu gösteren lenfosit ve plazma hücreleri görüldü. Ayrıca bazı olgulardaki (Olgu no: 4,6,10,19 ve 20), mott hücrelerinde de immunopozitifliğe rastlandı (Şekil 4.19-4.20.). Bazı alanlarda meydana gelen granülasyon dokusuna eşlik eden bağ doku proliferasyonu ile birlikte

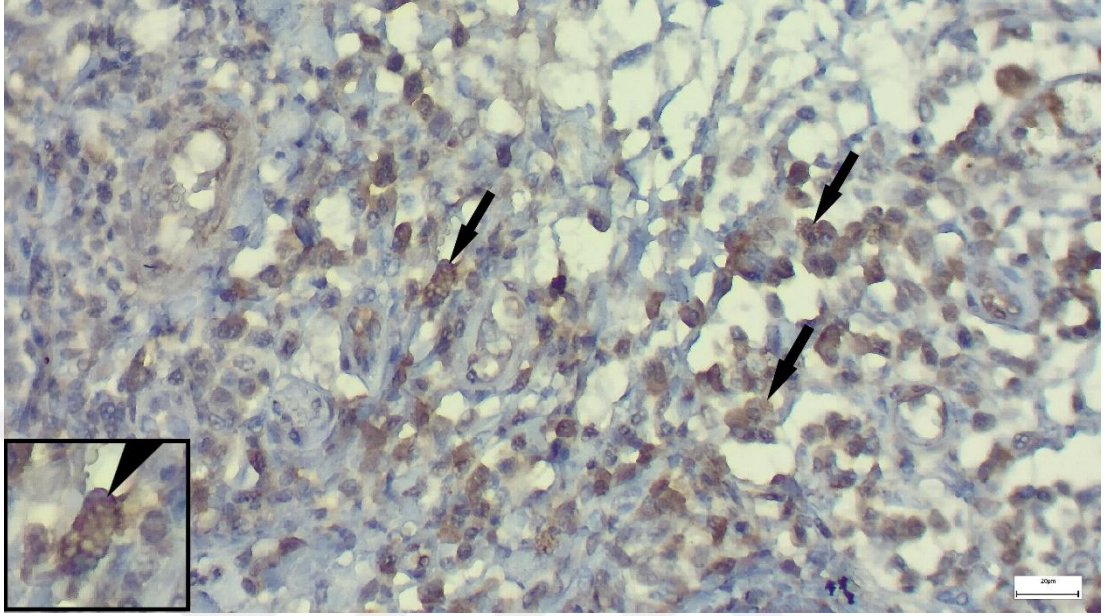
yeni oluşan damarların çevresindeki yangısal hücrelerde de pozitiflik gözlendi (şekil 4.21.). Olguların dördünde ise yangısal infiltrasyondaki anti CD79a pozitifliği, tüm katmanlarda yoğun ve şiddetli şekildeydi. Gingivostomatitise eşlik eden sialoadenitis tanılı olgularda, tükürük bezi çevresindeki lenfosit ve plazma hücrelerinde de şiddetli immunopozitiflik mevcuttu (şekil 4.22.). Bununla birlikte, pyogranulomatöz tanılı olguların çoğunun yangısal hücre infiltrasyonlarında anti CD79a ekspresyonu daha az yoğunluktaıdı.



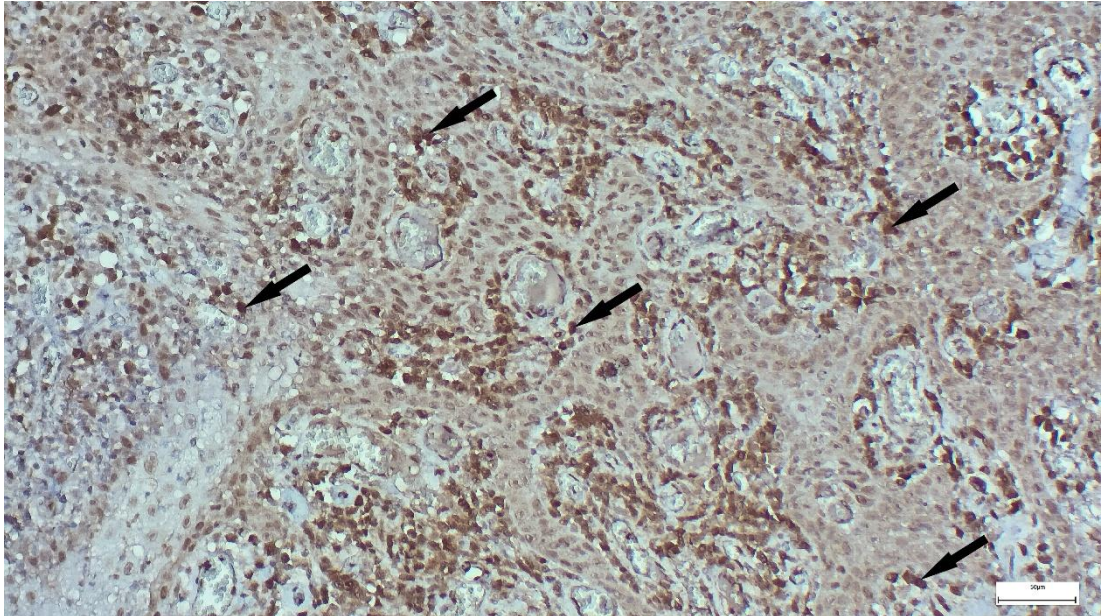
şekil 4.18. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, intraepitelyal alanda anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:3), DAB, X20, Barr: 50μm.



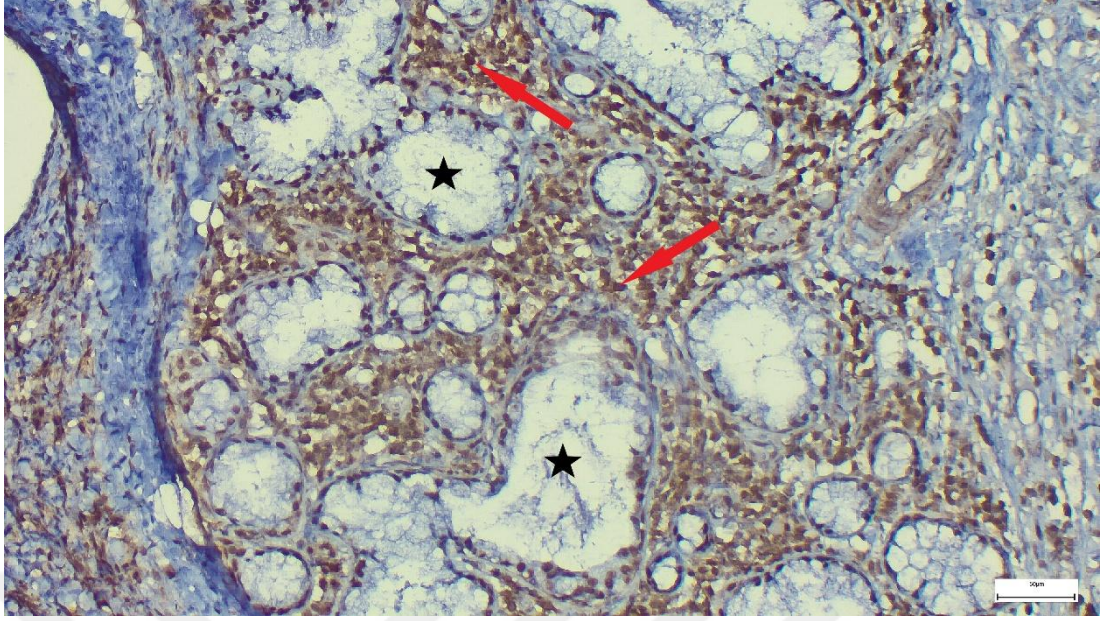
Şekil 4.19. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propria katmanına infiltrate olan yangısal hücrelerde şiddetli anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:6), DAB, X20, Barr: 50µm.



Şekil 4.20. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, yangısal hücre infiltrasyonu içerisindeki Mott hücrelerinde anti CD79a pozitifliği (oklar), Russel cisimcikleri içeren Mott hücrelerinin yakından görünümü (küçültülmüş resim), (Olgu no:19), DAB, X20, Barr: 50µm.



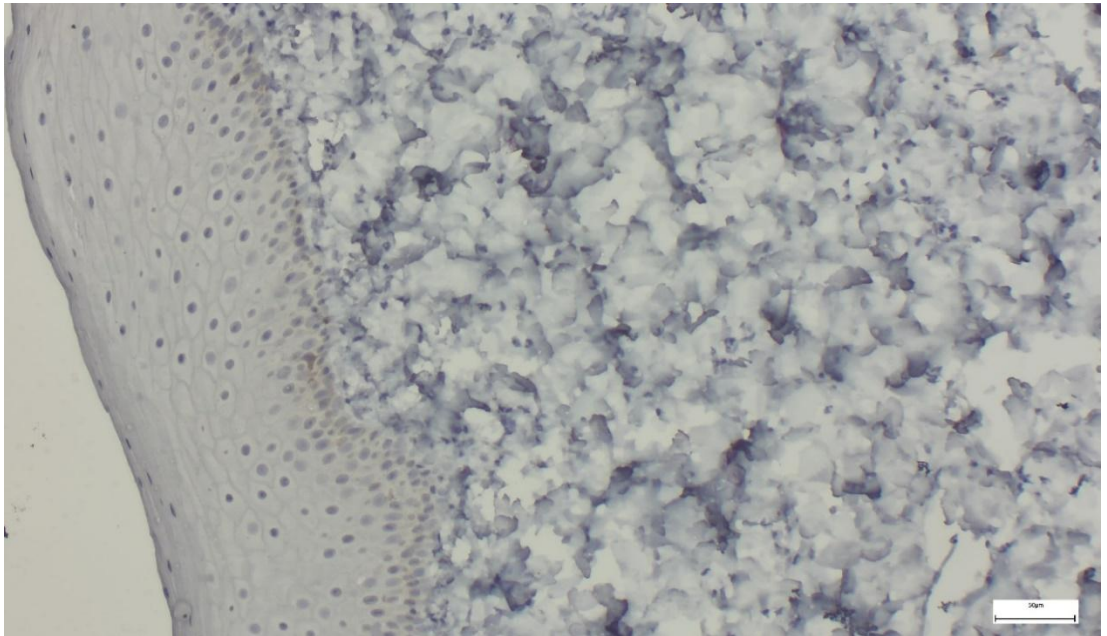
Şekil 4.21. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alandaki damar çevrelerinde lokalize olan anti CD79a'ya karşı immunopozitiflik gösteren B lenfositler (oklar), (Olgu no:16), DAB, X20, Barr: 50µm.



Şekil 4.22. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alanda yer alan tükürük bezleri (yıldızlar) çevresindeki yangısal hücrelerde şiddetli anti CD79a immunopozitifliği gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:23), DAB, X20, Barr: 50µm.

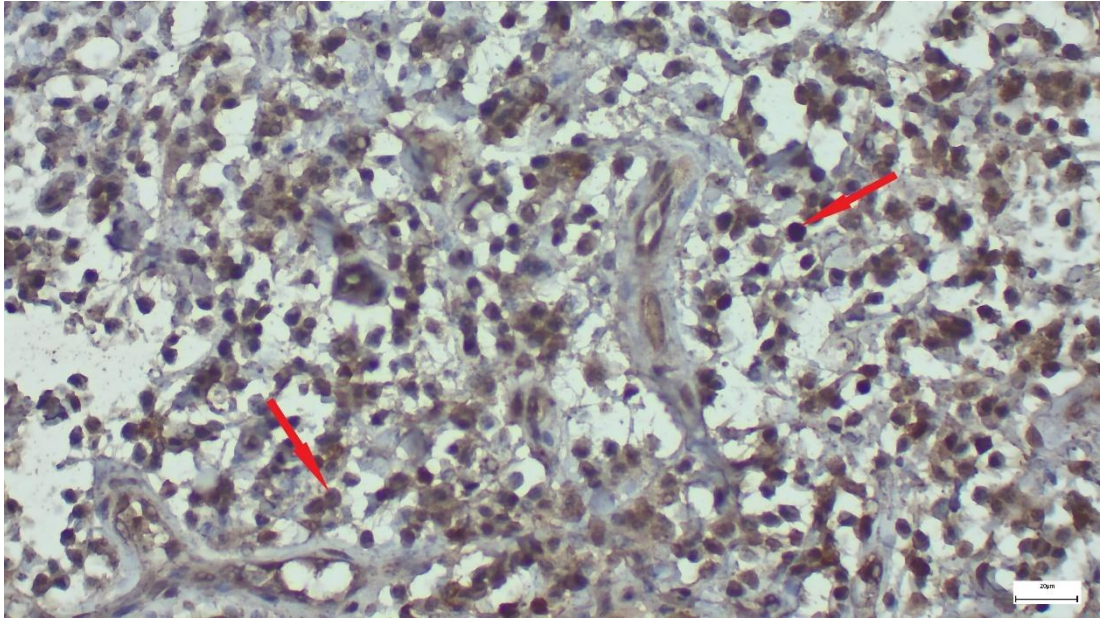
4.1.4.2. CD3 Ekspresyonu

Oral mukozadaki anti CD3 ekspresyonları incelendiğinde, kontrol grubundaki kedilere ait dokularda lamina epitelyalis, lamina propria ve submukozada anti CD3'e karşı herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 4.23.).



Şekil 4.23. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, anti CD3'e karşı immunoreaktivite görülmemekte, DAB, X20, Barr: 50µm.

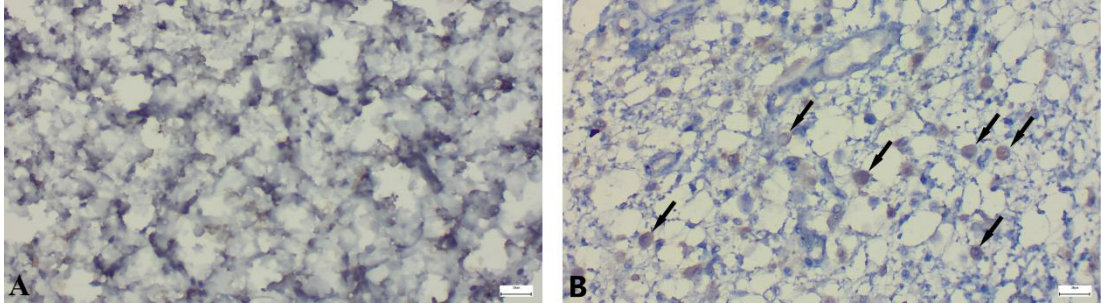
Çalışma grubundaki anti CD3 ekspresyonları lokalizasyon olarak anti CD79a ekspresyonlarına oldukça benzerlik göstermekteydi. Her ikisinde de belirgin ve yoğun olarak lamina propria katmanındaki yangısal hücre infiltrasyonu içerisinde immunopozitiflikler mevcuttu. Yangısal hücre infiltrasyonu birkaç olguda submukozaya da yayılım göstermekteydi ve bu yangısal hücrelerde de immunopozitifliklere rastlandı. Bu immunopozitifliklere ek olarak, bazı olgularda (Olgu no: 4,14,19,20,24 ve 25) lamina propria ve submukozal alanlarda, yeni oluşan damar çevresindeki yangısal hücre infiltrasyonlarında da anti CD3'e karşı güçlü sitoplazmik immunoreaksiyonlara rastlandı (Şekil 4.24.). Bu olguların bazılarında ise granülasyon dokusu içerisinde yer alan yangısal hücreler, hafif ila orta şiddette sitoplazmik CD3 ekspresyonları göstermekteydi. Buna rağmen hiç anti CD3 ekspresyonu göstermeyen olgularda mevcuttu ve bunların çoğunluğunu pyogranulomatöz tanılı olgular oluşturmaktaydı.



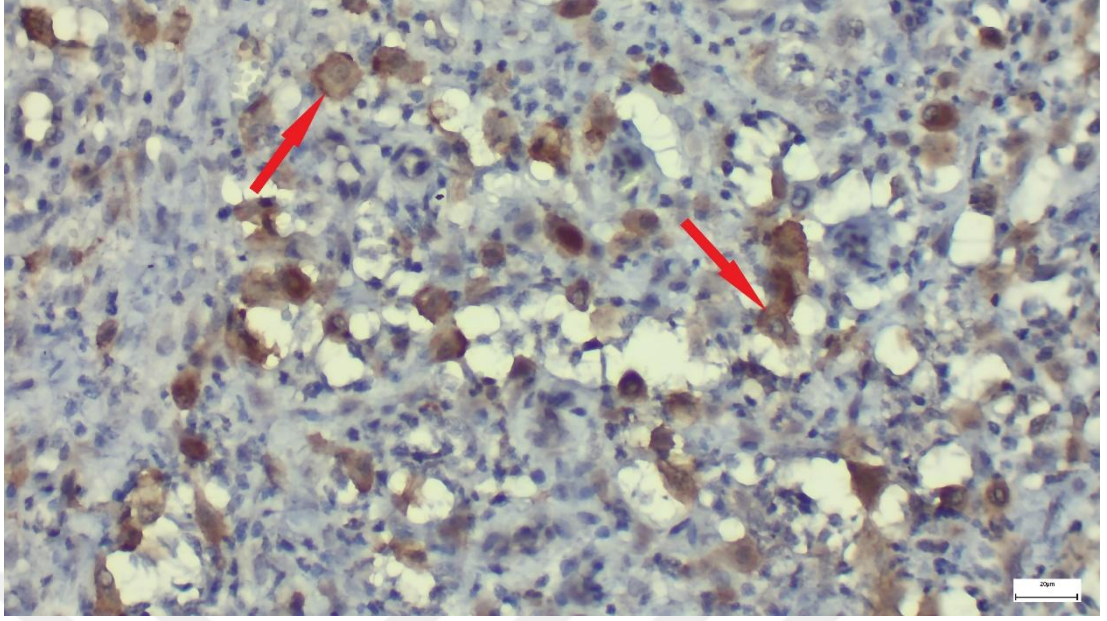
Şekil 4.24. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozal alana infiltrate olan yangısal hücrelerde şiddetli anti CD3 ekspresyonu gösteren hücreler (oklar), (Olgu no:19), DAB, X40, Barr: 20µm.

4.1.4.3. IBA1 Ekspresyonu

Hem kontrol grubuna ait kedilerin oral mukozaları hem de çalışma grubundaki FCGS'li kedilerin oral mukozaları anti IBA1'e karşı gelişen immunoreaktivite açısından incelendi. İncelenen dokularda kontrol grubuna ait kedilerin oral mukozalarında gerek lamina epitelyalis gerek lamina propria/submukoza katmanlarında herhangi bir immunoreaktiviteye rastlanmadı. Fakat çalışma grubundaki FCGS'li kedilerin oral mukoza dokularının bazılarında (Olgu no: 1,3,11,13,14,16,19,20,21 ve 22), anti Iba1'e karşı, yoğunluğu hafif ila güçlü derecelerde değişen sitoplazmik ekspresyonlar görüldü. Antikor ekspresyonlarına çoğunlukla lamina propriada gevşek bağ doku proliferasyonları içerisindeki yangısal hücre infiltrasyonlarında ve submukozaya infiltre olmuş makrofajlarda da rastlandı (Şekil 4.25- 4.26).



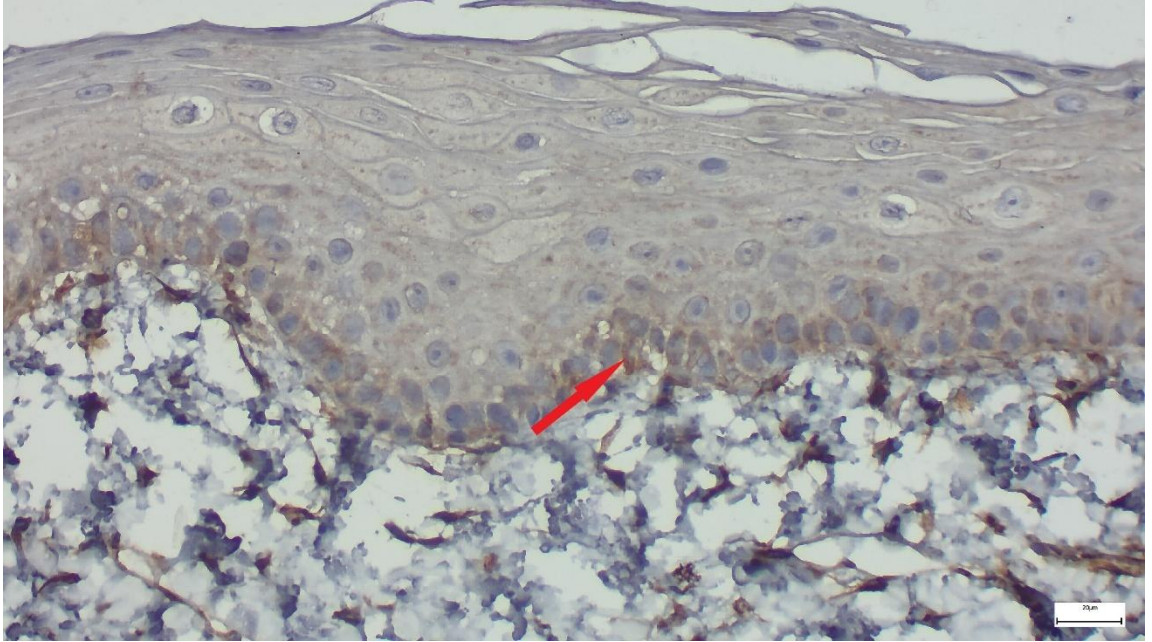
Şekil 4.25. A: Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada anti IBA1'e karşı immunoreaktivite görülmemekte **B:** Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada gevşek bağ doku proliferasyonu içerisindeki yangısal hücrelerde anti IBA1 ekspresyonu, (oklar), (Olgu no:20), DAB, X40, Barr: 20µm.



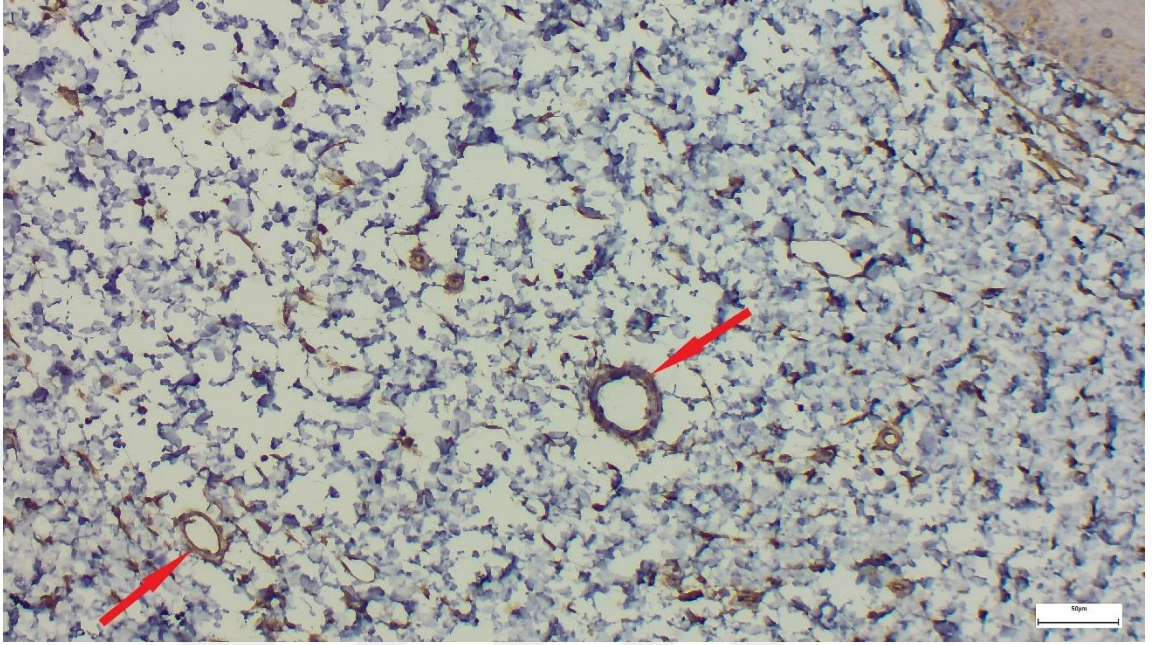
Şekil 4.26. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozadaki yangısal hücre infiltrasyonu içerisindeki makrofajlarda güçlü anti IBA1 ekspresyonu (oklar), (Olgu no:1), DAB, X40, Barr: 20µm.

4.1.4.4. mTOR Ekspresyonu

Kontrol ve çalışma grubu kedilerinin, oral mukozalarındaki anti mTOR salınımları incelendi. Buna göre kontrol grubundaki kedilerin oral mukozalarının epitel katmanındaki bazal hücrelerde hafif şiddette anti mTOR immunopozitiflikleri görüldü. Bu hafif şiddetteki immunopozitifliğe, lamina propria katmanındaki damar endotellerinde de rastlandı (Şekil 4.27-4.28).

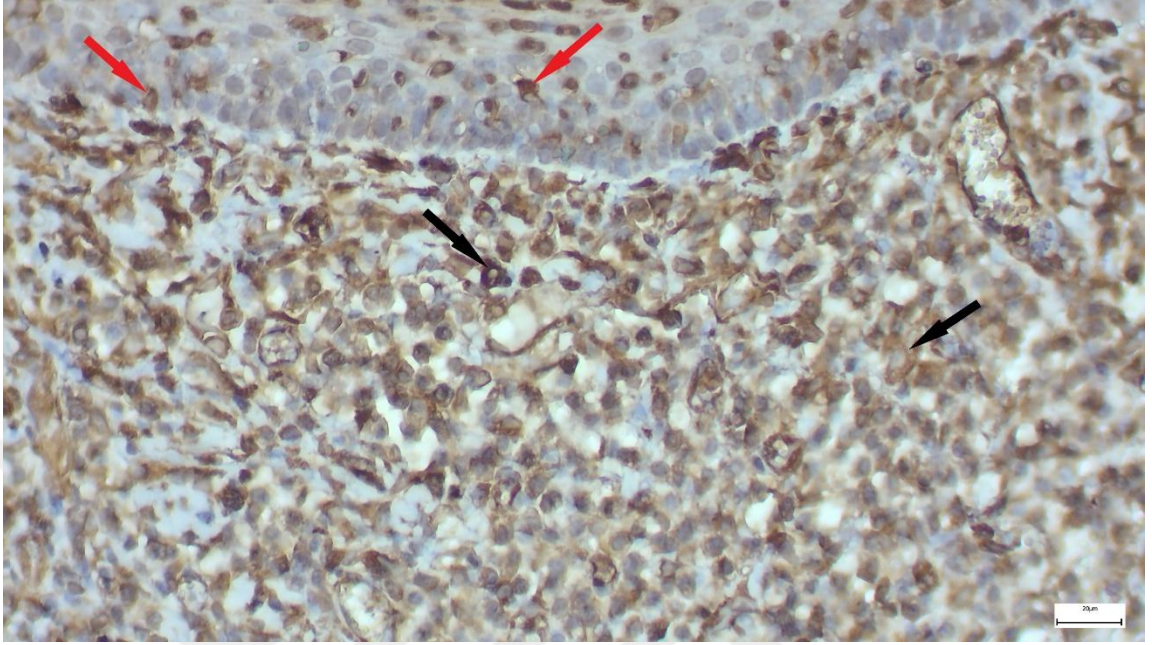


Şekil 4.27. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda hafif derecede anti mTOR immunopozitifliği gösteren bazal hücreler (ok), DAB, X40, Barr: 20µm.

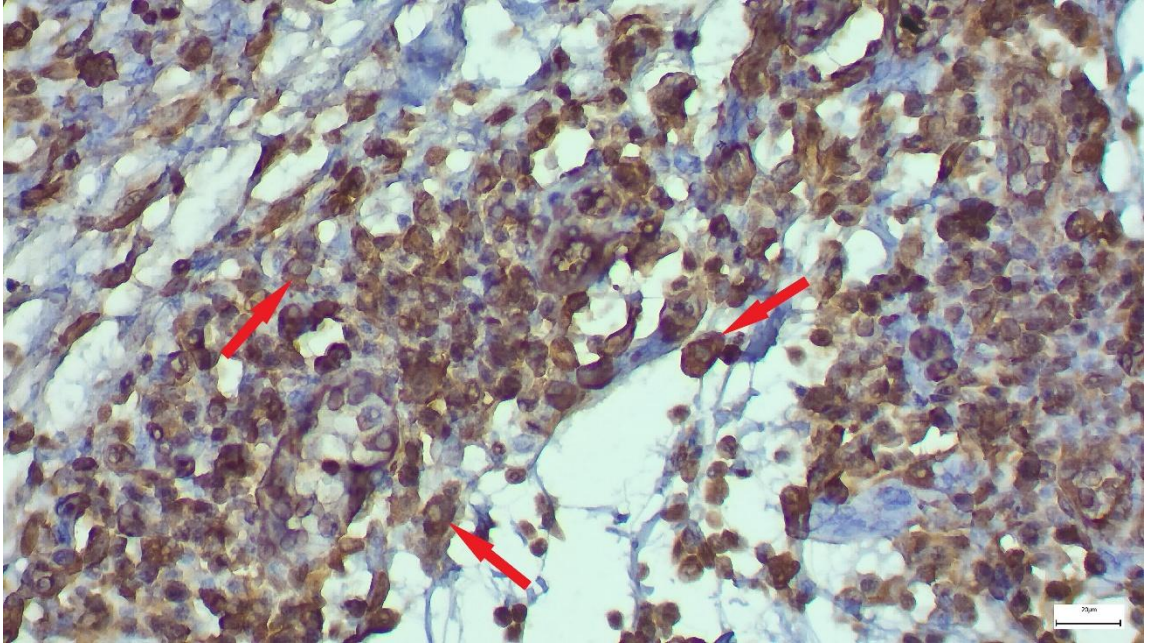


Şekil 4.28. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propria katmanında hafif şiddette anti mTOR ekspresyonu gösteren damar endotelleri (oklar), DAB, X40, Barr: 20µm.

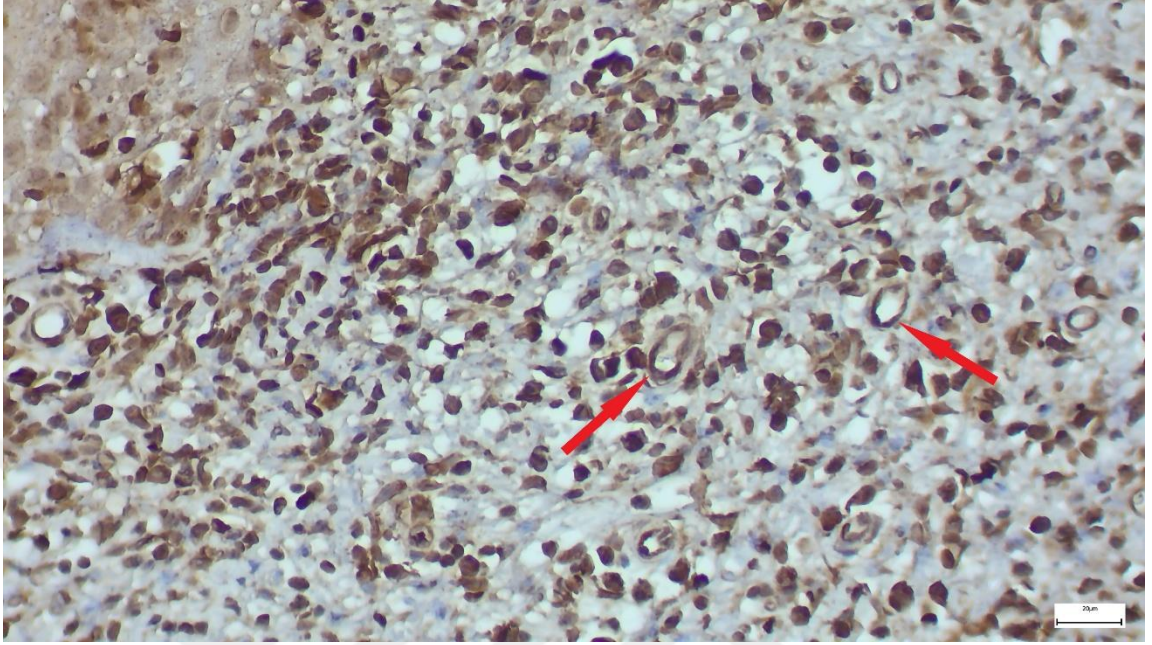
Çalışma grubundaki kedilerin oral mukozaları incelendiğinde, tüm olgularda çeşitli bölgelerde anti mTOR immunopozitifliklere rastlandı. Bu immunopozitiflikler epitel katman, lamina propria/submukozadaki damar endotelleri, kaslar ve yangısal hücrelerde görüldü. Bir olgunun (Olgu no: 6) epitel katmanında, anti mTOR'a karşı sitoplazmik ekspresyon gösteren stratum bazale ve stratum spinozum hücrelerine rastlandı (Şekil 4.29.). Ek olarak tüm olgularda, lamina propria ve submukozada orta ila şiddetli derecede anti mTOR immunopozitifliği gösteren yangısal hücre infiltrasyonları dikkati çekti (Şekil 4.30.). Yangısal hücre infiltrasyonları lenfosit, plazma hücresi, makrofaj gibi çeşitli immun hücrelerden oluşuyordu ve tüm yangı hücreleri anti mTOR ekspresyonu göstermekteydi. Bununla birlikte bütün olgularda yangı çoğunlukla yeni damar oluşumlarıyla beraber gözlemlendi. Yeni oluşan damar endotellerinde de güçlü anti mTOR ekspresyonları mevcuttu (Şekil 4.31.). Bunun yanında gingivostomatitise ek olarak siaoladenitis tanısı alan olgularda, tükürük bezleri çevresinde de yangısal hücreler gözlemlendi ve bu hücrelerde de anti mTOR'a karşı güçlü immunopozitiflik mevcuttu (Şekil 4.32.).



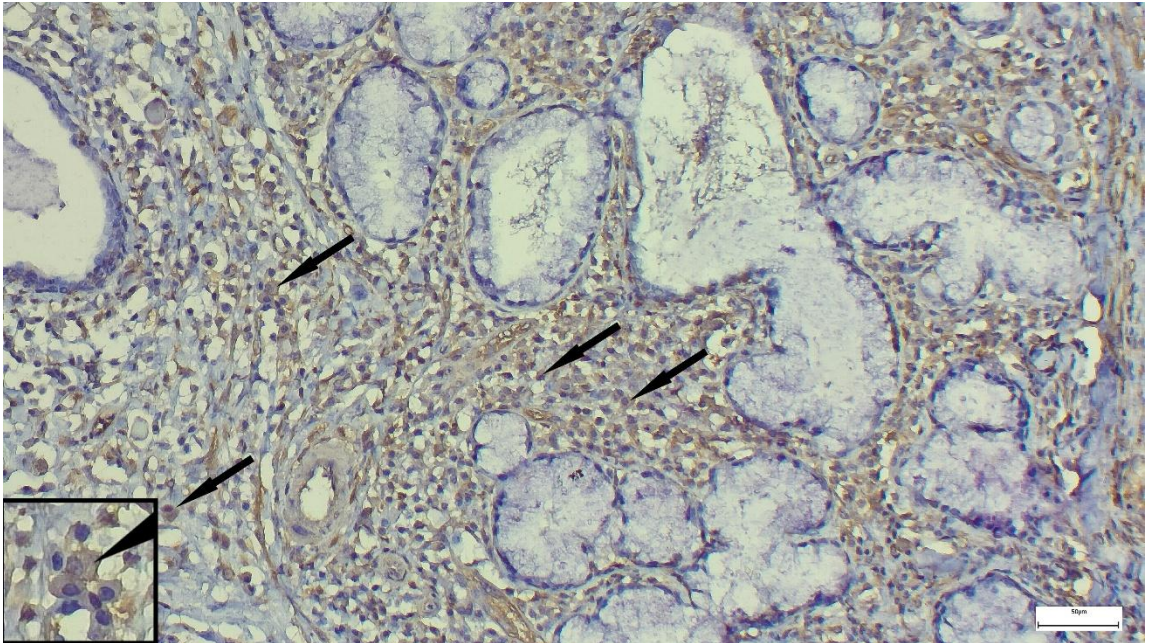
Şekil 4.29. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda anti mTOR'a karşı immunopozitif bazal hücreler (kırmızı oklar) ve lamina propriada anti mTOR'a karşı immunopozitif yangısal hücreler (siyah oklar), (Olgu no:6), DAB, X40, Barr: 20µm.



Şekil 4.30. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada anti mTOR ekspresyonları gösteren yangısal hücreler (oklar), (Olgu no:19), DAB, X40, Barr: 20µm.



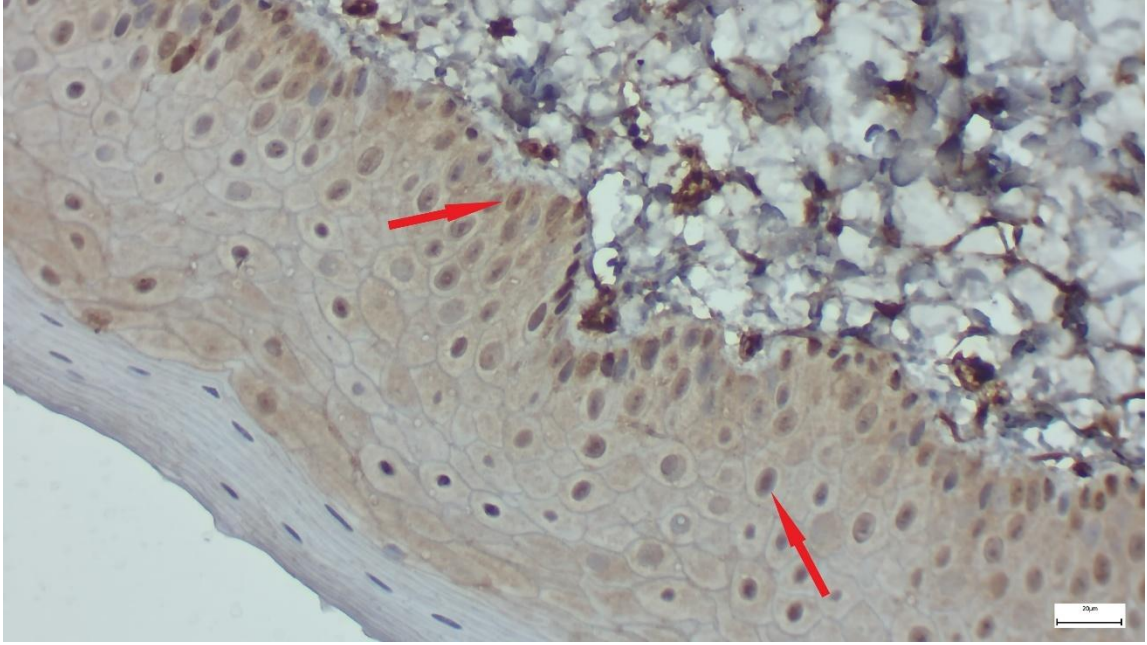
Şekil 4.31. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, lamina propriada yeni oluşan damar endotellerinde anti mTOR immunopozitifliği (oklar), (Olgu no:20), DAB, X40, Barr: 20µm.



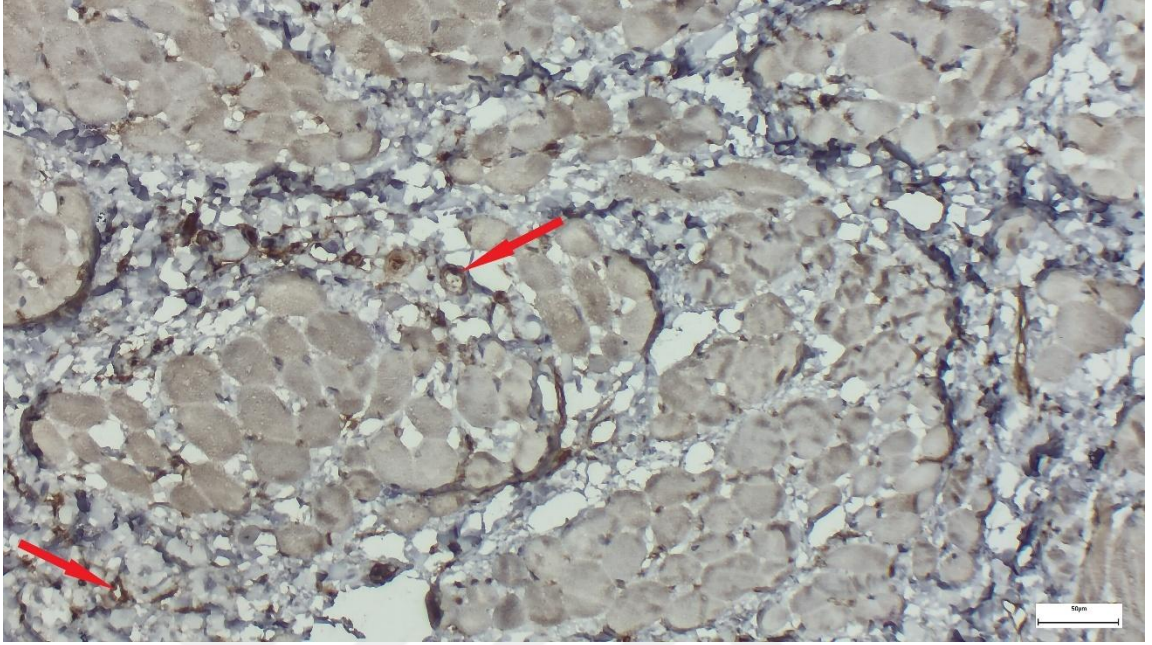
Şekil 4.32. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yer alan tükürük bezleri çevresinde, anti mTOR ekspresyonu gösteren yangı hücreleri (oklar), immunopozitif yangı hücreleri (küçültülmüş resim), (Olgu no:23), DAB, X20, Barr: 50µm.

4.1.4.5. FKBP-12 Ekspresyonu

FKBP12 proteininin dokulardaki varlığı incelendiğinde kontrol grubu dokularının epitel katmanındaki hücrelerde hafif-orta şiddette anti FKBP12 ekspresyonları görüldü. Aynı zamanda bu immunopozitifliklere, submukozadaki damar endotelleri ve kaslarda da rastlandı (Şekil 4.33-4.34).

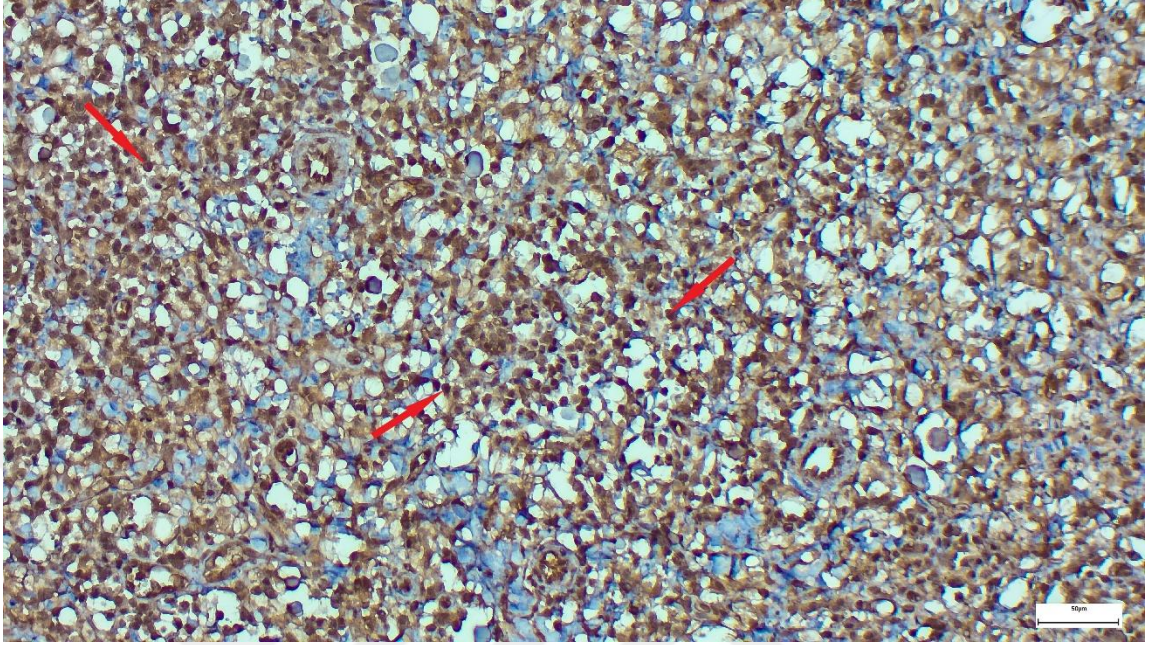


Şekil 4.33. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanı içerisinde anti FKBP12 ekspresyonu gösteren hücreler (oklar), DAB, X40, Barr: 20µm.

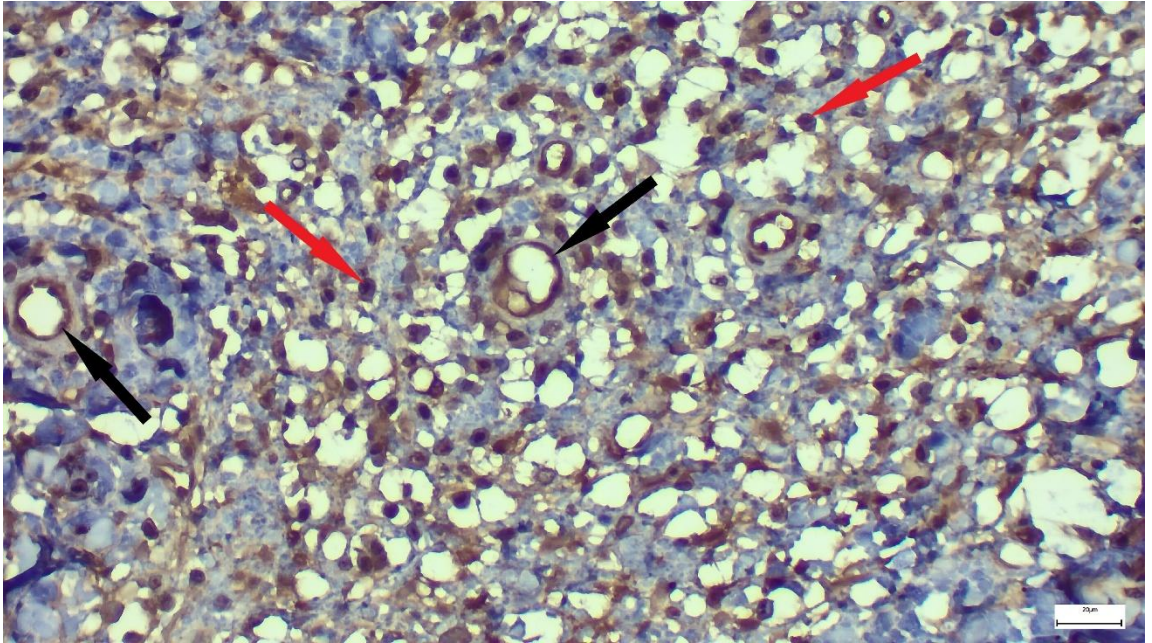


Şekil 4.34. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yer alan damar endotelinde hafif şiddette anti FKBP12 ekspresyonu (oklar), DAB, X20, Barr: 50µm.

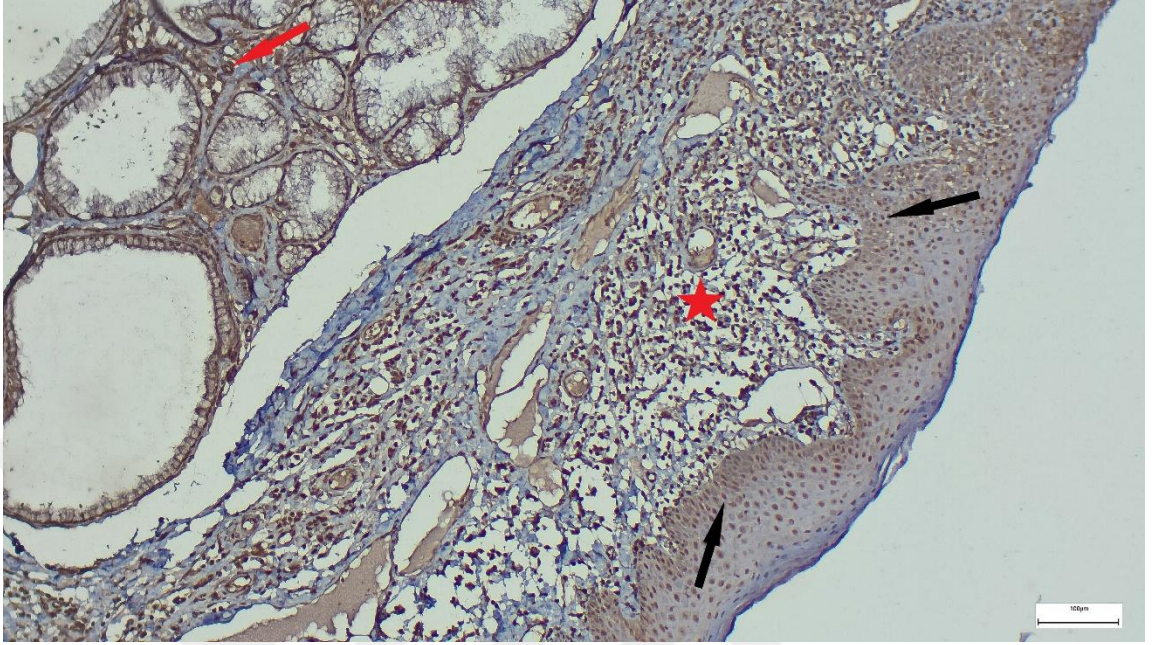
Anti FKBP-12 antikorunun çalışma grubu kedilerinin oral mukozasındaki immunopozitiflikleri anti mTOR pozitiflikleri ile uyumluydu. Akantotik epitel katmanında güçlü anti FKBP-12 ekspresyonu gösteren hücrelere rastlandı. Lamina propriada yer yer gevşek olmak üzere bağ doku proliferasyonları ve buna eşlik eden yangısal hücre infiltrasyonları görüldü. Bu hücreler farklı tipteki lökositler ve makrofajlardan oluşmaktaydı ve hepsinde de anti FKBP12 immunopozitifliği mevcuttu. Bazı olgularda bu yangısal infiltrasyon, submukozaya kadar ilerlemiş durumdaydı ve bu alanlardaki yangısal hücreler de de FKBP12 ekspresyonları gözlendi (Şekil 4.35). Granulasyon dokusu içeren olgularda yangısal hücre infiltrasyonu, çoğunlukla yeni damar oluşumlarıyla beraber gözlendi. Bu yeni oluşan damar endotelinde de aynı şekilde güçlü anti FKBP-12 immunopozitifliklerine rastlandı (Şekil 4.36.). Gingivostomatitise ek olarak sialoadenitis tanılı olgularda yangısal hücre infiltrasyonu, tükürük bezleri çevresinde de mevcuttu ve bu hücrelerde de anti FKBP-12 ekspresyonları gözlendi (Şekil 4.37).



Şekil 4.35. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada anti FKBP-12 ekspresyonu gösteren yangısal hücreler (oklar), (Olgu no:24), DAB, X20, Barr: 50µm.



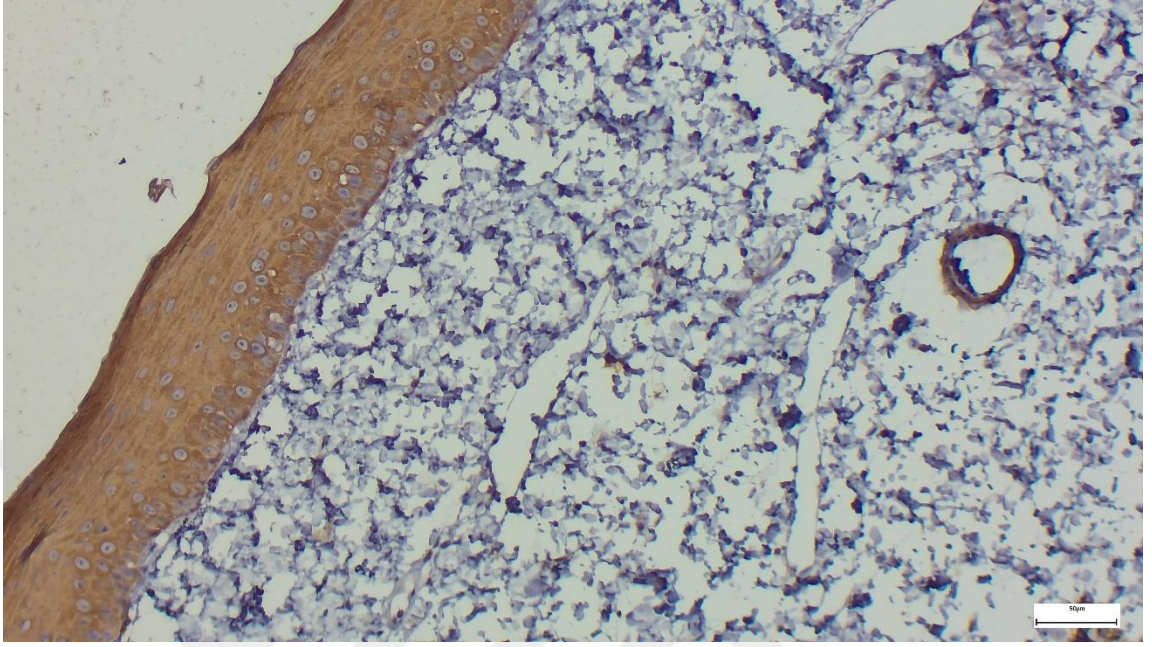
Şekil 4.36. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, submukozada yeni oluşan damar endotelinde (siyah oklar) ve bu damar çevrelerindeki yangısal hücrelerde (kırmızı oklar) anti FKBP12 immunopozitifliği, (Olgu no:6), DAB, X40, Barr: 20µm.



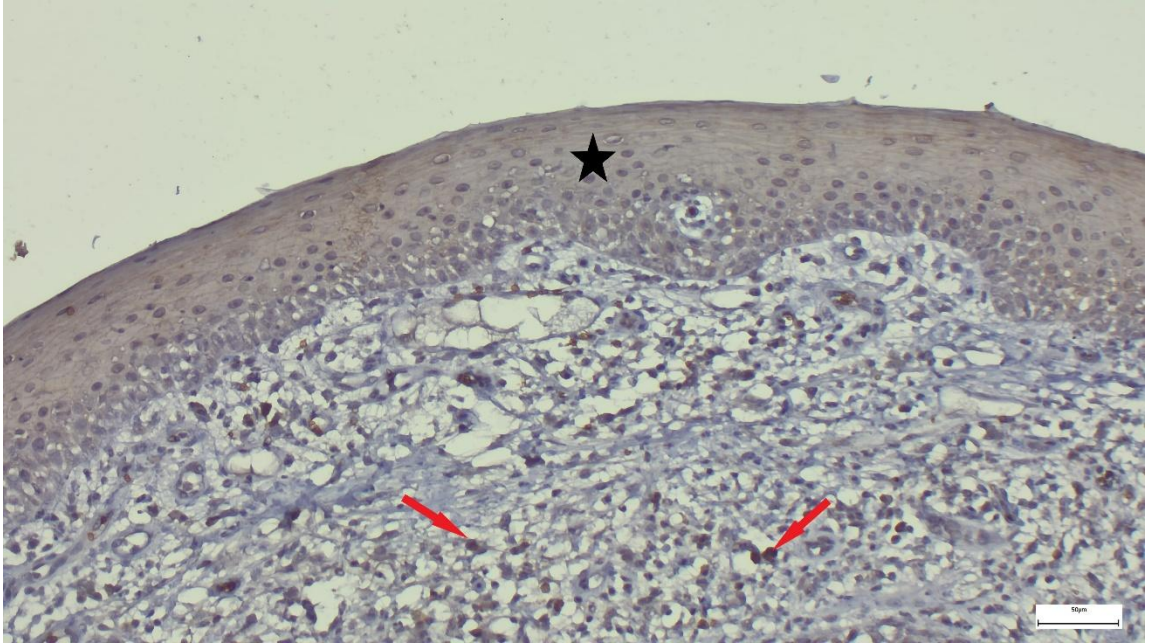
Şekil 4.37. Çalışma grubuna ait kedi oral mukozası, anti FKBP12 immunopozitifliği gösteren epitel hücreleri (siyah oklar), lamina propria (yıldız) ve submukozadaki tükürük bezi çevresinde (kırmızı ok), anti FKBP-12 ekspresyonu gösteren yangısal hücreler, (Olgu no:25), DAB, X10, Barr: 100µm.

4.1.4.6. EGFR Ekspresyonu

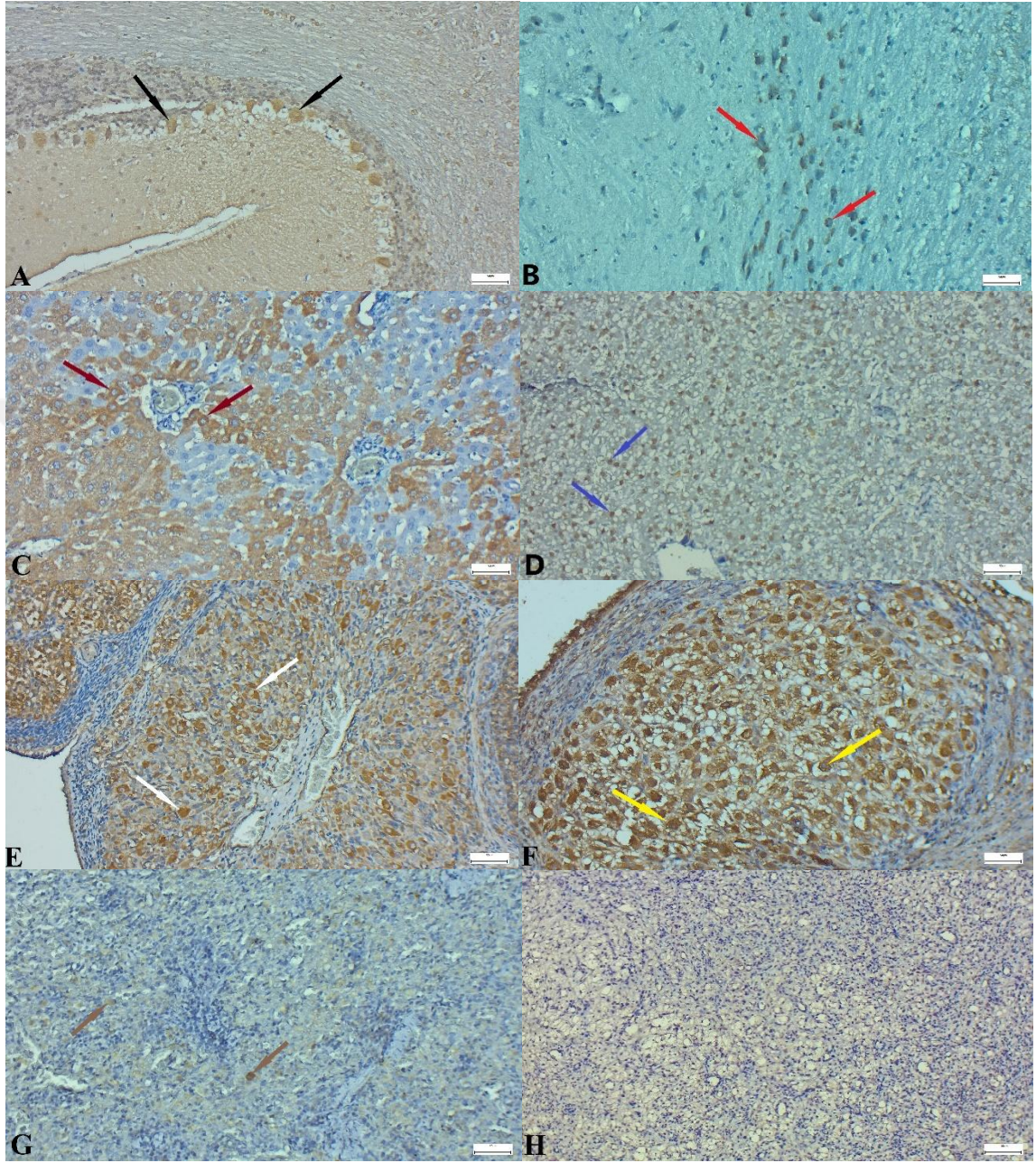
Gruplar arası anti EGFR ekspresyonlarına bakıldığında, kontrol grubu kedilerin oral mukoza epitellerinde güçlü immunopozitiflikler olduğu görüldü. Ek olarak bu dokuların lamina propria katmanlarındaki damar endotellerinde de anti EGFR ekspresyonları mevcuttu. Buna karşın çalışma grubundaki kedilerin oral mukozaları incelendiğinde, anti EGFR ekspresyonu çoğu vakada gözlenmedi. Bazı olgularda ise, akantotik epitel tabakasında şiddeti ve yoğunluğu değişen immunopozitifliklere rastlandı. Bu immunopozitifliklere, lamina propria ve submukozaya infiltre olan yangısal hücrelerin sitoplazmasında da rastlandı (Şekil 4.38- 4.39.).



Şekil 4.38. Kontrol grubuna ait kedi oral mukozası, epitel katmanda güçlü anti EGFR ekspresyonu sergileyen hücreler, DAB, X20, Barr: 50µm.



Şekil 4.39. Akantotik epitelde anti EGFR immunopozitifliği (yıldız), submukozal alandaki yangısal hücrelerde anti EGFR ekspresyonu (oklar), (Olgu no:9), DAB, X20, Barr: 50µm.



Şekil 4.40. Pozitif (A-G) ve negatif (H) kontroller, **A:** rat, anti FKBP12 ekspresyonu gösteren purkinje hücreleri (siyah oklar), **B:** rat, anti IBA1 ekspresyonu gösteren mikrogliya hücreleri (kırmızı oklar), **C:** rat, dalak, anti CD79a ekspresyonu gösteren hücreler (koyu kırmızı oklar), **D:** kedi, dalak, anti CD79a ekspresyonu gösteren hücreler (mavi oklar), **E:** rat, ovaryum, anti mTOR ekspresyonu gösteren hücreler (beyaz oklar), **F:** kedi, ovaryum, anti mTOR ekspresyonu gösteren hücreler (sarı oklar), **G:** rat, dalak, anti CD3 ekspresyonu gösteren hücreler (kahverengi oklar), DAB, X20, 50µm. **H:** negatif kontrol, DAB, X10, Barr: 100 µm.

4.1.5. Semikantitatif Analiz Bulguları

Çalışma ve kontrol grubu dokularına yapılan Hematoksilen & Eozin boyama sonuçları histopatolojik olarak incelenerek, lezyonların yerleşimi ve şiddetinin semikantitatif analiz bulguları Tablo 4.1.'de belirtilmiştir.



Tablo 4.1. Olgularda belirlenen lezyonların şiddetinin semikantitatif analiz tablosu. “0” yok, “1” hafif, “2” orta ve “3” şiddetli.

Olgu No	LEZYONLAR										
	NE	AK	GD	Nİ	Lİ	Pİ	MH	MAK	FB	V	TLS
1	0	2	2	0	3	3	3	2	1	3	19
2	0	2	3	1	1	1	0	3	3	3	17
3	1	1	1	3	0	0	0	3	0	0	9
4	1	2	3	3	1	1	0	3	3	3	20
5	1	1	1	3	0	0	0	3	0	0	9
6	1	0	3	3	2	0	0	3	0	0	12
7	1	2	3	3	1	0	0	3	3	0	16
8	1	3	1	1	3	3	3	0	0	2	17
9	1	1	3	2	1	1	0	3	0	0	12
10	0	0	1	1	2	2	2	1	0	0	9
11	1	0	3	3	2	2	0	3	0	0	14
12	1	2	1	2	1	1	2	2	0	0	12
13	1	0	3	3	1	0	0	2	2	0	12
14	0	1	0	0	3	3	3	0	1	0	11
15	0	3	0	0	3	3	3	0	0	0	12
16	0	3	0	0	3	3	1	0	0	1	11
17	0	2	1	2	3	2	1	2	1	0	14
18	0	0	2	3	0	0	0	3	1	0	9
19	1	2	1	0	3	3	3	0	0	0	13
20	0	0	1	2	0	0	0	0	3	0	6
21	1	1	3	2	1	0	0	2	0	0	9
22	1	1	3	1	0	0	0	3	2	0	11
23	0	3	0	2	3	3	0	0	0	0	11
24	0	0	0	1	3	3	2	0	0	0	9
25	0	1	3	3	0	0	0	3	1	0	11
K1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS	13	33	41	44	39	34	23	44	21	12	305

NE: Nekroz, AK: Akantozis, GD: Granulasyon dokusu, Nİ: Nötrofil infiltrasyonu, L: Lenfosit İnfiltrasyonu, PL: Plazma İnfiltrasyonu, MH: Mott hücresi, MAK: Makrofaj, FB: Fibroblast, V: Vaskulitis, TLS: Total lezyon skoru. TS: Toplam skor. Skor değeri 40’lık büyütmelerde, 3 farklı alanda incelenen değerlerin ortalaması alınarak yapılmıştır.

Semikantitatif analiz, total lezyon skorlarının ortanca değerine göre “0: yok”, “0-7: hafif şiddetli”, “7-14: orta şiddetli”, “14-21: şiddetli” olarak belirlendi. Yapılan

semikantitatif analize göre, soldan sağa doğru total lezyon skoru göz önünde bulundurulduğunda 7 olguda hastalığın şiddetli, 17 olguda ise orta şiddette seyrettiği belirlendi. 1 olguda ise hastalığın hafif şiddette seyrettiği görüldü (Tablo 4.2.). Şiddetli olguların, lenfositik plazmasitik gingivostomatitis ya da granulomatöz gingivostomatitis tanılarının herhangi birinde yoğunlaşmadığı görüldü.

Tablo 4.2. Total lezyon skoruna göre sınıflandırma

Total Lezyon Skoru (TLS)	Hafif (0-7)	Orta (7-14)	Şiddetli (14-21)
Olgu No	20	3,5,12,9,10,11,12,13,14, 15,16,17,18,19,21,22,23,24 25	1,2,4,7,8,11,17

Tablo 4.3. İmmunohistokimyasal bulguların H-skor değerleri

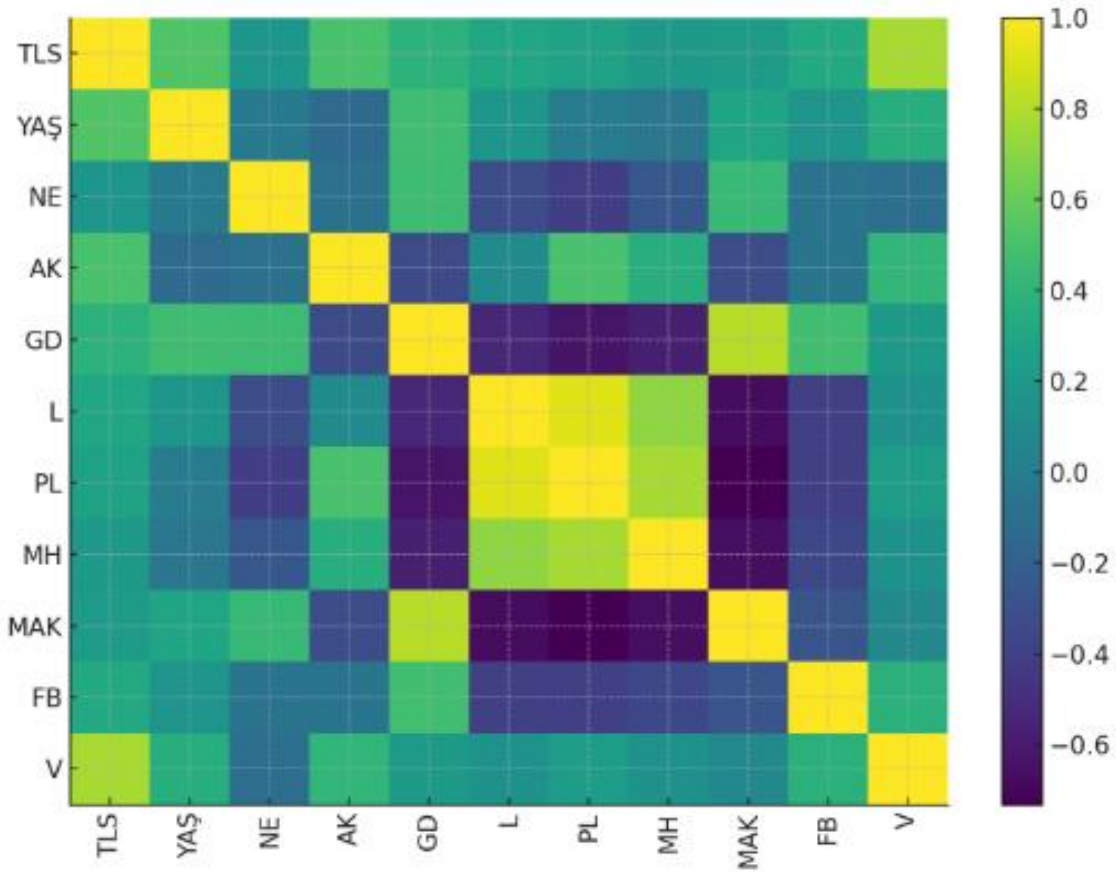
Olgu no	Epitel						Lamina propria					
	CD3	CD79A	IBA1	MTOR	FKBP1 2	EGFR	CD3	CD79A	IBA1	MTOR	FKBP1 2	EGFR
1	18.4022	57.4742	14.5631	21.865	94.0356	19.4143	15.6417	47.0299	16.5618	190.5309	74.999	3.6841
2	3.5478	12.5833	2.0027	1.5216	1.9132	12.8347	9.249	37.9184	0.7471	62.2656	83.0027	4.3137
3	8.4988	76.4096	12.4768	14.2857	67.8438	40.9964	1.5252	76.8565	6.8954	1.0716	66.0366	15.8817
4	1.9999	39.8457	0.2941	73.8421	61.964	28.7314	1.9086	62.2979	1.3218	146.0203	72.6719	14.7212
5	3.5714	6.1622	0.1220	0.421	73.7984	5.1606	2.7402	4.5791	2.0953	0.8855	63.0793	12.7262
6	8.8139	58.2952	33.6283	143.8829	96.8952	0.8461	1.8828	76.5349	15.1030	105.543	75.0081	0.1968
7	15.1586	6.4760	37.1337	87.1613	135.7590	109.2063	11.3910	0.4441	1.2622	146.1164	72.8719	24.5764
8	10.3822	75.1129	10.3477	4.7451	101.6893	1.9424	8.7767	47.3967	0.7103	60.4780	72.1176	2.9611
9	29.9293	37.6147	9.4217	19.0577	110.2016	51.9843	39.2081	27.6361	0.6903	102.5105	72.8818	22.3870
10	4.0501	4.8922	13.0931	13.7447	114.3215	12.1369	1.4887	0.5683	0.9039	94.0613	72.1917	23.2026
11	4.0816	42.4206	3.4108	56.1887	111.3660	6.6216	0.4369	26.1408	6.8754	58.2396	67.0197	1.9819

12	1.0596	1.8569	5.240	20.3838	1.5754	2.1845	12.8326	68.4685	20.66	66.1550	3.4829	7.0395
13	1.1123	3.3135	3.6075	25.654	172.4822	15.4149	2.2081	19.4743	3.0961	85.5549	102.6548	11.6496
14	28.2895	28.6124	14.8582	65.5789	110.4452	44.1648	30.2270	59.9350	14.6851	78.71	66.5026	33.0340
15	60.98	56.5299	3.1805	117.1299	100.8841	26.8898	41.4341	68.7386	1.4848	43.1201	53.1685	5.7381
16	3.1046	39.5523	9.0513	95.6637	100.3309	1.5832	4.0456	75.9685	19.7342	89.5008	78.0251	4.2938
17	1.941	91.5980	3.7027	113.1402	11.4286	2.1378	6.1473	37.8666	1.2151	86.4701	10.3244	0.2766
18	2.112	2.3321	0.6969	100.03	82.2105	14.427	8.9362	5.6223	0.9962	135.8634	70.6932	17.4927
19	2.2455	25.8363	4.0999	23.9855	126.0051	0.6025	61.1314	18.3744	22.8198	103.8374	88.5624	2.0137
20	61.0710	51.7502	2.1536	43.8295	93.4105	43.8411	28.6251	73.6187	0.8961	108.5331	92.0993	16.0389
21	4.2732	4.4689	5.4073	86.0317	100.1354	81.6765	1.8419	3.4296	22.0262	73.6372	59.4323	38.6632
22	1.2029	59.6413	45.2441	0.3674	106.3058	9.7732	0.8720	33.7131	2.2947	1.8046	9.4460	7.2568
23	2.4494	79.806	1.9106	11.4811	151.9627	16.6579	3.7649	62.6783	1.8423	51.8927	92.7721	3.2522
24	11.5924	66.9645	3.3541	86.0707	98.2213	19.3284	29.8598	67.1735	6.7441	17.7542	93.1972	32.0698
25	13.9013	54.386	2.6324	14.2857	83.7724	5.2516	11.4764	98.9101	0.9005	7.2815	105.3673	25.7155
K1	1.0025	1.3582	2.8409	12.4214	48.6337	105.1225	2.7426	1.7266	0.2778	33.5534	33.9023	3.0248
K2	0.6154	0.6154	0.5208	5.042	45.3109	150	3.2653	0.8475	0.241	9.6567	24.7238	2.451
K3	1.7857	1.3307	0.155	1.4783	8.9816	71.2241	1.5905	0.2534	0.2052	15.6746	58.6527	5.6507
K4	2.0341	1.3122	1.6718	31.0714	32.3134	156.3304	2.1070	0.8141	3.9072	20.8451	4.5853	2.7113
K5	0.7018	2.2955	2.6408	6.5424	19.8198	105.5947	3.9881	5.9006	4.402	33.5307	75.9124	1.9258

4.1.6. İstatiksel Analiz Bulguları

Gingival dokularda görülen nekroz, akantozis, granulasyon dokusu, lenfosit, plazma, mott hücresi, makrofaj, fibrozis, vaskulitis, total lezyon skoru ve hayvanların yaşlarının birbirleri arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak

değerlendirildi. Buna göre; total lezyon skoru (TLS) ile yaş, akantozis (AK) ve vaskulitis (V) arasında sırasıyla yüksek dereceli ($r=0.530, 0.505, 0.774$) bir korelasyon gözlenmekle birlikte aynı zamanda bu değerler arasında anlamlı bir ilişki olduğu da görüldü ($p=0.009, 0.010, <.001$). Yangısal hücre popülasyonlarında yer alan lenfosit, plazma hücresi ve Mott hücreleri arasında çok güçlü pozitif korelasyonların olduğu görüldü ($r = 0.918, r = 0.710$ ve $r = 0.773, p<0.001$). Ek olarak granülasyon dokusu ile makrofajlar arasında da sırasıyla pozitif bir ilişki saptandı ($r = 0.800, p <0.001$). Pearson korelasyon sonuçları, Tablo 4.4.'te ve histopatolojik parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimleri ısı grafiği ile sunulmuştur (Şekil 4.41.).



Şekil 4.41. Histopatolojik parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimini gösteren ısı grafiği.

Ayrıca Independent Samples T-Test ile de cinsiyet ve total lezyon skoru arasındaki ilişki değerlendirildi. Erkek ve dişi kediler arasında Total lezyon skoru (TLS) açısından

anlamlı bir farkın bulunmadığı görüldü ($t(21)=0.88$, $p=.389$). Independent Samples T-Testi sonucu Tablo 4.5.'de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Pearson korelasyon katsayıları ve anlamlılık düzeyleri

	TLS	YAŞ	NE	AK	GD	L	PL	MH	MAK	FB	V
TLS	-	r =0.530 p=0.009									
YAŞ	r =0.530 p=0.009*	-									
NE	r=0.176 p=0.399	r=-0.025 p=0.910	-								
AK	r=0.505 p=0.010*	r=-0.125 p=0.569	r=-0.089 p=0.673	-							
GD	r=0.387 p=0.056	r=0.469 p=0.024	r=0.460 p=0.021	r=-0.332 p=0.104	-						
L	r=0.308 p=0.135	r=0.185 p=0.397	r= -0.320 p=0.119	r=0.104 p=0.452	r= -0.534 0.006	-					
PL	r=0.269 p=0.193	r=-0.006 p=0.977	r= -0.414 p=0.040	r=0.506 p=0.010	r= -0.633 p=<.001	r=0.918 p=<.001*	-				
MH	r=0.197 p=0.344	r=-0.046 p=0.835	r=-0.258 p=0.214	r=0.361 p=0.076	r= -0.580 p=0.002	r=0.710 p=<.001	r=0.773 p= <.001	-			
MAK	r=0.221 p=0.289	r=0.295 p=0.172	r=0.437 p=0.029	r=-0.324 p=0.114	r=0.814 p=<.001*	r=-0.674 p=<.001	r=-0.732 p=<.001	r=-0.660 p=<.001	-		
FB	r=0.328 p=0.110	r=0.172 p=0.431	r= -0.066 p=0.755	r= -0.059 p=0.781	r=0.478 p=0.016	r= -0.405 p=0.045	r= -0.402 p=0.046	r= -0.358 p=0.079	r= -0.275 p=0.184	-	
V	r=0.774 p=<.001*	r=0.356 p=0.095	r= -0.097 p=0.645	r=0.416 p=0.039	r=0.212 p=0.308	r=0.156 p=0.456	r=0.232 p=0.264	r=0.157 p=0.452	r=0.086 p=0.682	r=0.381 p=0.060	-

*Anlamlı korelasyon değerleri

TLS: Total lezyon skoru, NE: Nekroz, AK: Akantozis, GD: Granulasyon dokusu, L: Lenfosit İnfiltrasyonu, PL: Plazma İnfiltrasyonu, MH: Mott hücresi, MAK: Makrofaj, FB: Fibroblast, V: Vaskulitis

Tablo 4.5. Independent Samples T-Testi sonucu

Değişken	Test Türü	t	sd	p
TLS	Student's T	0.880	21	0.389

Not: $H_a: \mu_{erkek} \neq \mu_{dişi}$

Çalışmada, immunohistokimyasal boyamalar sonucunda QuPath-0.6.0 programı kullanılarak epitel ve lamina propria alanlarından elde edilen, H-skorları arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla parametrik olmayan Spearman sıra korelasyon

katsayısı kullanılmıştır. Bu istatistiki veri sonuçlarına göre, epitel katmanı içerisinde CD3(e) ile CD79a(e) ve FKBP12(e) arasında sırasıyla, anlamlı bir pozitif korelasyon ($r=0.504, p=0.005$; $r=0.416, p=0.023$) görülürken, CD79a(e) ve EGFR(e) arasında ise orta düzeyde anlamlı bir negatif korelasyon ($r=-0.456, p=0.012$) görüldü. mTOR(e)'un ise, CD3(e), CD79a(e), IBA1(e) ve FKBP12(e) ile aralarında zayıf/orta düzeyde, pozitif yönde korelasyonlar ($r=0,366$; $0,207$; $0,219$; $0,192$) bulunmasına rağmen bu sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Son olarak, EGFR(e) ile FKBP12(e) arasında negatif yönde zayıf bir korelasyon olduğu fakat yine istatistiksel olarak anlamlı olmadığı dikkati çekmiştir ($r=-0.175, p=0.353$).

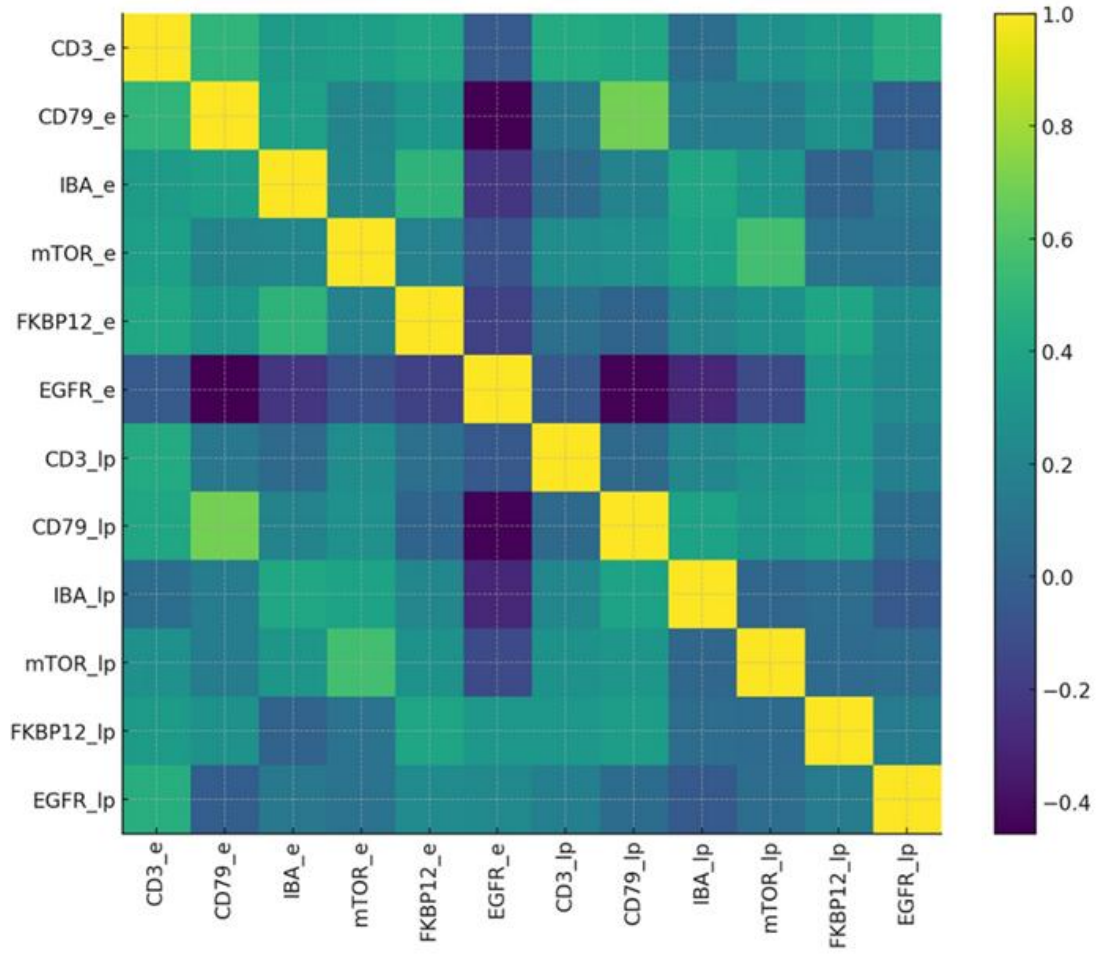
Lamina propria katmanındaki korelasyon veri sonuçları incelendiğinde ise, mTOR(lp) ile sırasıyla CD3(lp) ve IBA1(lp) arasında pozitif yönlü bir korelasyon olduğu görülse de ($r=0.313$; 0.144) istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir ($p=0.092$; 0.446). Ayrıca mTOR(lp) ve FKBP12(lp) antikoru arasında pozitif korelasyon ($r=0.312$) mevcuttu. Fakat bu pozitif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı kabul edilme sınırının hemen üzerindedir ($p=0.093$). Spearman korelasyon sonuçları Tablo 4.6.' de ve immunohistokimyasal parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimi ısı grafiği ile sunulmuştur (Şekil 4.42.).

Tablo 4.6. Antikorların Spearman korelasyon sonuçları

	CD3 (e)	CD79 (e)	IBA (e)	mTOR (e)	FKBP12 (e)	EGFR (e)	CD3 (lp)	CD79 (lp)	IBA (lp)	mTOR (lp)	FKBP12 (lp)	EGFR (lp)
CD3	-											
(e)	-											
CD79	0.504**	-										
(e)	0.005	-										
IBA	0.347	0.378*	-									
(e)	0.060	0.040	-									
mTOR	0.366*	0.207	0.219	-								
(e)	0.047	0.273	0.245	-								
FKBP12	0.416*	0.313	0.493**	0.192	-							
(e)	0.023	0.092	0.006	0.309	-							
EGFR	-0.037	-0.456*	-0.223	-0.086	-0.175	-						
(e)	0.845	0.012	0.235	0.651	0.353	-						
CD3	0.442*	0.129	0.048	0.255	0.079	-0.047	-					
(lp)	0.015	0.496	0.801	0.174	0.676	0.805	-					
CD79	0.414*	0.695***	0.197	0.278	0.016	-0.439*	0.306	-				
(lp)	0.024	<.001	0.295	0.137	0.933	0.016	0.100	-				
IBA	0.071	0.158	0.416*	0.388*	0.218	-0.288	0.012	0.293	-			
(lp)	0.707	0.404	0.023	0.034	0.246	0.123	0.951	0.116	-			
mTOR	0.279	0.158	0.316	0.567**	0.293	-0.125	0.313	0.027	0.144	-		
(lp)	0.135	0.404	0.090	0.001	0.117	0.508	0.092	0.886	0.446	-		
FKBP12	0.345	0.294	0.006	0.096	0.406*	-0.219	0.322	0.356	0.064	0.312	-	
(lp)	0.062	0.115	0.976	0.613	0.027	0.245	0.083	0.054	0.735	0.093	-	
EGFR	0.455*	-0.021	0.125	0.101	0.244	0.236	0.172	0.057	-0.042	0.065	0.159	-
(lp)	0.012	0.914	0.510	0.595	0.194	0.208	0.362	0.765	0.827	0.733	0.400	-

(e): epitel, (lp): lamina propria

Not: * p < .05, ** p < .01, *** p < .001



Şekil 4.42. İmmunohistokimyasal parametreler arasındaki ilişkilerin eğilimini gösteren ısı grafiği.

5. TARTIŞMA

Kedilerin kronik gingivostomatitisinin, klinik, patolojik, laboratuvar ve çeşitli moleküler yöntemlerle incelendiği birçok çalışma mevcuttur (Harley ve ark., 2003; Sakis ve ark., 2019). Bununla birlikte, hastalığın etiyopatogenezi hala tam olarak anlaşılamamıştır (Harley ve ark., 2011; Harris ve ark., 2015). Bu çalışmada kedilerin kronik gingivostomatitisinin patolojik lezyonlarının ortaya çıkmasındaki mekanizmaların bazıları detaylı olarak incelenmiştir.

FCGS hastalığında ırk, cinsiyet ve yaş üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur. Birçok çalışmada cinsiyetin belirtilen hastalık üzerinde bir etkisi olmadığı raporlanmıştır (Peralta ve Carney, 2019). Fakat, Rolim ve ark. (2017) yaptıkları bir çalışmada, erkek kedilerin dişilere kıyasla daha agresif davranışlar sergilemesinden dolayı FIV ve FeLV gibi enfeksiyöz etkenlerle temas olasılığının arttığını bu nedenle hastalığın erkek kedilerde daha şiddetli seyrettiğini düşünmektedirler. Yine aynı araştırmacılar, hastalığın tüm yaştaki kedilerde görülebildiğini fakat yaş ortalamasının 2 olduğunu ve hastalığın hafif lezyonlarla başlayıp daha sonra şiddetlendiğini belirtmişlerdir (Rolim ve ark., 2017). Sunulan çalışmada ise erkek ve dişi kediler karşılaştırıldığında, hastalığın şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, sayı olarak erkek kedilerde daha fazla meydana geldiği görülmüştür. Bu bulgu, Rolim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir. Çalışma grubundaki kedilerin yaşları 1'den 13 yaşa kadar değişkenlik göstermektedir. Fakat yapılan istatistiksel analiz sonucunda TLS ile yaş arasında yüksek dereceli bir korelasyon ve aynı zamanda bu değerler arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu da saptanmıştır. Buna göre kedinin yaşı arttıkça hastalığın da şiddetinin arttığı düşünülmektedir.

Yapılan literatür taramasına göre FCGS hastalığında, Siyam kedisi en çok etkilenen ırk olarak gösterilmektedir. Bunun yanı sıra İran, Habeş, Himalayan ve Burmese ırklarının da sıklıkla hastalıktan etkilendiği bildirilmiştir (Sakis ve ark., 2019). Bu çalışmada ise, literatür bilgisinin aksine hiçbir kedi ırkı Siyam olmamakla birlikte en çok

İran kedilerinin etkilendiği görülmüştür. Fakat sunulan çalışmadaki kedi sayısının az olması sebebiyle ırk yatkınlığı açısından, çalışma grubunun daha fazla kedi sayısından oluştuğu yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

FCGS patogenezinin aydınlatılması amacıyla çok fazla araştırma yapılmıştır (Harley ve ark., 2011; Harris ve ark., 2015; Peralta ve Carney, 2019; Sakis ve ark., 2019). Bunlar arasında mast hücrelerinin, kedi oral mukozası hastalıklarında üstlendiği roldür. Normal koşullarda mast hücreleri oral mukozanın epitel tabakasında yer almayıp bağ dokusu elemanları olarak kabul edilmektedir. Çalışma grubunu 12 tane FRL (*Feline Resorptive Lesions*), 10 tane FCGS ve 10 tane de periodontitise sahip kedi dokularının oluşturduğu bir araştırmada (Arzi ve ark., 2010), mm² başına düşen mast hücre sayısı incelenmiştir. Buna göre, kontrol grubu kedilerine kıyasla bu 3 hastalıktan muzdarip kedilerin oral mukozalarında belirgin şekilde mast hücre sayılarının artmış olduğu belirtilmiştir. Genellikle mast hücrelerinin lamina propriada dağınık halde bulunduğu fakat 12 FRL olgusunun 4'ünde mast hücrelerinin, intraepitelyal alanda ve bazal hücrelerin seviyesinde lokalize olduğu gösterilmiştir (Arzi ve ark., 2010). Bunun sonucunda Arzi ve ark. (2010), aktif mast hücreleri ile dental rezorpsiyon bölgeleri arasında olası bir etkileşimi düşünmüşlerdir. Yine benzer bir çalışmada (Luntzer ve ark., 2021), diş rezorpsiyonu olan kedi gingivasındaki mast hücrelerinin kompleman sistemini (C3a ve C5a) eksprese ettiği gösterilmektedir. Bu çalışma sonucunda da kompleman sistemi ve mast hücrelerinin, kalsiyum kristalleri ile birlikte osteoklastların aktivasyonuna yol açarak dişin mineralize dokularının ve alveolar kemiğin rezorpsiyonuna neden olabileceği belirtilmektedir (Luntzer ve ark., 2021). Buna ek olarak, mast hücrelerinin ürettiği özellikle histamin, heparin, nötral proteazlar, prostaglandinler ve interlökinler kemik remodellemesini doğrudan ya da dolaylı olarak etkilediği hatta mast hücresi eksikliğinin düşük remodelleme hızıyla, fazlalığının ise hızlanmış kemik kaybıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Chiappetta ve Gruber, 2006; Fallon ve ark., 1981; Ikawa ve ark., 2007). Mevcut çalışmada ise mast hücreleri çoğunlukla lamina propria ve submukozal alana infiltre olurken birkaç olguda intraepitelyal alanlarda da lokalize olduğu gözlenmiştir. Fakat çalışmanın doku bloklarından oluşması sebebiyle, bu kedilerin dental

rezorpsiyon anamnezinin olup olmadığı bilinmemektedir. Olguları oluşturan 25 kedinin 17'sinde şiddetli, 4'ünde ise hafif ila orta şiddette mast hücre infiltrasyonları görülmüştür. Bu nedenle, FCGS'de lokal yangısal ve immun yanıtların başlatılmasında, sürdürülmesinde ve devam ettirilmesinde mast hücrelerinin rol oynadıkları düşünülmektedir.

Çalışma grubundaki olguların büyük bir kısmında, lamina propria ve submukozal alanlarda yer alan makrofaj ve nötrofillerde belirgin bir PAS pozitifliği saptanmıştır. Makrofaj ve nötrofillerdeki PAS pozitifliği, bu hücrelerin fagositik aktivitelerinin ve lizozomal içeriklerinin arttığını, dolayısıyla proinflamatuvar yanıtın sürdüğünü düşündürmektedir. Bunun yanında mTOR yolağının, glikoliz ve glikojen sentezi aktivasyonunda görev aldığı bilinmektedir. mTORC1, çeşitli moleküller üzerinden glikoz alımını arttırmaktadır. AKT sinyali aracılığıyla, glikojen sentaz aktive edilerek hücrede glikojen birikimine yol açmaktadır (Semenza, 2013). Ek olarak mTORC1'in otofajiyi baskıladığı da bilinmektedir (Saxton ve Sabatini, 2017). Bunun sonucunda da yıkım azaldığı için glikojen depolanması kolaylaşmaktadır. Bu mekanizma, insülin direnci ve kanser hücrelerinde tanımlanmıştır (Stanciu ve ark., 2024). Bu tezde kullanılan çalışma grubu dokularında meydana gelen PAS pozitifliğinin aktiveleşen AKT-mTOR sinyali ile ve otofajinin baskılanması sebebiyle hücrelerde biriken glikojen olduğu düşünülmektedir. Yani FCGS'de, PAS pozitifliğinin dolaylı olarak mTOR tarafından meydana geldiği düşünülmektedir. mTOR sinyal yolu ayrıca epitel hücrelerinin büyüme, proliferasyon ve metabolik düzenlemelerinde de merkezi bir rol oynamaktadır (Saxton ve Sabatini, 2017). Bu çalışmada da, epitel katmandaki PAS pozitifliğinin, hücrelerin proliferatif ve metabolik aktivitelerinin yükselmesi sonucu olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, mTOR sinyal yolunun makrofaj ve diğer yangısal hücrelerin aktivasyonunda ve metabolik düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Suto ve Karonitsch, 2020). Bu bağlamda, gözlenen PAS pozitifliğinin, mTOR aracılı hücreyel yanıtların dolaylı bir yansıması olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu ilişki daha ileri moleküler çalışmalarla desteklenmelidir.

FCGS ile ilgili yapılan literatür taramasında, Hematoksilen & Eozin boyamalarında epitelde belirgin hiperplazi, akantozis, parakeratoz ve vakuoler dejenerasyonun bildirildiği görülmüştür. Şiddetli olgularda ise bunlara ek olarak, yaygın spongiyozis ve ülserlerin eşlik ettiği raporlanmıştır (Harley ve ark., 2011). Bu epitel değişikliklerine eşlik eden lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlar ağırlıklı olmak üzere mast hücresi, mott hücresi ve özellikle ülserasyon alanında yoğunlaşmış nötrofil lökositlerden oluşan yaygın yangısal infiltrasyonun görüldüğü belirtilmiştir. Ayrıca bazı olgularda granülasyon dokusunun varlığı, iyileşme sürecinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Lee ve ark., 2020; Rolim ve ark., 2017). Sunulan çalışmada ise Hematoksilen & Eozin boyama ile elde edilen histopatolojik bulgular, literatürde daha önce bildirilen raporlar ile benzerlik göstermektedir. Nekroz, akantozis gibi tipik oral histopatolojik lezyonlara ek olarak sunulan çalışmadaki bazı olgularda, yangısal infiltrasyonun özellikle perivasküler yerleşimli olduğu dikkati çekmiştir. Gingivostomatitise ek olarak sialoadenitis tanısı alan birkaç olguda ise tükürük bezi ve kanalları çevresinde de belirgin yangısal infiltrasyonun olduğu gözlenmiştir. Yine literatüre ek olarak, yapılan Pearson korelasyon analizi sonucunda; lenfosit, plazma hücresi ve mott hücreleri arasında güçlü korelasyonların olduğu görüldü. Bu durum hücresel ve humoral bağışıklığın FCGS patogenezinde birlikte rol oynadığını ve bu hücre popülasyonlarının özellikle lamina propria tabakasında birlikte yer alması, kronikleşmiş bir antijenik stimülasyonun göstergesi olduğunu düşündürmektedir. Diğer yandan, total lezyon skoru (TLS) ile vaskülitis arasında da anlamlı bir pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu bulgu damar duvarı hasarının, lezyonun genel şiddetinin önemli bir belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir. Vasküler inflamasyonun hem hücre infiltrasyonu hem de doku hasarını artırıcı etkisi nedeniyle hastalığın progresif doğasında önemli bir rol oynayabileceği değerlendirilmiştir.

Moleküler biyolojide, spesifik biyobelirteçlerin hücresel ve doku düzeyindeki analizleri için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları, gen ekspresyon düzeylerini yüksek hassasiyetle ölçen Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) veya protein miktarını belirleyen Western Blot (WB) gibi yöntemlerdir. Ancak, bu

teknikler genellikle doku homojenatları üzerinde çalıştığı için incelenen proteinin veya genin hücre içi kesin lokalizasyonu ve doku mimarisi içerisindeki dağılımı hakkında bilgi sağlayamazlar (Creager, 2020; Sambrook ve Russell, 2006). Bu kısıtlamanın aksine, immunohistokimya (IHC), doku örneklerinde spesifik proteinlerin hücresel lokalizasyonunu ve ekspresyon düzeylerini morfolojik bağlamı koruyarak ortaya çıkarmak için kullanılan vazgeçilmez bir yöntemdir (Ramos-Vara, 2005). Sunulan çalışmanın amacı, moleküler biyobelirteçlerin doku mimarisi içindeki lokalizasyonunu görselleştirmek olduğundan, CD79a, CD3, Iba1, EGFR, mTOR ve FKBP12 ekspresyonları immunohistokimyasal yöntemle incelenmiştir.

Sağlıklı oral mukozaya sahip 19 kedide, lökosit alt gruplarının karakterize edilmesini sağlamak amacıyla immunohistokimyasal yöntemle CD3, CD4, CD8, CD79a, IgG, IgM, IgA ve L1 ekspresyonlarının değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır (Harley ve ark., 2003). Bu çalışmanın sonucuna göre, CD3 ve CD8 ekspresyonları daha yaygın olarak çok katlı yassı epitelde görülürken, CD4 ekspresyonunun ise lamina propria ve submukozada daha yaygın olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında, CD79a ekspresyonunun lamina propriada seyrek olarak ve tükürük bezi stromal dokusunda daha fazla görüldüğü raporlanmıştır. Aynı bilim insanlarının yaptığı diğer bir çalışmada ise aynı antikorlar immunohistokimyasal olarak, FCGS'li kedi dokularında incelenmiştir. Bu çalışmada ise sağlıklı kedilerin ağız mukozası örnekleriyle karşılaştırıldığında, FCGS'li kedilerde CD3, CD4, CD8, CD79a, IgG, IgM, IgA ve L1 eksprese eden hücrelerin sayısının anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. Ek olarak, CD8+ hücrelerin CD4+ hücrelere göre daha fazla sayıda olması, sitotoksik hücre aracılı immun yanıtın uyarılması sebebiyle viral bir etiyoloji ile ilişkilendirilmiştir (Harley ve ark., 2003; Harley ve ark., 2011). Vapniarsky ve ark. da (2020) yaptıkları bir çalışmada, kan ve dokuda CD8+ hücrelerinin baskın olduğunu ve viral bir etiyolojiyi destekleyen bulgular sunmuşlardır. Fakat diğer çalışmadan farklı olarak, yagısal infiltrasyonun plazma hücre baskınlığıyla birlikte lenfositik karakterde olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda T hücrelerinin mukoza ve submukozada, B ve mott hücrelerinin ise submukozada sınırlı olduğunu gözlemlemişlerdir (Vapniarsky ve ark., 2020). Sunulan çalışmanın immunohistokimyasal

bulgularına bakıldığında hem CD79a hem de CD3 ekspresyonlarının benzer lokalizasyonlarda immunopozitiflikler sergilediği görüldü. Bu lokalizasyonlar bazı olguların epitelleri ve özellikle lamina propria katmanıydı ayrıca submukozada da güçlü immunopozitiflikler mevcuttu. Yapılan Spearman korelasyon analizi sonucuna göre, epitelde CD79a ekspresyonu ile CD3 ekspresyonu arasında pozitif anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Bu nedenle elde edilen veriler, önceki çalışmalarda bildirilen FCGS'deki karmaşık immun yanıt profili ile paralellik göstermektedir. Bu bulgular hastalığın hem humoral hem de hücrel bağışıklık mekanizmalarının etkileşimiyle ilerlediğini desteklemektedir.

mTOR protein kompleksi, makrofaj polarizasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (Thomson ve ark., 2009). Makrofajlar, genellikle inflamatuvar M1 ve anti-inflamatuvar M2 fenotipleri olarak iki ana şekilde polarize olmaktadır. Dikkat çekici bir şekilde, mTOR kompleksinin etkisi hücre tipine göre farklılık göstermektedir. T hücrelerinde inflamatuvar yanıtı teşvik ederken, makrofajlarda ise daha çok anti-inflamatuvar olan M2 fenotipine yönelimi destekler (Perl, 2016). Makrofajların M2 fenotipine polarizasyonu ise, özellikle IL-4 sinyaline bağımlıdır ve mTOR sinyal yolu bu süreçte merkezi bir düzenleyici olarak görev alır. Yapılan bir çalışmaya göre, mTOR yolağının M1 fenotipli makrofajlardan daha çok M2 fenotipli makrofaj oluşumunu hızlandırması nedeniyle normalde yangıyı durdurmak için etki gösteren M2 makrofajların, lupus nefritinin patogenezinde yangıya katkı sağladıkları gösterilmiştir (Oaks ve ark., 2016). Sunulan çalışmada ise makrofaj varlığının tespiti amacıyla boyanan Iba-1 antikoru, özellikle pyogranulomatöz olgularda yoğunluk göstermekteydi. Boyanan makrofajların fenotipi araştırılmamıştır fakat aynı makrofajların mTOR'uda eksprese etmesi nedeniyle, makrofajların M2 fenotipinde olduğu düşünülmektedir. Oaks ve ark. (2016) yaptığı çalışma da göz önünde bulundurularak bu makrofajlarında, FCGS patogenezinin katkı sağlayabileceği öngörülmektedir. mTOR yolağı ayrıca TH17 hücrelerini artırarak fibroblast proliferasyonunu kontrol etmektedir (Yoshizaki ve ark., 2010). Rapamisin ile yapılan bir çalışmada, rapamisin verilmeden önce sistemik sklerozlu fare fibroblastlarında mTOR aktivasyonu varken, rapamisin sonrası fibroblastlarda hücre proliferasyonu ve

kolajen sentezinde bir baskılanma gözlemlenmiştir (Yoshizaki ve ark. 2010). Ek olarak rapamisinin böbrek, karaciğer ve miyokard gibi dokularda fibrozisi azalttığı gösterilmiştir (Chen ve ark., 2012; Yu ve ark, 2013; Zhu ve ark., 1999). Mevcut çalışmada granülom yapısı gözlenen bazı olgularda, şiddetli fibroblast aktivasyonu skorlanmıştır. Literatürde bahsedilen çalışmalar göz önüne alınarak mTOR yolağını inhibe eden rapamisinin, FCGS hastalığında da fibrozisi azaltarak hastalığın şiddetini azaltmaya ya da persistanslığını durdurmaya neden olabileceği düşünülmektedir. Fakat sunulan çalışmanın örneklem sayısı az olduğu için daha büyük örneklem grubu ile yapılan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada hücresel proliferasyon, immun yanıt ve inflamasyon süreçlerinde kritik öneme sahip olan mTOR, EGFR ve FKBP12 proteininin, kontrol ve çalışma gruplarında ekspresyon paternleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Yapılan kapsamlı literatür taraması sonucunda, FCGS'li kedilerin dokularında bu proteinlerin immunohistokimyasal ekspresyon profillerini doğrudan araştıran herhangi bir çalışmanın bulunmadığı görülmüştür. Bu nedenle mevcut çalışma, söz konusu proteinlerin FCGS'deki ekspresyon profillerini ilk kez ortaya koyarak, hastalığın patogeneze dair yeni perspektifler sunmayı amaçlamaktadır. Çalışmada elde edilen immunohistokimyasal bulgular hem mTOR hem de FKBP12 antikorlarının epitel katman, lamina propria ve submukozadaki yangısal hücre infiltrasyonlarında güçlü immunopozitiflik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu güçlü ekspresyon, aynı zamanda yeni oluşan damar endotellerinde de belirgin olarak gözlenmiştir. Yangısal hücre infiltrasyonlarında ve angiogenezis ile ilişkilendirilebilecek yeni oluşan damar endotellerinde saptanan bu belirgin ekspresyonlar, mTOR sinyal yolağının FCGS patogenezinde aktif rol oynadığını düşündürmektedir. Ayrıca, epitel katmanda eş zamanlı mTOR ve FKBP12 pozitifliği, mukozal proliferasyon ve rejenerasyon/onarım mekanizmalarının da mTOR aracılığıyla düzenlendiğine işaret etmektedir. IHC bulgularının yanı sıra yapılan istatistiksel analizde, mTOR'un FKBP12 ile anlamlılık derecesine oldukça yakın pozitif yönde bir korelasyon dikkati çekmiştir. Bu durum, FKBP12'nin mTOR'un iyi bilinen bir regülatörü olduğu biyokimyasal bilgiler ışığında gözlenen pozitif korelasyon ($r=0.312$) biyolojik olarak

beklenen yöndedir. P değerinin (0.093) eşiğe yakın olması, mevcut çalışmamızda bu veri istatistiksel analizle anlamlı bulunmasa da biyolojik bağlantının varlığını sürdürdüğünü işaret etmektedir. Daha büyük bir örneklem büyüklüğü ile yapılacak tekrar analizde, bu zayıf ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı hale gelme olasılığının yüksek olduğu düşünülmektedir.

FKBP12'nin sadece FK506 ve rapmaisinele değil, başka yollardan da hücre içi sinyal yollarını düzenlediği bilinmektedir. FKBP12, EGFR gibi reseptör kinazların ve kalsiyum kanallarının aktivitesini ayarlamaktadır (Hausch ve ark., 2013). FKBP12 kendi başına da hücre içi sinyal yollarını modüle eden adaptör proteinler gibi davranabilir. Yani yalnızca mTOR baskılanması ve kalsinörin inhibisyonu üzerinden değil, direkt olarak reseptörler ve iyon kanallarıyla etkileşerek onların duyarlılığını ve aktivite eşiğini ayarlamaktadır (Aghdasi ve ark, 2001). FKBP12, EGFR'ye bağlanarak veya yakınında adaptör görevi görerek onun bazal aktivitesini baskılayabilir. Özetle, FKBP12'nin varlığı, EGFR'nin yalnızca uygun sinyal (egf ligandı) geldiğinde aktif hale gelmesini sağlamaktadır (Hausch ve ark., 2013; Kang ve ark., 2008). Sunulan çalışmanın bulguları incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla çalışma grubu epitel dokularında, EGFR ekspresyonunun şiddetinin azaldığı veya ekspresyonların hiç görülmediği dikkati çekmiştir. Epitel katmanda FKBP12 ile EGFR arasındaki bu ilişki istatistik olarak incelendiğinde, negatif yönde bir korelasyonun varlığı dikkati çekmiştir. Fakat bu ilişki istatistiksel olarak anlamlılık değerine ulaşamamıştır. Bu bulgular ışığında FCGS hastalığında, FKBP12 proteininin sadece EGFR'nin aktivitesini değil, dolaylı yoldan total reseptör miktarını da düşürüyor olabileceği düşünülmektedir. Fakat bu düşüncenin ileri moleküler düzey çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması, etiyopatogenezi karmaşık bir hastalık olan kedilerin kronik gingivostomatitisi (FCGS) üzerindeki mast hücrelerinin ve çeşitli biyobelirteçlerin (CD3, CD79a, IBA1, mTOR, FKBP12 ve EGFR) etkilerini histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle kapsamlı bir biçimde ortaya koymuştur. Gözlenen sonuçlarda mast hücrelerinin bahsedilen hastalıkta daha etkin bir role sahip olabileceği hatta kedilerde klinik olarak gözlemlenen diş rezorpsiyonlarının sebebi olabileceği düşünülmektedir. Fakat bu hipotezin hem klinik hem de patolojik olarak daha kapsamlı deney ve gözlemlerle detaylı olarak araştırılması gerekmektedir. Bunun yanı sıra immunohistokimyasal olarak incelenen CD3 ve CD79a biyobelirteçlerinin beklenildiği gibi aynı lokalizasyonlarda ekspresyon göstermesi ve bu durumun istatistiksel olarak da anlamlı çıkması literatürde bahsedilen lenfositik-plazmositik tarzdaki yangısal karakteri desteklediği görülmüştür. Tezin asıl amacı olan mTOR molekülü ve onu regüle eden FKBP12 proteininin ekspresyonları ise, biyolojik olarak beklenildiği gibi, istatistiksel analiz sonucuna göre pozitif bir korelasyonu göstermektedir. Fakat bu fark istatistiksel eşiğin altında kalmıştır. Ancak p değerinin eşiğe çok yakın olması mevcut çalışmada istatistiksel anlamlılığın yetersiz kaldığını dolayısıyla biyolojik bağlantının varlığını sürdürdüğünü işaret etmektedir.

Sonuç olarak FCGS’de, mTOR sinyal yolunun kronik inflamasyonun başlatılması ve sürdürülmesinde merkezi bir role sahip olduğu bununla birlikte FKBP12’nin ise bu süreci modüle eden önemli bir protein olduğu düşünülmektedir. Bu veriler, mTOR-FKBP12 ekseninin FCGS patogenezinde ve terapötik yaklaşımlarda dikkate değer bir yolak olabileceğine işaret etmektedir. Özellikle rapamisin gibi mTOR inhibitörlerinin, mezenkimal kök hücre nakli gibi daha karmaşık ve maliyetli tedavi yöntemlerine alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, bu bulguların kesinleştirilmesi ve klinik etkinliğin doğrulanması amacıyla, daha geniş örneklem gruplarıyla ileri moleküler ve fonksiyonel analizlerin yapılması gereklidir.

KAYNAKLAR

Aghdasi B, Ye K, Resnick A, Huang A, Ha H, Guo X, Dawson T, Dawson VL, Snyder SH (2001). FKBP12, the 12-kDa FK506-binding protein, is a physiologic regulator of the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **98**(5), 2425-2430.

Arzi B, Mills-Ko E, Verstraete FJM, Kol A, Walker NJ, Badgley MR, Fazel N, Murphy WJ, Vapniarsky N, Borjesson DL (2016). Therapeutic efficacy of fresh autologous mesenchymal stem cells for severe refractory gingivostomatitis in cats. *Stem Cells. Transl. Med.*, **5**, 75-86.

Arzi B, Murphy B, Cox DP, Vapniarsky N, Kass PH, Verstraete FJ (2010). Presence and quantification of mast cells in the gingiva of cats with tooth resorption, periodontitis and chronic stomatitis. *Archives of oral biology*, **55**(2), 148-154.

Astsaturov IA, Matutes E, Moilla R, Seon BK, Mason DY, Farahat N, Catovsky D (1996). Differential expression of B29 (CD79b) and mb-1 (CD79a) proteins in acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia*, **10**(5), 769-773.

Banaszynski LA, Liu CW, Wandless TJ (2005). Characterization of the FKBP-rapamycin-FRB ternary complex. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**(13), 4715-4721.

Bartold, PM, Walsh LJ, Narayanan AS (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology*, **24**, 28-55.

Bellows J (2022). *Feline dentistry*. John Wiley & Sons., New York, p: 3-5.

Bergmeier LA (Ed.). (2018). *Oral mucosa in health and disease: A concise handbook*. Springer, Cham., p: 1-18.

Biner MM (2023). Sıçanda insizyon yara modellerinde domuz yağı ile mupirosin pomadın yara iyileşmesi etkilerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Türkiye.

Buccheri V, Mihaljević B, Matutes E, Dyer MJ, Mason DY, Catovsky D (1993). mb-1: A new marker for B-lineage lymphoblastic leukemia. *Br. J. Haematol.*, **85**, 274-281.

Chen G, Chen H, Wang C, Peng Y, Sun L, Liu H, Liu F (2012). Rapamycin ameliorates kidney fibrosis by inhibiting the activation of mTOR signaling in interstitial macrophages and myofibroblasts. *PloS one*. **7**(3), e33626.

Chiappetta N, Gruber B (2006). The role of mast cells in osteoporosis. *Semin. Arthritis Rheum.*, **36**, 32-36.

Chu PG, Arber DA (2001). CD79: A review. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.*, **9**, 97–106.

Chung J, Kuo CJ, Crabtree GR, Blenis J (1992). Rapamycin-FKBP specifically blocks growth-dependent activation of and signaling by the 70 kd S6 protein kinases. *Cell*, **69**, 1227–1236.

Coquillard C, Vilchez V, Marti F, Gedaly R (2015). mTOR signaling in regulatory T cell differentiation and expansion. *SOJ. Immunol.*, **3**, 1–10.

Creager AN (2020). Recipes for recombining DNA: a history of molecular cloning: a laboratory manual. *BJHS. Themes.*, **5**, 225–243.

Dewhirst FE, Klein EA, Bennett ML, Croft JM, Harris SJ, Marshall-Jones ZV (2015). The feline oral microbiome: A provisional 16S rRNA gene based taxonomy with full-length reference sequences. *Vet. Microbiol.*, **175**, 294–303.

Diehl K, Rosychuk RA (1993). Feline gingivitis-stomatitis-pharyngitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **23**, 139–153.

Dolieslager SM, Riggio MP, Lennon A, Lappin DF, Johnston N, Taylor D, Bennett D (2011). Identification of bacteria associated with feline chronic gingivostomatitis using culture-dependent and culture-independent methods. *Vet. Microbiol.*, **148**, 93–98.

Düvel K, Yecies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, Triantafellow E, Ma Q, Gorski R, Cleaver S, Vander Heiden MG, MacKeigan JP, Finan PM, Clish CB, Murphy LO, Manning BD (2010). Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex, *Mol. Cell.*, **39**, 171–183.

Eng CP, Sehgal SN, Vezina C (1984). Activity of rapamycin (AY-22, 989) against transplanted tumors. *J. Antibiot.*, **37**, 1231–1237.

Ethier SP (2002). Signal transduction pathways: The molecular basis for targeted therapies. *Semin. Radiat. Oncol.*, **12**, 3–10.

Faivre S, Kroemer G, Raymond E (2006). Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 671–688.

Fallon MD, Whyte MP, Teitelbaum SL (1981). Systemic mastocytosis associated with generalized osteopenia: Histopathological characterization of the skeletal lesion using undecalcified bone from two patients. *Hum. Pathol.*, **12**, 813–820.

Feng Z, Zhang H, Levine AJ, Jin S (2005). The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 8204–8209.

Fox JG, Perkins S, Yan L, Shen Z, Attardo L, Pappo J (1996). Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *H. pylori* in saliva, gastric fluid and faeces. *Immunology*, **88**, 400-406.

Girard N, Servet E, Biourge V, Hennet P (2009). Periodontal health status in a colony of 109 cats. *J. Vet. Dent.*, **26**, 147–155.

Gu Z, Tan W, Ji J, Feng G, Meng Y, Da Z, Guo G, Xia Y, Zhu X, Shi G, Cheng C (2016). Rapamycin reverses the senescent phenotype and improves immunoregulation of mesenchymal stem cells from MRL/lpr mice and systemic lupus erythematosus patients through inhibition of the mTOR signaling pathway. *Aging (Albany NY)*., **8**, 1102-1114.

Gümüş ZZ, Soypaçacı Z, Akar S (2019). mTOR yolağı ve romatolojik hastalıklardaki rolü. *J. Turk. Soc. Rheumatol.*, **11**, 132-156.

Hanahan D, Weinberg RA (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, **144**, 646–674.

Harley R, Gruffydd-Jones TJ, Day MJ (2003). Characterization of immune cell populations in oral mucosal tissue of healthy adult cats. *J. Comp. Pathol.*, **128**, 146–155.

Harley R, Gruffydd-Jones TJ, Day MJ (2003). Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis. *Vet. Rec.*, **152**, 125–129.

Harley R, Gruffydd-Jones TJ, Day MJ (2011). Immunohistochemical characterization of oral mucosal lesions in cats with chronic gingivostomatitis. *J. Comp. Pathol.*, **144**, 239–250.

Harris S, Croft J, O’Flynn C, Deusch O, Colyer A, Allsopp J, Miella L, Davis IJ (2015). A pyrosequencing investigation of differences in the feline subgingival microbiota in health, gingivitis and mild periodontitis. *PloS one*, **10(11)**, e0136986.

Harvey CE (2004). *The Oral Cavity*. Feline Medicine and Therapeutics, 3. baskı, Blackwell Publishing, Oxford, p: 379-395.

Harvey CE, Campbell D (1989). *Neutrophil function in cats with chronic gingivitis-stomatitis*. Proceedings of the Veterinary Dental Forum. USA, p: 12–13.

Hausch F, Kozany C, Theodoropoulou M, Fabian AK (2013). FKBP and the Akt/mTOR pathway. *Cell Cycle*, **12**, 2366-2370.

Hennet PR, Harvey CE (1991). Spirochetes in periodontal disease in the dog: a review. *J. Vet. Dent.*, **8**, 16–17.

Herbst RS, Langer CJ (2002). Epidermal growth factor receptors as a target for cancer treatment: The emerging role of IMC-C225 in the treatment of lung and head and neck cancers. *Semin. Oncol.*, **29**, 27–36.

Hietakangas V, Cohen SM (2008). TOR complex 2 is needed for cell cycle progression and anchorage-independent growth of MCF7 and PC3 tumor cells. *BMC Cancer*, **8**, 1–8.

Holz MK, Ballif BA, Gygi SP, Blenis J (2005). mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events. *Cell*, **123**, 569–580.

Huang S, Houghton PJ (2003). Targeting mTOR signaling for cancer therapy. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **3**, 371–377.

Ikawa Y, Yonekawa T, Ohkuni Y, Kuribayashi M, Fukino K, Ueno K (2007). A comparative study of histamine activities on differentiation of osteoblasts and osteoclasts. *J. Toxicol. Sci.*, **32**, 555–564.

Kang CB, Hong Y, Dhe-Paganon S, Yoon HS (2008). FKBP family proteins: immunophilins with versatile biological functions. *NeuroSignals*, **16**, 318–325.

Katrin D, Jessica LY, Suchithra M, Pichai R, Alex IL, Amanda LS, Ellen T, Qicheng M, Regina G, Stephen C, Matthew GVH, Jeffrey PM, Peter MF, Clary BC, Leon OM, Brendan DM (2010). Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol. Cell.*, **39**, 171–183.

Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL (2011). AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat. Cell Biol.*, **13**, 132–141.

Kouki MI, Papadimitriou SA, Psalla D, Kolokotronis A, Rallis TS (2017). Chronic gingivostomatitis with esophagitis in cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **31**, 1673–1679.

Kunz J, Henriquez R, Schneider U, Deuter-Reinhard M, Movva NR, Hall MN (1993). Target of rapamycin in yeast TOR2 is an essential phosphatidylinositol kinase homolog required for G1 progression. *Cell*, **73**, 585–596.

Kurtin P, Hobday KS, Ziesmer S, Caron BL (1999). Demonstration of distinct antigenic profiles of small B-cell lymphomas by paraffin section immunohistochemistry. *Am. J. Pathol.*, **112**, 319–329.

Küçüköner M (2013). Kanser tedavisinde mTOR sinyal yolağı ve mTOR inhibitörleri. *Dicle Tıp Derg.*, **40**, 156–160.

Lee DB, Verstraete FJ, Arzi B (2020). An update on feline chronic gingivostomatitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **50**, 973–985.

Li S, Oh YT, Yue P, Khuri FR, Sun SY (2016). Inhibition of mTOR complex 2 induces GSK3/FBXW7-dependent degradation of sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1) and suppresses lipogenesis in cancer cells. *Oncogene*, **35**, 642–650.

Lommer MJ, Verstraete FJM (2003). Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiol. Immunol.*, **18**, 131–134.

Luntzer K, Lackner I, Weber B, Mödinger Y, Ignatius A, Gebhard F, Kalbitz M (2021). Increased presence of complement factors and mast cells in alveolar bone and tooth resorption. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 1-16.

Martel RR, Klicius J, Galet S (1977). Inhibition of the immune response by rapamycin a new antifungal antibiotic. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **55**, 48-51.

Mason DY, Cordell JL, Brown MH, Borst, J, Jones M, Pulford K, Jaffe E, Ralfkiaer E, Dallenbach F, Stein H, Pileri SA, Gatter KC (1995). CD79a: A novel marker for B-cell neoplasms in routinely processed tissue samples. *Blood*, **86**, 1453–1459.

Masri J, Bernath A, Martin J, Jo OD, Vartanian R, Funk A, Gera J (2007). mTORC2 activity is elevated in gliomas and promotes growth and cell motility via overexpression of rictor. *Cancer Res.*, **67**, 11712–11720.

Morviducci L, Rota F, Rizza L, Di Giacinto P, Ramponi S, Nardone MR, Tubili C, Lenzi A, Zuppi P, Baldelli R (2018). Everolimus is a new anti-cancer molecule: Metabolic side effects as lipid disorders and hyperglycemia. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **143**, 428–431.

Naeim F (2012). *Atlas of hematopathology: morphology, immunophenotype, cytogenetics, and molecular approaches*. Academic. Press., Boston, p:450-455.

Niemiec BA (2010). *A colour handbook of small animal dental and oral maxillofacial disease*. Manson Publishing, London, p:120-125.

Oaks Z, Winans T, Huang N, Banki K, Perl A (2016). Activation of the mechanistic target of rapamycin in SLE: explosion of evidence in the last five years. *Curr. Rheumatol. Rep.*, **18**, 73.

Ozcan O, Dikmen M (2015). mTOR inhibitors in the treatment of cancer. *Marmara Pharm. J.*, **19**, 123–130.

Özer K (1999). *Küçük hayvan dış hekimliği*. Teknik Yayınları, İstanbul, s: 1–250.

Pende M, Kozma SC, Jaquet M, Oorschot V, Burcelin R, Le Marchand-Brustel, Klumperman J, Thorens B, Thomas, G. (2000). Hypoinsulinaemia, glucose intolerance and diminished β -cell size in S6K1-deficient mice. *Nature*, **408**, 994–997.

Peralta S, Carney PC (2019). Feline chronic gingivostomatitis is more prevalent in shared households and its risk correlates with the number of cohabiting cats. *J. Feline Med. Surg.*, **21**, 1165–1171.

Perl A (2015). mTOR activation is a biomarker and a central pathway to autoimmune disorders, cancer, obesity, and aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1346**, 33–44.

Perl A (2016). Activation of mTOR (mechanistic target of rapamycin) in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, **12**, 169–182.

Peterson TR, Laplante M, Thoreen CC, Sancak Y, Kang SA, Kuehl WM, Gray NS, Sabatini DM (2009). DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival. *Cell*, **137**, 873–886.

Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, Guertin DA, Madden KL, Carpenter AE, Finck BN, Sabatini DM (2011). mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell*, **146**, 408–420.

Presnell JK, Schreibman MP, Humason GL (1997). *Humason's animal tissue techniques*. Johns Hopkins University Press., p. 108-115, 305-6.

Prieur DJ, Collier LL (1987). Neutropenia in cats with the Chediak-Higashi syndrome. *Can. J. Vet. Res.*, **51**, 407–410.

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

Reubel GH, Hoffmann DE, Pedersen NC (1992). Acute and chronic faucitis of domestic cats: A feline calicivirus-induced disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **22**, 1347–1360.

Rodrigues MX, Bicalho RC, Fiani N, Lima SF, Peralta S (2019). The subgingival microbial community of feline periodontitis and gingivostomatitis: characterization and comparison between diseased and healthy cats. *Sci. Rep.*, **9**, 12340.

Rolim VM, Pavarini SP, Campos FS, Pignone V, Faraco C, Muccillo M de S, Roehe PM da Costa FVA, Driemeier D (2017). Clinical, pathological, immunohistochemical and molecular characterization of feline chronic gingivostomatitis. *J. Feline Med. Surg.*, **19**, 403–409.

Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH (1994). RAFTI: A mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell*, **78**, 35–43.

Sakis ER, Machado TP, Setim DH, Melatti L, da Motta AC (2019). Feline lymphoplasmacytic gingivostomatitis: Clinical and anatomopathological aspects. *Acta. Sci. Vet.*, **47**, 1–8.

Salomon DS, Brandta R, Ciardiello F, Normanno N (1995). Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **19**, 183–232.

Sambrook J, Russell DW (2006). *The condensed protocols from molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, p: 100–115.

Sarbassov DD, Ali SM, Sengupta S, Sheen JH, Hsu PP, Bagley AF, Markhard AL, Sabatini DM (2006). Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol. Cell.*, **22**, 159–168.

Sarkar S, Rubinsztein DC (2008). Small molecule enhancers of autophagy for neurodegenerative diseases. *Med. Res. Rev.*, **27**, 434–455.

Saxton RA, Sabatini DM (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, **168**, 960–976.

Sehgal SN, Baker H, Vézina C (1975). Rapamycin (AY-22, 989), a new antifungal antibiotic II. Fermentation, isolation and characterization. *J. Antibiot.*, **28**, 727–732

Semenza GL (2013). Review series HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations. *J. Clin. Invest.*, **123**, 3664–3671.

Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987). **Human breast cancer:** Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, **235**, 182–191.

Soltero-Rivera M, Goldschmidt S, Arzi B (2023). Feline chronic gingivostomatitis current concepts in clinical management. *J. Feline Med. Surg.*, **25**, 652–664.

Squier C, Brogden A (2011). *Human oral mucosa development, structure, and function*. Wiley-Blackwell, Hoboken, p:20-50.

Stanciu SM, Jinga M, Miricescu D, Stefani C, Nica RI, Stanescu-Spinu II, Vacaroiu IA, Greabu M, Nica S (2024). mTOR dysregulation, insulin resistance, and hypertension. *Biomedicines*, **12(8)**, 1802.

Sturgeon A, Pinder S, Costa M, Journal JWTV (2014). Characterization of the oral microbiota of healthy cats using next-generation sequencing. *J. Vet. Dent.*, **31**, 41–48.

Suto T, Karonitsch T (2020). The immunobiology of mTOR in autoimmunity. *J. Autoimmun.*, **110**, 102373.

Tenorio AP, Franti CE, Madewell BR, Pedersen NC (1991). Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **29**, 135–149.

Thomson AW, Turnquist HR, Raimondi G (2009). Immunoregulatory functions of mTOR inhibition. *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 324–337.

Vapniarsky N, Simpson DL, Arzi B, Taechangam N, Walker NJ, Garrity C, Bulkeley E, Borjesson DL (2020). Histological, immunological, and genetic analysis of feline chronic gingivostomatitis. *Front. Vet. Sci.*, **7**, 310.

Vergès B, Cariou B (2015). MTOR inhibitors and diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **110**, 101–108.

Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN (1975). Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot.*, **28**, 721–726.

White SD, Rosychuk RA, Janik TA, Denerolle P, Schultheiss P (1992). Plasma cell stomatitis-pharyngitis in cats 40 cases (1973-1991)., *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **200**, 1377-1380.

Williams CA, Aller MS (1992). Gingivitis/stomatitis in cats. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.*, **22**, 1361–1383.

Winer JN, Arzi B, Verstraete FJM (2016). Therapeutic management of feline chronic gingivostomatitis: A systematic review of the literature. *Front. Vet. Sci.*, **3**, 54.

Yang Q, Guan KL (2007). Expanding mTOR signaling. *Cell. Res.*, **17**, 666–681.

Yoshizaki A, Yanaba K, Yoshizaki, A, Iwata Y, Komura K, Ogawa F, Takenaka M, Shimizu K, Asano Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Sato S (2010). Treatment with rapamycin prevents fibrosis in tight-skin and bleomycin-induced mouse models of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.*, **62(8)**, 2476-2487.

Yu SY, Liu L, Li P, Li J (2013). Rapamycin inhibits the mTOR/ p70S6K pathway and attenuates cardiac fibrosis in adriamycininduced dilated cardiomyopathy. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* **61**, 223–228.

Zachary JF, McGavin MD (2012). *Pathologic basis of veterinary disease* (5th ed.). Elsevier Health Sciences, St. Louis., p:809-890.

Zhang X, Wang LP, Ziober A, Zhang PJ, Bagg A (2021). Ionized calcium binding adaptor molecule 1 (IBA1). *Am. J. Clin. Pathol.*, **156**, 86–99.

Zhu J, Wu J, Frizell E, Liu S, Bashey R, Rubin R, Norton P, Zern MA (1999). Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology*. **117**, 1198-1204.



