

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
BİY-DR-2009-0002

*Myotis myotis*' İN (BÜYÜK FAREKULAKLI YARASA)  
EMBRIYO GELİŞİM EVRELERİ VE BU  
EVRELERDEKİ BAZI HÜCRELERARASI MADDE  
BİLEŞENLERİNİN DAĞILIMININ İNCELENMESİ

Emine Pınar PAKSUZ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Kurtuluş OLGUN  
Doç. Dr. Sibel HAYRETDAG

AYDIN-2009

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Emine Pınar PAKSUZ tarafından hazırlanan “*Myotis myotis*’in (Büyük Farekulaklı Yarasa) Embriyo Gelişim Evreleri ve Bu Evrelerdeki Bazı Hücrelerarası Madde Bileşenlerinin Dağılımının İncelenmesi” başlıklı tez 26 / 05 / 2009 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan:	.....	.....	.....
Üye :	.....	.....	.....
Üye :	.....	.....	.....
Üye :	.....	.....	.....
Üye :	.....	.....	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... sayılı kararıyla ...../...../2009 tarihinde onaylanmıştır.

Unvanı, Adı Soyadı  
Enstitü Müdürü

**İNTİHAL BEYAN SAYFASI**

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı :

İmza :

## ÖZET

Doktora Tezi

### ***Myotis myotis*' İN (BÜYÜK FAREKULAKLI YARASA) EMBRİYO GELİŞİM EVRELERİ VE BU EVRELERDEKİ BAZI HÜCRELERARASI MADDE BİLEŞENLERİNİN DAĞILIMININ İNCELENMESİ**

Emine Pınar PAKSUZ

Adnan Menderes Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kurtuluş OLGUN,  
II. Danışman: Doç. Dr. Sibel HAYRETDAG

Bu çalışmada öncelikle Kırklareli/Koyunbaba Mağarası' nda yaşayan *Myotis myotis* türünün embriyonik gelişim evrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla gebelik süresince dişi bireylerden embriyo örnekleri alınmış ve embriyoların gelişim evreleri belirlenmiştir. İlaveten belirlenen evrelerdeki bazı hücrelerarası madde bileşenlerinin dağılımı ele alınmıştır. Evreleri belirlenen embriyolardan kesitler alınmış ve immünohistokimyasal boyama yöntemi ile boyanmıştır. Belirlenen evrelerdeki farklı organlarda laminin ve fibronektin dağılımı incelenmiştir.

Bu çalışmada *Myotis myotis* (Büyük farekulaklı yarasa) türü için 15 gelişim evresi, gebe dişi bireylerden elde edilen embriyolardan eksternal morfolojik özelliklere dayanarak belirlenmiştir. Bunlara ilaveten bilaminar blastosit evresi ise histolojik olarak uterustan alınan kesitlerde tespit edilmiştir. Belirlenen evrelerden iki tabakalı embriyo, Evre 10, Evre 11, Evre 14, Evre 16 ve Evre 18' ait embriyolardan alınan histolojik kesitlerde immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılarak hücrelerarası madde bileşenlerinden olan laminin ve fibronektin dağılımı incelenmiştir. Erken evredeki embriyo kesitlerinde yoğun bir fibronektin dağılımı gözlenmiştir. Embriyonel diski oluşturan hücreler etrafında da laminin tespit

edilmiştir. Aynı bölgelerde fibronektin yoğunluğunun daha fazla olduğu belirlenmiştir. Gelişme ilerledikçe fibronektin yoğunluğu gittikçe azalmıştır. Evre 10, 11, 14, 16 ve 18’de somit, göz, mide, barsak, karaciğer, pankreas, akciğer, böbrek, kalp ve koroid pleksusda laminin yoğunluğunun fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu evrelerde fibronektin pozitif reaksiyon vermiş olsa da lamininden daha az yoğun olduğu kaydedilmiştir.

**2009, 121 sayfa**

### **Anahtar Sözcükler**

Chiroptera, embriyonik evrelendirme sistemi, embriyogenez, laminin, fibronektin

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### **EMBRYONIC DEVELOPMENT STAGES OF *Myotis myotis* (LARGE MOUSE-EARED BAT) AND DISTRIBUTION OF SOME EXTRACELLULAR MATRIX COMPOUNDS IN THESE STAGES**

Emine Pınar PAKSUZ

Adnan Menderes University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Kurtuluş OLGUN  
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG

Aim of this study was to determine embryonic stages of *Myotis myotis* species living in Kırklareli/Koyunbaba Cave. For this purpose, embryo samples from female specimens were taken during pregnancy and embryonic stages were determined. Additionally distribution of some extracellular matrix compounds in these stages were evaluated. Sections were taken from known embryos at determined stages and stained immunohistochemically. Distribution of laminin and fibronectin at different organs was also investigated in determined stages.

In this study, a total of 15 stages were established for *Myotis myotis* (Large mouse-eared bat), based on external morphological features of embryos obtained from pregnant females. In addition bilaminar blastocyst stage was examined histologically from sections of the uterus. Distribution of extracellular matrix compounds laminin and fibronectin at sections from bilaminar embryo, stage 10, stage 11, stage 14, stage 16 and stage 18 were investigated by using immunohistochemical staining method. On sections of early embryos, high fibronectin density was observed. Laminin was also determined around the embryonic disc. Fibronectin density was found to be higher at the same area. Fibronectin density was decreased with the progress of development. At stages 10, 11, 14, 16 and 18, laminin density was high in somites,

eye, stomach, intestine, liver, pancreas, lung, kidney, heart and choroid plexus. Although fibronectin has given positive reaction in this stages, it is recorded that fibronectin had less density then laminin.

**2009, 121 pages**

**Key Words :**

Chiroptera, embryonic staging system, embryogenesis, laminin, fibronectin

## ÖNSÖZ

Hücrelerarası madde bileşenleri, hücreler ile etkileşir ve göç, adhezyon, çoğalma, farklılaşma ve morfogenez gibi hücreyel fonksiyonları düzenler. Hücreler ve ekstrasellüler matriks arasındaki etkileşimler, erken embriyoda hücre göçü, organ oluşumu süresince morfogenez, hücrelerin gelişme ve farklılaşma programlarını ayarlamayı içeren pek çok önemli gelişim sürecini düzenlemede iş gören bir bilgi akışını başlatır. Hücre dışı matriksin fibrilleri, belirli yollar boyunca göç eden hücreleri yönlendiren hatlar olarak işlev görebilir. Bu çalışmada hücreler arası madde bileşenlerinden olan laminin ve fibronektinin bir memeli hayvan olan *Myotis myotis* türüne ait farklı embriyolardaki dağılımı tespit edilmiştir.

Tez çalışmalarım süresince desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Prof. Dr. Kurtuluş OLGUN' a, materyallerimin immünohistokimyasal olarak hazırlanması, verilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen II. danışman hocam Doç. Dr. Sibel HAYRETDAG' a, arazi çalışmalarımıdaki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN' a, tezimin her aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm Arş. Gör. Serbüent PAKSUZ' a ve her zaman bana destek olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

“*Myotis myotis*’ in (Büyük Farekulaklı Yarasa) Embriyo Gelişim Evreleri ve Bu Evrelerdeki Bazı Hücrelerarası Madde Bileşenlerinin Dağılımının İncelenmesi” adlı ve FBE-08037 numaralı proje ile yürütülen tez çalışmam Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.



## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY SAYFASI</b> .....	i
<b>İNTİHAL BEYAN SAYFASI</b> .....	ii
<b>ÖZET</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>ÖNSÖZ</b> .....	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	x
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xvii
<b>I- GİRİŞ</b> .....	1
<b>II- KURAMSAL TEMELLER</b> .....	8
<b>A- Ekstrasellular Matrisin (ECM) Yapısı</b> .....	8
<b>1- Kollajen</b> .....	9
<b>2- Elastin</b> .....	9
<b>3- Proteoglikanlar</b> .....	9
<b>4- Yapısal Glikoproteinler</b> .....	12
<b>a- Laminin</b> .....	14
<b>b- Fibronektin</b> .....	16
<b>III- MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	21
<b>A- Materyal</b> .....	21
<b>1- Çalışma Alanı</b> .....	21
<b>2- Örneklerin Laboratuara Getirilmesi ve Dokuların Alınması</b> .....	21
<b>3- İmmünohistokimyasallar</b> .....	24
<b>B- Yöntem</b> .....	26
<b>1- Vücut Ölçüleri ve Oranları</b> .....	26
<b>2- Evrelerin Belirlenmesi</b> .....	26
<b>3- Kesitler</b> .....	27
<b>4- Histolojik İncelemeler</b> .....	27
<b>5- Embriyoların İmmünohistokimyasal Boyanması</b> .....	28
<b>IV- BULGULAR</b> .....	29
<b>A- Evreler</b> .....	29
<b>B- Farklı evrelerdeki laminin ve fibronektin dağılımı</b> .....	45

<b>V- TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>90</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>100</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>118</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simge</b>	<b>Açıklama</b>
%	Yüzde konsantrasyon
μ	Mikron
°C	Celcius
D	Doğu
K	Kuzey
km	Kilometre
m	Metre
M	Molarite
AEC	3- amino- 9- etil karbazol
AEK	Apikal ektodermal kalınlaşma
APAAP	Alkali fosfataz- anti- alkali fosfataz
cFn	Hücre sel fibronektin
CN	4- kloro-1- naftol
CRL	Tepe-oturma noktası uzunlukları
DAB	3,3- Diaminobenzidin
ECM	Ekstrasellular matriks
EHS	Engelbreth-Holm-Swarm
FN	Fibronektin
GAG	Glikozaminoglikan
NK	Nöral krest
PAP	Peroksidaz-anti-peroksidaz
PBS	Fosfat tamponu
pFn	Plazma fibronektin
RGD	Arjinin-Glisin-Aspartat
RGDS	Arjinin-Glisin-Aspartat Serin

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bir proteoglikan molekülünün şematik yapısı .....	10
Şekil 2.2 Laminin molekülünün sistematik şekli .....	14
Şekil 2.3 Fibronektinin alan yapısı .....	18
Şekil 3.1 Koyunbaba Mağarasının Trakya Bölgesindeki konumunu gösteren harita .....	21
Şekil 3.2 Koyunbaba mağarasında tavanda asılı olan yarasalar .....	22
Şekil 3.3 Embryosuz ve embriyo taşıyan uterusları gösteren şekil .....	23
Şekil 3.4 Direkt metodta antijen – antikör birleşmesinin şematik olarak gösterilmesi .....	24
Şekil 3.5 Peroksidaz- anti- peroksidaz tekniğinin şematik olarak gösterilmesi .	25
Şekil 4.1. <i>Myotis myotis</i> türünün gelişim evreleri .....	30
Şekil 4.2 10. evredeki embriyonun ventralden görünümü .....	31
Şekil 4.3 11. evredeki embriyonun görünümü .....	32
Şekil 4.4 12. evredeki embriyonun görünümü .....	33
Şekil 4.5 13. evredeki embriyonun görünümü .....	34
Şekil 4.6 14. evredeki embriyonun görünümü .....	35
Şekil 4.7 15. evredeki embriyonun görünümü .....	36
Şekil 4.8 16. evredeki embriyonun görünümü .....	37
Şekil 4.9 17. evredeki embriyonun görünümü .....	38
Şekil 4.10 18. evredeki embriyonun görünümü .....	39
Şekil 4.11 19. evredeki embriyonun görünümü .....	40
Şekil 4.12 20. evredeki embriyonun görünümü .....	41
Şekil 4.13 21. evredeki embriyonun görünümü .....	42
Şekil 4.14 22. evredeki embriyonun görünümü .....	43
Şekil 4.15 23. evredeki embriyonun görünümü .....	43
Şekil 4.16 24. evredeki embriyonun görünümü .....	44
Şekil 4.17 Bilaminar blastosit .....	46
Şekil 4.18 Bilaminar blastosist evresinde laminin dağılımı .....	47
Şekil 4.19 Bilaminar blastosit evresinde fibronektin dağılımı .....	47
Şekil 4.20 Evre 10 embriyonun transversal kesitinin genel görünümü .....	48

Şekil 4.21 10 evredeki embriyonun transversal kesitinde laminin dağılımı .....	49
Şekil 4.22 10 evredeki embriyonun transversal kesitinde fibronektin dağılımı .	49
Şekil 4.23 11. evredeki embriyonun transversal kesiti .....	50
Şekil 4.24 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde laminin dağılımı .....	51
Şekil 4.25 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde fibronektin dağılımı .....	51
Şekil 4.26 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde kalp bölgesinde laminin dağılımı .....	52
Şekil 4.27 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde kalp bölgesinde fibronektin dağılımı .....	52
Şekil 4.28 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde posterior bölgede laminin dağılımı .....	53
Şekil 4.29 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde posterior bölgede fibronektin dağılımı .....	53
Şekil 4.30 14. evredeki embriyonun sagittal kesiti .....	55
Şekil 4.31 14.evredeki embriyonun kesitlerinde baş bölgesindeki serbest mezenşimal hücrelerde ve gözde kapsül ve mercekteki laminin dağılımı .....	56
Şekil 4.32 14.evredeki embriyonun kesitlerinde baş bölgesindeki serbest mezenşimal hücrelerde ve gözde kapsül ve mercekteki fibronektin dağılımı .....	56
Şekil 4.33 14. evredeki embriyo kesitlerinde gözde laminin dağılımı .....	57
Şekil 4.34 14. evredeki embriyo kesitlerinde gözde fibronektin dağılımı .....	57
Şekil 4.35 14. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerin görünüşü ve laminin dağılımı .....	58
Şekil 4.36 14. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerin görünüşü ve fibronektin dağılımı .....	58
Şekil 4.37 14. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	59
Şekil 4.38 14. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	59
Şekil 4.39 14. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin	

dağılımını gösteren histolojik kesit .....	60
Şekil 4.40 14. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	60
Şekil 4.41 14 evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu .....	61
Şekil 4.42 14 evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu .....	61
Şekil 4.43 14. evredeki embriyo kesitlerinde akciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu .....	62
Şekil 4.44 14. evredeki embriyo kesitlerinde akciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu .....	62
Şekil 4.45 14 evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri etrafındaki laminin yoğunluğu .....	63
Şekil 4.46 14 evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri etrafındaki fibronektin yoğunluğu .....	63
Şekil 4.47 14. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu .....	64
Şekil 4.48 14. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronektin yoğunluğu .....	64
Şekil 4.49 14. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu .....	65
Şekil 4.50 14. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronektin yoğunluğu .....	65
Şekil 4.51 16. evredeki embriyonun sagittal kesiti .....	67
Şekil 4.52 16. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki laminin yoğunluğu ve miyoblastları oluşturmak üzere hücrelerin düzenlenmesi .....	68
Şekil 4.53 16. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki fibronektin yoğunluğu ve miyoblastları oluşturmak üzere hücrelerin düzenlenmesi .....	68
Şekil 4.54 16. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesinde laminin dağılımı .....	69
Şekil 4.55 16. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesinde fibronektin	

dağılımı .....	69
Şekil 4.56 16. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	70
Şekil 4.57 16. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	70
Şekil 4.58 16. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu .....	71
Şekil 4.59 16. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu .....	71
Şekil 4.60 16. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas bölgesindeki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	72
Şekil 4.61 16. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	72
Şekil 4.62 16. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde laminin yoğunluğu .....	73
Şekil 4.63 16. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde fibronektin yoğunluğu .....	73
Şekil 4.64 16. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübülleri etrafındaki laminin yoğunluğu .....	74
Şekil 4.65 16. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübülleri etrafındaki fibronektin yoğunluğu .....	74
Şekil 4.66 16. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu .....	75
Şekil 4.67 16. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronektin yoğunluğu .....	75
Şekil 4.68 16. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu .....	76
Şekil 4.69 16. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronektin yoğunluğu .....	76
Şekil 4.70 16. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus epitelindeki laminin dağılımı .....	77
Şekil 4.71 16. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus epitelindeki fibronektin dağılımı .....	77

Şekil 4.72 18. evredeki embriyonun transversal kesiti .....	79
Şekil 4.73 18. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki laminin yoğunluğu ve miyoblast uzaması .....	80
Şekil 4.74 18. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki fibronektin yoğunluğu ve miyoblast uzaması .....	80
Şekil 4.75 18. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	81
Şekil 4.76 18. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	81
Şekil 4.77 18. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	82
Şekil 4.78 18. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	82
Şekil 4.79 18. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu .....	83
Şekil 4.80 18. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu .....	83
Şekil 4.81 18. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas dokusundaki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	84
Şekil 4.82 18. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas dokusundaki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	84
Şekil 4.83 18. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde laminin yoğunluğu ....	85
Şekil 4.84 18. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde fibronektin yoğunluğu .....	85
Şekil 4.85 18. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri ve glomerulustaki laminin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	86
Şekil 4.86 18. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri ve glomerulustaki fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit .....	86
Şekil 4.87 18. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu .....	87
Şekil 4.88 18. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronektin yoğunluğu .....	87



Şekil 4.89 18. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu .....	88
Şekil 4.90 18. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronektin yoğunluğu .....	88
Şekil 4.91 18. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus yapısındaki laminin yoğunluğu .....	89
Şekil 4.92 18. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus yapısındaki fibronektin yoğunluğu .....	89

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Yaygın GAG' lar ve tekrarlayan disakkarit altbirimleri .....	11
Çizelge 2.2 Yapısal glikoproteinler, dokulardaki dağılımları ve fonksiyonları ..	13
Çizelge 4.1 Evrelerdeki laminin ve fibronektin yoğunluğu .....	45

## I- GİRİŞ

Memeliler sınıfı yaklaşık olarak 4800 tür içerir (Nowak, 1999). *Prototheria* (monotremes), *Metatheria* (marsupials) ve *Eutheria* olmak üzere üç altsınıfa ayrılır. Bu üç altsınıf 26 takım içermektedir. Memelileri diğer gruplardan ayıran temel özellikleri, yavrularını süt ile beslemeleri, vücutlarının kıllarla kaplı olması ve üç ortakulak kemiğine sahip olmalarıdır. Memeliler sınıfı görünüş ve işlevlerinde çok büyük bir farklılık sergilerler. 1.5 ila 2 gram ağırlığındaki küçük Kitti's domuz-burunlu yarasasından (*Craseonycteris thonglongyai*), dev 150 tonluk mavi balinaya (*Balaenoptera musculus*) kadar memeliler gezegendeki hemen hemen tüm karasal, sucul ya da havasal (aerial) habitatlarda farklı hareket şekilleri sergileyerek yaşarlar (Nowak, 1999). Memeliler sınıfındaki bu büyük farklılığa rağmen gelişimle ilgili bilinenlerin çoğu tek bir gruba, kemirgenlere (Ordo Rodentia) aittir.

Kısa generasyon süresi, çok sayıda yavrulama, uygun üretim koşulları ve uzun kalımsal geçmişleri özellikle fare ve sıçanlar için geçerlidir ve bu özellikler kemirgenleri laboratuvar çalışmaları için önemli bir model yapar. Sonuç olarak kemirgen embriyolojisi oldukça detaylı bir şekilde çalışılmışken, diğer 25 memeli takımı hakkında oldukça az şey bilinmektedir. Fare ve sıçan gelişiminden elde edilen bilgiler çok önemli ise de ve bu bilgilerin çoğu genel olarak memelilerde uygulanabilir olsa da, kemirgen üremesinin hızı ve üreme yeteneği, bir seri oldukça özelleşmiş ve türe-özü reproduktif ve gelişimsel adaptasyonlar ile gerçekleşmektedir. Bu nedenle, model memeli üreme ve gelişimi için kemirgenlerin kullanılması ile elde edilen bilgiler, oldukça karakteristik olmaları nedeni ile yanıltıcı olabilir. Bu da tam bir memeli gelişimi açıklamasının, tek bir takımdaki bir ya da iki türün çalışılması ile elde edilemeyeceğini ileri sürer (Eakin ve Behringer, 2004).

Standart kemirgen modelleri dışında farklı türler arasında morfolojik, fizyolojik ve moleküler karşılaştırmalar, memeli embriyonik gelişiminin doğru bir şekilde anlaşılması için gerekli olacaktır. Tanımlanmış tür sayısı bakımından ikinci büyük memeli takımı olan yarasalar (1,000' den fazla; Simmons, 2001), ayrıca coğrafik dağılım ve biyolojik farklılık bakımından da en başarılı gruplardan biridir. Yarasalar

zararlı böceklerin kontrolünü sağlamaları, tozlaştırıcı ve tohum dağıtıcısı olmaları nedeniyle de tarımsal ve ekonomik açıdan oldukça önemlidirler. Bilinen ve şüphelenilen pek çok patojen taşıyıcısı olarak da, epidemiyoloji uzmanlarının ilgisini çekmektedir. Son olarak da, yarasalara özgü uçuş ve ekolojasyon yetenekleri, biomedikal, işitsel ve nörolojik bilimler için ilgi çekicidir.

Yarasaların bütün üyeleri *Chiroptera* ordosuna aittir. Walker's Mammals of the World' e göre (Nowak,1999), Chiroptera ordosu 2 süperfamilyaya ayrılır (Megachiroptera ve Microchiroptera), 18 familya ve 186 cins içerir. Yarasaların karakteristik özelliği, onları tek uçabilen memeli grubu yapan kanatlarının varlığıdır. Uçan sincap ve uçan lemur gibi pek çok diğer memeli grupları gerçekten uçmazlar, daha ziyade süzülürler. Yarasa kanatları ise membranlıdır, üyeler ve kuyruğun iskelet elemanlarıyla desteklenmiştir. Ön üyenin ilk parmağı kısadır, genellikle tırnağa sahiptir ve kanat membranı ile çevrilmemişken, başparmağa göre oldukça uzamış olan diğer dört parmak genellikle tırnaksızdır ve kanat membranının büyük bir kısmını desteklerler. Ön üyenin üçüncü parmağı genel olarak, baş ile ayaklar arasındaki mesafenin uzunluğuna yaklaşık olarak eşittir. Yarasalar hafif ve ince kemikler, kanatları desteklemek için güçlü pektoral kemer ve göğüs kafesi, genişlemiş pektoral uçuş kaslarının bağlanması için sternumun orta hattından uzanan belirgin bir karinayı içeren pek çok ilave adaptasyonlar gösterirler. Yarasaların büyük bir kısmı nokturnaldır ve karanlıkta yön bulma olayı, yarasalara özgü diğer bir özellik olan ve ekolojasyon olarak bilinen olayla gerçekleşir (Neuweiler, 2000). Yarasalar uçarlarken ağız ve/veya burunlarından vokal sesleri gönderirler. Bu sesler genellikle insanın duyabileceği limitlerin üzerinde bir frekanstadır ve yarasaya uçarken geri yansır. Bu geri dönen yansımanın sinirsel olarak işlenmesi, yarasaların engellerden kaçmalarını ve karanlıkta besinlerinin yerlerini bulmalarını sağlar. Bugüne kadar araştırılan bütün yarasa familyalarında ekolojasyon bulunmuştur, fakat bütün yarasa türleri sesin yansıması ile yön bulmazlar (Nowak, 1999).

Büyük farekulaklı yarasa, *Myotis myotis* embriyonik çalışmalar için uygun bir türdür. Böcekçil olan bu grup Microchiroptera süperfamilyası, Vespertilionidae familyası içinde yer alır. Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika' da yayılış gösterir. İlk olarak 1797

yılında Borkhausen tarafından tanımlanmıştır. Erginleri yaklaşık olarak 20-40 gram ve kanatlar arasındaki mesafe 30-40 cm' dir. *M. myotis* yılda bir kez yavrular ve sadece bir yavru doğurur. Gebelik periyodu normalde 60-70 gün kadardır. Doğumdan sonra yavrular yaklaşık 2 hafta kadar annelerine tutunarak kalırlar. Yaklaşık olarak 2 ay sonra da tamamen bağımsız hale gelirler ve böceklerle beslenmeye başlarlar. Kış için yeterli miktarda yağ depolamak zorundadırlar. Yavrular seksüel olgunluğa bir yılda erişirler.

Gelişim ile ilgili çalışmalarda evrelendirme serileri temel yöntemlerden birini oluşturur. (McCrary, 1938; Streeter, 1942; Hamburger ve Hamilton, 1951; Nieuwkoop ve Faber, 1967; Hendrickx, 1971; Eyal-Giladi ve Kochav, 1976; Theiler, 1989; Mate *et al.*, 1994; Kimmel *et al.*, 1995; Selwood ve Hickford, 1999; Iwamatsu, 2004). Çünkü aynı soydan olan farelerin dölünden elde edilen ya da klonal balıkların nesilleri gibi genetik olarak homojen populasyonlar arasında bile, bireysel soylar arasında gelişim hızında bazı değişkenlikler mevcuttur (Streisinger *et al.*, 1981; Theiler, 1989; Downs ve Davies, 1993; Kimmel *et al.*, 1995). Bu gibi bir araç, normal gestasyon uzunluğunda önemli değişkenlik, gelişimsel gecikme gibi özellikler sergileyen türler ya da doğadan örneklerin sık sık toplandığı ve fertilizasyon zamanının bilinmediği durumlarda özellikle önemlidir. Standart serilerle ilgili olarak morfolojik kriterler ile evrelendirme, gelişimsel değişkenlik ve gecikme etkilerini asgariye indirir, gebeliğin meydana geliş zamanının bilinmesi ihtiyacını giderir ve bağımsız çalışmalar arasındaki karşılaştırmaya yardım eder. Dahası morfoloji-temelli evrelendirme sistemi farklı yaras türlerinin diğer memeliler ile karşılaştırılmasına olanak sağlar.

Chiroptera ordosu üreme stratejileri, morfoloji ve fizyolojilerinde çok geniş bir varyasyon gösterir. Farklı ekolojik ve çevresel koşullara uyum sağlamak için yarasalarda farklı üreme stratejileri gelişmiştir (Neuweiler, 2000). Bu stratejiler ile yavrular ve dişiler doğumun doğru zamanda meydana gelmesini sağlayarak, hayatta kalmak adına büyük bir avantaj sağlarlar. Ilıman bölgelerde yaz mevsimi çok kısa sürdüğü için yavrulama dönemi, böceklerin bolluğu ile aynı zamanda olur ve çok kısa bir periyodu kapsar (Racey, 1982). Gecikmiş ovulasyon (delayed ovulation) ve dölleme (fertilization) (*Pipistrellus ceylonicus*, Racey, 1979), gecikmiş

implantasyon (delayed implantation) (*Rhinolophus rouxi*, Rasweiler, 1993), embriyonik duraklama (embryonic diapause) (*Artibeus jamaicensis*, Altringham, 1996) ve sperm depolama, değişen çevre koşulları ile başa çıkmak için yarasalar tarafından kullanılan üreme stratejileridir. Bu üreme stratejilerini kullanan yarasa türlerinin çoğu Rhinolophid ya da Vespertilionid familyalarına aittir (Racey, 1979). Bu yarasaların çoğu, hibernasyonun üreme döngüsü üzerinde etkili olduğu dünyanın ılıman bölgelerinde bulunur.

Corbet ve Southern (1977) Britanya' daki yarasalarda spermatogenez ve kopulasyonun sırasıyla yaz ve sonbahar aylarında olduğunu bildirmiştir. İlaveten dişi ve erkekler spermleri kışın depo ederler ve bazen ilkbaharda çiftleşebilirler. Bu nedenle ovulasyon ve döllenme nisan ve mayıs aylarında kaydedilmiştir. Yarasalarda gestasyon periyodu yaklaşık olarak 50 gün olsa da, fetal gelişim kötü hava koşullarında yavaşlayabilir ve bu nedenle gestasyon periyodu varyasyon gösterebilir. Cumming ve Bernard (1997), Christie *et al.*, (2000), Lariviere ve Ferguson (2003) Paleartik bölgenin yükseklerinde dağılım gösteren memeli türlerinin ilkbaharda, ılıman bölgedekilerin ise ilkbahardan önce doğum yaptığını rapor etmiştir. Afrika' daki Pteropodidae, Rhinolophidae ve Vespertilionidae' ye ait türler ise ekim, kasım ve aralıkta doğum yapmaktadır.

Yarasaların normal embriyonik gelişimleri ile ilgili veriler oldukça yetersizdir. Allen (1895) birçok yarasa türünün ileri evredeki embriyolarını inceleyerek, yarasa embriyolarının morfolojik deskripsiyonunu ele almıştır. Spillmann (1925), iki yarasa türüne ait embriyoların fotoğraflarını sunarak, yarasalarda kanat gelişimini incelemiştir. Schumacher (1932) *Vespertilio murinus* embriyolarını kullanarak, kanat gelişimini daha detaylı olarak araştırmıştır. Hamlett (1935), yarasaların erken embriyonik gelişimini Phyllostomidae familyasında tanımlamıştır. Adams (1992), *Myotis lucifugus*' un gelişim evrelerini göstermiş ve postkranial iskelet oluşumu düzeni hakkında veri sağlamıştır. Ne yazık ki bu çalışmalar embriyogenezin sadece sınırlı evrelerini ele almıştır. Son yıllarda Cretekos *et al.*, (2005), esaret altında yetişmiş hayvanlardan elde edilen embriyolara dayanarak, *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae) için ayrıntılı bir embriyonik evrelendirme sistemi oluşturmuştur.

Tokita (2006) ise *Pipistrellus abramus*' un normal embriyonik gelişimini tanımlamıştır.

Oldukça fazla tür sayısına sahip olan Memeliler sınıfının morfolojik farklılığının evrimi zoologlar için en ilgi çekici konulardan birini oluşturmaktadır. Ergin hayvanların morfolojisi, ontogeni ve gelişim süreci boyunca oluşmaktadır. Hayvanlar arasında gözlenen morfolojik farklılıkların, ontogenetik süreçteki değişikliklerin ürünü olduğu düşünülmektedir (Gould, 1977; Raff, 1996; McNamara, 1997; Hall, 1998; Carroll *et al.*, 2004). Hayvanlar arasında morfolojik farklılığa gelişimdeki hangi değişikliklerin neden olduğunu saptamak için, gelişimin örnek modellerini detaylı bir şekilde karşılaştırmak gereklidir.

Embriyonik gelişimde hücrelerin çoğalmasında, göç etmesinde ve farklılaşmasında hücrelerarası madde (Extracellular matrix=ECM) bileşenleri oldukça önemlidir. Hücreler arası maddenin yapısında bulunan fibronektin, laminin, entaktin, tenaskin gibi glikoprotein yapısındaki bu bileşikler, organ gelişiminde etkili rol oynamaktadırlar. Bu nedenle embriyonik gelişimin farklı evrelerinde bu bileşenlerin dağılımı da farklılık gösterebilmektedir. Bu bileşenlerin dağılımının biliniyor olması, organ gelişiminin anlaşılması açısından son derece önemlidir.

Gelişim süresince embriyonik hücreler, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminin gittikçe karmaşıklaşan bir sistemini oluşturarak kaynaşmaya başlarlar. Hücreler ve hücrelerarası madde arasındaki etkileşimler, erken embriyoda hücre göçü, organ oluşumu süresince morfogeneze, hücrelerin gelişme ve farklılaşma programlarını ayarlamayı içeren pek çok önemli gelişim sürecini düzenlemede iş gören bir bilgi akışını başlatır. Farklı dokulardaki hücreler bölgeye özgü ve evreye bağlı olan seçici ilgiler sergilerler. Hücre bağlantılarının düzenli yapımı ve kopması morfogenizin önemli bir parçasıdır. Morfogeneze önemli düzenleyici rol oynayan farklı molekül sınıfları, hücrelerarası madde molekülleri, hücre adhezyon molekülleri, hücre yüzeyi proteoglikanları ve integrinlerdir (Kramer *et al.*, 1988)

Bazal membranı içeren ECM, hücreler ile etkileşir ve göç, adhezyon, çoğalma, farklılaşma ve morfogenez gibi hücresele fonksiyonları düzenler (Hay, 1991; Adams ve Watt, 1993; Chung, 1993, 1995; DeSimone, 1994; Timpl ve Brown, 1994; Roskelley *et al.*, 1995). ECM' nin hücresele fonksiyonları için integrin gibi oldukça farklı hücresele reseptörler aracılık ederler (Hynes, 1992; Haas ve Plow, 1994). Hücrelerin bir yerden diğere bir yere nispeten uzun mesafeler kat ederek hareket ettiğı hücre göçü hayvan morfogenezindeki önemli bir olaydır. Pek çok morfogenetik olayda bir epitelin parçası olmaya başlayan hücreler, yakınlarındaki komşu hücrelerden ayrılarak bireysel olarak göç ederler. Deniz kestanelerinde mezenşim hücreleri vejetal plaktan ayrılır ve gastrulasyon süresince içeriye göç eder. Daha yüksek omurgalılarda ise gastrulasyon süresince, bireysel olarak hücreler komşu hücrelerden ayrılarak epitelial epiblast tabakasından göç ederler, mezenşimal hücreler halini alırlar, primitif çizgi boyunca içe doğru yol alırlar, somit ve lateral mezoderm plağı gibi epiteli oluşturmak üzere birleşmeden önce bireysel olarak göç ederler (Vakaet, 1970; Vakaet ve Bortier, 1995). Gelişim süreci olarak, dermis, kas ve sklerotomu oluşturmak üzere bu epitelin yeniden şekillenmesi, embriyodaki kesin pozisyonlarını kazanmadan önce hücrelerin lokal olarak göçünü kapsar.

Hücrelerarası maddenin (ECM), morfogenetik hareketlerin birçok tipinde, rehber hücrelere yardım ettiğı bilinir. Hücre dışı matriksin fibrilleri, belirli yollar boyunca göç eden hücreleri yönlendiren hatlar olarak işlev görebilir. Farklı fibronektinleri içeren hücre dışı glikoproteinlerin birkaç çeşidi, sürünen hücre için tutunma yeri sağlayarak hücrenin hareket etmesine yardım eder. Hücrelerarası maddede bulunan diğere maddeler, belirli yönlerdeki göçleri engelleyerek, hücrelerin doğru yolda ilerlemesini sağlar. Böylece, onların salgıladıkları maddelere bağılı olarak, göç yolları boyunca yerleşmiş olan göç etmeyen hücreler, diğere hücrelerin hareketini engelleyebilir ya da teşvik edebilir. Göç eden hücreler embriyoda, özgün bir yol boyunca hareket ettiğı zaman onların yüzeylerindeki reseptör proteinler, mevcut ortamdaki yönelmeyle ilgili ipuçlarını toplarlar. Reseptörlerden gelen işaretler, hücreyi uygun yönde sevk etmek için hücre iskelet elemanlarını idare eder (Heideman, 1993; Clark ve Brugge, 1995).



Hücrelerarası maddenin embriyonik hücre göçündeki rolüne ilişkin iyi bir örnek, amfibi gastrulasyonu sırasında mezoderm hücrelerinin fibronektin boyunca hareketidir. Fibronektin fibril ağı gastrulasyon başladığında blastosöl tavanında gelişir (Nakatsuji ve Johnson, 1983; Komazaki, 1988; Johnson *et al.*, 1990; Darribere *et al.*, 1990). Bu fibronektin matriksi gastrulasyon süresince mezoderm göçünü destekler (Boucaut *et al.*, 1984a,b; Darribere *et al.*, 1988). Fibronektin fibrilleri, blastosölün çatısını astarlar ve mezoderm embriyonun içine doğru hareket ettiğinde, mezoderm tabakasının serbest kenarındaki hücreler, fibriller boyunca göç ederler. Araştırmacılar, örneğin, embriyolara fibronektine karşı olan antikolar enjekte ederek, bu hücrelerin fibrine bağlanma yeteneğini bozabilir. Böyle bir olay, mezodermin içeriye doğru hareketini engelleyebilir (Boucaut *et al.*, 1984b).

*Myotis myotis* insektivor bir türdür. Seksüel olgunluğa doğumdan 1 yıl sonra ulaşır ve her yaz sadece bir yavru doğurur. Esaret altında çalışılması çok zor canlılar olmaları dolayısıyla bu türün gelişimi hakkında bilinenler oldukça sınırlıdır. Planlanan bu çalışma çerçevesinde Kırklareli/Koyunbaba Mağarasında yaşayan *Myotis myotis* türü dişilerinden elde edilen embriyolarda embriyonik gelişim evreleri belirlenmiştir. Bununla birlikte embriyonik dönemde organ gelişimleri ve bu gelişime etki eden hücrelerarası madde bileşenlerinden bazılarının dağılımı da tespit edilmiştir.

Bu çalışmada hücrelerarası madde bileşenlerinden laminin ve fibronektin seçilmiştir. Laminin üç polipeptid molekülünden oluşmuştur. Esas olarak bazal laminada bulunur. Hücre zarında integrin reseptörüne bağlanır. Bu reseptör aracılığıyla hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimini sağlayarak morfogenezde önemli rol oynar. Fibronektin ise bağ dokusunda, epitelin altındaki bazal laminada ve çoğu hücrenin yüzeylerinde bulunan glikoproteinlerle yapısal ilişkili bir gruptur. Dokuda fibroblastların ve diğer hücre çeşitlerinin substratlarına yapışmalarında görev alır.

Hücrelerarası madde bileşenleri gelişimde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak boyanmış kesitler ışık mikroskopunda incelenerek hücrelerarası madde bileşenlerinden laminin ve fibronektinin belli evrelerdeki embriyolardaki dağılımı tespit edilmiş ve evrelere göre karşılaştırma yapılmıştır.

## II-KURAMSAL TEMELLER

### A-EKSTRASELLÜLER MATRIKSİN (ECM) YAPISI

Ekstrasellüler matriks (ECM) çok hücreli hayvansal organizmaların önemli bir kısmını oluşturur. Kan dışında ECM' nin bulunmadığı bir doku yoktur. Bağ dokuda matriks oldukça fazla iken, belirlenebilmesi için bazen özel tekniklerin gerektiği diğer dokulardaki hacmi ise daha azdır. Matriks molekülleri hücreler tarafından üretilir ve yine hücreler tarafından miktarı azaltılır. ECM' nin ya da ECM bileşenlerinden bazılarının depo edilmesinden sonra, ECM ile ilişkili hücrelerin çok sayıdaki fonksiyonu etkilenir. Hücre-matriks etkileşimi genel olarak hücre membranında bulunan bir reseptör aracılığı ile gerçekleşir. ECM hücrelerin metabolizma, gelişme, farklılaşma, göç ve adhesyonunu, hücre iskeleti organizasyonu ve hücre şeklini, doku organizasyonunu kontrol edebilir. Deneysel veriler ECM' nin transmembran proteinleri ve hücre iskeleti bileşenleri aracılığı ile gen ekspresyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. (Bissell *et al.*, 1982).

Ekstrasellüler matriks (ECM) stromal hücreleri çevreleyen yapısal bir makromolekül ağı olarak tanımlanır ve endotelial - epitelial hücrelerin tabanında yer alır (Hay, 1991). ECM dört makromolekül grubundan oluşur: kollajenler, elastin, yapısal glikoproteinler ve proteoglikanlar. Günümüzde ECM' nin pek çok biyolojik oluşumun dinamik bir düzenleyicisi olduğu kabul edilmiştir (Kleinman *et al.*, 1987; Grant *et al.*, 1989; Timpl, 1989; Schuger *et al.*, 1990; Yanagishata, 1993; Ashkenas *et al.*, 1996).

Bazal membranlar epitel hücreleri ve komşu ECM arasında bulunur, birçok mezenşimal hücreyi çevreler (örn; lipositler iskelet, düz ve kalp kası hücreleri), epitelial ve endotelial hücreleri (örn; glomerulus ve alveollerde) ayırır (Martinez-Hernandez ve Amenta, 1983; Timpl ve Dziadek, 1986; Timpl, 1989; Ronrbach ve Timpl, 1993; Timpl ve Brown, 1996). Epitelial hücreler sürekli bir bazal membran ile kuşatılmıştır. Karaciğerdeki sinüzoidler, dalak, lenf nodülleri ve kemik iliği klasik

bir bazal membrandan yoksun olsa da, bazal membranın bazı bileşenleri komşu interstisyumda mevcuttur.

Farklı doku ve organlardaki ECM, aynı grup makromoleküllerden, sık sık aynı özel bileşenlerden oluşur. Bu bileşenlerin özel konsantrasyonları, oranları ve birliktelikleri, doku homeostazı, farklılaşması ve onarımı gibi fonksiyonları desteklemek için ECM' yi en uygun şekilde oluşturur.

### **1- Kollajen**

Kollajen, ECM ve bağ dokudaki temel fibröz yapıdaki proteindir ve kıkırdağın temel bileşenidir. Kollajen hayvanlar alemindeki en fazla miktarda bulunan proteindir. En az 16 kollajen tipi vardır, ancak vücuttaki kollajenin % 80-90' ı tip I, II, III kollajenden oluşmuştur. Tip IV kollajen ECM' nin bazal laminasındaki temel bileşendir. Kollajen lifleri, proteoglikanlardan örülmüş ağ yapısı içine gömülmüş haldedir. Kollajen fibrillerinin en önemli özelliği gerilme ve çekilmelere karşı çok dayanıklı olmasıdır. Deri kemik, tendon, kıkırdak ve diğer bağ dokularında destek ve koruma için çok miktarda bulunur (Burgeson, 1987; Prockop, 1998).

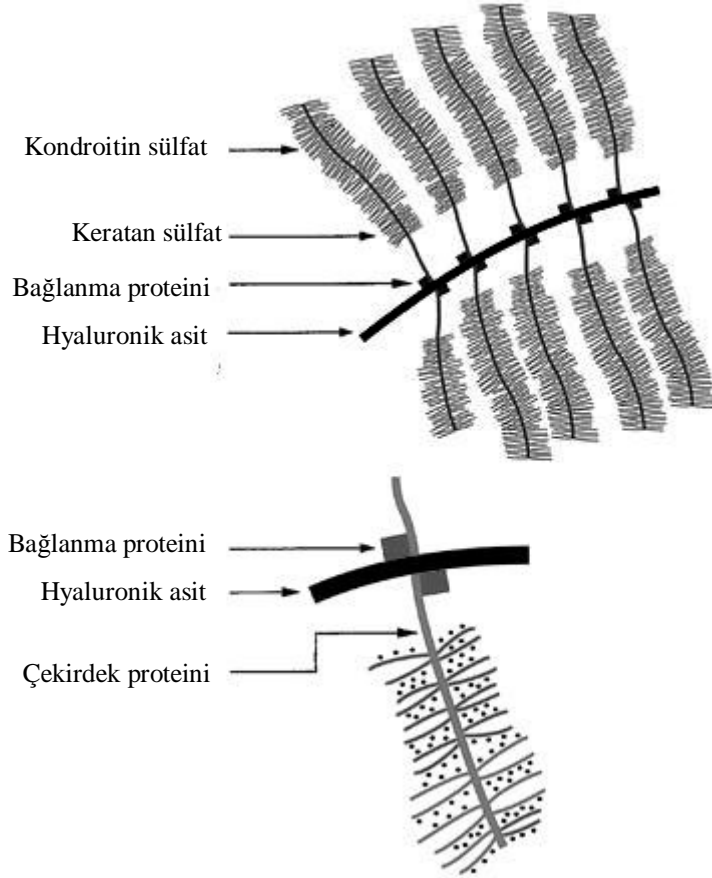
### **2-Elastin**

Kollajen gibi glisin ve proline zengin bir proteindir. Ancak, kollajenden farklı olarak çok daha az hidroksiproline sahipken, hiç hidroksilizini yoktur. Ayrıca, elastin moleküllerini kovalent bağla birbirine bağlayan desmozin ve izodesmozin aminoasitleri bulunur. Elastin, bağ dokusunun diğer elemanlarını parçalayabilen zayıf asit ve alkali çözeltilere ve kaynamaya karşı dayanıklıdır.

### **3- Proteoglikanlar**

Proteoglikanlar, ECM' nin oldukça büyük molekülleridir. Proteoglikanlar merkezi bir protein ve buna kovalent bağla bağlanan sülfatlı glikozaminoglikanlardan (GAG) (kondroitin sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat, heparan sülfat, heparin) oluşur

(Santos *et al.*, 2005) (Şekil 2.1). GAG' lardan sadece hiyaluronik asit merkezi protein molekülüne bağlanmadan serbest halde bulunur. GAG' lar tekrarlı disakkarit birimlerinden oluşan uzun polisakkarit zincirleridir. GAG' lar şekerlerin çoğunda bulunan sülfat ve karboksil grupları nedeniyle negatif elektrik yüklüdür. Bu negatif yük, suya yüksek ilgi oluşturarak jel şeklinde bir zemin maddesinin oluşmasına yol açar.



Şekil 2.1: Bir proteoglikan molekülünün şematik yapısı. Çekirdek proteini ve çok sayıda karbonhidrat bağlanma zincirlerine sahip proteoglikan monomerleri bir bağlanma proteininin yardımı ile hyaluronik asitin merkezi bir filamentine bağlanır

GAG molekülleri proteoglikanların tamamlayıcı bileşenleridir. Tipleri ve özellikleri dokudan dokuya farklılık göstermektedir. Tekrarlayan disakkarit birimleri içermekte olan GAG' lar, ECM' nin farklı tiplerinin fiziksel ve mekaniksel özelliklerini korumada önemli bir rol oynayan su moleküllerine bağlanmaktadır (Carlson, 1996) (Çizelge 2.1). Proteoglikanların biyolojik fonksiyonları yapısal olarak baskın olan GAG zincirlerinden kaynaklanır (Jeong *et al.*, 2001). Çok hücreli organizmalarda bu moleküllerin hücre yüzeyinde, ekstrasellüler matrikste veya

intraselüler granüller içinde yer almaları, çok çeşitli biyolojik rollerinin olduğunu gösterir. Hücre proliferasyonu, hücre göçü, hücre-matriks etkileşimi, dokuların onarılması GAG' ların önemli fonksiyonlarından (Suzuki, 1991). GAG' lar bir yandan doku, hücre ve fibröz komponentlerinin kararlılığını sağlarken, bir yandan da vücudun su ve tuz dengesini sağlarlar. Pek çok membran proteininin hücre dışı bölümünün yapısal bileşimidirler, müköz sekresyonları ve sinovial sıvının kayganlığını sağlarlar.

Çizelge 2.1: Yaygın GAG' lar ve tekrarlayan disakkarit altbirimleri

<b>GAG</b>	<b>TEKRARLAYAN ALTBİRİMLERİ</b>
Hyaluronik asit	D- glukronik asit + N- asetil glukozamin
Dermatan sülfat	L- iduronik asit (ya da glukronik asit)
Kondroitin 4 ya da 6 sülfat	D- glukronik asit + N- asetil glukozamin 4 ya da 6 sülfat
Keratan sülfat	Galaktoz + N- asetil glukozamin sülfat
Heparan sülfat	D- glukronik asit + iduronik asit + N- asetil glukozamin + glukozamin
Heparin sülfat	glukronik asit + glukozamin sülfat

Proteoglikan molekülleri ECM' nin farklı kısımlarında yer alır. Bir grup hücre yüzeyinde bulunur. En bilinen örnekler heparan sülfat/kondroitin sülfat proteoglikan grubudur. Bu proteoglikanlar integral membran proteinlerine ya da hücre membranına bağlanırlar. GAG zincirlerini fibronektin gibi matriks proteinlerinin GAG bağlanma bölgelerine bağlayarak hücre bağlanmasını gerçekleştirirler. Diğer proteoglikan sınıfı kollajene bağlanır. En tipik örnekler merkezi proteinleri üzerinde kollajen bağlanma bölgeleri içeren dermatan sülfat/kondroitin sülfat proteoglikanlarıdır. Proteoglikanların hücre farklılaşması ve morfogenez gibi pek çok biyolojik oluşumla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Edelman, 1988; Takeichi, 1988).

#### 4- Yapısal Glikoproteinler

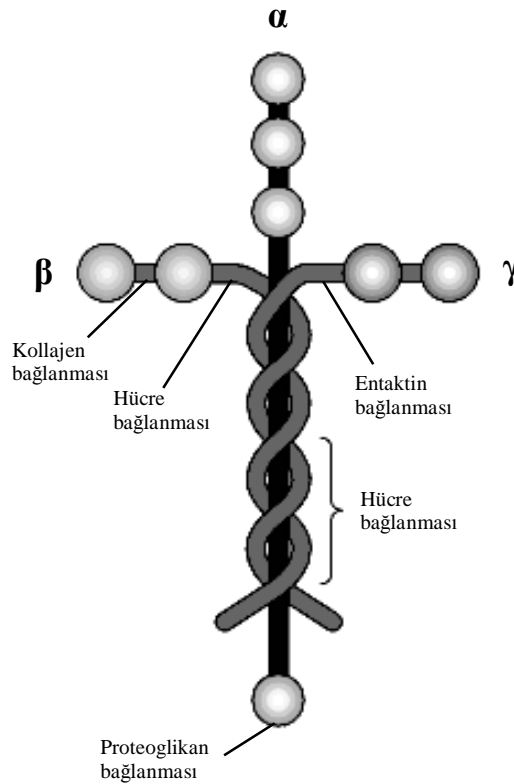
Bu sınıfın üyeleri heterojen büyüklük, yapı ve doku dağılımı göstermelerine karşın, bu matriks makromolekülleri birçok ortak özellik gösterirler. Birincisi, primer yapıları, yapısal ve fonksiyonel multidomain proteinler olduklarını gösterir. İkincisi, hücreler ve diğer matriks bileşenleri için bağımsız bağlanma bölgelerine sahiptirler. Arg-Gly-Asp (RGD), integrin ailesindeki hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile, yapısal glikoproteinler ve bazı kollajenler ile hücreler arasında spesifik etkileşimi sağlayan major hücre tanıma dizisidir. Son olarak, yapısal proteinlerin pek çoğu çeşitli alt ünitelerden oluşur. Önemli yapısal glikoproteinler, dokulardaki dağılımları ve fonksiyonları Çizelge 2.2’de özetlenmiştir (Martinez-Hernandez ve Amenta, 1983; Ruoslahti, 1988; Erickson ve Bourdon, 1989; Mosher, 1989; Mosher, 1990; Yamada, 1991; Chiquet, 1992; Paulsson, 1992; Engel, 1993; Erickson, 1993; Heinegard ve Oldberg, 1993; Paoletta *et al.*, 1993; Timpl ve Aumailley, 1993; Von der Mark ve Goodman, 1993; Tryggvason,1993).

Çizelge 2.2: Yapısal glikoproteinler, dokulardaki dağılımları ve fonksiyonları

<b>Protein</b>	<b>Konum</b>	<b>Fonksiyon</b>
<b>Fibronektin</b>	Plazma (hepatositler tarafından üretilir); hücrel fibronektin fibroblastlar, epithelial ve endotelial hücreler, kondrositler, makrofajlar ve kan pulcukları tarafından yapılır	Hücre bağlanması; kollajen tip I ve III, heparin ve fibrine bağlanır; hücre farklılaşması, erken gelişim olayları ve yara iyileşmesi; kanın pıhtılaşması; hücre iskeleti organizasyonu
<b>Laminin</b>	Bazal membranlar	Tip IV kollajen, entaktin ve heparan sülfat proteoglikan ile etkileşim; ECM' ye hücre bağlanması; gelişim ve hücre farklılaşması; yara iyileşmesi, anjiyogenez ve sinir iyileşmesi
<b>Entaktin (Nidojen)</b>	Bazal membranlar	Laminin, tip IV kollajen ve fibronektine bağlanır; RGD sequensi ve EGF- benzeri alanlar içerir
<b>Tenaskin</b>	Embriyonik gelişim, tümör ve yara iyileşmesi sırasında kısa süreli ekspresyon; deri, kemik, kıkırdak, tendon, erişkin beyinde bulunur	Fibronektin, heparin ve kondroitin sülfat etkileşimi; EGF ve fibrinojen-benzeri alanlar; integrin spesifik hücre bağlanma alanları içerir
<b>Trombospondin</b>	Kan pulcukları $\alpha$ -granülleri; endotelial, glial, düz kas ve kemik hücreleri tarafından üretilir; fibroblastlar, monositler, makrofajlar, tip II pnömositler ve keratinositler	Hücre bağlanması; kan pulcukları agregasyonu, düz kas hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonu; trombin, fibrinojen, fibronektin, laminin için bağlanma bölgeleri
<b>Osteonektin</b>	Kemik, bazal membran ve morfogenezdeki dokular; endotelial ve düz kas hücreleri, fibroblastlar ve osteoblastlar tarafından üretilir;	Kollajen tip I, II ve V, kalsiyum, trombospondin ve hücrelere bağlanır;
<b>Vitronektin</b>	Karaciğer, kan pulcuklar ve makrofajlarda bulunur;	Fibroblast ve endotelial hücrelerin RGD- aracılı bağlanması; elastik fibrillerle ilişki
<b>Bağlayıcı protein</b>	Kıkırdak	Aggrecan ve hyaluronata bağlanır, etkileşimlerini dengede tutar
<b>Fibrillin</b>	Deri, aort, akciğer, kas, kornea, plasenta	Elastik fibrillerin mikrofibrillar kısımlarının bileşeni

## a-Laminin

Laminin ilk olarak EHS (Engelbreth-Holm-Swarm) tümöründen elde edilmiştir. Laminin  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  olarak adlandırılan üç zincirin birbirleri ile sarmal bir yapı oluşturması sonucunda üç kısa ve bir uzun kol olarak moleküler yapısı oluşur (Timpl *et al.*, 1979). Bu üç zincir birbirleri ile disülfid bağları ile bağlıdır. Son yıllarda lamininin bu üç zincirinin farklı tipleri ortaya çıkarılmış ve böylece lamininin farklı formasyonlarının olduğu belirtilmiştir. Bazal laminanın diğer bileşenleri olan tip IV kollajen, heparin, heparan sülfat ve entaktin için bağlanma bölgeleri içerir (Şekil 2.2). Laminin bazal membran yapısı için oldukça önemlidir. Tip IV kollajen, entaktin/nidojen ve heparan sülfat proteoglikanları ile bir ağ oluşumu sağlar (Yurchenco ve Schnittny, 1990). Bazal laminanın oluşumunda tip IV kollajen ve laminin, nidojen ve perlekan aracılığı ile indirekt olarak birbirine bağlanır (Aumailley *et al.*, 1989). Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, laminin olmadan bazal membran formasyonu gerçekleşmemektedir (Smyth *et al.*, 1999).



Şekil 2.2: Laminin molekülünün sistematik şekli.  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  zincirleri ve farklı bağlanma bölgeleri



Gelişim sırasında hücreler substrata bağlanırlar, bir yön modelinde göç ederler, şekilleri değişir, doku ve organları oluşturmak için bir araya gelirler ve spesifik genetik programları ifade ederler. Bu aktivitelerde lamininin rolü için kanıtlar önemlidir fakat mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. ECM proteinlerinden laminin embriyonal gelişimin erken devrelerinde çoğu zaman görülmez; ancak daha sonra bazal membranda ortaya çıkar (Zagris ve Stavridis, 1995). Laminin polipeptidlerinin 2, 4, 8 ve 16 hücreli morulanın kompakt ve kompakt olmayan aşamalarında gözlenmesi, embriyogenezin erken dönemlerinde hücre göçü, adhezyonu ve farklılaşması gibi olaylara katıldığı ve bu molekülün hücre büyümesi ile hücre iskeletinin organizasyonunda da rol aldığını göstermektedir (Zagris ve Stavridis, 1995). Lamininin bu fonksiyonlarını, üzerinde bulunan belli bölgelere hücre yüzey reseptörlerinin ve diğer ECM moleküllerinin bağlanmasıyla gerçekleştirdiği sanılmaktadır. İmplantasyon döneminde blastosist üzerinde morfolojik olarak saptanabilen tüm membranlarda laminin bulunması bu kanıyı güçlendirmiştir (Albert, 1995; Zagris ve Stavridis, 1995).

Lamininin kanıtlanan ilk biyolojik aktiviteleri kollajen substratlarına bağlanmayı arttırması ve neurite (nöron uzantıları) uzamasını teşvik etmesidir (Kleinman *et al.*, 1985). Bu gözlemler lamininin gelişimdeki rolünün ve etki mekanizmasının araştırılmasında yol göstermektedir. Lamininin gen ekspresyonu erken embriyogenezde düzenlenir. Fare oositinde lamininin  $\beta 1$  zinciri belirlenebilir. Dört hücreli evrede beta-1 ve gama-1 zincirleri mevcuttur. Sekiz hücreli embriyoda ise 3 zincirin tamamı koordineli olarak sentezlenir (Cooper ve MacQueen, 1983). İmplantasyondan sonra laminin, morfolojik olarak belirgin bütün bazal membranlarda lokalize olmuştur.

Lamininin morfogenez ve doku gelişimine katılımı fare, *Drosophila*, piliç ve amfibilerde araştırılmıştır. Farede böbrek, beyin ve daha az derecede gözler, gelişim için birer modeldirler. Laminin fonksiyonu için temel kanıtlar, morfolojik değişiklikler ile laminin alt ünitelerinin ve taşıyıcı RNA' larının ortaya çıkmasıdır. Fare embriyosu böbreğinde ve in vitro transfer model sisteminde laminin dağılımı, erken evredeki tübül formasyonu ile zamansal ve uzaysal bir ilişki göstermiştir (Ekblom *et al.*, 1980; Klein *et al.*, 1988; Laurie *et al.*, 1989; Ekblom *et al.*, 1990).

Pretübüler küme oluşumu alanlarında laminin küçük zerrelere olarak görülür ve sonra tübüler bazal membrana entegre olur. İn vitro transfer model sisteminde laminin morfogenezden önce ortaya çıkar. Bu sonuçlar lamininin tübül formasyonunun erken evrelerinde uyarılmış hücrelerin bir arada toplanmasıyla ilişkili olduğunu gösterir. Laminin ayrıca lens ve göz morfogenezinde önemli rol oynar (Dong ve Chung, 1991).

Hücre matriks etkileşimleri gelişim ve morfogenez süresince görülen önemli olaylardır. Laminin bu etkileşimlerde önemli bir rol alan önemli bir bazal membran bileşenidir. Gelişim süresince en erken dönemde, 2-hücreli evrede görülen ekstrasellüler matriks proteindir. Bu da morfogenezde özellikle bazal laminada çok önemli bir role sahip olduğunu gösterir (Wu *et al.*, 1983; Richoux *et al.*, 1989).

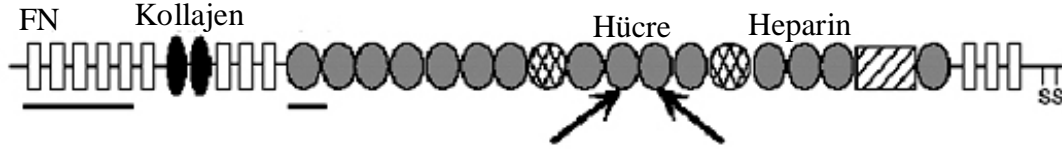
#### **b- Fibronektin**

İlk kez 1948 yılında, Cohn soğuk etanol-ayırıştırma işlemi ile hazırlanan fibrinoje' nin bir bulaşı olarak tanımlanan fibronektinin daha sonra 1984'de eşsiz bir plazma proteini (cold-insoluble globulin) olduğu anlaşılmıştır (Morrison *et al.*, 1948). 1970' lerde bir dizi araştırmacı bazı hücre yüzeylerinde büyük yüzey glikoproteinlerinin bulunduğunu bildirmiştir. Daha sonra bu plazma globulini ile hücre yüzeyi glikoproteinleri arasındaki benzerlik ortaya çıkarılmıştır. Bu proteine fibröz yapısı ve yapışkan benzeri özellikleri nedeniyle, Latince fibra (lif) ve nectere (bağlamak) kelimelerinden türetilen fibronektin adı verilmiştir (Keski-Ojal *et al.*, 1976).

Fibronektinin iki majör formu vardır. Birincisi plazma, beyin omurilik sıvısı, sinoviyal sıvı, amniyotik sıvı, seminal sıvı ve tükürük gibi vücut sıvılarında, çözünür şekilde bulunan dimerik formudur (plazma fibronektin-pFn). Diğeri ise hücre yüzeylerinde ve hücre dışı matrikste genellikle fibriller tarzda çözünmez dimerik veya çapraz bağlı multimerik form (hücresel fibronektin-cFn)' dur. Fibronektin vücutta endotel hücreleri, hepatositler, fibroblastlar, trombositler ve makrofajlar gibi çeşitli hücrelerde, ekstrasellüler sıvıda, bağ dokusunda, bazal membranda bulunur.

Fibronektin hücre-hücre adezyonu, yayılması ve migrasyonu, doku gelişimi ve farklılaşması, kan pıhtılaşma stabilizasyonu ve yara iyileşmesini kapsayan farklı biyolojik fonksiyonlarda görev alır (Carsons, 1989; Mosher, 1989; Hynes, 1990; Yamada ve Clark, 1996). 600A° uzunluğunda, 25A° genişliğinde olup, molekül ağırlığı 440-550 kD olan fibronektin, 200-250 kD molekül ağırlıklı iki alt üniteden oluşur. Bu iki alt ünite C- terminal uçta bir çift disülfid bağı ile bağlıdır (An *et al.*, 1992; Kar *et al.*, 1993). Birçok makromolekülle ve hücre yüzeyiyle etkileşmesini sağlayan 5 veya 6 yapısal alanları vardır. Bunlar proteazlara karşı dirençlidirler. Fibronektini oluşturan iki alt üniteyi birleştiren disülfid bağ çifti, her bir alt ünitenin karboksi terminal uçlarının yakınında yer alır. Her bir alt ünite yaklaşık 2500 aminoasit kalıntısı ve % 5-12 karbonhidrat içerir. Her bir alt ünite katlanabilir aminoasit zincirlerinden oluşan tekrarlayan üç tip ünite içerir: tip I, tip II, tip III modülleri. Bu üç tip tekrarlayan sıra, fibronektinin aminoasit dizisinin %90'dan fazlasını oluşturur. Aminoasit, mRNA, DNA genomu analizleri, proteinin 45, 60, 90 aminoasit uzunluğundaki homolog sıralardan oluştuğunu göstermiştir (Petersen *et al.*, 1983). I.tip tekrarlayan sıra, 45 aminoasitten oluşur ve iki disülfid bağı içerir. 60 aminoasitten oluşan II. tip tekrarlayan sırada iki disülfid bağı içerir. Molekülün geriye kalan orta bölgesi 90 aminoasit içeren ve disülfid bağı taşımayan III. tip tekrarlayan sıradan oluşur. Amino terminal bölgedeki 9 tip I modülü, 2 tip II ünitesi ile kesintiye uğrar (Şekil 2.3). Ayrıca, 3 adet tip I modülü karboksi terminalde yer alır. Yani molekülün amino ve karboksil uç bölgeleri I. tip tekrarlayan sıralardan oluşur. Molekülün orta kısmı değişik sayıda tip III tekrarları (15-17) ve değişik bağlantı bölgelerinden oluşur (Hynes, 1985). Tip III tekrarlayan sıranın uzunluğu diğer tekrarların iki katı uzunluğundadır. Bu bölgede iki serbest sülfidril grubu bulunmaktadır. Belirli koşullarda, bu sülfidril gruplarının oksidasyonu ile yüksek molekül ağırlıklı fibronektin multimerleri oluşur. Her bir tekrarlayan alt üniteyi oluşturan aminoasit zincirleri yaklaşık 15 kez tekrarlanır. Bu işlemin fizyolojik önemi anlaşılamamıştır. III. tip tekrarlayan sıra üzerinde; asparajin, glisin ve argininden oluşan temel hücre bağlayıcı bölge bulunmaktadır. Fibronektini oluşturan her bir ünite; kollojen, heparin, fibrin, ganglizoid gibi moleküller ve hücreler için bağlanma bölgeleri içerir. Fibronektinin üzerindeki karbohidrat üniteleri

fibronektinin biyolojik aktivasyonu için temel oluşturmaz, fakat proteolize karşı direnci arttırmaktadır.



Şekil 2.3: Fibronektinin alan yapısı. FN dimeri karboksil uçta zincirlerarası disülfid bağı (SS) ile oluşur. Her bir alt ünite tekrarlayan tip I (dikdörtgen), tip II (koyu gri oval) ve tip III (açık gri yuvarlak) modüllerinden oluşur

Fibronektinin bir yüzey üzerinde bulunduğu anda, kolları yaklaşık  $70^\circ$  birbirinden ayrılır. Sıvı fazda kollar içe doğru katlanarak daha globuler bir yapı kazanır. Molekül üzerinde, tripsin ve kimotripsin enzimlerine duyarlı olan bölgeler bulunmaktadır. Fibronektin hücre adezyonuna aracılık edebilen en az altı bölgeye sahiptir. Bunlar merkezi hücre bağlanma bölgesinde, alternatif olarak eklenmiş IIICS (hücre bağlayan non-RGD) bağlantı bölgesi ve heparin bağlayan bölgede lokalizedir. İlginç olarak bunlar genel bağlantı bölgeleri değildir ve özel hücreleri tercih ederler. Örneğin UICS bölgesi lenfosit ve nöral krest hücrelerinin bağlanmasına aracılık ederken, fibroblastları bağlamaz. Yaralanmış dokularda lenfosit ve embriyonik hücrelerin adezyonunu fibroblastlardan daha iyi artırır. I. tip tekrarlayan sıraya fibrin, II. tip tekrarlayan sıraya kollojen bağlanmaktadır. III. tip tekrarlayan sıra üzerindeki EDII ve EDI parçalarının işlevleri bilinmemekte ve bunlar sadece cFn'de bulunmaktadır. Fibronektin molekülünün hücreye yapışma aktivitesinden, III. tip tekrarlayan sıra üzerinde bulunan RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser) aminoasit dizisinin sorumlu olduğu anlaşılmıştır (Pierschbacher *et al.*, 1981; Ruoslahti ve Pierschbacher, 1987). Bununla birlikte serin aminoasit artığının hücre yapışmasında daha az rol oynaması nedeniyle RGD dizisi aktif bölge olarak kabul edilmiştir. RGD dizisi fibronektin molekülü üzerindeki III. tip tekrarlayan sıranın karboksil uca yakın olan kısmında bulur. RGD tripeptidi, hücre yapışmasında iş gören vitronektin, osteopontin, kollojen tip I, trombospondin, ve fibrinojen gibi birçok hücre dışı matriks molekülünde de bulunmaktadır. Kompleman aracılı makrofaj fagositozunda, fibronektinin RGD parçasının gerekli ancak yeterli uyarımı sağlamadığı; oysa tam

fibronektinin molekülünün fagositoz işlemini daha fazla artırdığı gösterilmiştir. Fibronektinin organizmada yirmiden fazla izoformu tanımlanmış bulunmaktadır (Hynes ve Yamada, 1982; Kornbliht *et al.*, 1996).

Fibronektin embriyogenezis, onkojenik transformasyon, hücre adezyonu, yara iyileşmesi, doku tamiri, trombosit fonksiyonları, hücre migrasyonunda önemli roller oynar (Hynes ve Yamada, 1982; Zetter ve Brightman, 1990; Kornbliht *et al.*, 1996). Ayrıca fibronektin, opsonin ve kemotaktik ajan olarak yangıda da rol alabilir. En iyi bilinen opsoninler immunoglobulin G (IgG) ve komplemanın C3b bileşeni iken son yıllarda bunlara glikoprotein yapısında ve adesiv özelliği olan fibronektin de eklenmiştir (Doran *et al.*, 1980; Marquette, *et al.*, 1981).

Fibronektin, hepatositler, makrofajlar, trombositler, fibroblastlar, amniyotik hücreler, endotel hücreleri, melanositler, mast hücreleri, schwann hücreleri, sinoviyal hücreler ve kondrositler gibi birçok hücre tipi tarafından sentezlenip salgılanmakla birlikte, dolaşımdaki fibronektinin büyük bir kısmı hepatositler tarafından oluşturulur. Fibroblastların toplam hücre proteinlerinin %1-3'ünü, endotel hücrelerinin protein üretimlerinin %15'ini fibronektin oluşturur. Monosit kültürlerinde, hücreler olgun makrofaj haline dönüştüğünde fibronektin salınımını 25 kat artırmaktadır. Alveolar makrofajların, fibronektinin daha az bulunduğu bir bölgede bulunmaları nedeniyle, fibronektini kendilerinin sentezleyebilmesi özellikle önemlidir. Nötrofillerin ise fibronektini myeloid farklılaşmanın erken dönemlerinde sentezleyerek depoladıkları bildirilmiştir. Fibronektin kültür hücrelerinin adhezyonunu teşvik eder (Hynes *et al.*, 1982). Embriyogenezde doku organizasyonunu etkiler (Armstrong ve Armstrong, 1990). Kapiler endotel hücrelerinde gösterildiği gibi gelişimi düzenleyici fonksiyonu vardır (Ingber, 1990). Sıçan miyokardiumundaki mezenşimal hücreleri tarafından üretilen fibronektin, embriyogenezde düzenleyici role sahiptir. Erişkin organlarında da doku yapısının korunmasını sağlar (Ahamuda *et al.*, 1981).

Plazma fibronektini 24-72 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Dolaşımı terk eden fibronektinin tümünün ne olduğu tam olarak bilinmemesine karşın, çözünür fibronektinin önemli bir kısmı hücre dışı matriks elemanlarına bağlanmaktadır.

Embriyonik hücre göçü için önemli bir substrat olması nedeniyle fibronektin, bağlandığı fibronektin reseptörüne sadece hücrenin dış yüzeyi üzerinde bağlanmayıp, aynı zamanda hücrenin iç kısmında da hücre iskeleti proteinlerine bağlanmaktadır. Hücre iskeleti proteinleri, özellikle aktin mikroflamentleri hücre göçü için temeldir. Yapılan çalışmalar, hücre göçünde hücre iskeletini oluşturan aktin mikroflament ve ECM arasında fibronektin reseptör kompleksi ile fiziksel bir bağlantı kurulmasıyla gerçekleştiğini göstermektedir (Chen *et al.*, 1986).

Fibronektin reseptörü hücrenin iç yüzeyinde aktin mikroflamentlerine bağlanırken, hücrenin dış yüzeyi üzerinde ECM' deki fibronektine bağlanmaktadır. Hem hücre içi hem de hücre dışında fonksiyon göstermesi nedeniyle reseptör proteinlerinin bu büyük ailesine integrin adı verilmiştir (Gilbert, 1988).

### III- MATERYAL VE YÖNTEM

#### A- MATERYAL

##### 1- Çalışma Alanı

Çalışma alanı olarak Kırklareli/Koyunbaba Mağarası seçilmiştir. Koyunbaba Mağarası, uzunluğu 532 m olan yatay olarak gelişmiş, kaynak konumlu, fosil bir mağaradır. Koordinatları K 410 441 54, D 270 071 27 ve deniz seviyesinden yüksekliği 155 m olarak kaydedilmiştir. Bu mağara Kırklareli'nin 15 km güneybatısında bulunan Koyunbaba Köyü'nün 3 km kuzeyinde, Kayalı Barajı'ndan gelen Teke Deresi'nin sağ yamacında yer alır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Koyunbaba Mağarasının Trakya Bölgesindeki konumunu gösteren harita

##### 2-Örneklerin Laboratuara Getirilmesi ve Dokuların Alınması

Tez çalışması için gerekli olan materyali sağlamak üzere hayvanların kış uykusuna girecekleri kasım ayından itibaren aralık, ocak, şubat aylarında ayda 1 defa olmak üzere toplam 4 arazi çalışması yapılmıştır. Kırklareli/Koyunbaba Mağarası'na yapılan bu arazi çalışmalarında hayvanlar uygun büyüklükteki kepçeler ile gündüz toplanmışlardır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Koyunbaba mağarasında tavanda asılı olan yarasalar (A). Kepçe ile toplanma şekilleri (B)

Araziden toplanan dişi örnekler canlı olarak laboratuvara getirilmiştir ve eter anestezi ile bayıltılmıştır. Karın bölgelerinden açılarak ovaryum ve uterus dokuları alınmış ve Saint-Marie fiksatif (99ml %95'lik etanol+1ml glacial acetic acid) içinde saklanmıştır.

Bu tarihlerde yakalanan dişi örneklerden elde edilen uteruslarda embriyo bulunamamıştır. Tespiti yapılan uterus ve ovaryum dokuları derecelendirilmiş alkol serilerinden (%95, %100) geçirilerek dehidre edildikten sonra ksilol ile şeffaflaştırılmıştır. Sıvı parafinde 58 °C' de 1 gece bekletilen doku örnekleri, kalıplara dökülerek doku blokları elde edilmiştir.



17.03.2008 tarihinden itibaren dişilerin uteruslarında belirgin bir şişkinlik gözlenmiştir (Şekil 3.3). Bu sayede uterus içinde embriyoların olduğu belirlenmiştir. Bu tarihten sonra haftada en az 1 defa arazi çalışması yapılarak mağaradan örnek alınmıştır.



Şekil 3.3: Embryosuz (A) ve embriyo taşıyan (B) uterusları gösteren şekil

Uterusta embriyo olduğu gözlenmesinden sonraki dönemlerde uterusların ağırlıkları, genişlik ve uzunlukları ölçülmüştür. Badwaik ve Rasweiler (2001) gebe yaras uteruslarının büyüklüğünün, gebeliğin evrelendirilmesinde kullanışlı bir özellik olduğunu bildirmiştir. Gelişimin ilk evrelerinde embriyoların uterustan zarar görmeden çıkarılmaları çok zor olduğu için, embriyoların gelişim evrelerine göre sıralanmasında uterus büyüklükleri kullanılmıştır. Ölçümleri yapılan uteruslar parafine gömülerek doku blokları elde edilmiştir. Daha sonraki aşamalarda hazırlanan uterus bloklarından seri kesitler alınmış, elde edilen preparatlar incelenerek bu embriyoların hangi evrelerde oldukları histolojik olarak tespit edilmiştir.

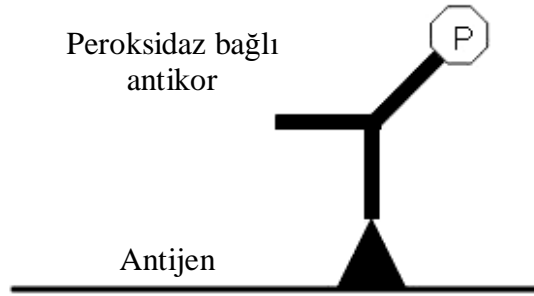
Gelişimin daha ileri evrelerinde ise embriyoların uterustan çıkarılmaları mümkün olmuştur. Disseksiyon ile çıkarılan uteruslar 0.1M fosfat tamponu (PBS. pH 7.4) içeren petriyer içine alınmıştır. Uterus duvarı, embriyoları çıkarmak için kesilerek açılmış ve embriyonun etrafındaki ekstraembriyonik zarlar (koryon ve amnion) pens yardımı ile çıkarılmıştır. Uterustan çıkarılan embriyolar fiksatif içine (Saint-Marie) alınmıştır. Fiksasyondan önce kumpas yardımı ile embriyoların kafatasının en yüksek noktası ile kalçanın en yüksek noktası arasındaki mesafe olan tepe-oturma noktası uzunlukları (crown-rump length=CRL) ve dijital tartı ile ağırlıkları

ölçülmüştür. Bu değerlerden yararlanılarak embriyolar büyüklüklerine göre sıralanarak evrelerin belirlenmesinde yararlanılmıştır.

### 3-İmmünohistokimyasallar

İmmünohistokimya, işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hücre ve doku antijenlerinin buldukları yerde gösterilmesini sağlayan bir yöntemdir.

İmmün işaretlemede kullanılan işaretleme metodlarından biri “**direkt metod**” dur. Bu metod; bir antijenin ilgili işaretli antikoru ile direkt olarak bağlanmasıdır (Şekil 3.4). İşaretli antikoru dokudaki antijenle reaksiyona girmesi sağlanır. Çabuk sonuç alınan bir işlem olmakla birlikte parafin kesitler için önerilmez. Asıl uygulama alanı dondurma (frozen) kesitlerdir.



Şekil 3.4: Direkt metotta antijen – antikor birleşmesinin şematik olarak gösterilmesi

Diğer bir metod, immün işaretleme enzim- anti- enzim immün kompleksinin kullanılması esasına dayanan **indirekt yöntemler**dir. Bu yöntemde primer antikor işaretlenmez, ancak primer antikoru elde edildiği türün gama globulinine karşı oluşturulan sekonder bir antikor işaretlenerek ikinci bir aşama olarak uygulanır. Böylece;

1. aşamada, işaretlenmiş primer antikor antijene bağlanır
2. aşamada ise işaretli sekonder antikor primer antikoru reseptör bağlayıcı bölgesi ile reaksiyona girer, böylece antijen iki aşamada indirekt olarak işaretlenmiş olur. Bu yöntem direkt yöntemden daha hassas sonuç verir. Çünkü sekonder antikor primer antikoru farklı antijenik bölgelerine karşı reaksiyona girebilir. Böylece primer

antikora birden fazla işaretli sekonder antikor bağlanacağından reaksiyon sonucu daha yoğun işaret gözlenir.

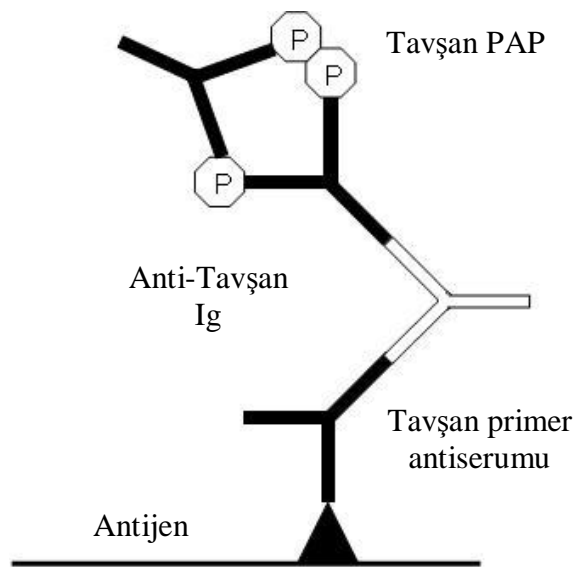
Kullanılan enzim-anti-enzim kompleksine göre;

- 1- Peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP) tekniği
- 2- Alkali fosfataz- anti- alkali fosfataz (APAAP) tekniği olarak isimlendirilir.

Bu yöntemler hassas ve iyi sonuç alınabilir olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan immunohistokimya yöntemleridir. Parafin kesitlere, kriyostat kesitlerine ve yayma preparatlara kolaylıkla uygulanabilir.

İmmün işaretin elde edilmesinde 3 tabakalı bir bağlantı kurulur. Primer antikor (1), bağlantı sağlanan sekonder antikor (2) ve enzim- anti- enzim immün kompleksi (3).

Işık mikroskopunda immunohistokimyasal boyama metodları ile işaretin görülebilir hale gelmesi ve enzim- substrat reaksiyonuna dayalı olarak ortaya çıkan son ürünün renkli bir şekilde gözlenebilmesi için birtakım renkli madde öncülleri kullanılır. Bunlar çoğunlukla; DAB (3,3- Diamino benzidin), AEC (3- amino- 9- etil karbazol), CN (4- kloro-1- naftol), tetrametil banvidin'dir (Yılmaz, 1996). DAB suda, toluende ve etanolde erimez. Hidrojen peroksit ile reaksiyona girer. Reaksiyon ürünü kahverengidir.



Şekil 3.5: Peroksidaz- anti- peroksidaz tekniğinin şematik olarak gösterilmesi

Bu çalışmada şekil 3.5’de şematize edilen PAP tekniği kullanılmıştır. Çalışmamızda bu teknik için kullanılan maddeler;

a- Primer antiserum:

b- Normal serum: Zemin boyamasının maskelenmesini sağlar.

c- Sekonder antiserum

d- Peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP) kompleksi

e- TRIS tamponu (TRIS buffered saline)

f- 3-3- di amino benzidin (3-3'- diaminobenzidine tetrahydrochloride); ortaya çıkan son ürünün gözlenebilmesi için kullanılan renkli madde öncülüdür. Bütün maddeler Vector lab’ dan temin edilmiştir.

## **B-YÖNTEM**

### **1-Vücut Ölçüleri ve Oranları**

Yapılan literatür araştırmalarına göre dişi bireylere ait uterus ve embriyolardan alınacak bazı ölçümler belirlenmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden alınacak ölçümler için hazırlanan forma, bu değerler kaydedilerek embriyoların evrelendirilmesinde kullanılmıştır. Uterus ağırlığı, uterus uzunluğu ve uterus genişliği değerleri özellikle embriyoların uterustan çıkarılmasının mümkün olmadığı örneklerde gelişimin sıralanmasında yardımcı değer olarak kullanılmıştır. Embriyo ağırlığı ve tepe oturma noktası uzunluğu değerleri ise total embriyoların evrelendirilmesinde yardımcı olmuştur.

### **2-Evrelerin Belirlenmesi**

Fiksatif içerisinde saklanan total embriyolar OLYMPUS ZOLPSZ61 trinoküler mikroskop ile incelenerek dış morfolojik özelliklerine bakılarak basitten gelişmişe doğru sıralanmıştır. Disseksiyon işleminden sonra, yaşları bilinmeyen yarasa embriyolarının evrelendirilmesi için ilk olarak büyüklük ve tüm şekil gibi genel özellikler kaydedilmiştir. Uterus ağırlığı, uterus uzunluğu, uterus genişliği, embriyo

ağırlığı ve tepe oturma noktası uzunluğu değerleri de evrelerin belirlenmesinde yardımcı olarak kullanılmıştır. Daha sonra pek çok anahtar anatomik karakterlerin morfolojilerinin karşılaştırılması ile evrelendirme yapılmıştır. Duyu organlarının gelişimi, faringeal yayların formasyonu, eklemlerin gelişimini içeren başlıca ayırt edici özellikler Adams (1992) ve Cretekos *et al.*,’ a (2005) göre belirlenmiştir. Elde edilen toplam 62 embriyo incelendiğinde temel bazı karakterlere göre evrelerin birbirinden ayrılması sağlanmıştır. *Myotis myotis* türü için çalışmamızda belirlediğimiz ayırt edici başlıca karakterler şunlardır: Rostral nöroporun kapanması, ön üye tomurcuğu, arka üye tomurcuğu, retinanın pigmentasyonu, el-ayak plağı, burunun şekillenmesi, başparmağın serbest hale geçmesi, ön üyelerin yüzü örtmesi, gözkapaklarının kapanması, tırnakların kıvrılması ve pigmente olması.

### 3- Kesitler

Total yarasa embriyolarından hazırlanan kesitler sagittal (boyuna) kesit şeklinde alınmıştır. Embriyonun uzun eksenine paralel kesilen 7 mikron kalınlığındaki sagittal kesitlerin serileri iki tabakalı embriyo, Evre 10, Evre 11, Evre 12, Evre 13, Evre 14, Evre 15, Evre 16, Evre 17 ve Evre 18’ deki embriyolardan hazırlanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak boyama yapıldıktan sonra bu evrelerden birbiri ile belirgin farklılıklar gösteren evreler (İki tabakalı embriyo, Evre 10, Evre 11, Evre 14, Evre 16 ve Evre 18) seçilip bu evrelerdeki laminin ve fibronektin dağılımı değerlendirilmiştir.

### 4- Histolojik İncelemeler

Dış morfolojik özelliklerine göre evreleri tespit edilen örnekler, derecelendirilmiş alkol serilerinden geçirilerek dehidre edildikten sonra ksilol ile şeffaflaştırılmıştır. Sıvı parafinde 58 °C’ de 1 gece bekletilen doku örnekleri, kalıplara dökülerek doku blokları elde edilmiştir.

Rotary mikrotom ile parafin bloklardan alınan 7 µ’luk seri kesitler distile su yardımı ile lamalar üzerine yayılarak embriyonun genel histolojik yapısını belirlemek için

Hematoksilen-Eosin (Mayer's) ve Gomori trichrome ile boyanmıştır (Bancroft ve Cook, 1994). Boyanan kesitler entellan (Pancreac histofluid) ile kapatılarak daimi preparat haline getirildikten sonra mikroskopta (Olympus BX51) incelenerek değişik büyütmelerde fotoğrafları çekilmiştir.

## **5- Embriyoların İmmünohistokimyasal Boyanması**

İmmünohistokimyasal incelemeler için Vectobound reagent ile kaplanmış lamalar üzerine alınan 7µ kalınlığındaki seri embriyo kesitleri ksilen ile muamele edilerek parafinden arındırılmış ve azalan alkol serilerinden (%96, %80, %70) geçirilmiştir. Kesitler fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) (SİGMA P 3813) ile yıkandıktan sonra, kesitlerin endojen peroksidaz aktiviteleri metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içinde 30 dakika muamele edilerek baskılanmıştır. Normal serumla 30 dakika bloklamanın ardından kesitlere; laminin (Vector Lab. Laminin VP L 551) ve fibronektin (Vector Lab. Laminin VP F 705) birincil antikoları 1 saat oda sıcaklığında nemli kutuda uygulanmıştır. İkincil antikor olarak biotenlenmiş fare ve tavşana karşı geliştirilmiş immünglobulin (Vector Lab. Vectastein Elit ABC Kit PK 6200) oda sıcaklığında nemli ortamda 30 dakika süreyle uygulanmıştır. Pozitif immünoboyanma, avidin-biotin kompleks tekniği ve son kromojen olarak kahverengi bir çökelek oluşturan diaminobenzidine (DAB) (Vector Lab. Peroxide Sub. SK 4100) kullanarak görülebilir hale getirilmiştir. Distile su ile yıkanan preparatlara son olarak Hematoksilen-Eosin (Mayer's) ile zıt boyama yapılmış, lamalar entellan ile kapatılıp daimi preparat haline getirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama sonucunda laminin ve fibronektin sarımsı kahverengi boyanmıştır.

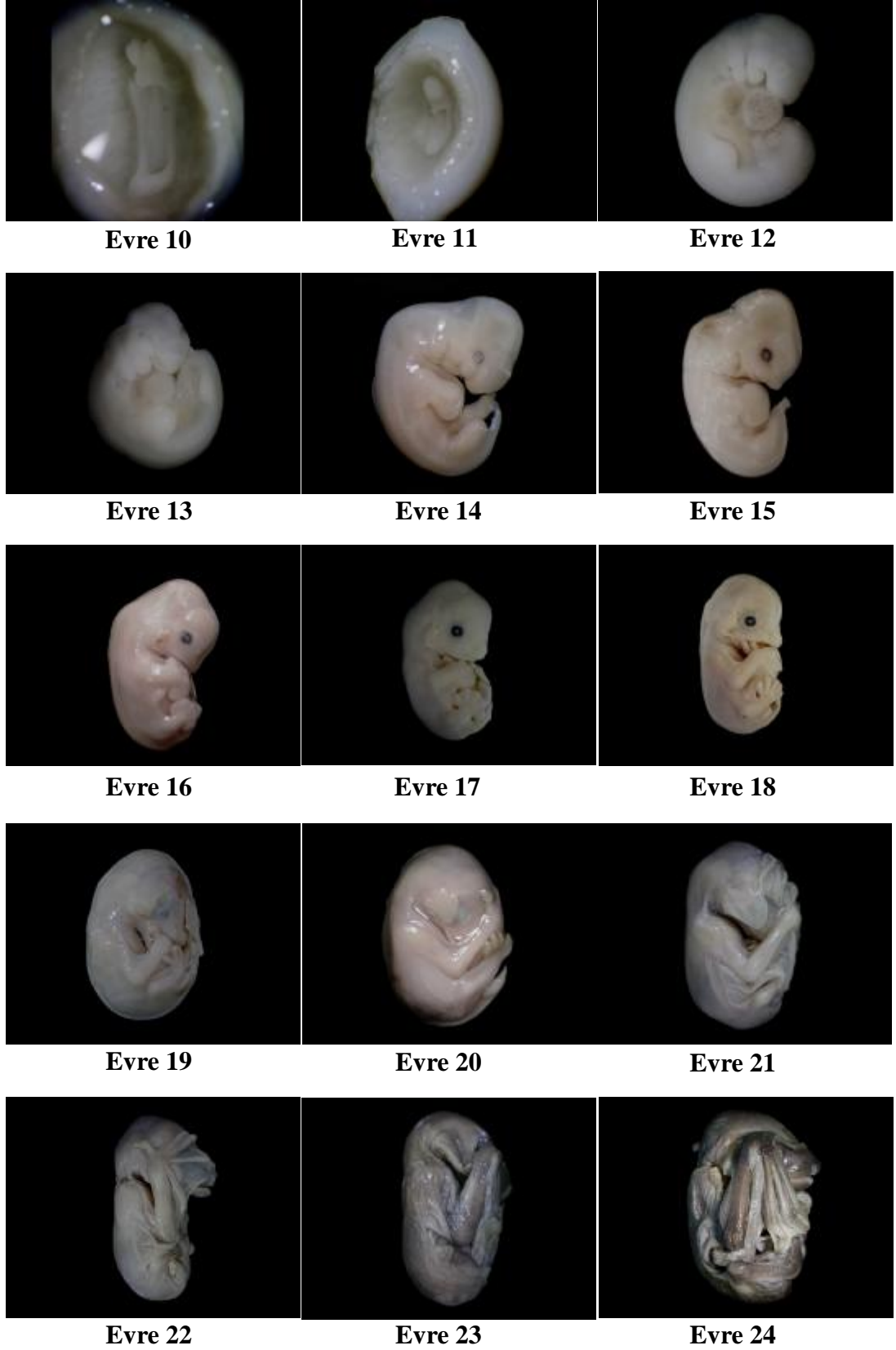
## IV. BULGULAR

### A-EVRELER

Yapılan çalışmalar sonucunda *Myotis myotis* türü için 15 gelişim evresi, gebe dişi bireylerden elde edilen embriyolardan makroskopik olarak belirlenmiştir. Evrelendirme için sadece morfolojik özellikler kullanılmıştır. Bunlara ilaveten bilaminar blastosist evresi ise histolojik olarak uterustan alınan kesitlerde tespit edilmiştir. Başlıca ayırt edici özellikler Adams (1992), Cretekos *et al.*, (2005) ve Tokita (2006)' nın yaptığı çalışmalardan yararlanılarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar ile karşılaştırılabilir olması için evre numaraları bu çalışmalar temel alınarak verilmiştir.

Makroskopik olarak belirlenen evrelerin bazıları, evre için çok karakteristik olan özellikler ile isimlendirilmiştir. Belirlenen gelişim evreleri Şekil 4.1' de görüldüğü gibidir.

10. Evre: Ön ve arka nöropor
11. Evre: Rostral nöroporun kapanması
12. Evre: Ön üye tomurcuğu
13. Evre: Arka üye tomurcuğu
14. Evre: Retinanın pigmentasyonu
15. Evre: El/ayak plağı
16. Evre: Burunun şekillenmesi
17. Evre
18. Evre: Başparmağın serbest hale geçmesi
19. Evre: Tırnakların gelişimi
20. Evre: Gözkapaklarının kapanması
21. Evre
22. Evre
23. Evre
24. Evre: Fetal periyodun sonu

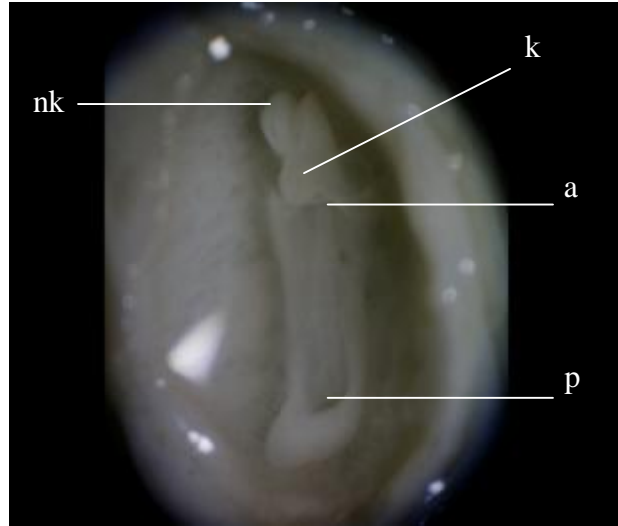


Şekil 4.1: *Myotis myotis* türünün gelişim evreleri



## 10. Evre: Ön ve arka nöropor

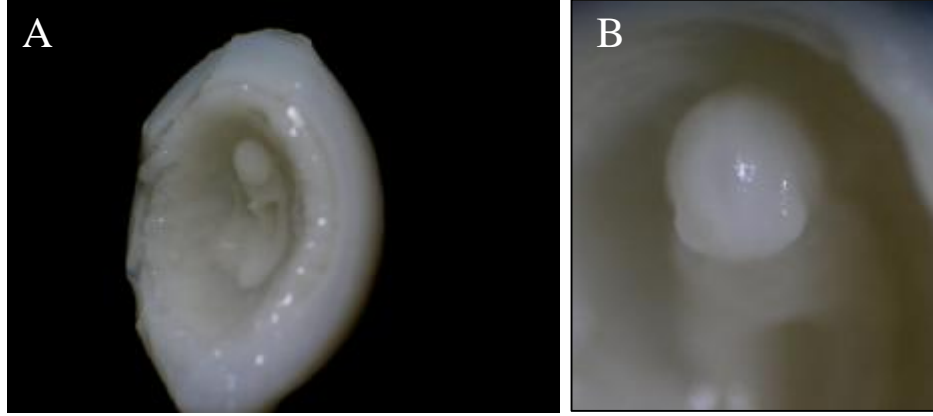
Bu evrede embriyonun anterior-posterior (A-P) eksenini belirginleştirir. 10. evredeki embriyo gözle görülebilen ekstraembriyonik membranlarla çevrili çok tabakalı bir embriyo düzlemi olarak görülür (Şekil 4.2). Bu evredeki en belirgin özellik nöral tüp ve somitlerin oluşumudur. Nöral plaklar embriyonun dorsalinde birleşerek nöral tüpü oluştururlar. Fakat nöral tüpün anterior ve posterior uçları hala açıktır. Bu birleşme anteriorde arka beyin bölgesine posteriorde ise en son oluşan somit çiftleri yakınlarına erişir. Anterior nöral plağın lateral kenarları orta hatta oranla yükseldiği için önceden düzlemsel olan embriyo orta beyin bölgesinde (cranial flexure) ventrale doğru eğilir. Gözlerin rudimentleri olacak olan optik sulkuslar halen açık olan prosensefalon içinde görülebilmektedir. Kalp kabarıklığı belirgin ve altında barsak kanalının anterior giriş deliği (intestinal porta) görülebilmektedir. Birinci yutak kavisi (mandibuler kavis) soluk olarak görülür.



Şekil 4.2: 10. evredeki embriyonun ventralden görünümü. Oluşmakta olan bağırsak kanalının anterior (a) ve posterior (p) giriş delikleri; kalp (k), nöral katlantılar (nk)

### 11. Evre: Rostral nöroporun kapanması

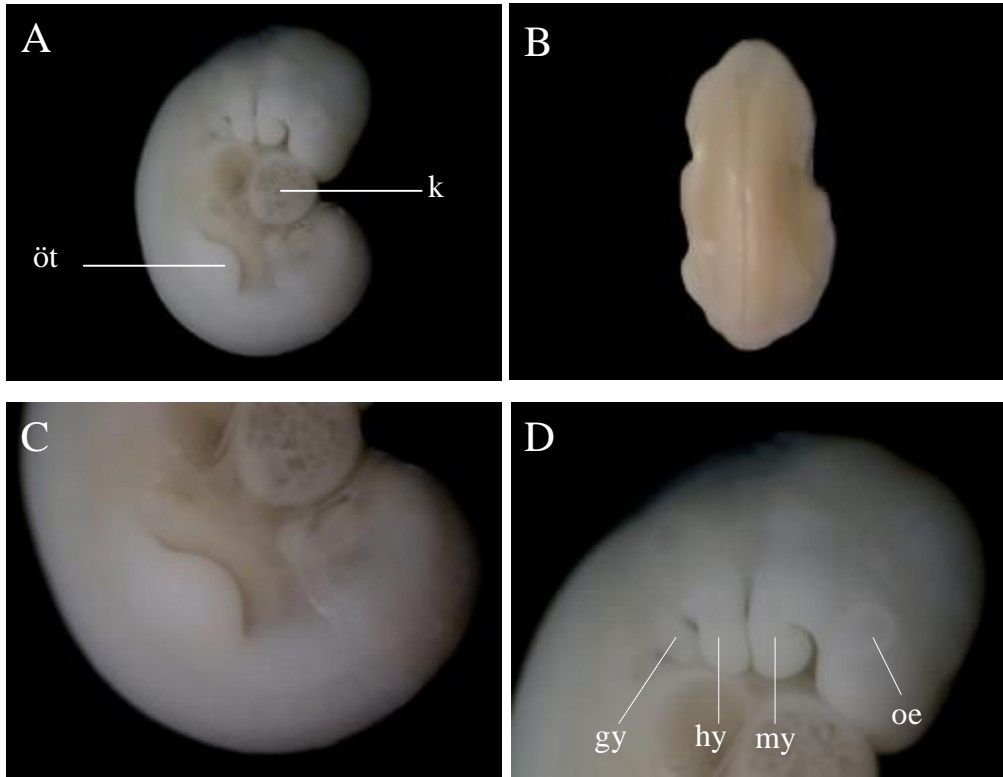
Bu evrede beyinin hızlı gelişimi nedeniyle, baş bölgesindeki eğrilik belirgindir. Embriyo ventrale doğru eğilir. 11. evre rostral nöroporun kapanmasıyla tanımlanır. Kalp tüpü büyümüştür. Mandibular ve hyoid yaylar belirgindir (Şekil 4.3A,B).



Şekil 4.3: 11 evredeki embriyonun görünümü: Ventral (A) ve dorsalden (B) görünüm

## 12. Evre: Ön üye tomurcuğu

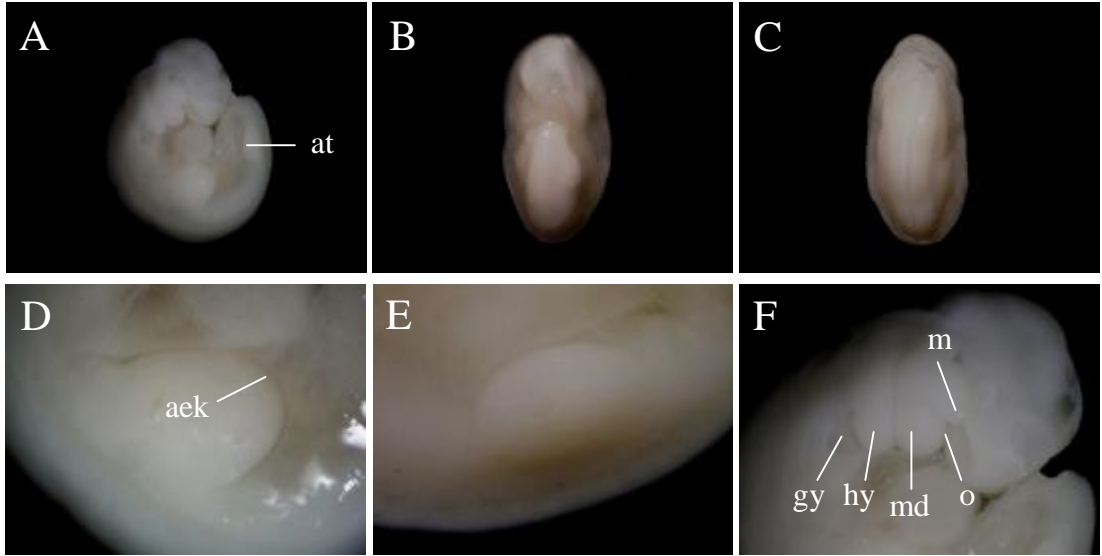
12. evrede embriyonun vücudu oldukça kıvrılmıştır (Şekil 4.4A,B). Bu evrenin belirleyici özelliği ön kol tomurcuklarının belirgin hale gelmesidir (Şekil 4.4A). Optik evaginasyonlar büyür ve ektoderm üzerine yaklaşır. Fakat retina ve lens henüz görülmez (Şekil 4.4D). Optik vezikül ise küresel bir şekil almaya başlar. Nöral tüpün posterior ucu (caudal nöropor) kapanır ve bu evrede bir kuyruk tomurcuğu mevcuttur. 1. (mandibular) ve 2. (hyoid) faringeal yaylar büyür ve distal olarak genişler. Bu yaylara ilaveten üçüncü faringeal yay (glossofaringeal yay) oluşur. Faringeal yaylar arasında mandibular yay en fazla genişlemiştir. Kalp farinfeal bölgenin altında büyük bir çıkıntı şeklinde belirgindir (Şekil 4.4A,C). Dorsal flexure (eğrilik) göze çarpar.



Şekil 4.4: 12. evredeki embriyonun görünümü: Lateral görünüm (A); ön üye tomurcuğu (öt), kalp (k). Dorsalden görünüm (B). Lateralden ön üye tomurcuğu (C). Başın lateralden görünümü (D); glossofaringeal yay (gy), hyoid yay (hy), mandibular yay (my), optik evaginasyon (oe)

### 13. Evre: Arka üye tomurcuğu

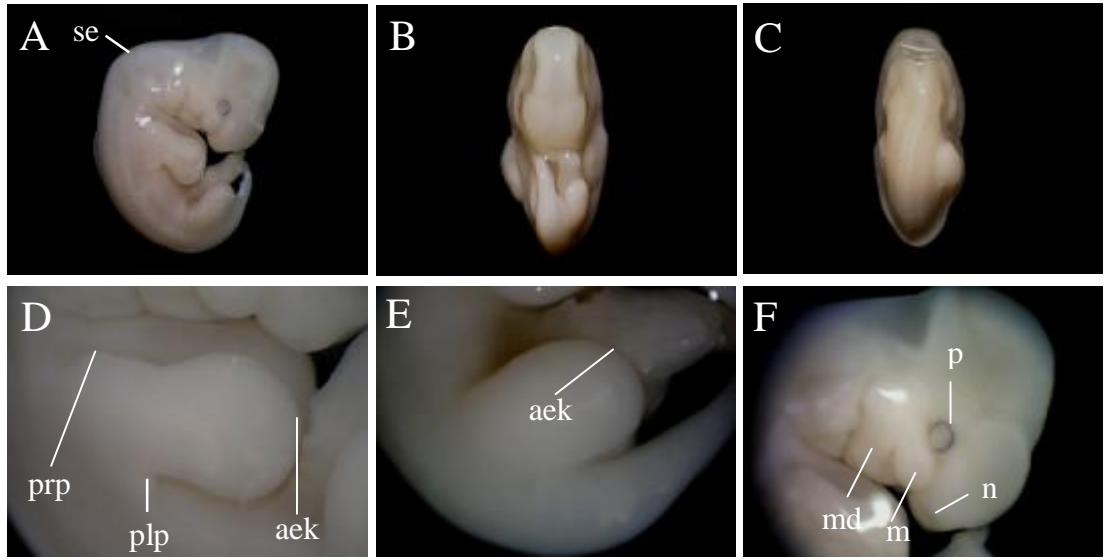
Embriyonun vücudundaki kıvrılma belirgindir (Şekil 4.5A-C). 13. evre arka üye tomurcuğunun ilk olarak ortaya çıkışı ile belirlenir (Şekil 4.5A,D). İlk iki faringeal yay çifti oldukça belirgindir. Birinci yayın anterior kenarında oral oluk adı verilen bir yarık olarak oluşur (Şekil 4.5F). Oral oluk alt çeneyi üst çeneden ayırır. Böylelikle dorsalde maksillar oluşum meydana gelmiş olur. 3. yay, hyoidin altında uzanır fakat belirgin değildir. Ön üye tomurcuğu lateral olarak genişlemiştir. Ön üye tomurcuğunun apikal kenarlarında apikal ektodermal kalınlaşma (AEK) oluşmaya başlar (Şekil 4.5D). AEK arka üyelerde görülmez (Şekil 4.5E). Kuyruk tomurcuğu gelişir.



Şekil 4.5: 13. evredeki embriyonun görünümü: Lateral görünüm (A); arka üye tomurcuğu (at). Ventralden görünüm (B). Dorsalden görünüm (C). Lateralden ön üye tomurcuğu (D); apikal ektodermal kalınlaşma (aek). Lateralden arka üye tomurcuğu (E). Başın lateralden görünümü (F); glossofaringeal yay (gy), hyoid yay (hy), maksillar oluşum (m), mandibula (md), oral oluk (o)

## 14. Evre: Retinanın pigmentasyonu

14. evrenin belirgin özelliği gözün retinasında pigmentasyonun başlamasıdır (Şekil 4.6A,F). Baş ve gövdenin birleştiği yerde servikal eğrilik göze çarpar (Şekil 4.6A-C). 1. faringeal yay, oral oluğun derinleşmesiyle maksiler ve mandibular parçalara bölünmüştür. Maksillanın anterior kısmında bir çift nasal çukur belirginleşmesi, burun deliği oluşumunun başlamasını işaret eder (Şekil 4.6F).



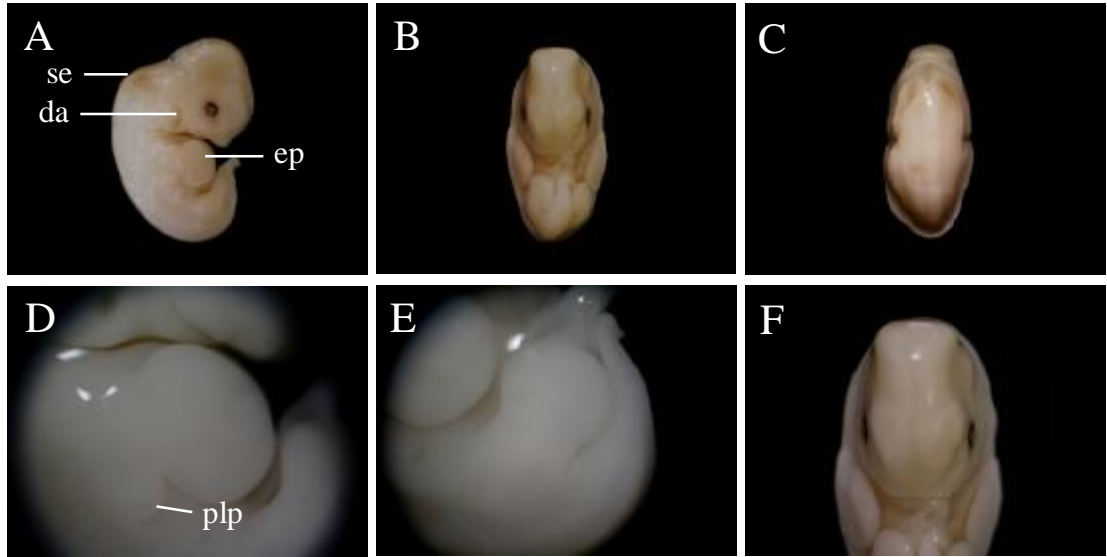
Şekil 4.6: 14. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden görünüm (A); servikal eğrilik (se). Ventralden (B) ve dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye tomurcuğu (D); apikal ektodermal kalınlaşma (aek), plagiopatagium primordiumu (plp), propatagium primordiumu (prp). Lateralden arka üye tomurcuğu (E). Başın lateralden görünümü (F); maksilla (m), mandibula (md), nasal çukur (n), pigment (p)

Ön bacağıın uzunluğu genişliğinden fazladır ve yassılaşıarak kürek şeklini almıştır (Şekil 4.6B,D). Ön üyelerin kaideye yakın kısmında belirgin bir şişkinlik göze çarpar. Bu yapı propatagium primordiumudur. Bu yapı ileride omuz ve kol bileği arasında gerilecek olan kanat membranı bölümünü oluşturur. İkinci bir şişkinlik ön üyeler ile gövdenin birleşme yerinde belirir. Oluşan bu yapı ise plagiopatagium primordiumudur. Gelişimin sonunda bu yapı ön üyelerin beşinci parmağı ile arka üyelerin bileği arasında gerilecek olan kanat membranı bölümünü oluşturur (Şekil 4.6D). Arka bacakların ise uzunluğu neredeyse genişliği kadardır. Kalp hala ventral

olarak çıkıntı oluşturur. Fakat vücut duvarı ile kuşatılmış durumdadır. Arka üye tomurcuğunun apikal kenarlarında apikal ektodermal kabarıklık (AEK) oluşmuştur (Şekil 4.6E). Otik vezikül uzamıştır. Kuyruğun proksimal kısmında genital tüberkül oluşumu fark edilir.

## 15. Evre: El/ayak plağı

15. evrede vücut şekli belirgin bir hal alır. Omuzlar genişlemiştir (Şekil 4.7A-C,F). Bu evrenin belirgin özelliği ön üyelerin formasyonudur. Ön ve arka üyelerin her ikisinde apikal ektodermal kabarıklıklar (AEK) silikleşir.



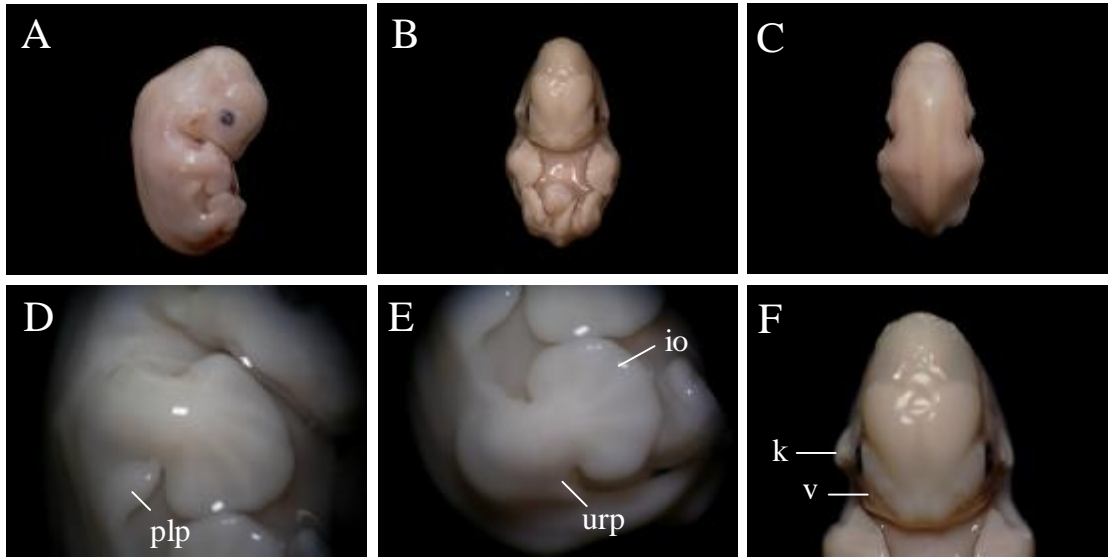
Şekil 4.7: 15. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden görünüm (A); dış kulak açıklığı (da), el plağı (ep), servikal eğrilik (se). Ventralden (B) ve dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye tomurcuğu (D); plagiopatagium primordiumu (plp). Lateralden arka üye tomurcuğu (E). Başın ventralden görünümü (F)

Ön üyelerin distal kısımları genişler ve dorso ventral olarak yassılaştır, kısa kürek benzeri yapı oluşturur (Şekil 4.7D). Daha gelişmiş örneklerde el plağı mezenşimi 5 parmağın iskeletini oluşturur, el plağı gittikçe asimetrikleşir. Parmaklara ait kabarıklıklar ve interdigital oluklar ön üyelerde belli belirsiz görülebilir. Proksimal ön üyenin kaudal kısmı civarında plagiopatagiumun primordiumu daha belirgin bir hal alır. 15. evrenin sonunda arka üye tomurcuğunun distal segmenti ayak plağını

oluşturur (Şekil 4.7E). Gözlerde lens vezikülü belirgindir. İşitsel oluğun eksternal açıklığı görülebilir. Genital tüberkül açıkça belirgindir.

## 16. Evre: Burunun şekillenmesi

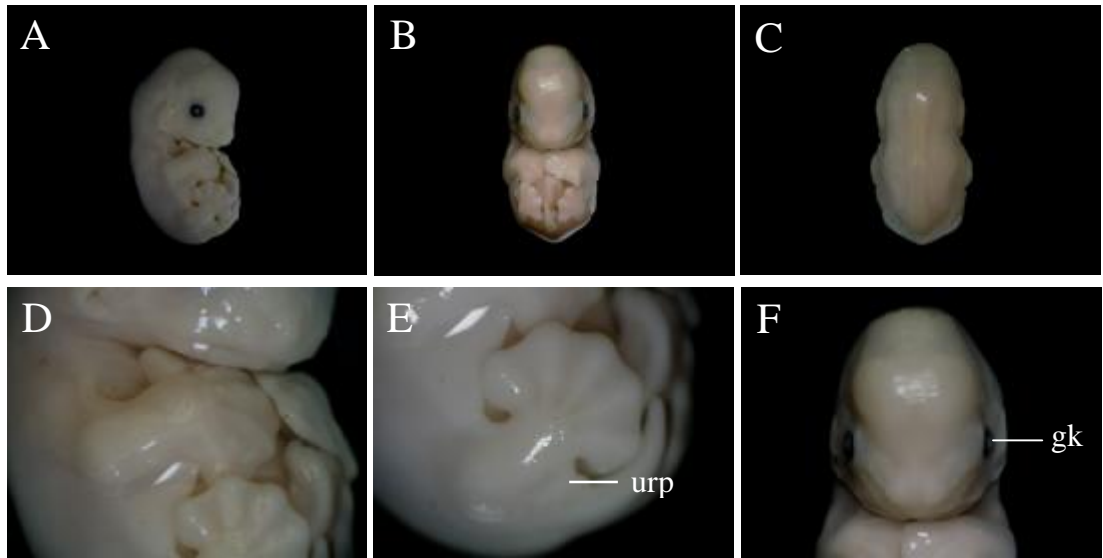
Baş yükselmeye başlar ve sonuçta servikal eğrilik gittikçe azalır (Şekil 4.8A-C). Dış burun deliklerinin oluşumu neredeyse tamamlanmıştır (Şekil 4.8F). Kulak kepçesi işitsel kanalın arkasında oluşmaya başlar. Daha sonra tragusu verecek olan küçük çıkıntı, işitsel kanalın dorsal kısmı üzerinde gözlenebilir (Şekil 4.8F). Plagiopatagium tomurcuğu ventrokaudal olarak genişler (Şekil 4.8D). Parmağa ait kabarıklıklar ve interdigital oluklar, arka üyeler üzerinde belli belirsiz olarak oluşur. Uropatagium taslakları arka üyelerin kaudal kenarında gelişir (Şekil 4.8E). Bu taslakların gelişimi ile daha sonraki evrelerde arka üyeler ve kuyruk arasında gerilecek olan kanat membranı bölümü oluşur. Üst çenenin lateral yüzeylerinde bıyık kılı adı verilen vibrissalar küçük yumrular halinde görülebilir (Şekil 4.8F).



Şekil 4.8: 16. evredeki embriyonun görünümü: Lateral (A), ventral (B) ve dorsal (C) görünüm. Lateralden ön üye tomurcuğu (D); plagiopatagium primordiumu (plp). Lateralden arka üye tomurcuğu (E); interdigital oluk (io), uropatagium (urp). Başın ventralden görünümü (F); kulak kepçesi (k), vibrissa (v)

## 17. Evre:

Bu evrede baş yükselmeye devam eder (Şekil 4.9A-C). Burun önemli derecede uzamış ve burun deliklerinin oluşumu hemen hemen tamamlanmıştır. Vibrissa folikülleri üst çenenin her iki tarafında belirgin bir özellihtir. Bir seri siğil ya da yumru alt çenede görülür (Şekil 4.9F). Değişken büyüklük ve sayıdaki çene siğillerinin bilinen bir fonksiyonu yoktur. Gelişen göz kapağı gözün yüzeyini örtmeye başlar. Kulak kepçesi uzar, işitsel kanalı ve kısmen tragusu örterek distal uçta içe doğru kıvrılır. Kol ve bacaklar uzamıştır. Dirsek ve diz ekleminde belirgin bir eğrilme mevcuttur. Kol bileği ise hafif kıvrıktır (Şekil 4.9D,E). Arka üyelerin bütün parmaklarındaki ve ön üyenin 1. ve 2. parmakları arasındaki doku geri çekilmeye başlar. Geri kalan ön üye parmakları arasındaki doku, parmaklar arasındaki chiropatagium ya da kanat membranını oluşturmak için kalır (Şekil 4.9D,E). Uropatagium genişlemiştir ve ayak bileği seviyesine kadar ulaşmıştır.

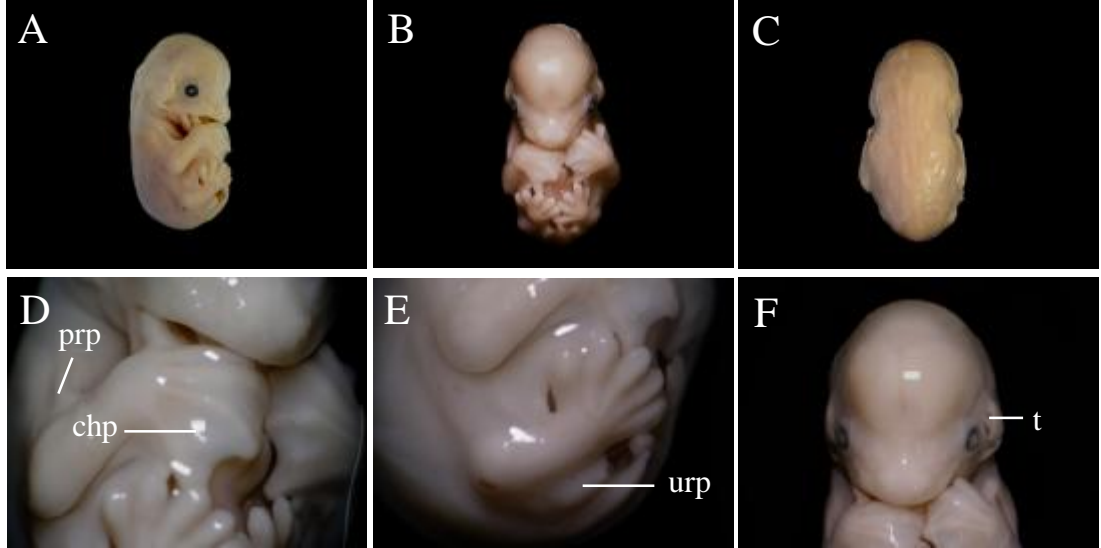


Şekil 4.9: 17. evredeki embriyonun görünümü: Lateral (A), ventral (B) ve dorsal (C) görünüm. Lateralden ön üye (D) ve arka üye (E); uropatagium (urp). Ventralden baş (F); göz kapağı (gk)



## 18. Evre: Başparmağın serbest hale geçmesi

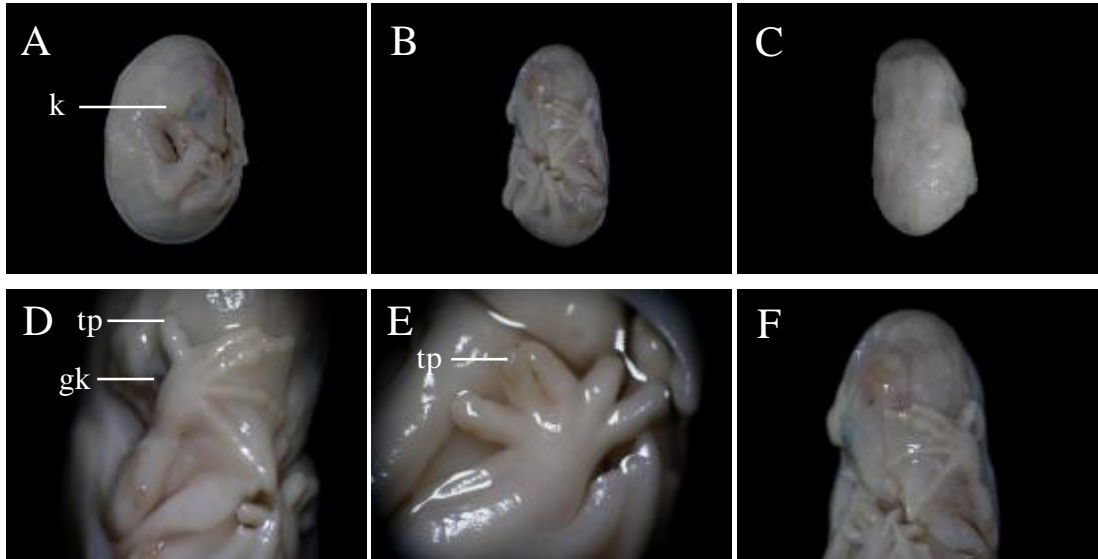
Kranial kubbe genişlediği ve başın yükselmesi ile servikal eğrilik kaybolduğu için baş daha yuvarlak görülür (Şekil 4.10A-C). Göz kapakları biraz daha gelişmiştir. Kulak kepçesi tragusu örterek içe doğru kıvrılmıştır (Şekil 4. 10F). Burun uzar. Dil hafifçe açık olan ağız içinde görülebilir. Ön üyelerin 1. ve 2. parmakları arasındaki doku tamamen kaybolmuştur. Böylece başparmak el plağının geri kalan kısmından ayrılarak serbest hale geçmiştir. Diğer parmaklar oldukça uzamıştır. Geri kalan dört parmak aralarında bulunan uçma membranı (chiropatagium) ile birbirine bağlıdır (Şekil 4.10D). Propatagium proksimal ön üyelerin anterior kenarı boyunca belirgindir. Ön ekstremiteler yüz üzerinde birbirlerine yaklaşırlar. Kol bileği eklem yerinde belirgin bir eğrilik vardır. Dirsek ve diz eklemleri belirgindir. Arka üyelerin parmakları arasındaki doku kaybolur ve birbiriyle hemen hemen aynı büyüklükte olan 5 serbest parmak oluşur (Şekil 4. 10E). Kuyruğun büyük bir kısmı uropatagium ile çevrelenmiştir. Bu nedenle kuyruk çıkıntısı daha kısa görünür (Şekil 4. 10E).



Şekil 4.10: 18. evredeki embriyonun görünümü: Lateral (A), ventral (B) ve dorsal (C) görünüm. Lateralden ön üye (D); chiropatagium (chp), propatagium primordiumu (prp). Lateralden arka üye (E); uropatagium (urp). Ventralden baş (F); tragus (t)

## 19. Evre: Tırnakların gelişimi

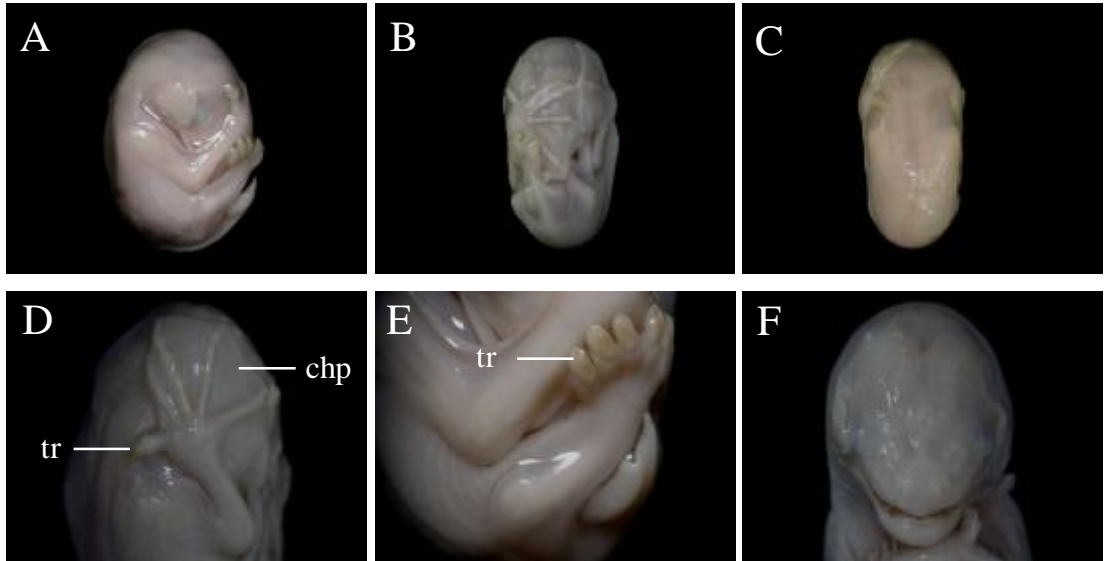
Bu evrede ön üyelerin distal ekstremiteleri üst üste binerek yüzü tamamen örter (Şekil 4.11A-C,F). Ön üyelerin 1. parmağı (başparmak) ve arka üyelerin bütün parmaklarının distal uçlarında yumru benzeri tırnak primordiası gelişir (Şekil 4.11D,E). Ayak bileği belirgin bir preaksial eğrilme gösterir ve calcar daha belirgindir (Şekil 4.11E). Gözde retina tamamen pigmente olmuştur. Gelişen göz kapağı, gözün daha fazlasını örter (Şekil 4.11D). Kulak kepçeleri daha büyüktür, uç kısmı içe doğru kıvrık kalır fakat tragiiler görülebilir (Şekil 4.11D). Tragiler çubuk benzeridir ve distal uçları küttür.



Şekil 4.11: 19. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A) görünüm; kulak kepçesi (k). Ventral (B) ve dorsal (C) görünüm. Lateralden ön üye (D) ve arka üye (E); göz kapağı (gk), tırnak primordiası (tp). Ventralden baş (F)

## 20. Evre: Gözkapaklarının kapanması

Embriyonun genel görünüşü önceki evre ile benzerdir fakat gövde daha uzun görünür (Şekil 4.12A-C). 20. evrede gözkapakları kapanır. Ön üyeler daha fazla uzamaya devam eder ve yüzü tamamen örter (Şekil 4.12F). Chiropatagium gelişerek parmaklar arasında daha gevşek bir hal alır (Şekil 4.12D). Kol ve ayak bileği eklemlerinde belirgin bir eğrilik mevcuttur (Şekil 4.12D,E). Kulak kepçeleri daha büyüktür ve uça hafif kıvrıktır. Deride keratinizasyon başlamıştır. Deri melanositler ile pigmente olmaya başlar. Tırnaklar daha belirgindir ve pigmente olmaya başlarlar (Şekil 4.12E).

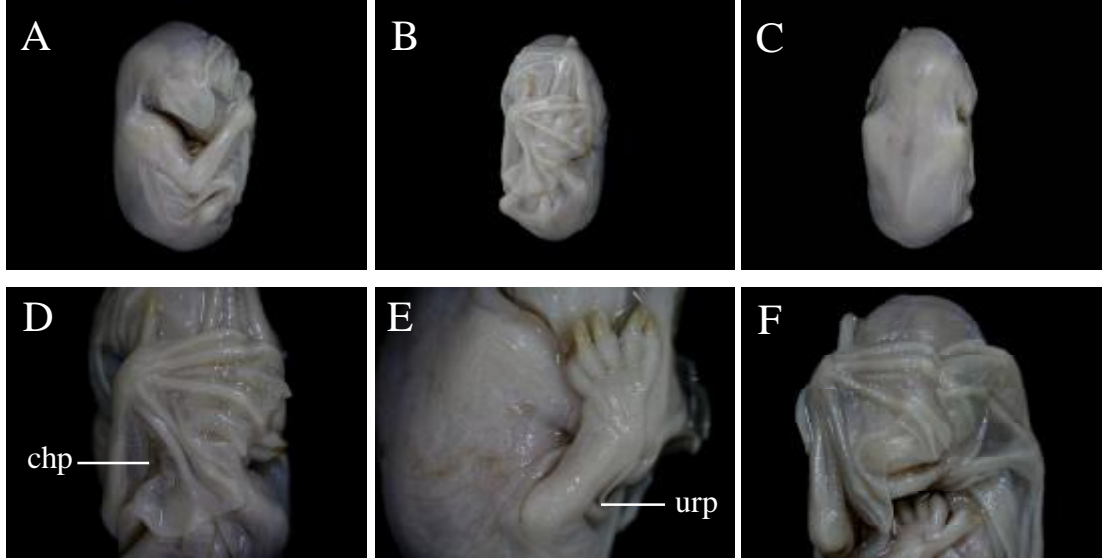


Şekil 4.12: 20. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A), ventralden (B), dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye (D) ve arka üye (E); chiropatagium (chp), tırnak (tr). Baş ventralden (F)

## 21. Evre:

Vücutta özellikle baş ve boyun bölgesindeki pigmentasyon belirgindir (Şekil 4.13A,C). Chiropatagium tamamen gevşek bir hal almıştır (Şekil 4.13D,F). Uropatagiumun daha fazla gelişmesi nedeniyle kuyruk çıkıntısı daha az belli olur

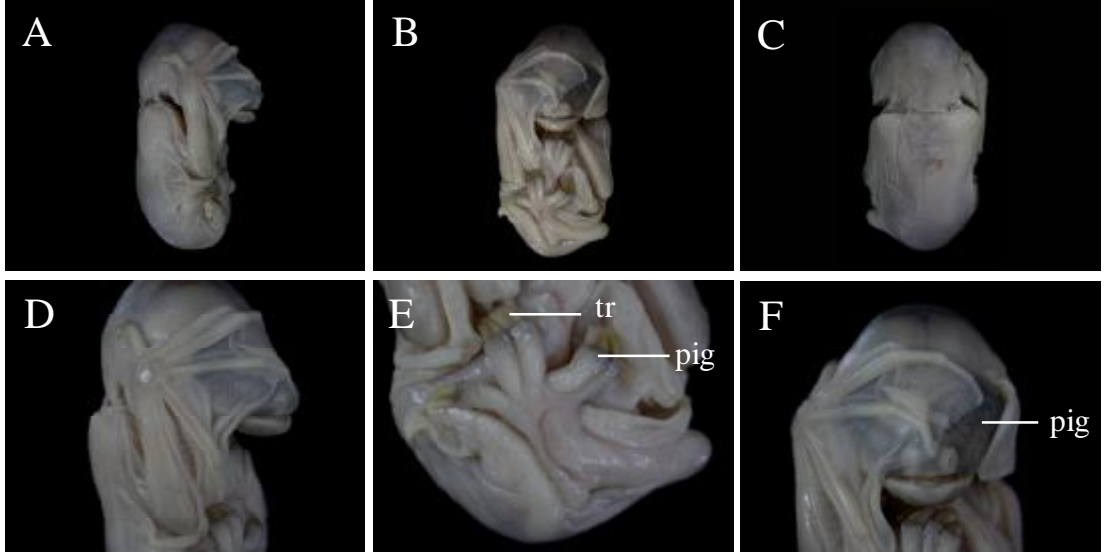
(Şekil 4.13E). Tırnaklardaki pigmentasyon artmış ve tırnaklar içe doğru kıvrılmıştır (Şekil 4.13D,E).



Şekil 4.13: 21. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A), ventralden (B), dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye (D); chiropatagium (chp). Lateralden arka üye (E); uropatagium (urp). Baş ventralden (F)

## 22. Evre:

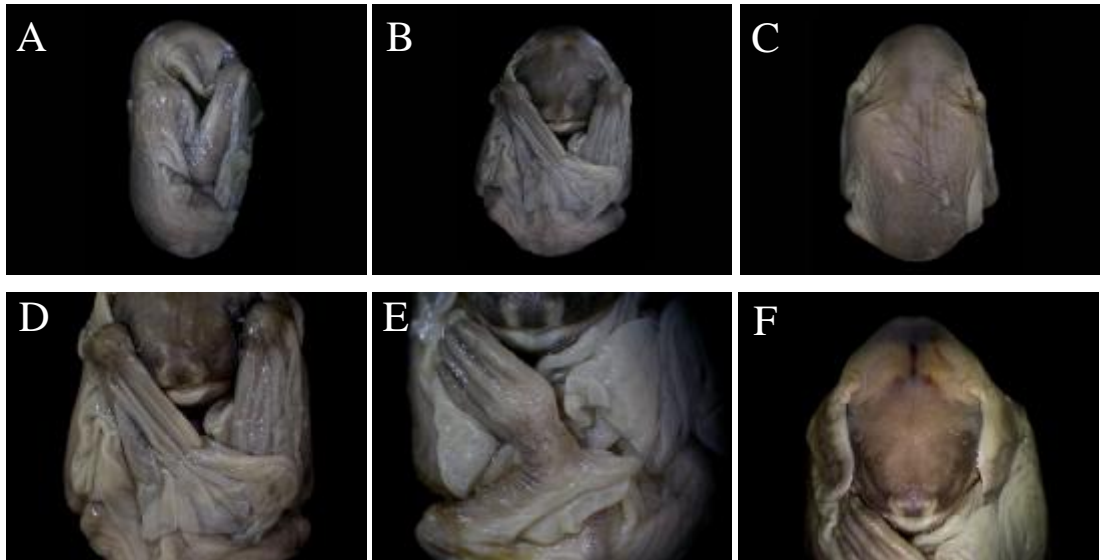
Vücuttaki pigmentasyon artmıştır (Şekil 4.14A-C). İçeriye doğru kıvrılarak pençe şeklini alan tırnaklardaki pigmentasyon artarak tüm tırnağı kaplamıştır. Arka üyelerde parmakların tırnaklara temas eden bölgesindeki yoğun pigmentasyon göze çarpar (Şekil 4.14E). Yüz bölgesi de pigment artışına bağlı olarak daha koyu bir renk almıştır. Burun delikleri ve alt çene etrafındaki pigmentasyon daha azdır (Şekil 4.14F). Kanat membranı incedir ve yüzeyi dalgalı görülür (Şekil 4.14D).



Şekil 4.14: 22. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A), ventralden (B), dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye (D). Lateralden arka üye (E); pigmentasyon (pig), tırnak (tr). Baş ventralden (F); pigmentasyon (pig)

### 23. Evre:

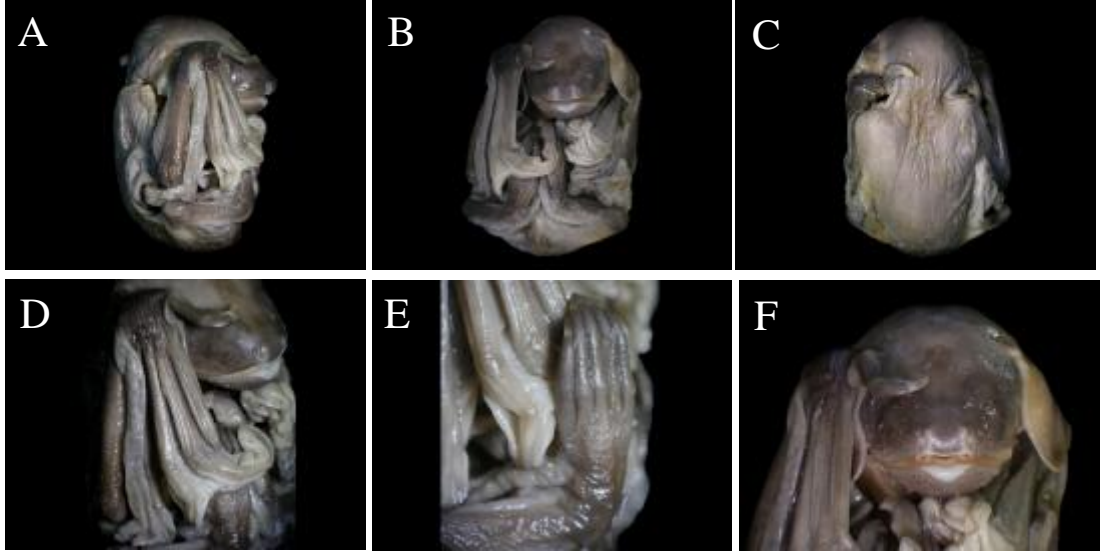
Pigmentasyon vücutta neredeyse tamamlanmıştır. Özellikle yüzde ve üyelerde seyrek kıllar görülmeye başlar. Ön üyelerdeki parmaklar arasında bulunan chiropatagium oldukça gevşek ve buruşuk haldedir (Şekil 4.15A-F).



Şekil 4.15: 23. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A), ventralden (B), dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye (D) ve arka üye (E). Baş ventralden (F)

## 24. Evre: Fetal periyodun sonu

Vücuttaki pigmentasyon ileri düzeydedir. Kılırların tüm vücuda yayılarak arttığı görülür. Embriyo annenin bir minyatürü halindedir. Sadece boyutu annenin yarısından daha küçüktür ve vücut kılları tamamen oluşmamıştır (Şekil 4.16A-F).



Şekil 4.16: 24. evredeki embriyonun görünümü: Lateralden (A), ventralden (B), dorsalden (C) görünüm. Lateralden ön üye (D) ve arka üye (E). Baş ventralden (F)

## B- FARKLI EVRELERDEKİ LAMİNİN ve FİBRONEKTİN DAĞILIMI

Bu çalışmada, farklı yarasa gelişim evrelerinde gelişme ve farklılaşmada rolü olan laminin ve fibronektinin dağılımı incelenmiştir. Anti-laminin ve anti-fibronektin kullanılarak yapılan indirekt immünohistokimya boyama yöntemiyle laminin ve fibronektin dağılımı değişik evrelerdeki embriyolardan alınan total kesitlerde incelenmiştir. Evrelerdeki laminin ve fibronektin yoğunluğu Çizelge 4.1' de özetlenmiştir.

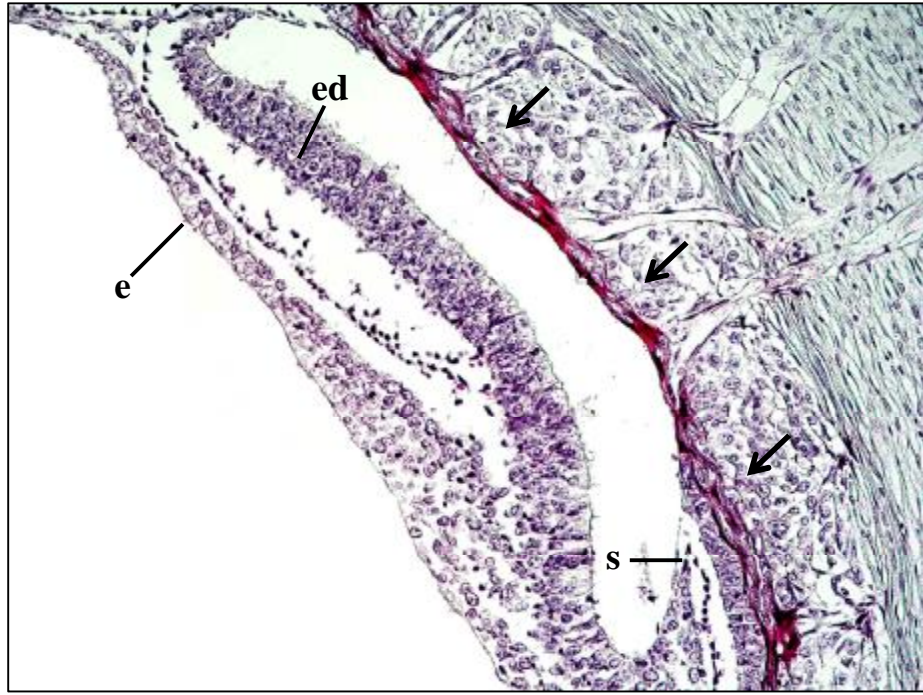
Çizelge 4.1: Evrelerdeki laminin ve fibronektin yoğunluğu. ((-) : yok, (⊥): az, (+): orta yoğun, (+ +): yoğun, (+ + +): çok yoğun)

EVRE	GLİKOPROTEİN	
	LAMİNİN	FİBRONEKTİN
İki tabakalı embriyo	++	+++
10. evre	+++	++
11. evre	+	⊥
14. evre		
Göz	+++	+
Somit	+	⊥
Mide	+++	++
Barsak	++	+
Karaciğer	++	+
Akciğer	+	+
Böbrek	++	⊥
Sırt hücre göçü	++	+
Kalp	++	+
16. evre		
Somit	+++	++
Mide	++	+
Barsak	++	⊥
Karaciğer	+++	+
Pankreas	+++	+
Akciğer	+	-
Böbrek	++	+
Sırt hücre göçü	+++	++
Kalp	++	+
Koroid pleksus	++	+
18. evre		
Somit	++	+
Mide	+++	+
Barsak	+++	++
Karaciğer	+++	⊥
Pankreas	+++	+
Akciğer	++	-
Böbrek	+++	++
Sırt hücre göçü	++	+
Kalp	++	+
Koroid pleksus	+++	⊥

## İki Tabakalı Embriyo

Bu evrede blastosist endometrium stroması içine kısmen gömülmüş haldedir. Trofoblast aktif olarak çoğalan sitotrofoblast denilen bir iç ve sinsisyotrofoblast denilen bir dış tabakaya farklılaşmıştır (Şekil 4.17).

Bilaminar embriyo evresinde endoderm hücreleri çevresinde laminin dağılımı yoğun olarak görülmektedir. Embriyonel diski oluşturan hücreler etrafında da laminin tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Aynı bölgelerde fibronektin yoğunluğunun daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19).

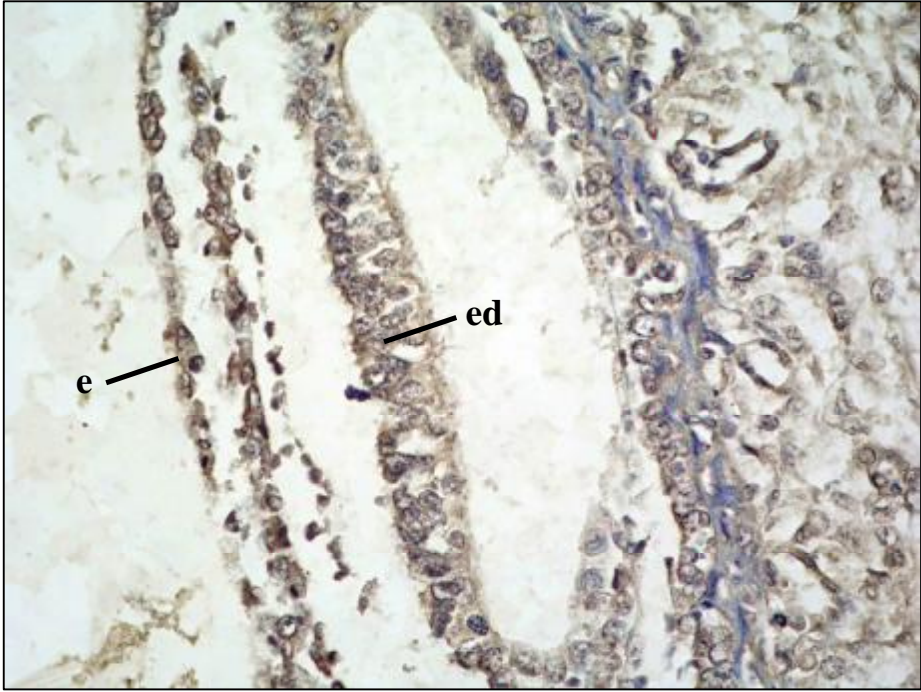


Şekil 4.17: Bilaminar blastosist. Embriyonik disk (ed), endoderm (e), sitotrofoblast (s), sinsisyotrofoblast (→). Gomori trikrom, Büyütme: X200





Şekil 4.18: Bilaminar blastosit evresinde laminin dağılımı. Embriyonik disk (ed), endoderm (e). Büyütme: X400

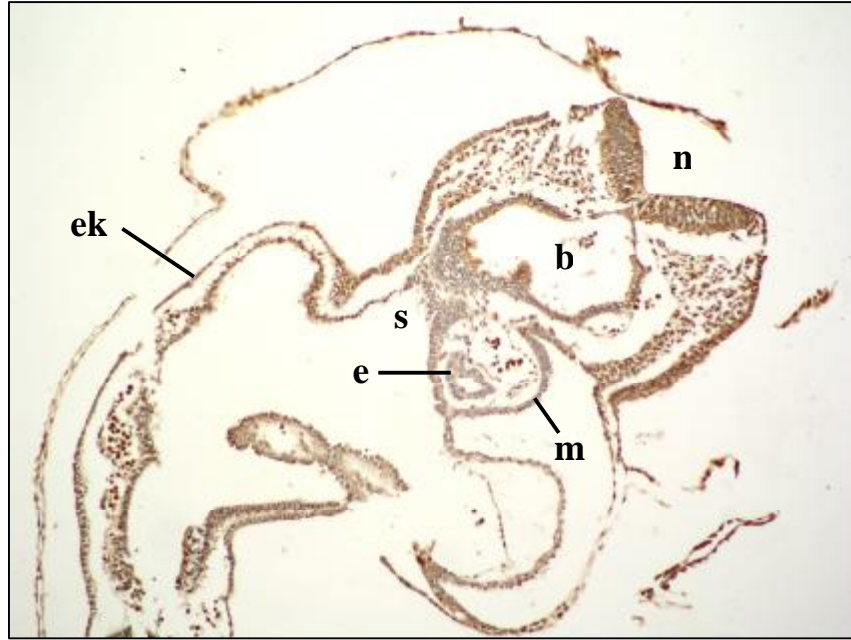


Şekil 4.19: Bilaminar blastosit evresinde fibronektin dağılımı. Embriyonik disk (ed), endoderm (e). Büyütme: X400

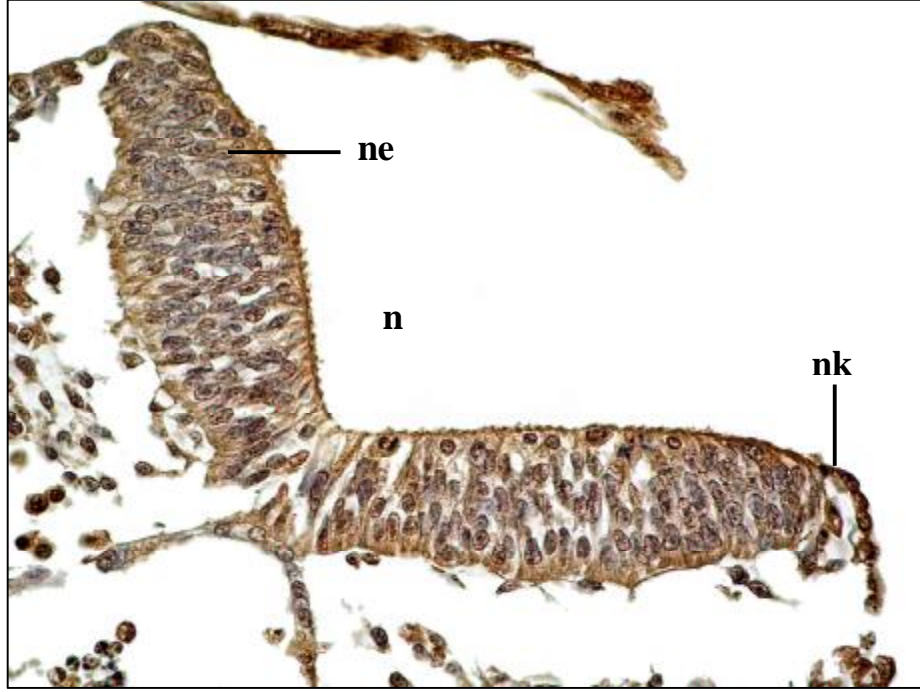
## Evre 10

Perikardiyum dışarıya çıkıntı yapmış ince bir viseral mezoderm tabakasından ibaret olup, üst kısmını yanlarda amnion ile birleşmiş durumdaki ektoderm örtmektedir. Miyokard örtüsü endokard tüpünü sarmıştır (Şekil 4.20).

10. evredeki embriyodan alınan kesitlerde nöral tüpün oluştuğu bölgede, laminin fazla miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4. 21). Fibronektin ise lamininden daha az yoğunlukta olmakla beraber, aynı bölgede çok miktarda bulunmaktadır (Şekil 4. 22).



Şekil 4.20: Evre 10 embriyonun transversal kesitinin genel görünümü. Nöral tüp (n), ön barsak (b), endokardium (e), miyokardium (m), solom (s), ektoderm (ek). Büyütme: X40



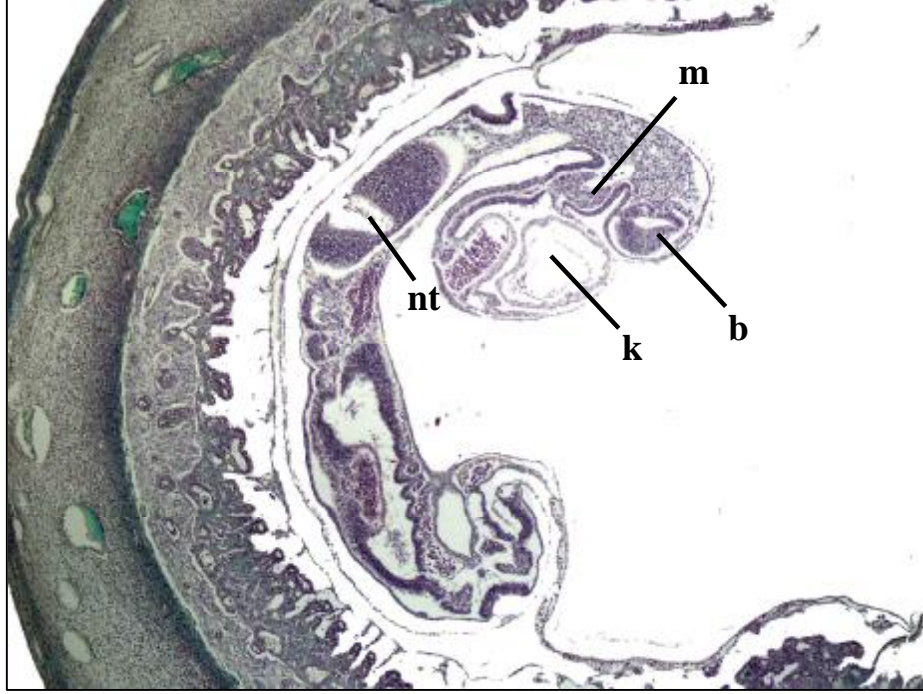
Şekil 4.21: 10 evredeki embriyonun transversal kesitinde lamininin dağılımı. Nöral oluk (n), nöral katlantı (nk), nöral ektoderm (ne). Büyütme: X400



Şekil 4.22: 10 evredeki embriyonun transversal kesitinde fibronektin dağılımı. Nöral ektoderm (ne). Büyütme: X400

## Evre 11

Evre 11' deki embriyonun kesiti Şekil 4.23' de gösterilmiştir. Bu evrede embriyonun tamamı laminin pozitif reaksiyon vermiştir (Şekil 4.24, 26, 28). Özellikle beyin ve kalbi oluşturacak hücrelerde boyanma oldukça belirgindir. Aynı bölgeler fibronektin ile reaksiyon vermiş olsa da bu yoğunluk oldukça azdır (Şekil 4.25, 27, 29).



Şekil 4.23: 11. evredeki embriyonun transversal kesiti. Kalp (k), nöral tüp (nt), beyin (b), mandibular oluşum (m). Gomori trikrom, Büyütme: X40



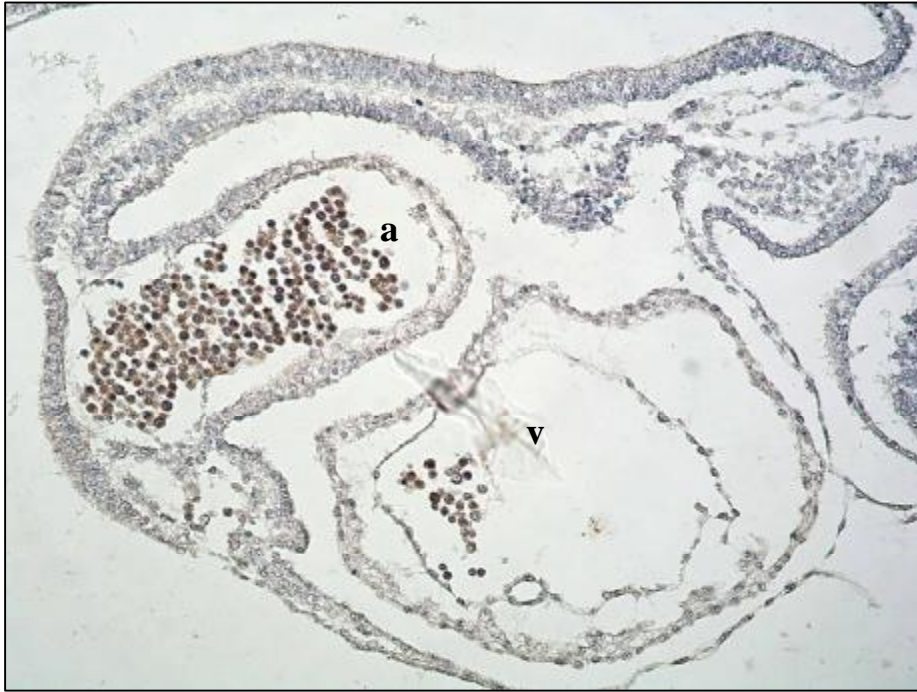
Şekil 4.24: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde baş bölgesinde lamininin dağılımı. Beyin (b), kalp (k). Büyütme: X400



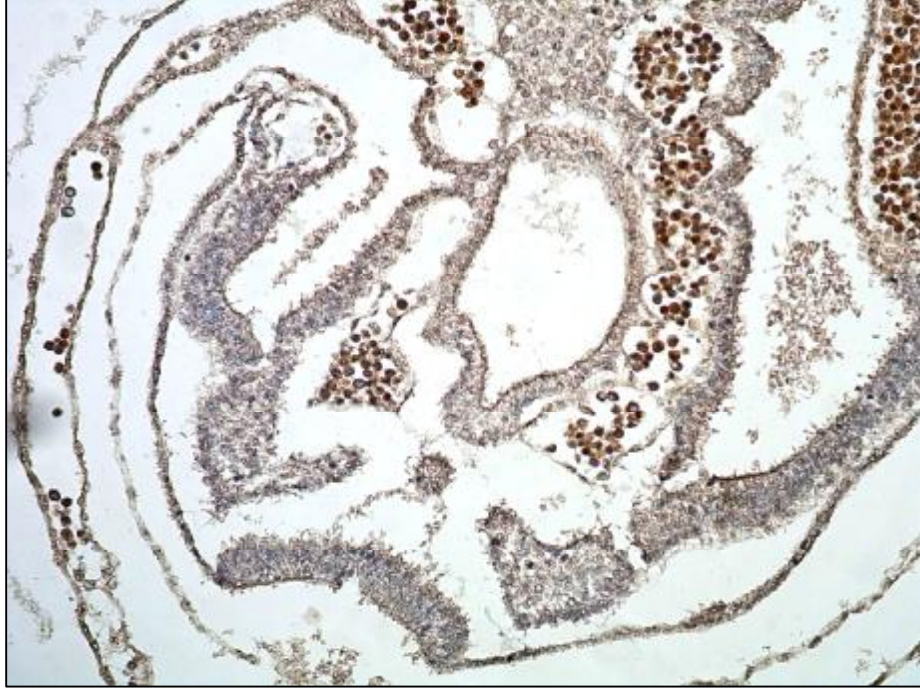
Şekil 4.25: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde baş bölgesinde fibronektin dağılımı. Beyin (b), kalp (k). Büyütme: X400



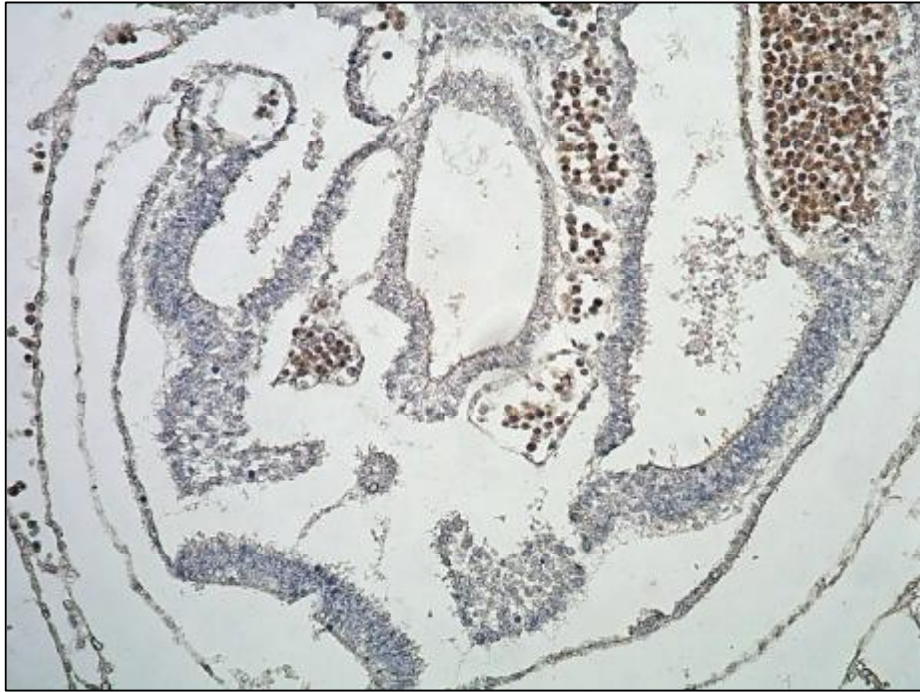
Şekil 4.26: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde kalp bölgesinde laminin dağılımı. Atrium (a), ventrikül (v). Büyütme: X400



Şekil 4.27: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde kalp bölgesinde fibronektin dağılımı. Atrium (a), ventrikül (v). Büyütme: X400



Şekil 4.28: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde posterior bölgede laminin dağılımı. Büyütme: X400



Şekil 4.29: 11. evredeki embriyonun transversal kesitinde posterior bölgede fibronektin dağılımı. Büyütme: X400

## Evre 14

14. evredeki embriyoya ait histolojik kesit şekil 4. 30' da verilmiştir. 14. evredeki embriyolardan alınan kesitlerde göz merceği ve optik kapsülü oluşturan hücreler arasında laminin dağılımı görülmektedir. Gözde retinal pigment epitelyum hücreleri etrafında laminin yoğunluğu fazladır. Nöral retina laminin pozitif olarak boyanmıştır. Baş bölgesinde serbest mezenşimal hücrelerde az da olsa lamininler tespit edilmiştir. (Şekil 4.31,33). Aynı bölgeler fibronektin pozitif olarak boyanmıştır, ancak yoğunluğu lamininden daha azdır (Şekil 4.32, 34).

Somitlerin miyotom kısımlarındaki miyoblasta farklılaşan hücreler uzayarak belirgin bir biçimde düzenlenmeye başlamıştır. Bu bölgede laminin yoğunluğunun az olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.35). Fibronektinin ise eser miktarda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.36)

Sindirim sistemini oluşturan organlar incelendiğinde mide ve barsaklarda laminin daha fazla bulunmaktadır. Mide ve barsakta özellikle lümeni çevreleyen epitel hücrelerinin apikal kısımlarında ve bazal laminada lamininin yoğun olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.37,39). Aynı bölgelerde fibronektin yoğunluğu lamininden daha azdır (Şekil 4.38,40).

Karaciğerde hepatositler kümeler halinde organize olmuş poligonal hücreler olarak görülür. İntrahepatik kan damarları hücre kümelerinin merkezinde belirgindir ve yassı endotel hücreleri ile çevrilmiştir. Karaciğerde hepatosit hücrelerinde de laminin pozitif reaksiyon vermiştir (Şekil 4.41). Fibronektin yoğunluğu ise lamininden azdır (Şekil 4.42).

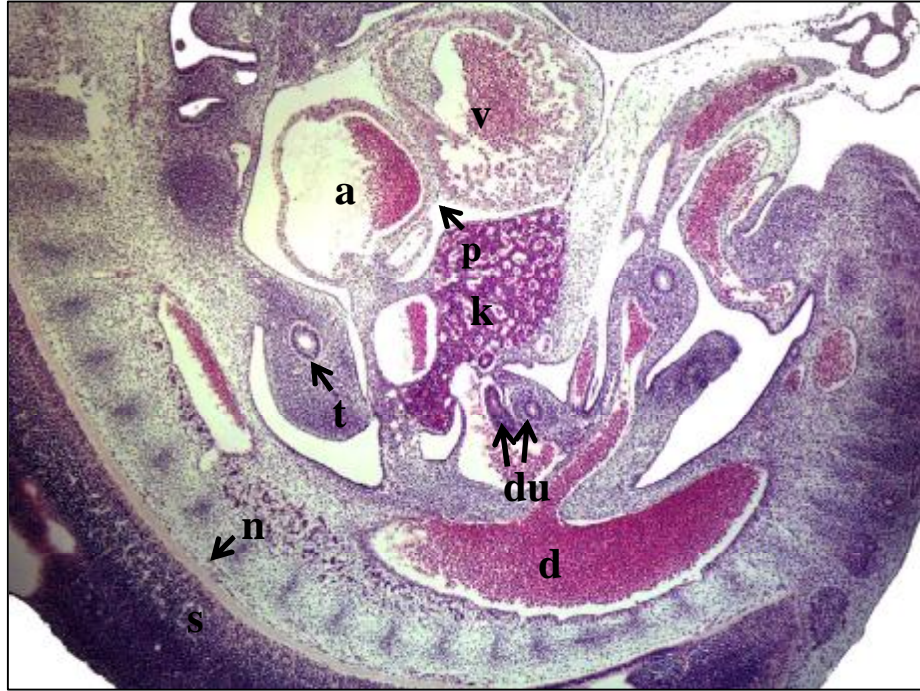
Bu evrede akciğerlerde bronşlar belirgindir. Laminin özellikle bronşların iç kısmını döşeyen epitelyum hücrelerinin bazal laminasında daha yoğundur (Şekil 4.43). Fibronektin ise çok az miktarda bulunmaktadır (Şekil 4.44).



14. evredeki embriyoda böbrek tübüleri oluşmuştur. Bu evrede embriyo kesitlerinde böbrek tübüllerinde laminin oldukça yoğun olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.45). Aynı alanlar fibronektin pozitif reaksiyon verse de, yoğunluğu oldukça azdır (Şekil 4.46).

Embriyonun dorsal sırt bölgesinde hücre göçü fazladır. Bu alanlarda laminin yoğunluğunun oldukça fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.47). Fibronektin ise daha az yoğun olmakla beraber pozitif reaksiyon vermiştir (Şekil 4.48).

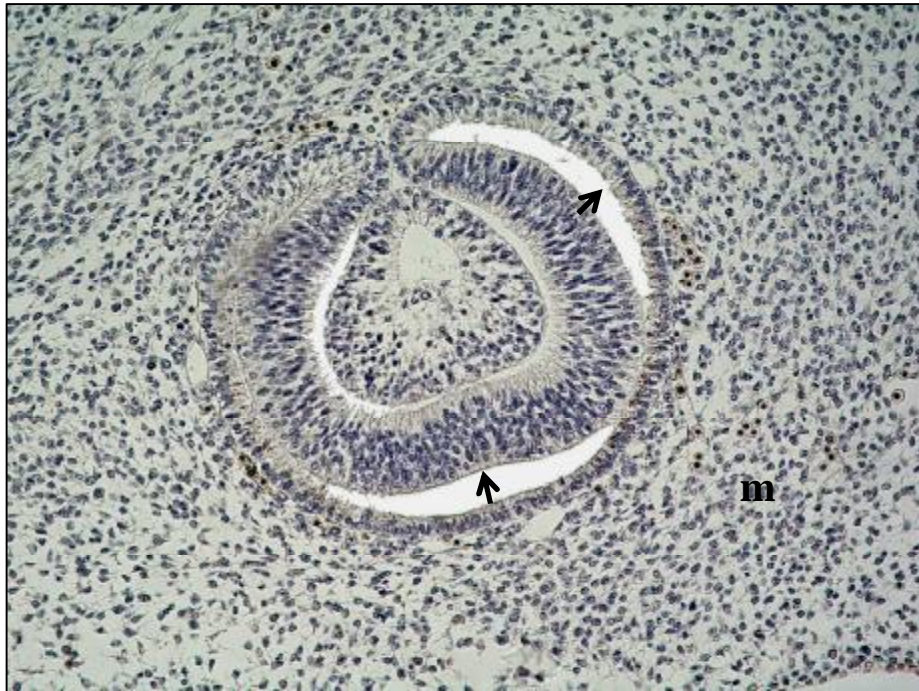
Kalp dokusunda lamininin ve fibronektin pozitif reaksiyon vermiştir. Laminin yoğunluğu fibronektinden daha fazladır. (Şekil 4.49,50)



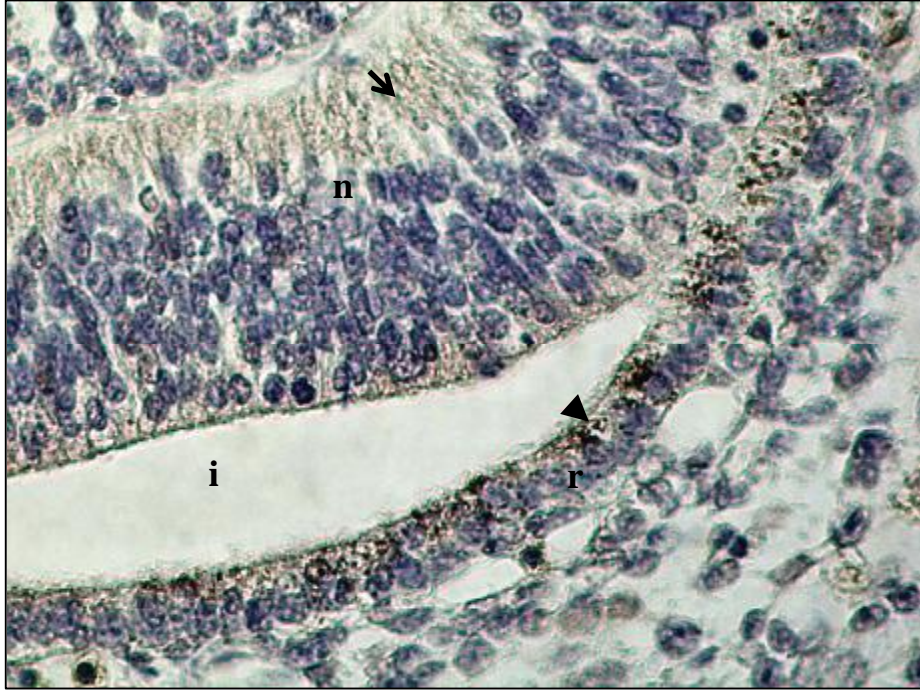
Şekil 4.30: 14. evredeki embriyonun sagittal kesiti. Atrium (a), ventrikül (v), karaciğer (k), trake/akciğer tomurcuğu (t), duodenum (du), spinal korda (s), perikardial boşluk (p), dorsal aorta (d), notokorda (n). Gomori trikrom, Büyütme: X 40



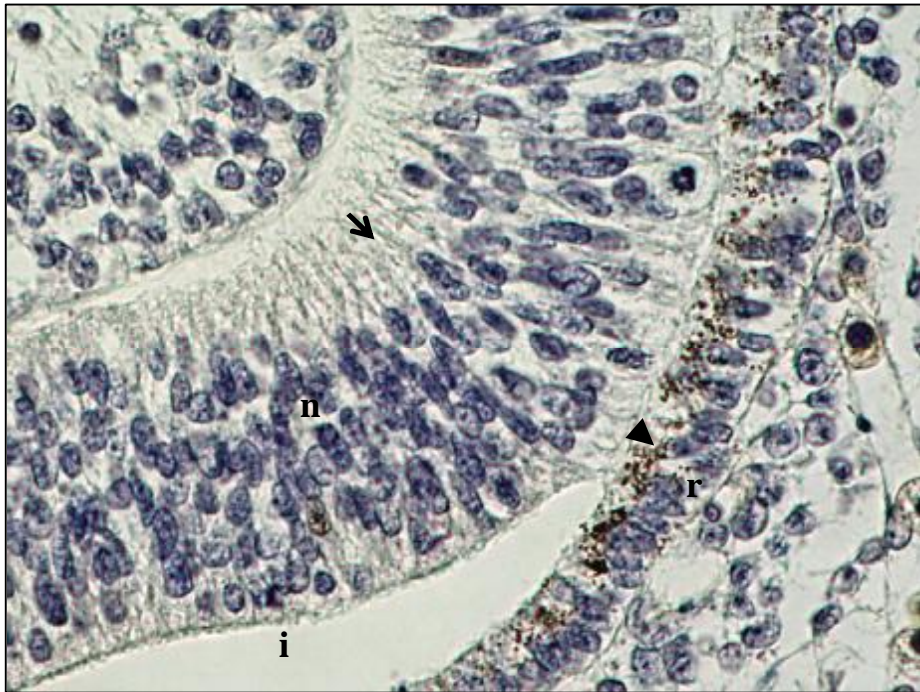
Şekil 4.31: 14. evredeki embriyonun kesitlerinde baş bölgesindeki serbest mezenşimal hücrelerde (m) ve gözde kapsül ve mercekteki laminin (↓) dağılımı. Büyütme: X 200



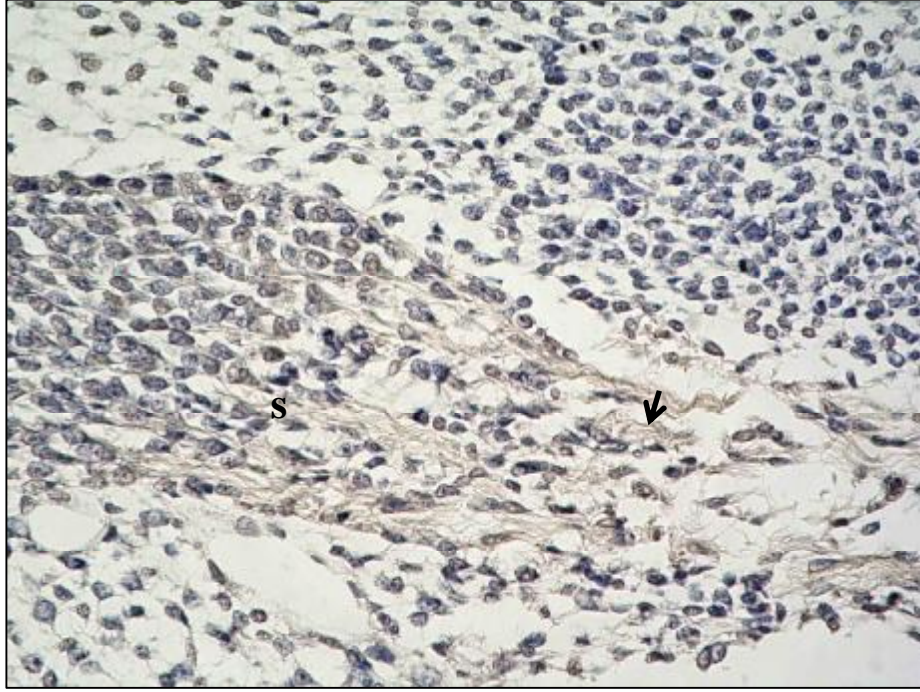
Şekil 4.32: 14. evredeki embriyonun kesitlerinde baş bölgesindeki serbest mezenşimal hücrelerde (m) ve gözde kapsül ve mercekteki fibronektin (↓) dağılımı. Büyütme: X 200



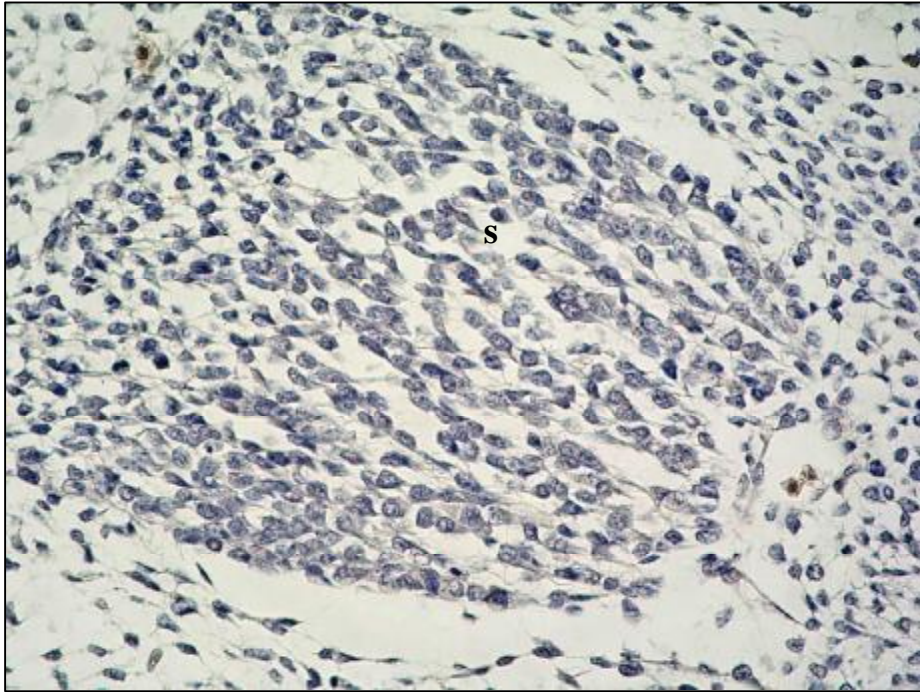
Şekil 4.33: 14. evredeki embriyo kesitlerinde gözde laminin (↓) dağılımı. Retinal pigment epiteli (r), melanositler (▶), intraretinal alan (i), neural retina (n). Büyütme: X400



Şekil 4.34: 14. evredeki embriyo kesitlerinde gözde fibronektin (↓) dağılımı. Retinal pigment epiteli (r), melanositler (▶), intraretinal alan (i), neural retina (n). Büyütme: X400



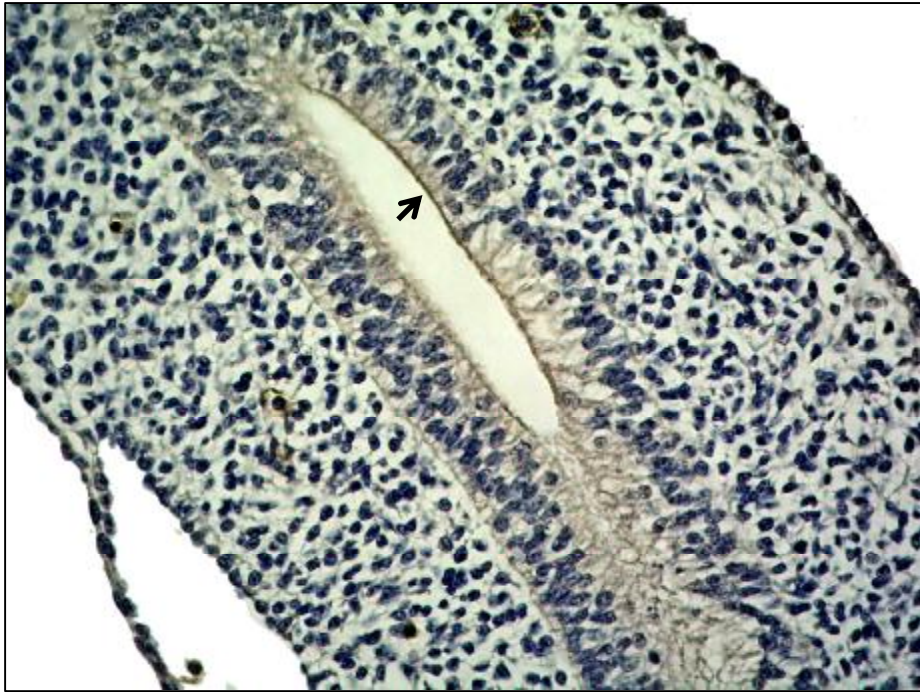
Şekil 4.35: 14. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerin (s) görünüşü ve laminin (↓) dağılımı. Büyütme: X400



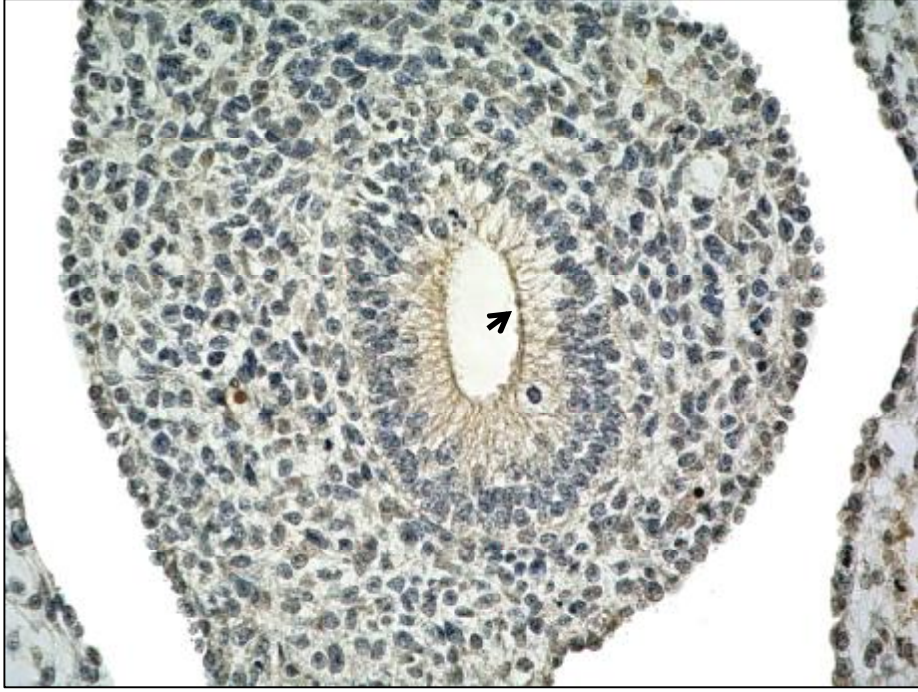
Şekil 4.36: 14. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerin (s) görünüşü ve fibronektin dağılımı. Büyütme: X400



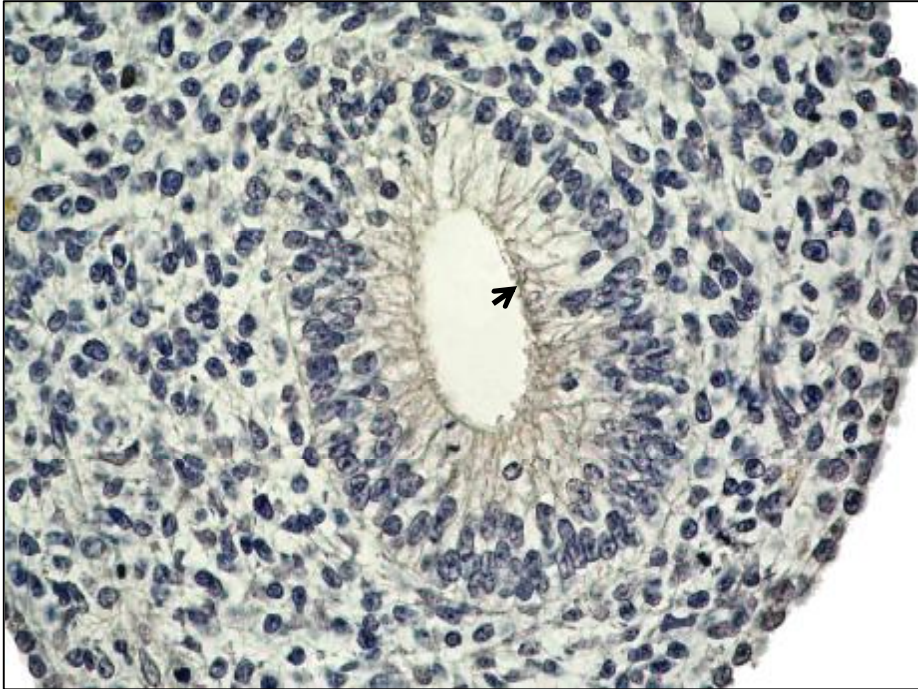
Şekil 4.37: 14. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



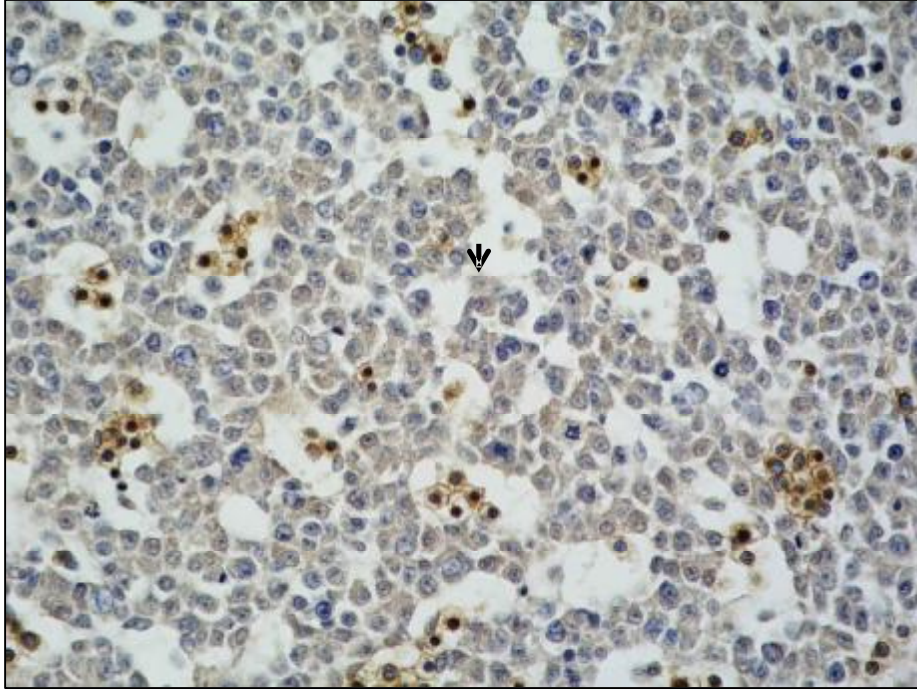
Şekil 4.38: 14. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



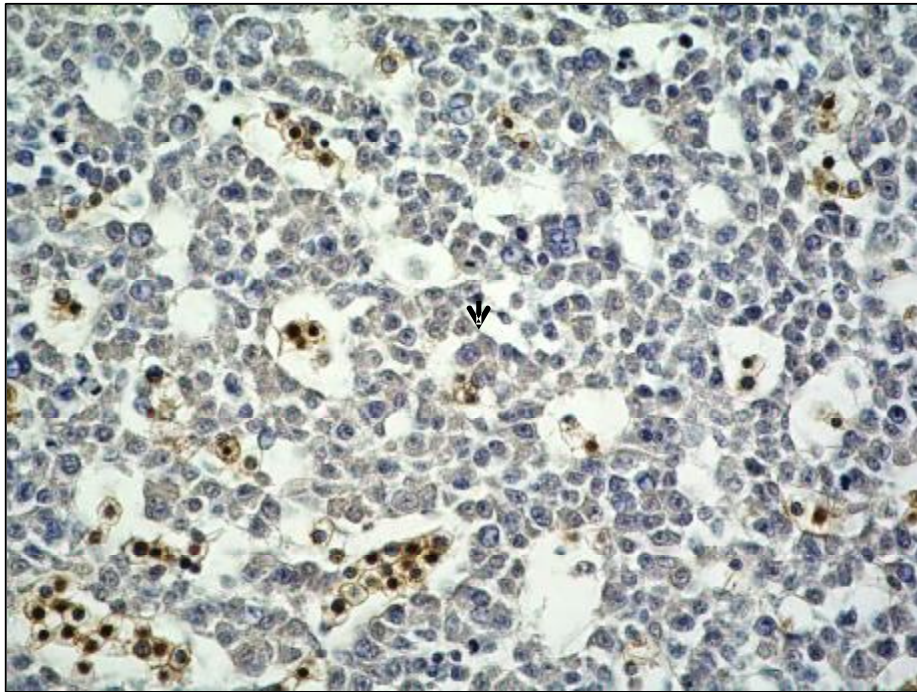
Şekil 4.39: 14. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



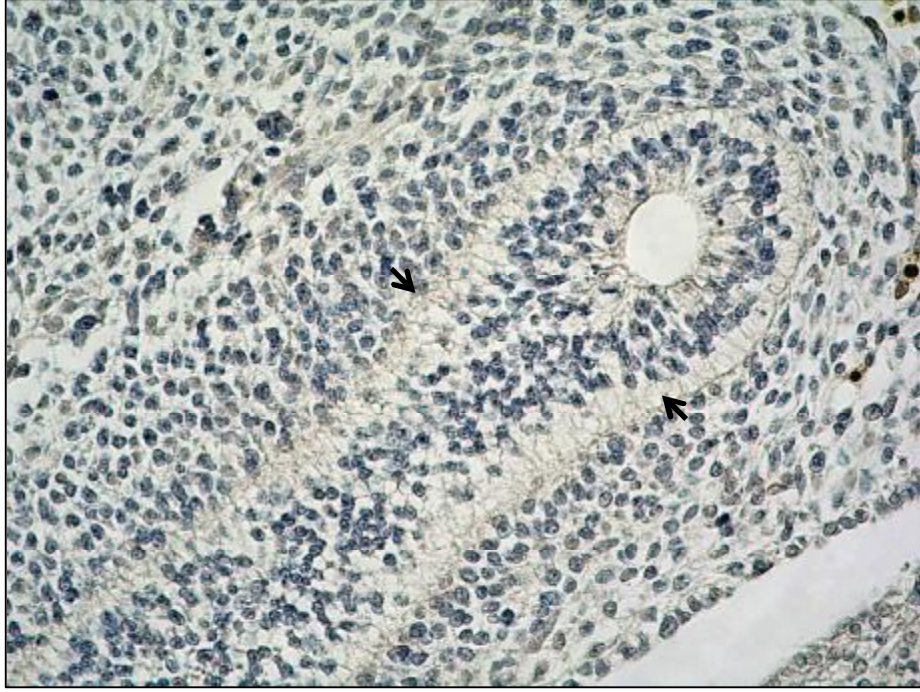
Şekil 4.40: 14. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



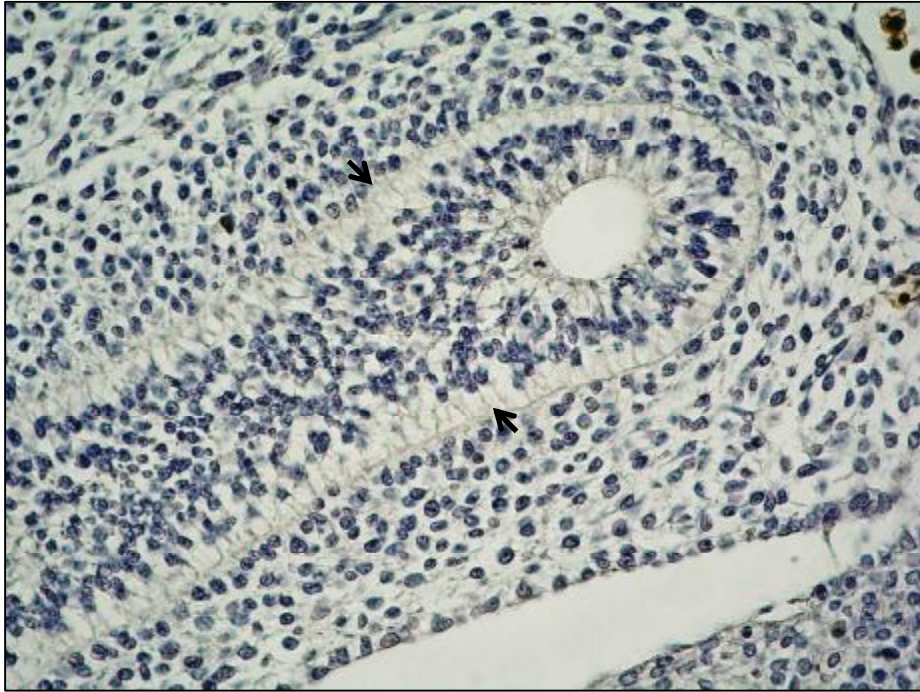
Şekil 4.41: 14 evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu.  
Hepatosit (↓). Büyütme: X400



Şekil 4.42: 14 evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu.  
Hepatosit (↓). Büyütme: X400

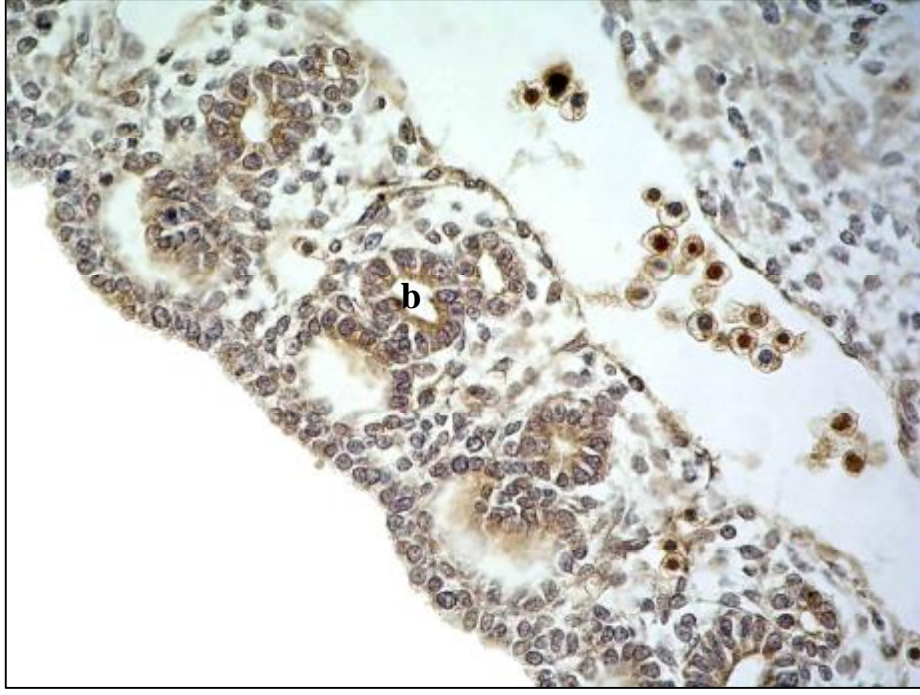


Şekil 4.43: 14. evredeki embriyo kesitlerinde akciğer hücrelerinde laminin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400

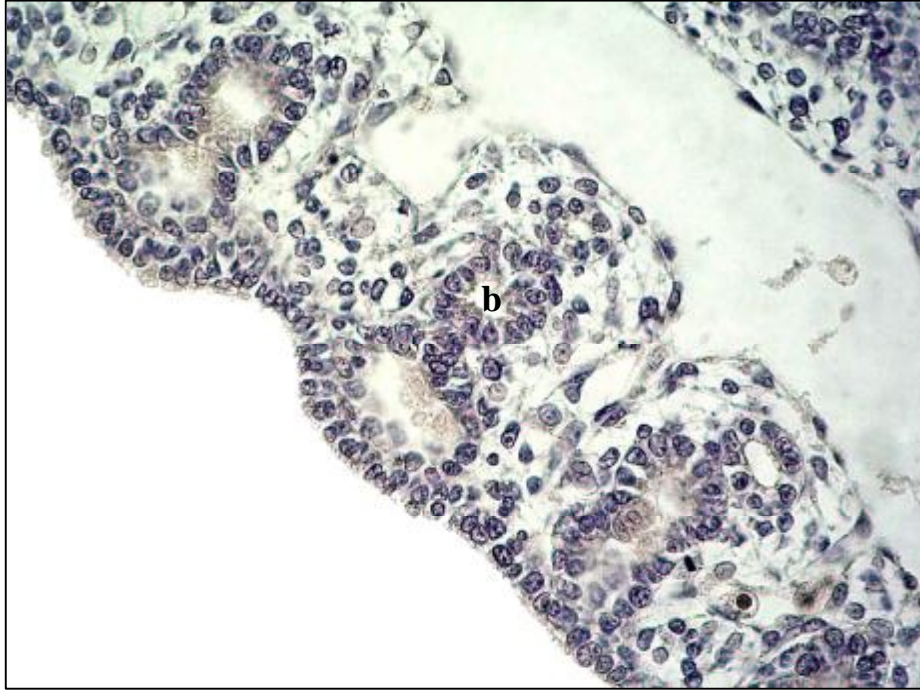


Şekil 4.44: 14. evredeki embriyo kesitlerinde akciğer hücrelerinde fibronektin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400

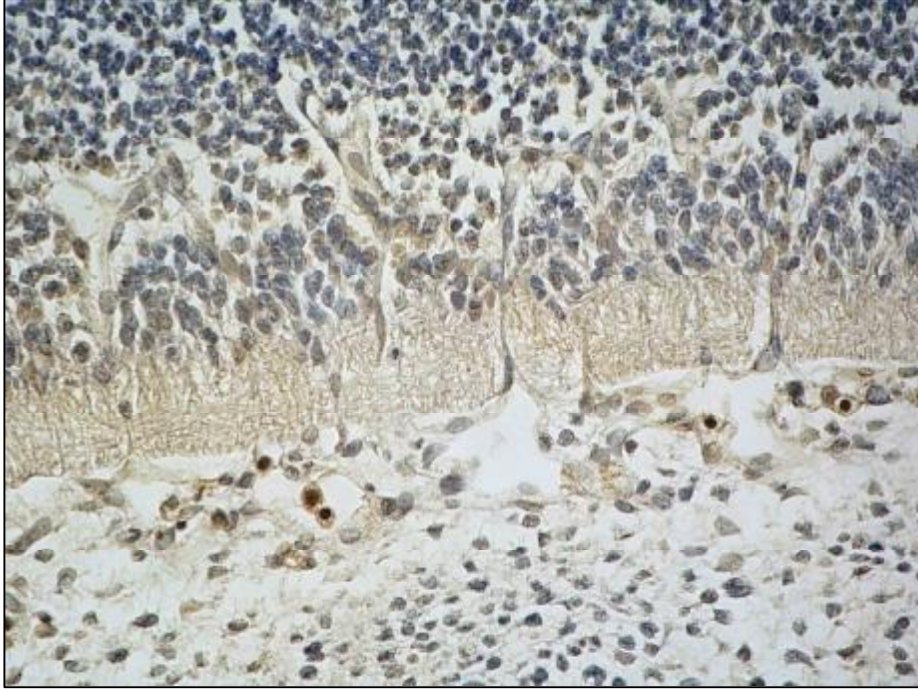




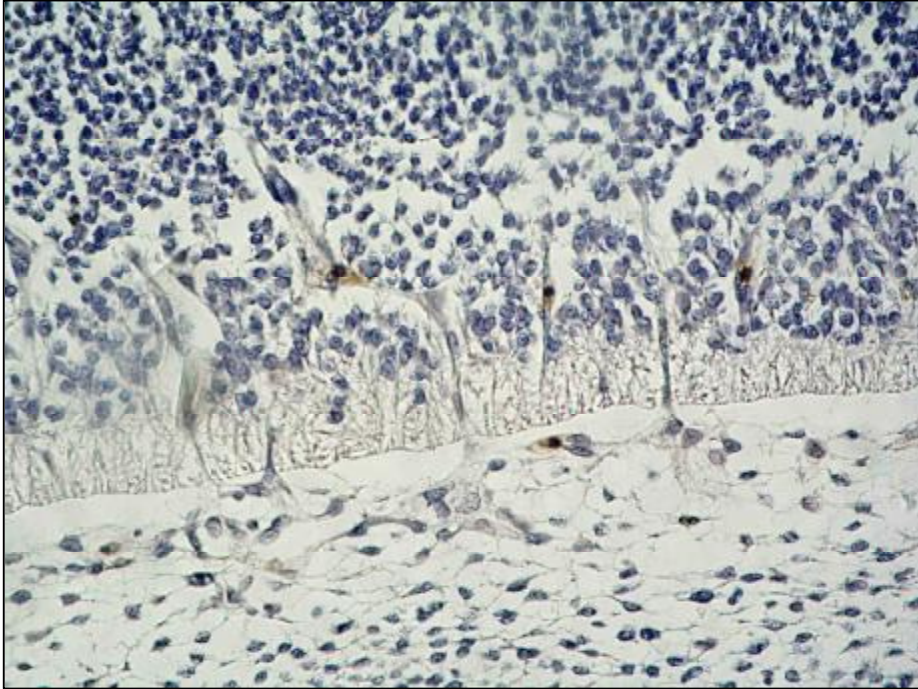
Şekil 4.45: 14 evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübülleri (b) etrafındaki laminin yoğunluğu. Büyütme: X400



Şekil 4.46: 14 evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübülleri (b) etrafındaki fibronektin yoğunluğu. Büyütme: X400



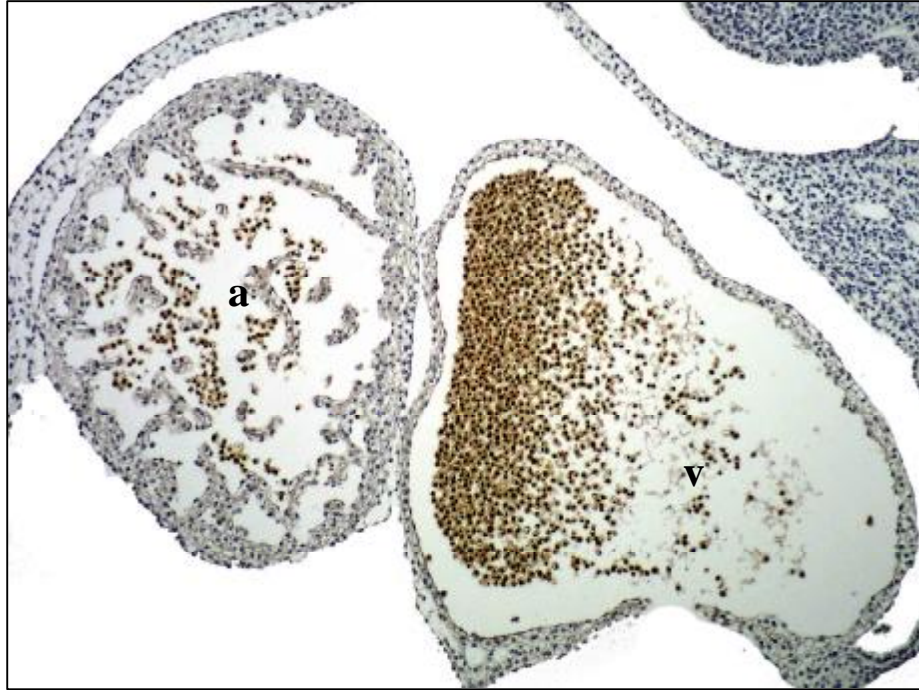
Şekil 4.47: 14. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu. Büyütme: X400



Şekil 4.48: 14. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronectin yoğunluğu. Büyütme: X400



Şekil 4.49: 14. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu. Atrium (a), ventrikül (v). Büyütme: X100



Şekil 4.50: 14. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronektin yoğunluğu. Atrium (a), ventrikül (v). Büyütme: X100

## Evre 16

16. evredeki embriyoya ait histolojik kesit şekil 4.51' de verilmiştir. Evre 16' daki embriyo kesitlerinde somitlerin miyotom kısımlarındaki miyoblasta farklılaşan hücreler uzayarak belirgin bir biçimde düzenlenmeye başlamış ve bu bölgede laminin yoğunlaşmıştır (Şekil 4.52). Fibronektin yoğunluğu ise laminin yoğunluğundan daha azdır, ancak 14. evredekinden daha fazladır (Şekil 4.53).

Midede laminin ve fibronektin yoğunluğu 14. evre ile karşılaştırıldığında daha azdır (Şekil 4.54, 55). Fakat yine özellikle bazal laminada belirgindir. Barsakta laminin yoğunluğu 14. evre ile benzerdir (Şekil 4.56). Fakat fibronektin yoğunluğu azalmıştır (Şekil 4.57).

Karaciğerde hepatik hücreler trabeküler bir organizasyon göstermeye başlar. Büyük ve küçük kan damarları trabeküllerin sınırlarını oluşturdukları alanda belirgin olarak görülürler. Karaciğer hücreleri ve merkezi veni çevreleyen endotel hücreleri laminin pozitif olarak boyanmıştır (Şekil 4.58). Boyanma 14. evredekinden daha yoğundur. Fibronektin yoğunluğu ise 14. evre ile benzerdir (Şekil 4.59).

16. evredeki embriyoda pankreas dokusunda laminin yoğunluğu oldukça fazladır. Özellikle asinusları oluşturan hücrelerde boyanma belirgindir (Şekil 4.60). Fibronektin ise daha az yoğunlukta bulunmaktadır (Şekil 4.61).

Akciğerlerde bronşları astarlayan epitelium hücreleri ve bazal laminaları laminin pozitifdir (Şekil 4.62). Aynı alanlarda fibronektin reaksiyon vermemiştir (Şekil 4.63).

Böbrek tübüleri etrafında laminin ve fibronektin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.64, 65). Laminin miktarı 14. evre ile benzerdir fakat fibronektin yoğunluğu biraz artmıştır.

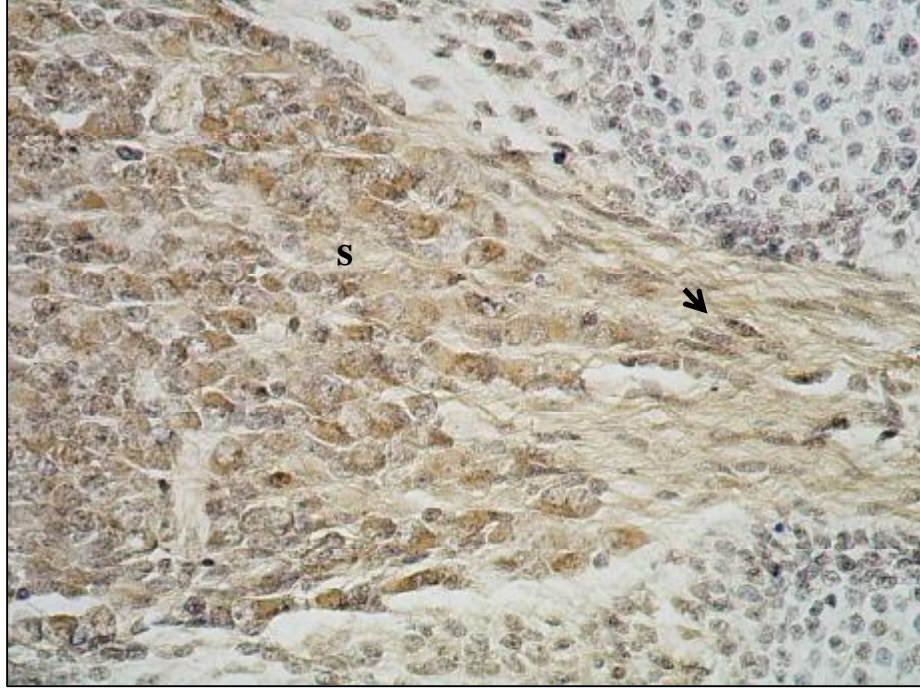
16. evredeki embriyonun sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlarda laminin miktarı çok fazladır (Şekil 4.66). Fibronektin ise 14. evreyle karşılaştırıldığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.67).

Kalp dokusunda lamininin ve fibronektin miktarında bir değişiklik gözlenmemiştir, her ikisinde pozitif reaksiyon vermiştir (Şekil 4.68, 69).

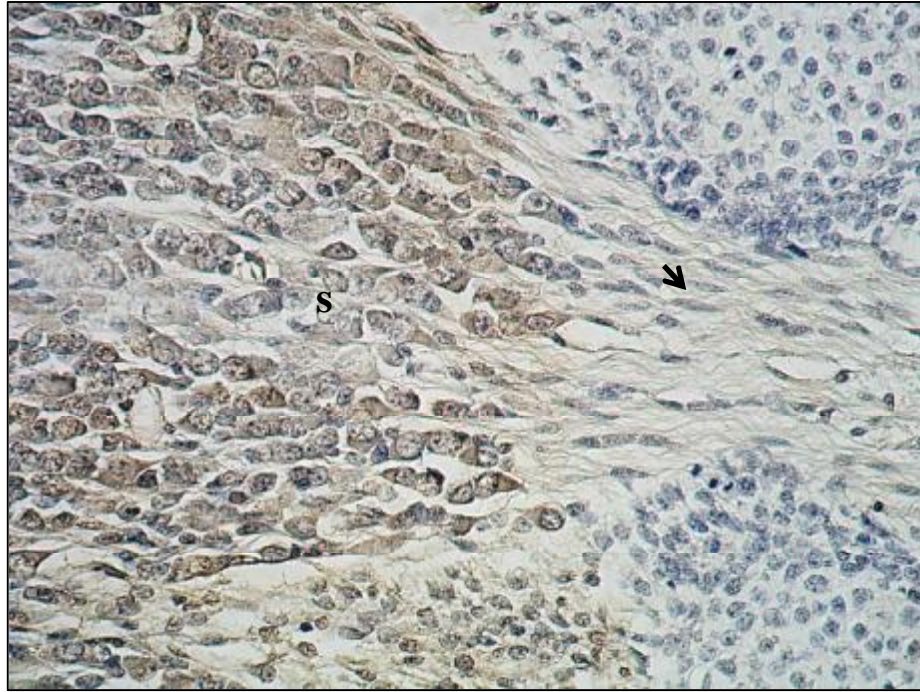
Koroid pleksusta özellikle epitel hücrelerinde laminin miktarı fazladır (Şekil 4.70). Fibronektin pozitif reaksiyon vermiştir. Yoğunluğu laminin yoğunluğundan daha azdır (Şekil 4.71).



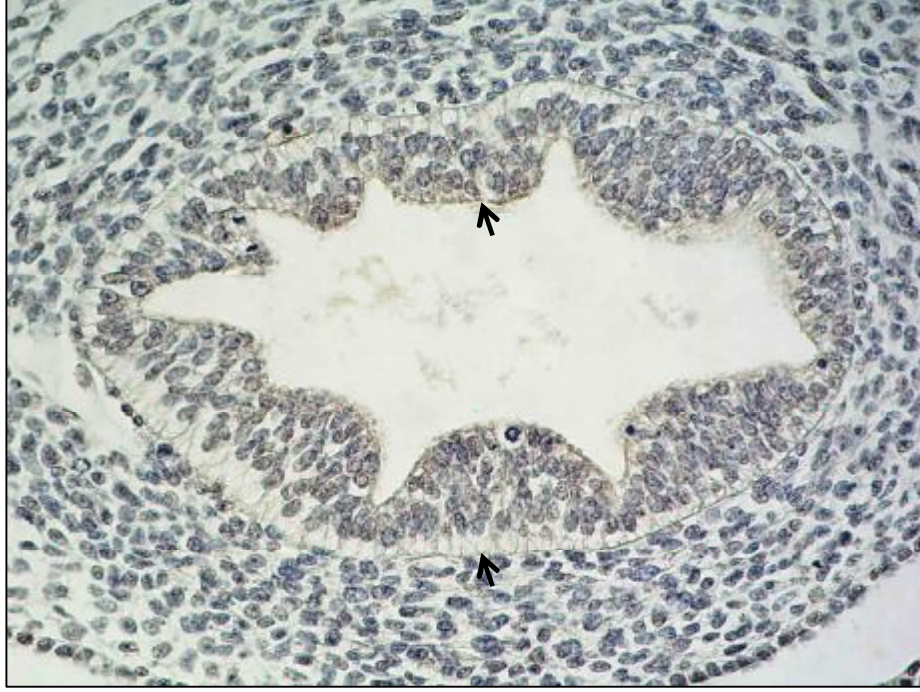
Şekil 4.51: 16. evredeki embriyonun sagittal kesiti. Atrium (a), ventrikül (v), karaciğer (k), akciğer (ak), mide (m), barsak (b), duktus venosus (d), spinal ganglion (sp), sklerotom (s). Gomori trikrom, Büyütme: X40



Şekil 4.52: 16. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki (s) laminin yoğunluğu ve miyoblastları oluşturmak üzere hücrelerin düzenlenmesi (↓). Büyütme: X400



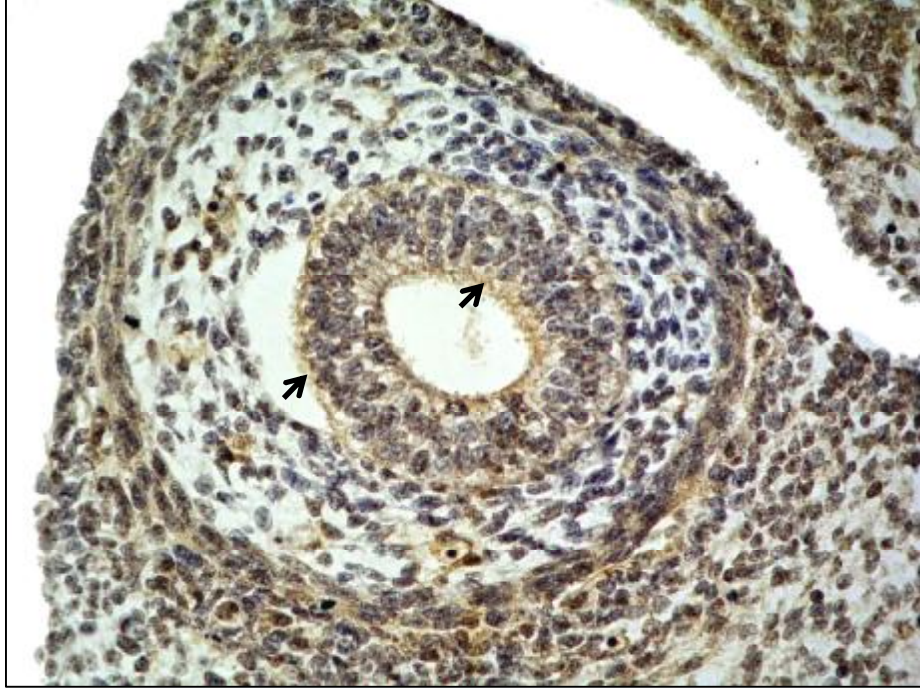
Şekil 4.53: 16. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki (s) fibronektin yoğunluğu ve miyoblastları oluşturmak üzere hücrelerin düzenlenmesi (↓). Büyütme: X400



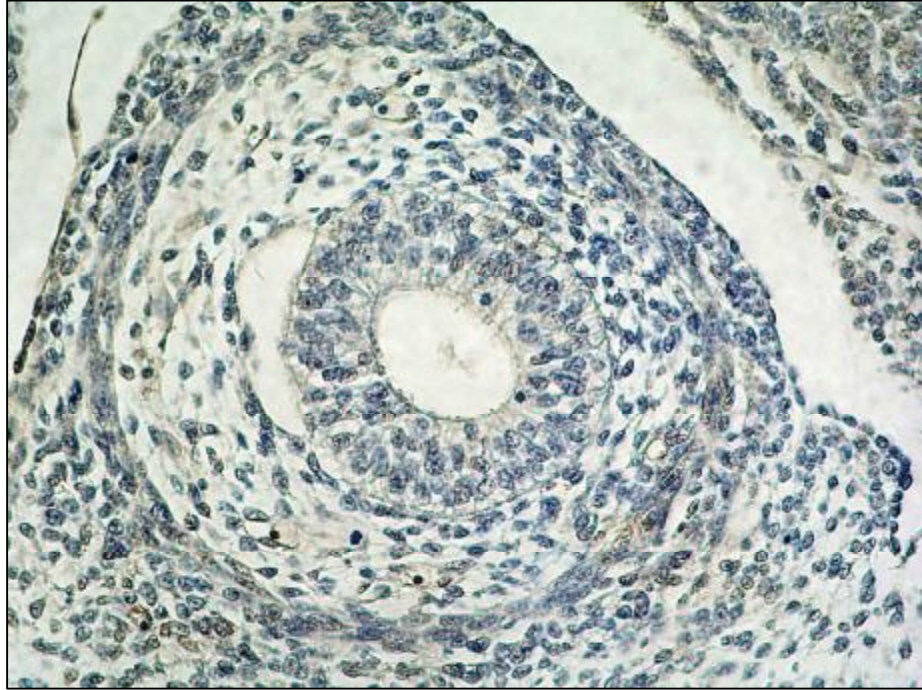
Şekil 4.54: 16. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesinde laminin (↓) dağılımı.  
Büyütme: X400



Şekil 4.55: 16. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesinde fibronektin (↓) dağılımı.  
Büyütme: X400

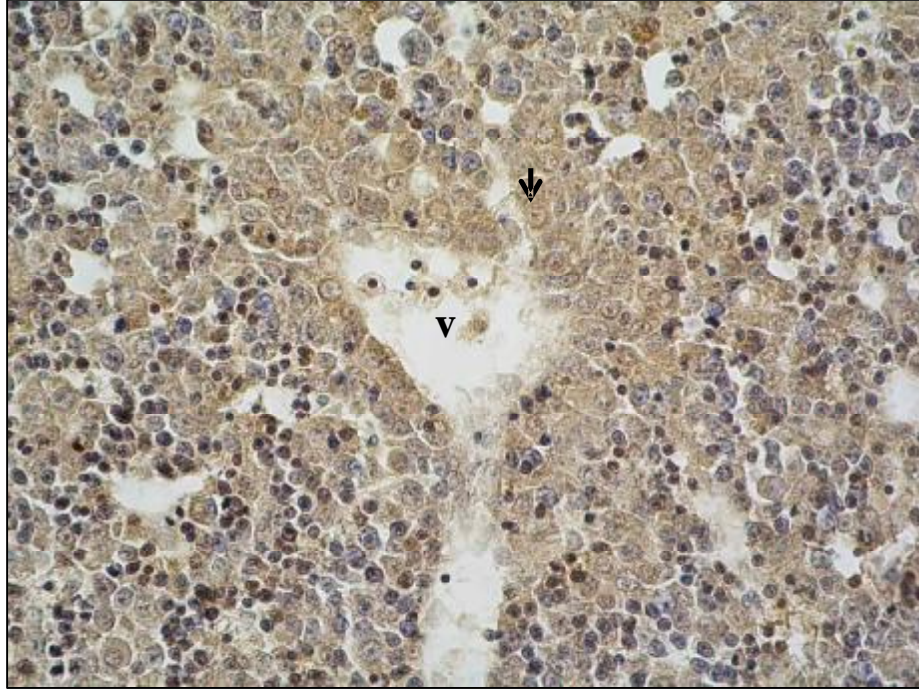


Şeki1 4.56: 16. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400

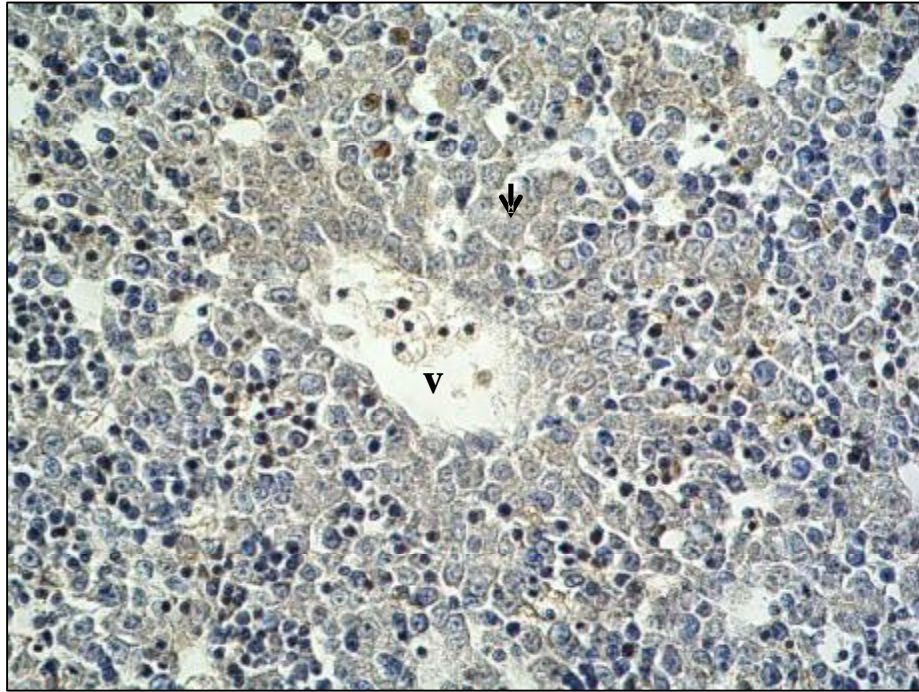


Şeki1 4.57: 16. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400

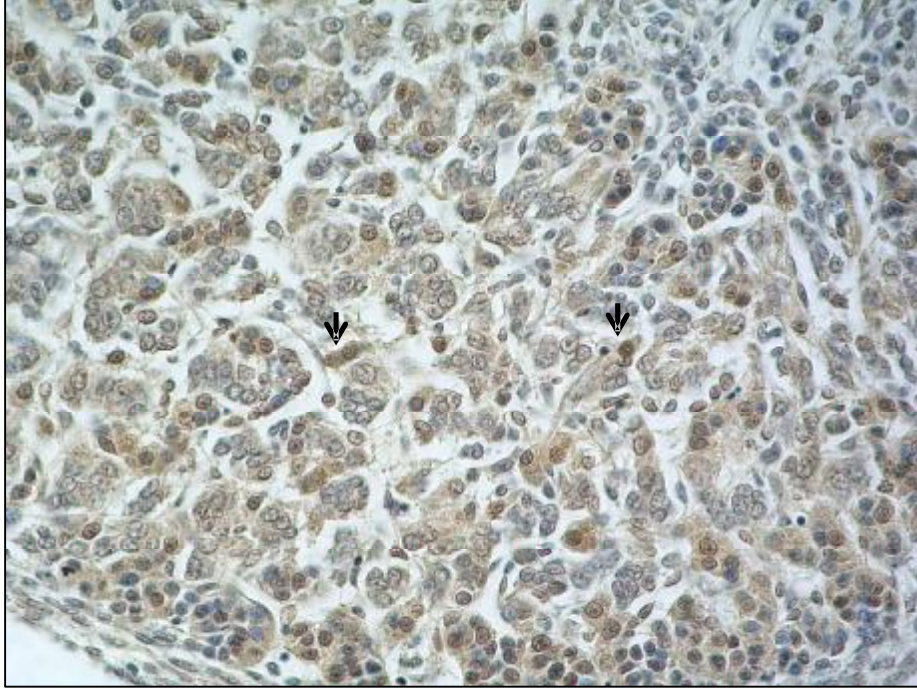




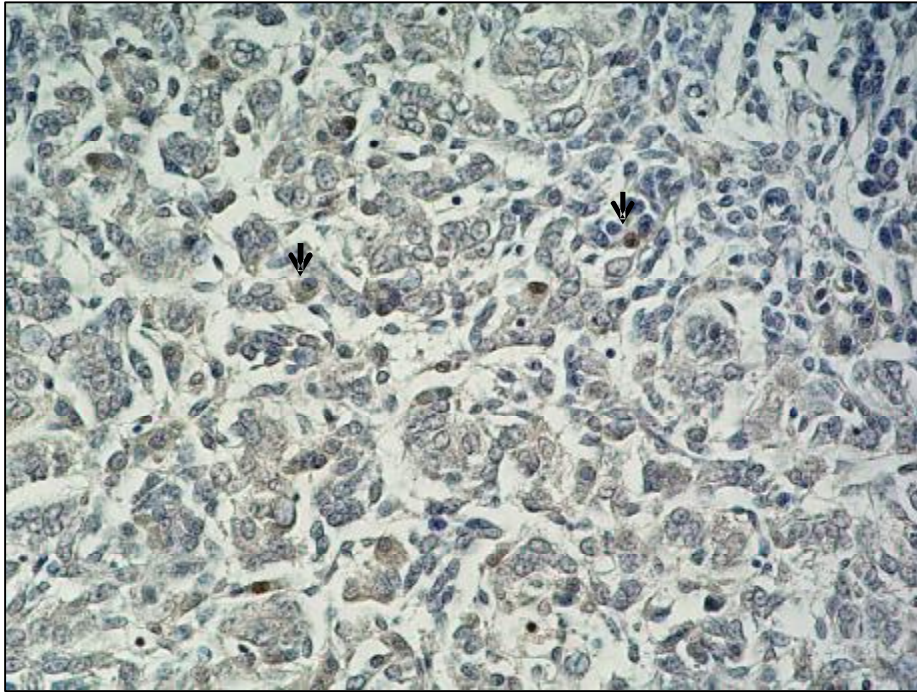
Şekil 4.58: 16. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu. Vena centralis (v), heparosit (↓). Büyütme: X400



Şekil 4.59: 16. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin yoğunluğu. Vena centralis (v), heparosit (↓). Büyütme: X400



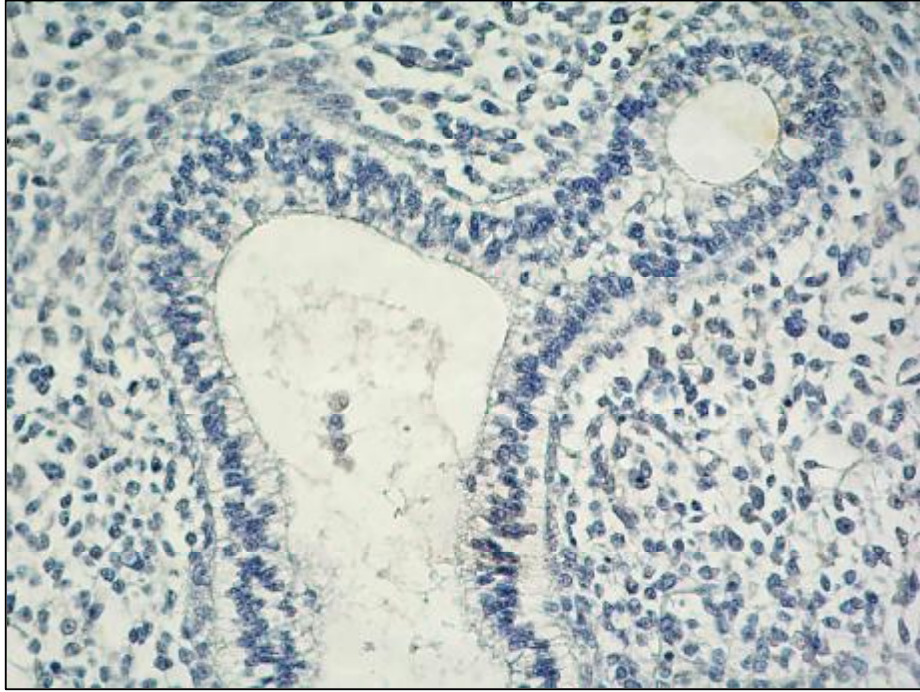
Şekil 4.60: 16. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



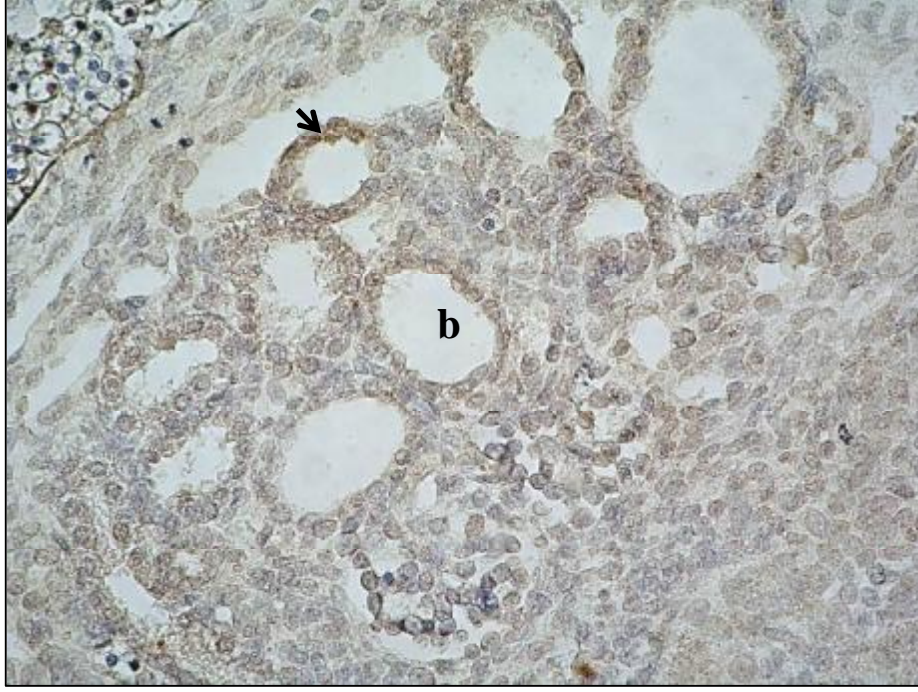
Şekil 4.61: 16. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



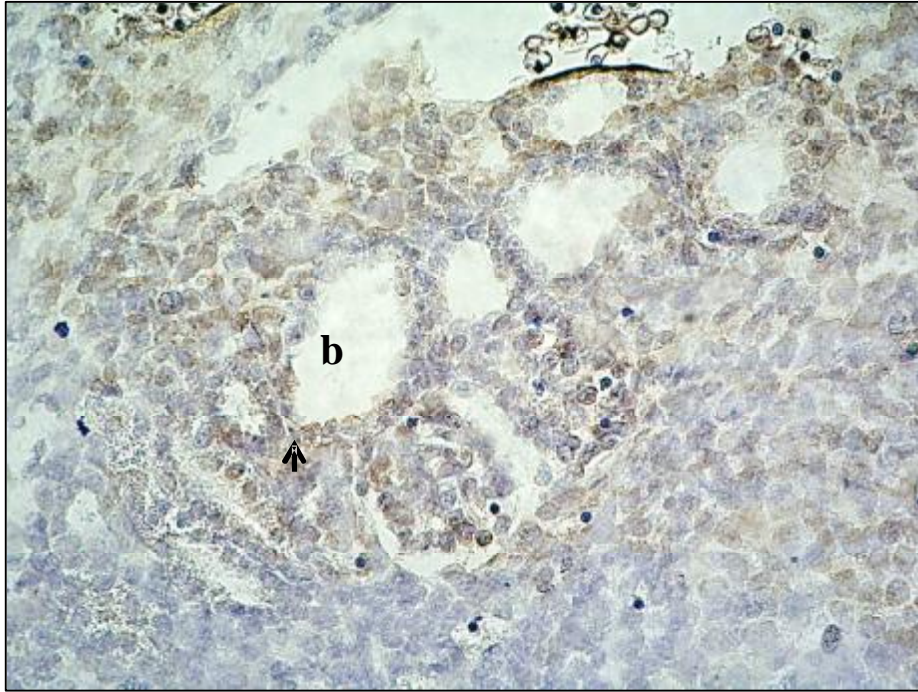
Şeki1 4.62: 16. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde laminin (↓) yoğunluğu. Bronş (b).  
Büyütme: X400



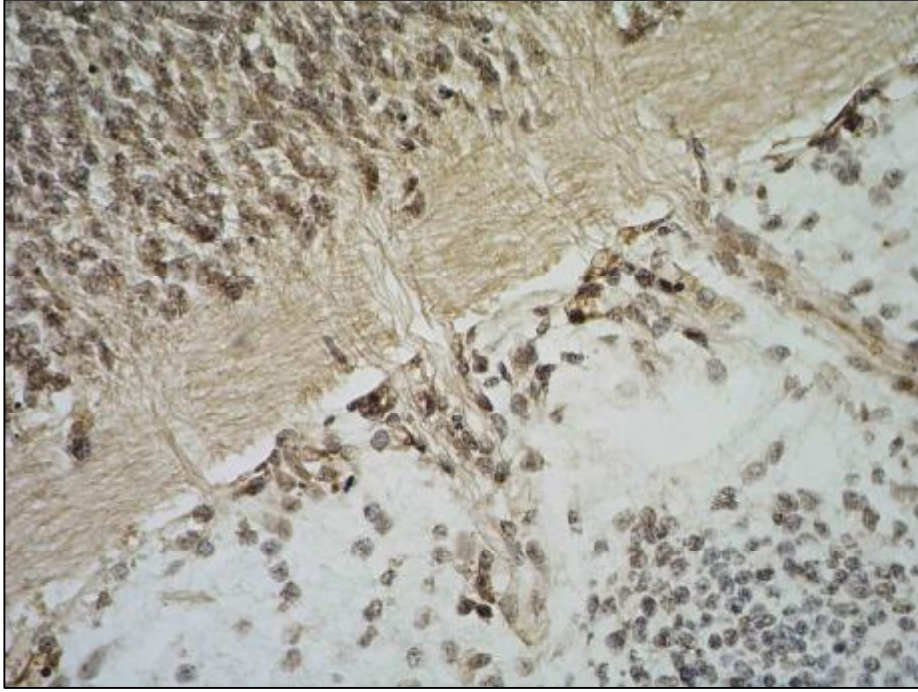
Şeki1 4.63: 16. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde fibronektin yoğunluğu. Büyütme:  
X400



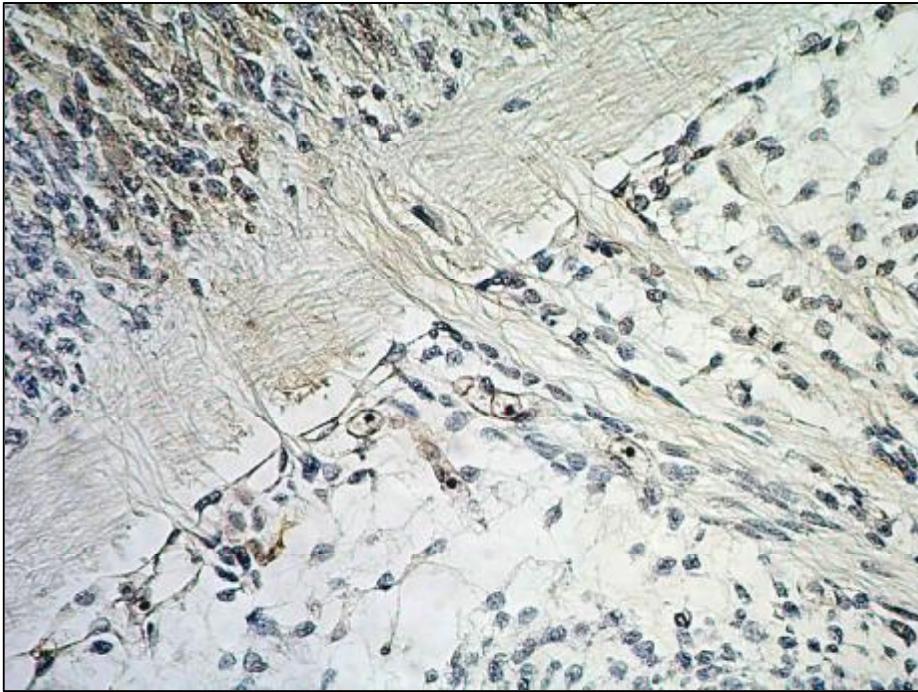
Şekil 4.64: 16. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri (b) etrafındaki laminin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400



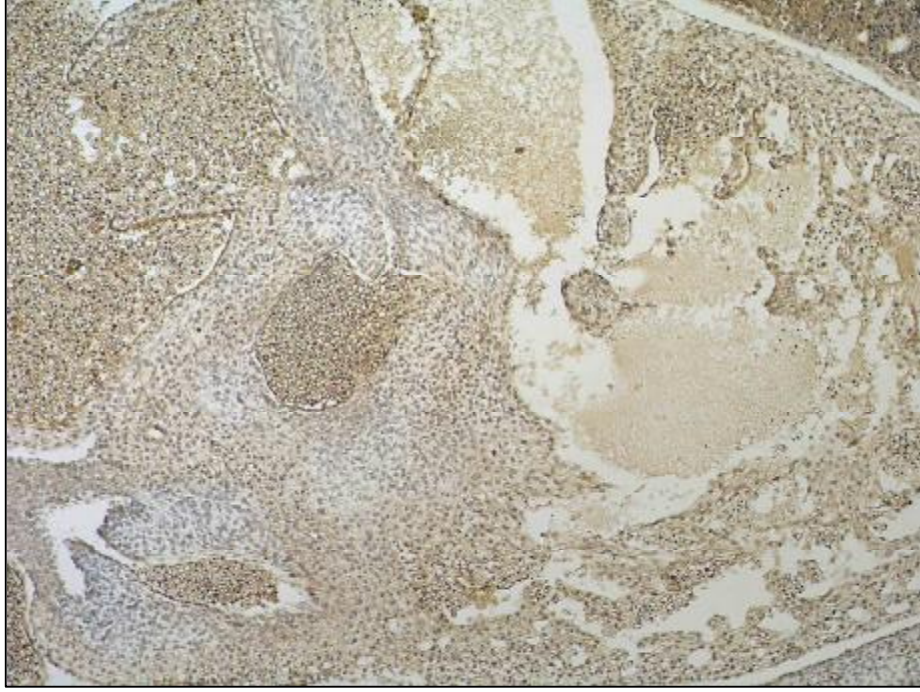
Şekil 4.65: 16. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri (b) etrafındaki fibronektin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400



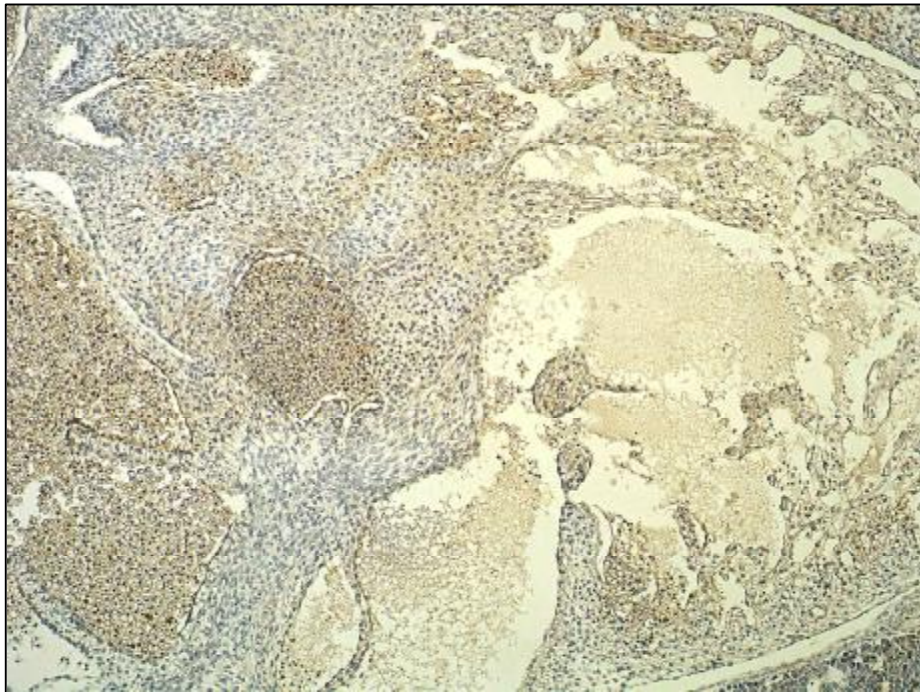
Şekil 4.66: 16. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu. Büyütme: X400



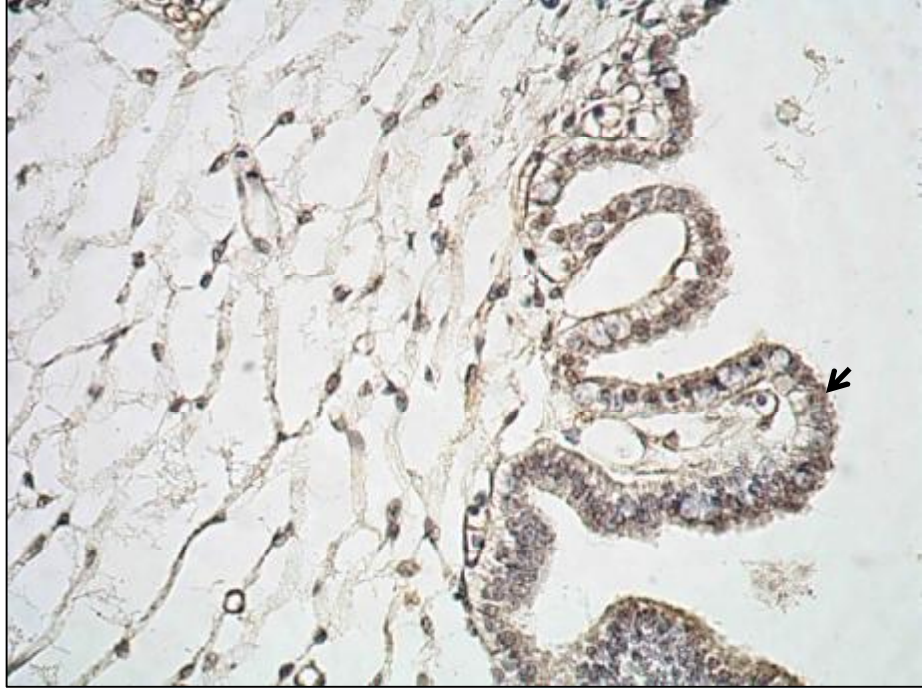
Şekil 4.67: 16. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronectin yoğunluğu. Büyütme: X400



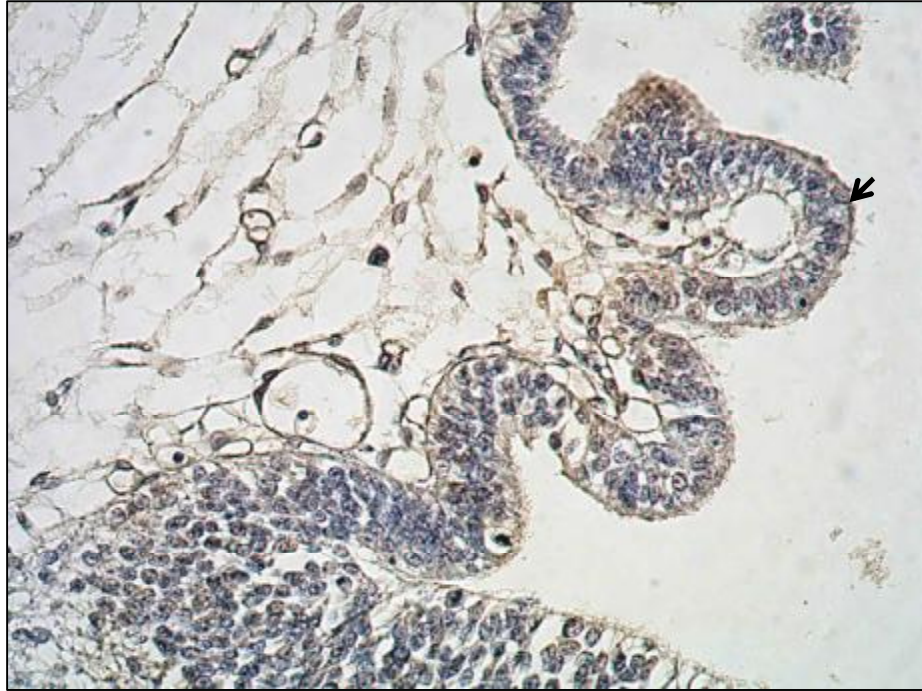
Şekil 4.68: 16. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu. Büyütme: X100



Şekil 4.69: 16. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronektin yoğunluğu. Büyütme: X100



Şekil 4.70: 16. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus epitelindeki laminin (↓) dağılımı. Büyütme: X400



Şekil 4.71: 16. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus epitelindeki fibronektin (↓) dağılımı. Büyütme: X400

## Evre 18

16. evredeki embriyoya ait histolojik kesit şekil 4.72' de verilmiştir. Bu evrede somitlerde dermatom ve miyotom arasında lamininler yerleşmekle birlikte yoğunluk olarak evre 16' dan daha azdır (Şekil 4.73). Fibronektin yoğunlunun da laminin yoğunluğundan daha az olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.74).

Mide ve barsakta laminin miktarı artmıştır (Şekil 4.75,77). Özellikle barsak lümenini astarlayan epitel hücrelerinin apikal kısımlarında laminin yoğundur (Şekil 4.77). Her iki organda fibronektin miktarının lamininden daha az olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.76,78). 14. evre ile karşılaştırıldığında fibronektin miktarının azaldığı görülmüştür.

Karaciğerde hepatositler trabeküller halinde düzenlenmiştir. Bu hücreler daha dar ve daha karmaşık hale gelen intrahepatik kan damarlarını sınırlandırır. Merkezi veni çevreleyen endotel hücreleri belirgindir. Karaciğerde laminin yoğunluğu fazladır (Şekil 4.79). Fibronektin ise az miktarda bulunmaktadır (Şekil 4.80).

Pankreasta laminin özellikle asinuslarda yoğundur (Şekil 4.81). Miktarı 16. evre ile aynıdır. Fibronektin yoğunluğu da değişmemiştir. Laminin yoğunluğundan daha azdır (Şekil 4.82).

Akciğerlerde özellikle bronşlarda ve bağ dokusunda laminin yoğunluğu 16. evredekinden fazladır (Şekil 4.83). Bu evrede yine akciğerlerde fibronektin reaksiyon göstermemiştir (Şekil 4.84).

Böbrekte tübüllerde laminin yoğunluğu artmıştır. Bowman kapsülü parietal yaprağını oluşturan yassı hücrelerin etrafında da laminin fazladır (Şekil 4.85). Bu alanlarda fibronektin daha az miktarda bulunmaktadır (Şekil 4.86).

Sırt bölgesinde hücre göçünün olduğu alanlarda laminin miktarı yoğun olmakla birlikte evre 16' dan daha azdır (Şekil 4.87). Fibronektin yoğunluğu da azalmıştır (Şekil 4.88).

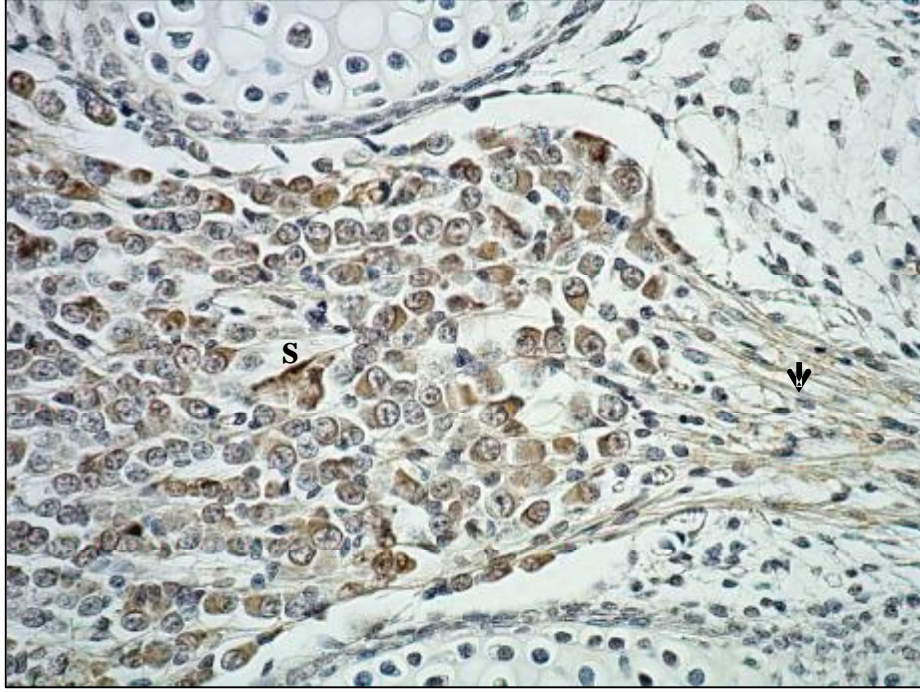


18. evredeki kalpte laminin ve fibronektin pozitif boyanmıştır (Şekil 4.89,90). Yoğunluğu 14 ve 16. evrelerdeki ile aynıdır, değişiklik göstermemiştir.

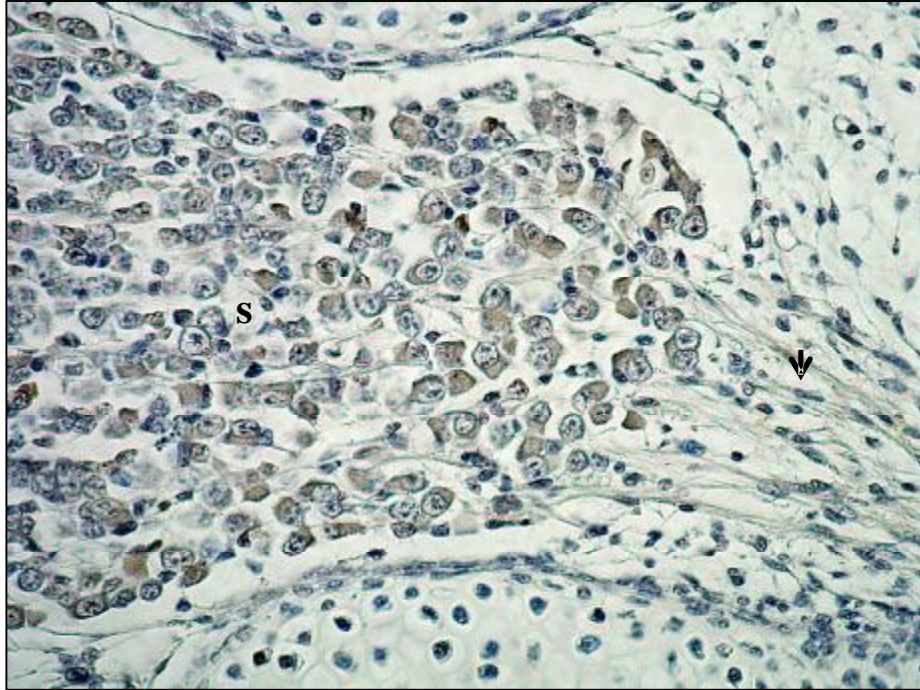
Bu evrede korois pleksus epitelinde laminin yoğunluğunun oldukça artmış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.91). Fibronektin miktarı ise 16. evreye göre azalmıştır (Şekil 4.92).



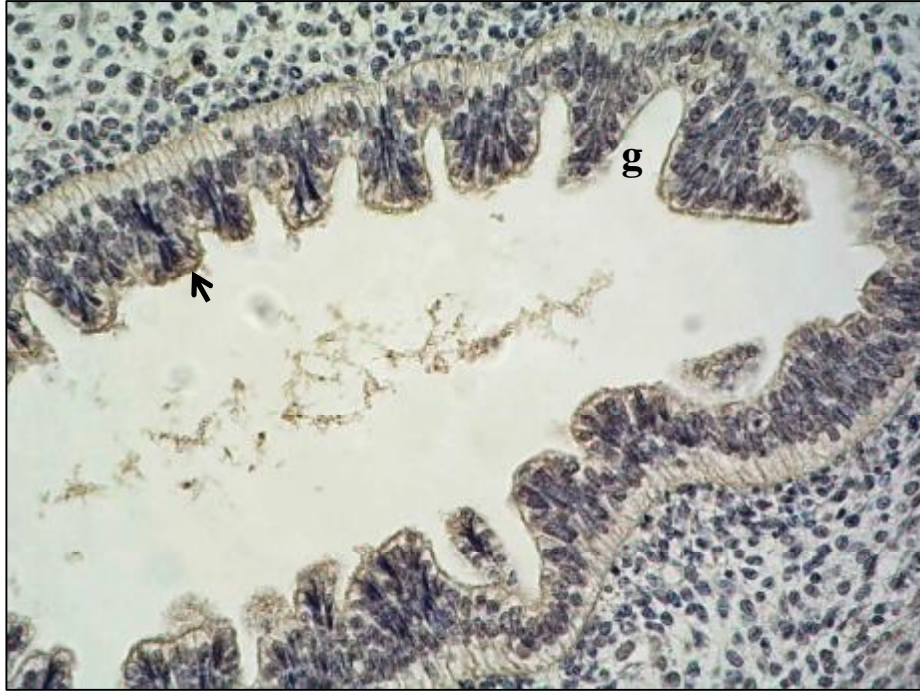
Şekil 4.72: 18. evredeki embriyonun transversal kesiti. Kalp (ka), karaciğer (k), akciğer (a), böbrek (b), mide (m), uterus (u), pankreas (p). Gomori trikrom, Büyütme: X40



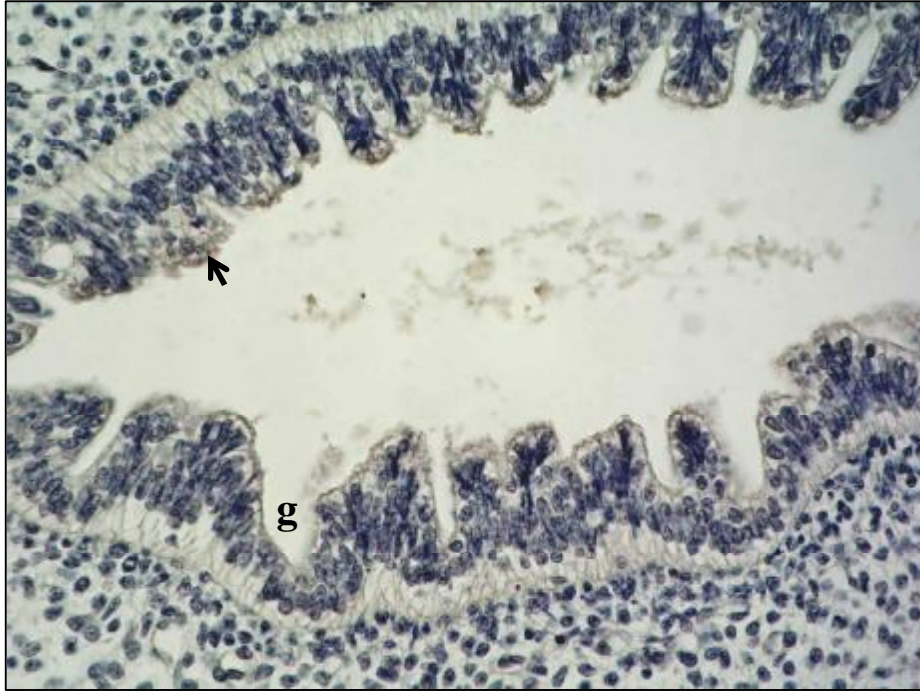
Şekil 4.73: 18. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki (s) laminin yoğunluğu ve miyoblast uzaması (↓). Büyütme: X400



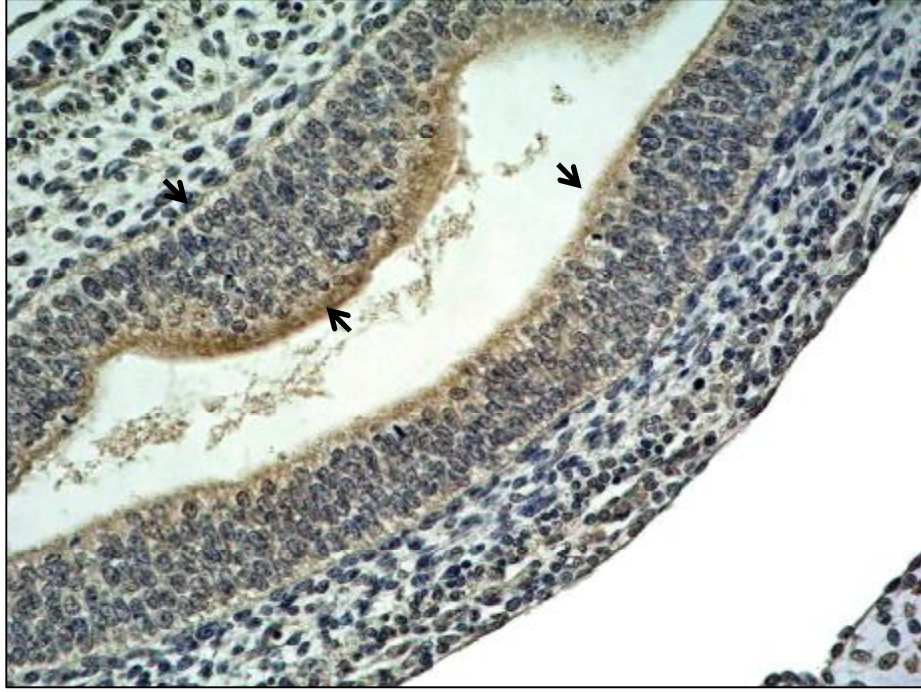
Şekil 4.74: 18. evredeki embriyo kesitlerinde somitlerdeki (s) fibronektin yoğunluğu ve miyoblast uzaması (↓). Büyütme: X400



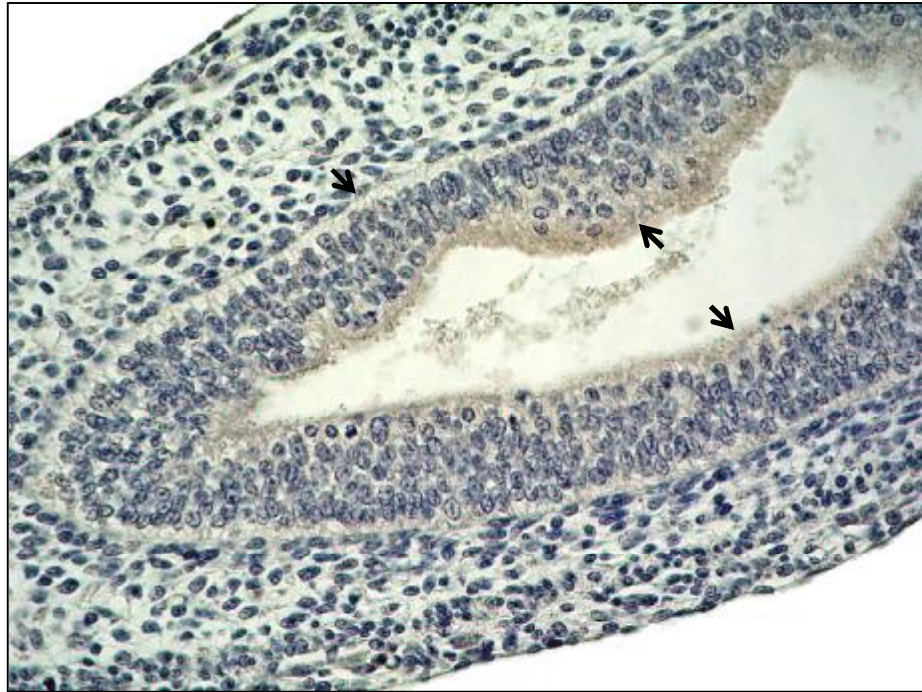
Şeki1 4.75: 18. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Gastrik pit oluşumu (g). Büyütme: X400



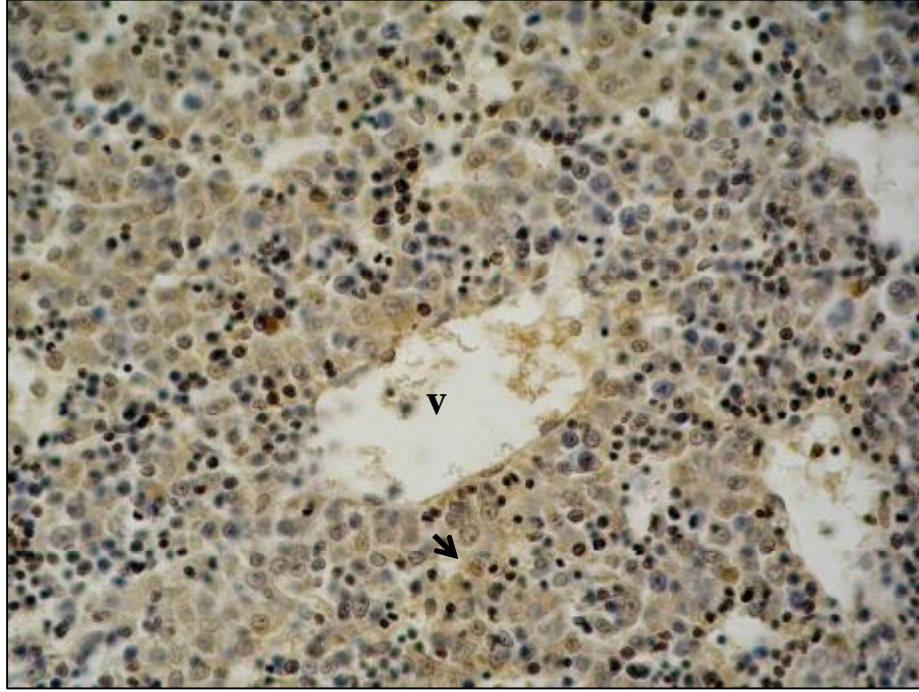
Şeki1 4.76: 18. evredeki embriyo kesitlerinde mide bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Gastrik pit oluşumu (g). Büyütme: X400



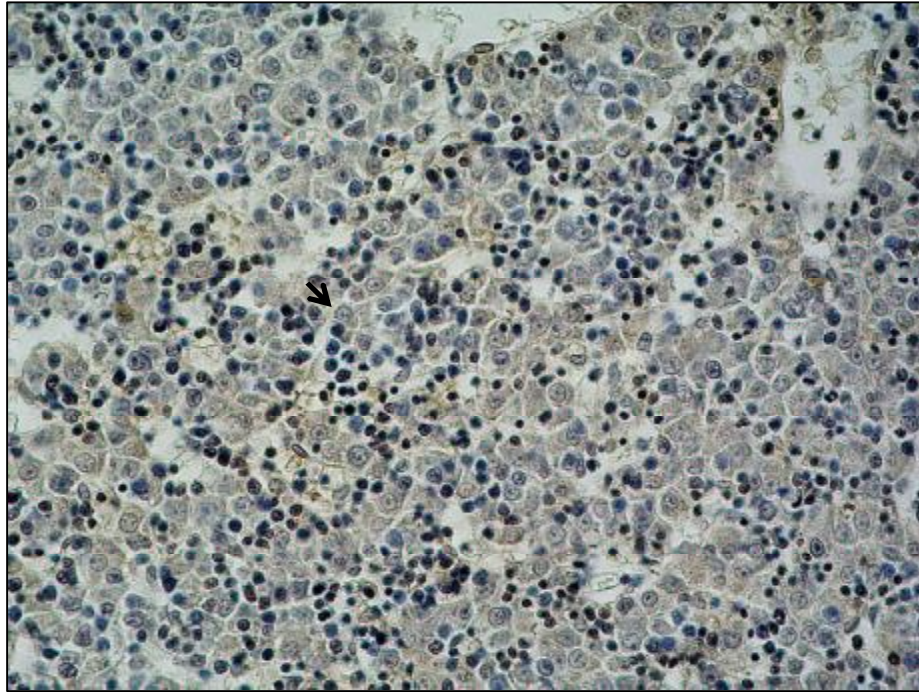
Şekil 4.77: 18. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



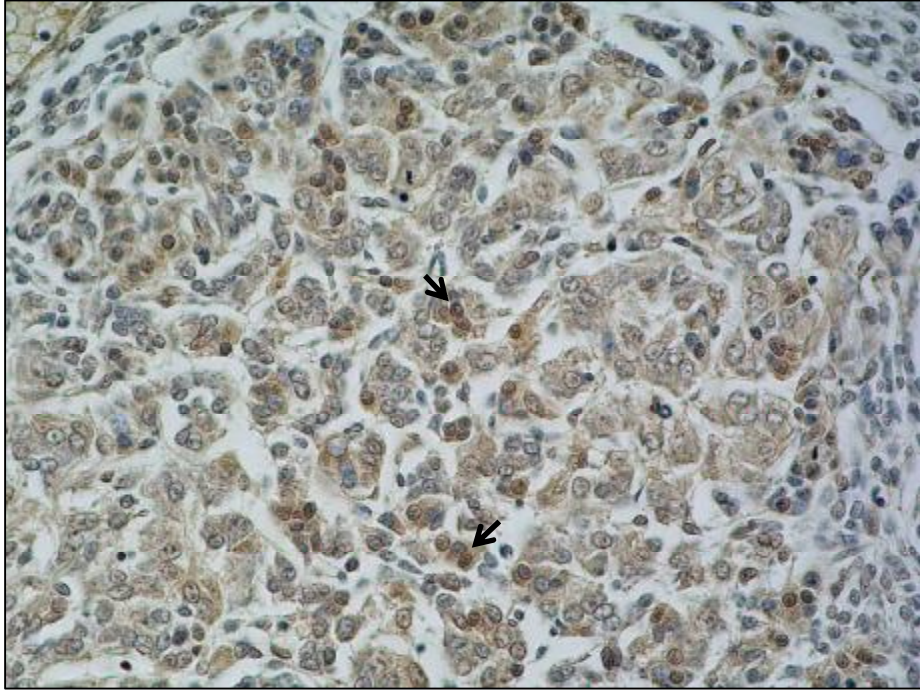
Şekil 4.78: 18. evredeki embriyo kesitlerinde barsak bölgesindeki fibronektin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



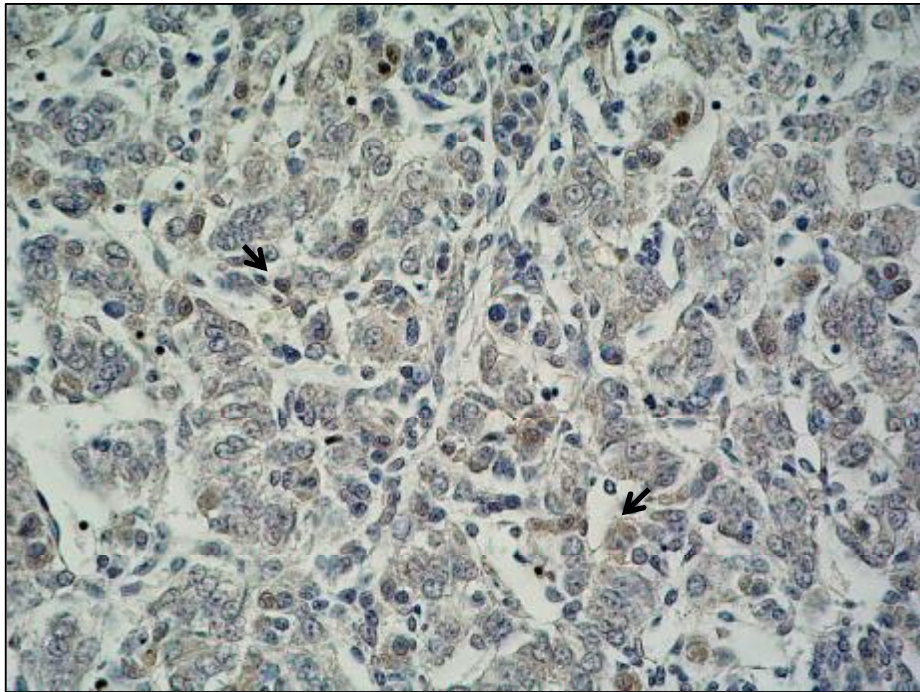
Şekil 4.79: 18. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde laminin yoğunluğu. Vena centralis (v), heparosit (↓). Büyütme: X400



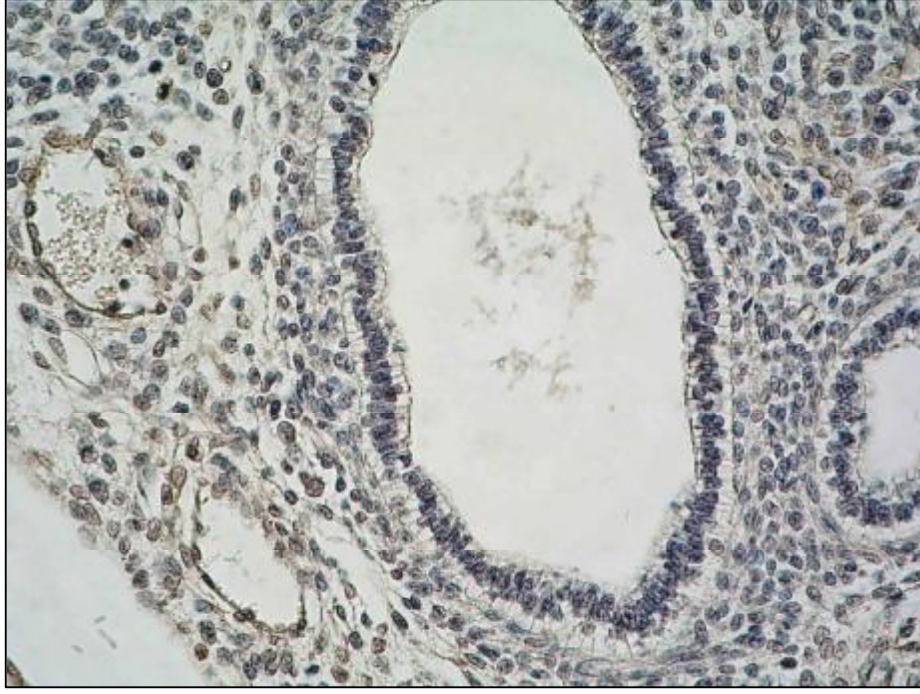
Şekil 4.80: 18. evredeki embriyo kesitlerinde karaciğer hücrelerinde fibronektin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400



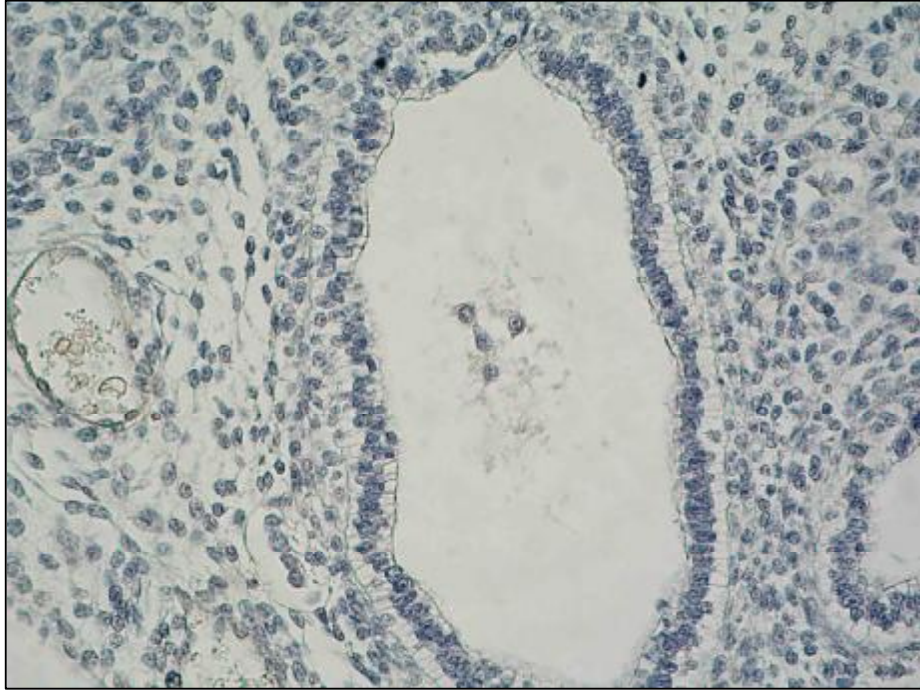
Şekil 4.81: 18. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas dokusundaki laminin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



Şekil 4.82: 18. evredeki embriyo kesitlerinde pankreas dokusundaki fibronectin (↓) dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400



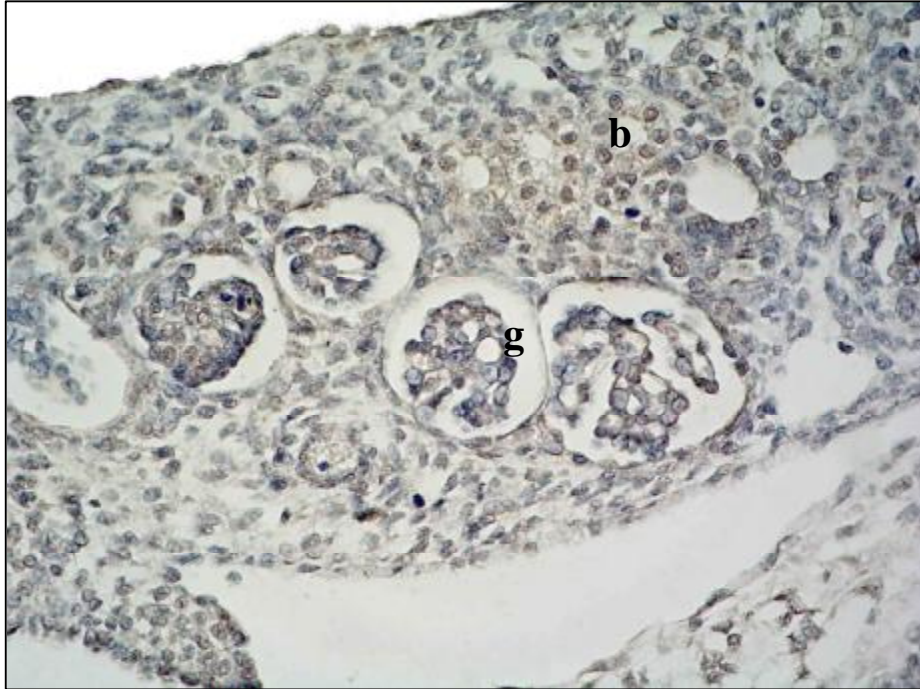
Şeki1 4.83: 18. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde laminin yoğunluğu. Büyütme: X400



Şeki1 4.84: 18. evredeki embriyo kesitlerinde akciğerde fibronectin yoğunluğu. Büyütme: X400

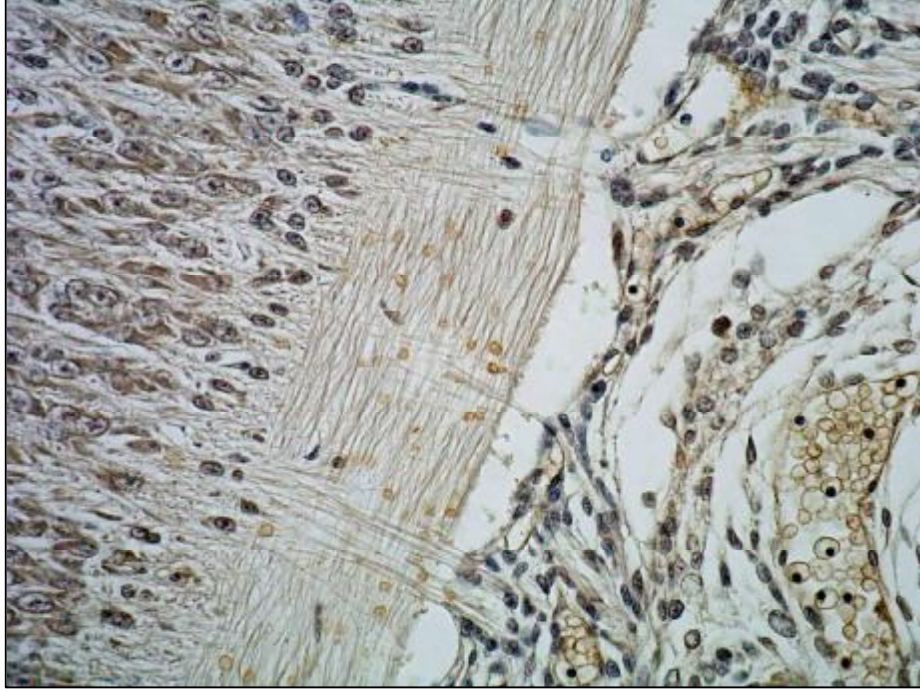


Şekil 4.85: 18. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri (b) ve glomerulustaki (g) laminin dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400

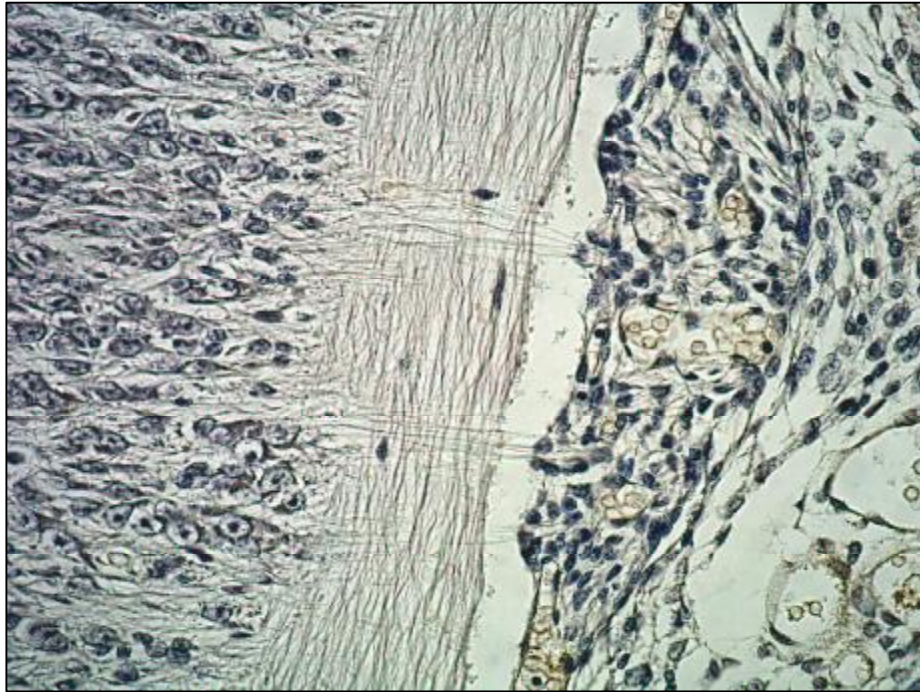


Şekil 4.86: 18. evredeki embriyo kesitlerinde böbrek tübüleri (b) ve glomerulustaki (g) fibronektin dağılımını gösteren histolojik kesit. Büyütme: X400

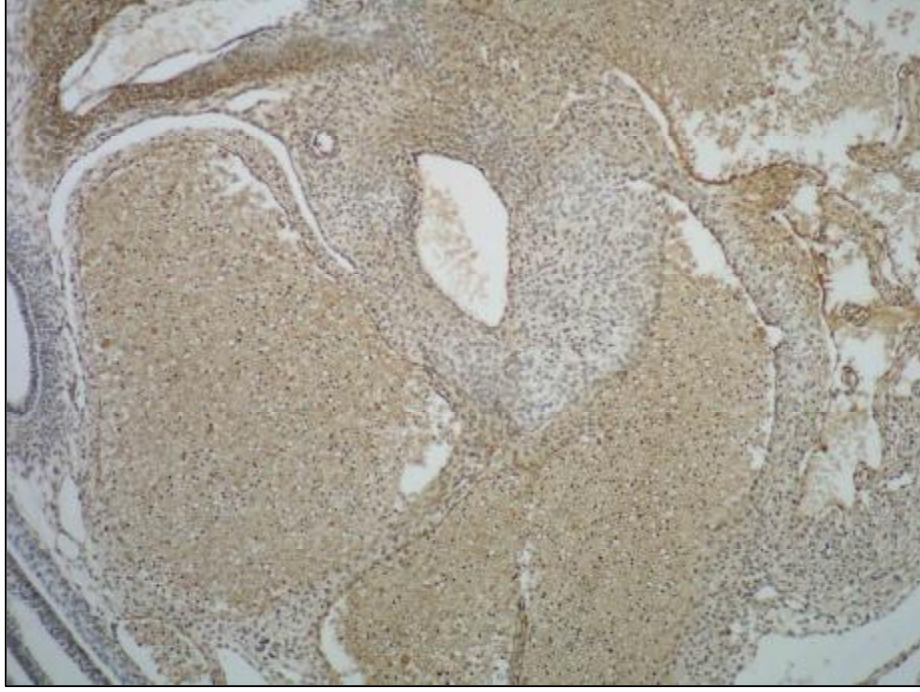




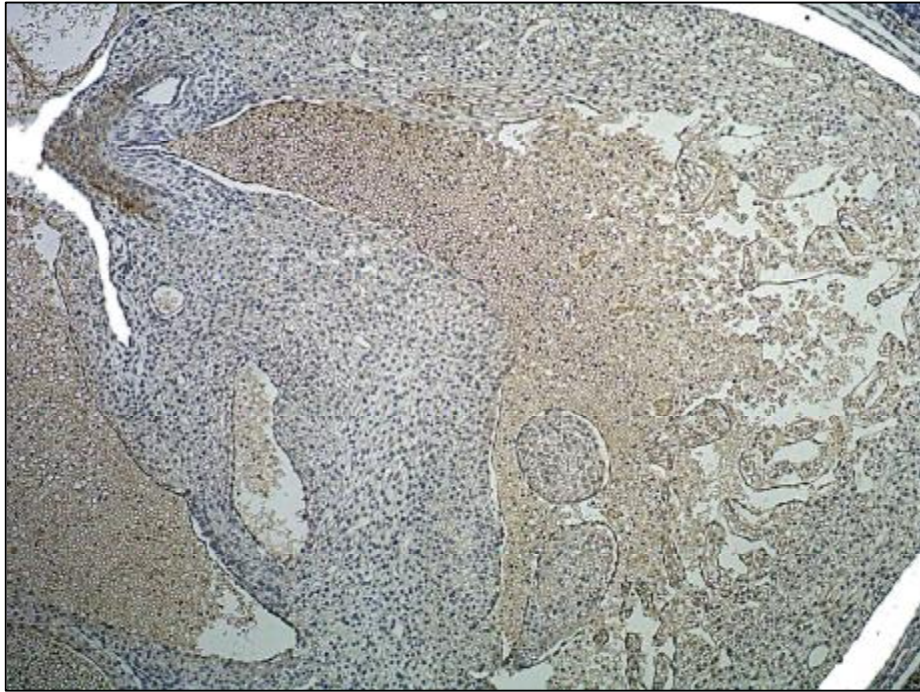
Şekil 4.87: 18. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki laminin yoğunluğu. Büyütme: X400



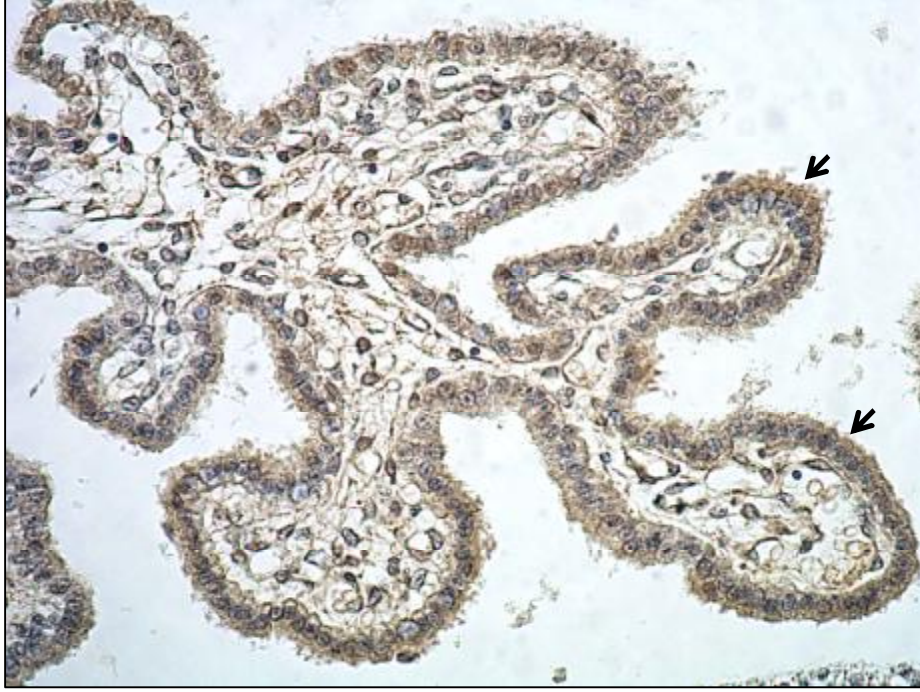
Şekil 4.88: 18. evredeki embriyo kesitlerinde sırt bölgesinde hücre göçünün bulunduğu alanlardaki fibronektin yoğunluğu. Büyütme: X400



Şekil 4.89: 18 evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki laminin yoğunluğu.  
Büyütme: X100



Şekil 4.90: 18. evredeki embriyo kesitlerinde kalp yapısındaki fibronectin yoğunluğu.  
Büyütme: X100



Şeki1 4.91: 18. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus yapısındaki laminin (↓) yoğunluğu. Büyütme: X400



Şeki1 4.92: 18. evredeki embriyo kesitlerinde koroid pleksus yapısındaki fibronektin yoğunluğu. Büyütme: X400

## V- TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmanın ilk kısmında *Myotis myotis* türü yarasaların embriyo gelişim evrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Doğal ortamlarından yakalanan gebe dişi bireylerden elde edilen embriyolar gelişim evrelerine göre sıralanmıştır. Embriyoların evrelendirilmesinde insan gelişiminde kullanılan klasik Carnegie sisteminden faydalanılmıştır (Streeter, 1942; O’Rahilly ve Müller, 1987). Adams (1992), *Myotis lucifugus*’ un gelişim evrelerini göstermiş ve postkranial iskelet oluşumu düzeni hakkında veri sağlamıştır. Ne yazık ki bu çalışma embriyogenezin sadece sınırlı evrelerini ele almış, gelişim evrelerinden 7 tanesi tanımlanmıştır. Son yıllarda Cretekos *et al.*, (2005), esaret altında yetişmiş hayvanlardan elde edilen embriyoları kullanarak, *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae) için ayrıntılı bir embriyonik evrelendirme sistemi oluşturmuş, *C. perspicillata* için 24 evre belirlemiştir. Tokita (2006), *Pipistrellus abramus* türünün normal embriyonik gelişimini açıklamıştır. Bu tür için 13 gelişim evresini tanımlamıştır. Yapılan bu çalışma ile Vespertilionidae familyasına ait *M. myotis* türü için ayrıntılı bir evrelendirme sistemi oluşturulmuş ve 15 gelişim evresi morfolojik olarak ve 1 evre de histolojik olarak tanımlanmıştır.

Yarasaların morfolojik olarak en önemli özelliği kanatlara sahip olmalarıdır. Bu oldukça özelleşmiş uçuş organlarının gelişimi şüphesiz yarasaların başarısındaki en önemli unsurdur. Tetrapod üyelerinin yarasa kanatlarına özelleşmesi kavramsal olarak iki şekilde değerlendirilebilir: Ön ve arka üyelerin farklı şekilde modifikasyonu ve kanat membran dokusunun formasyonu. Yarasalarda ön üyelerin morfogenezi arka üyelerinkinden pek çok bakımdan farklıdır. Rodent ve primatlarda olduğu gibi yarasalarda da ön üye tomurcuğu arka üye tomurcuğundan daha önce ortaya çıkar. Fakat bu diğer gruplara zıt olarak arka üyeler hiçbir zaman ön üye büyüklüğüne erişemezler. *M. myotis*’ de ön üye tomurcuğu 12. evrede, arka üye tomurcuğu ise bir sonraki evre olan 13. evrede oluşur. *C. perspicillata* ve *P. abramus*’ da ön ve arka üye tomurcukları sırasıyla 12. ve 13. evrelerde oluşur. İnsan embriyonik gelişimi sırasında ön üye tomurcuğu Carnegie 12. evresi, arka üye tomurcuğu ise 13. evresinde ortaya çıkar (O’Rahilly ve Müller, 1987). Fareler için ön üye tomurcuğu Theiler 15. evresinde görülür. Bu evre insandaki Carnegie 12. evre ile

morfolojik olarak benzerdir. Arka üye tomurcuğu Theiler 16. evresinde oluşur (Theiler, 1989).

Yarasa kanatları gelişiminde ön üyelerin 2 ve 5. parmakları arasındaki dokunun sürekliliği söz konusudur. Bu doku daha sonra chiropatagiuma farklılaşır. Omuz ve bilek arasındaki kanat membranının gelişimi ile ise propatagium meydana gelir. Ön üye ve arka üyeler arasında plagiopatagium, arka üyeler arasında ise uropatagium oluşur. *M. myotis*' de 18. evrede ön üyelerde 1. ve 2. parmaklar arasındaki doku kaybolarak baş parmak serbest hale geçer ve 19. evrede parmakların distal uçlarında tırnak primordiası gelişir. *P. abramus*' da 17. evrede, *C. perspicillata*' da 18. evrede baş parmak serbest hale geçer ve tırnak primordiumları ilk olarak gözlenir. Sadece ön üyeleri içeren kuş kanatlarına zıt olarak, yarasa kanatları dört üyeyi ve kuyruğu da kapsar. Chiropatagiumun kökeni ön üyeler arasındaki parmaklar arası dokudur. Parmaklar arası doku bütün omurgalı üyelerinde mevcuttur. Fakat pek çok türde üyelerin gelişimi sırasında kaybolur (Zou ve Niswander, 1996; Laufer *et al.*, 1997; Salas-Vidal *et al.*, 2001). Ancak yarasalarda bu doku kaybolmaz ve chiropatagium olarak kalır. Propatagium, plagiopatagium ve uropatagium ise üyelerin proksimal kısımlarına yakın bölgede gelişen dokudan meydana gelir. Bu nedenle chiropatagium ve diğer kanat membranlarının oluşum mekanizması birbirinden açıkça farklıdır.

Embriyo gelişimindeki en önemli olaylar hücre çoğalması, çoğalan hücrelerin bir arada tutulabilmesi için hücrelerin yapışması ve bu hücrelerin değişik doku ve organların oluşumunu sağlamak üzere farklılaşması ile hücre göçüdür. Hücre ile çevresi arasındaki etkileşim bu biyolojik olayların meydana gelmesini sağlar. Değişik hücrelerin içinde bulunduğu hücresel çevreyi, hücreler tarafından sentezleyip salgılanan proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşan hücre dışı ortam (ECM) oluşturur (Adams ve Watt, 1993). ECM nin organogenezde önemli bir düzenleyici olduğu gösterilmiştir (Ekblom, 1980, 1981; Ekblom *et al.*, 1980; Klein *et al.*, 1988, 1990; Schuger *et al.*, 1990). ECM' nin glikoproteinleri olan laminin ve fibronektinin embriyonik gelişim sırasında etkin rol aldıkları bilinmektedir. Bu çalışmada laminin ve fibronektin dağılımı, hücre göçünün ve

farklılaşmanın başlayarak dokuların oluştuğu farklı evrelerdeki yarasa embriyolarının total kesitlerinde incelenmiştir.

ECM; hücre büyümesi, göçü, farklılaşması ve hücrenin hayatta kalmasındaki anahtar düzenleyicidir. Hücreler dışarıdan gelen sinyallere göre ECM' nin sentezi, yıkımı ve organizasyonunu değiştirerek onun yeniden şekillenmesini sağlarlar. ECM' deki bu değişiklikler hücre davranışında önemli bir etkiye sahiptir. Hücreler ve ECM arasındaki bu dinamik, karşılıklı ilişkiyi anlamak, normal doku fonksiyonlarındaki olayları anlamada önemli derecede fayda sağlar.

ECM molekülleri integrinler ve proteoglikanları içeren hücre yüzey reseptörleri ile etkileşerek, hücre davranışını etkilerler (Brakebusch ve Fassler, 2003; Geiger *et al.*, 2001; Schwartz ve Ginsberg, 2002; Tkachenko *et al.*, 2005; Woods, 2001). Farklı ECM molekülleri, ECM molekül kombinasyonları ve ECM molekül organizasyonları farklı biyolojik etkileri ortaya çıkarır. Bu nedenle, bu ECM molekül kombinasyonlarının hücre fonksiyonunu nasıl etkilediğinin bilinmesi, doku morfogenezi, doku tamiri ve normal doku fonksiyonunun devamlılığının altında yatan hücre davranışını anlamada gereklidir.

Gastrulasyon ile birlikte birçok doku ve organları oluşturacak hücreler göç etmeye ve farklılaşmaya başlar. Yapılan çalışmalarda değişik hayvan gruplarında, embriyonal gelişimin gastrulasyon evresinden itibaren göç eden hücrelerin çevresinde fibronektin dağılımı tespit edilmiştir (Darribere *et al.*, 1984; Monnet – Tschudi *et al.*, 1985; Raddatz *et al.*, 1991). Heine *et al.*, (1990), yaptıkları immunohistokimyasal çalışmalarla organların gelişiminin bu organları oluşturacak dokular etrafındaki ECM' nin varlığına bağlı olduğunu ve ECM' nin yokluğunda dokuların oluşumunun gözlenmediğini belirlemişlerdir. Fibronektin hücrelerin yapışmasını sağlayıp onları bir arada tutar. Morfogenezde önemli bir rol oynayan ECM bileşeni olan fibronektin bu nedenle organ gelişimi sırasında oldukça etkilidir. Mezenşimal hücrelerin yapışması ve ayrılmasının öncelikle fibronektin aracılığıyla olduğu gözlenmiştir (Martinez – Hernandez ve Amenta, 1995).

Dorsal nöral tüpten köken alan nöral krest (NK) hücreleri, farklı vücut bölgelerinde farklı dokuları oluşturmak üzere nöral tüpün kapanmasıyla göç etmeye başlar. Bu göç etme sırasında izlenen iki farklı yol vardır. Dorso-lateral olarak yerleşen NK hücreleri nöral tüp ve somitler arasındaki medial yol boyunca göç eder. Nöral tüpün dorso-medial kısmında yerleşmiş olan NK hücreleri ise ya somit ve epidermis arasındaki lateral yoldan ya da medial yoldan göç ederler (Bronner-Fraser, 1986). NK hücreleri bu göç yollarına bağlı olarak belirli bölgelerde birikir ve sinir sisteminin kranial ve omurilik ganglionları, schwann hücreleri, pigment hücreleri, endokrin ve paraendokrin hücreler, kas ve iskelet gibi pek çok yapıya köken oluştururlar (Carlson, 1996; Selleck *et al.*, 1993). Bu şekilde NK hücrelerinin göç yolunun belirlenmesi, hareketleri ve birbirlerine yapışmaları için fibronektine ihtiyaçları vardır. Bu nedenle 10. evrede nöral tüpün oluşacağı bölgede fibronektin miktarı fazladır.

NK hücrelerinin göçünün ilk olarak somitler arasında başlaması nedeniyle somitlerde fibronektin dağılımı oldukça yoğundur (Le Douarin *et al.*, 1993). Omurgalılarda somit oluşum mekanizmasında en önemli iki olgu hücre yapışması ve hücre kümelenmesidir (Ostrowsky *et al.*, 1983). Bu çalışmada somitleri oluşturmak üzere hücre göçünün başladığı 14. evreden itibaren ECM ve hücreler çevresinde hücreleri bir arada tutan fibronektin gözlenmiştir. Devam eden gelişme evrelerinde, somit oluşumu sırasında en önemli olgu segmental plaktaki somit öncül hücrelerinin yoğunlaşarak birbirleriyle yapışmaya başlamasıdır. Somitlerin miyotom bölgesinden kas fibrilleri gelişmektedir. Mezenşimal hücrelerin kas fibrillerine farklılaşması sırasında gelişim ilerledikçe ve hücre bölünmesi artıkça, bölünen hücreler iğ şeklindeki miyoblastlara farklılaşarak yeniden belirli bir düzenlenme ile uzun miyotübüllerde (miyoblastlarda) kasılabilir filamentler oluşmaya başlar ve miyoblastlar birbirleriyle birleşir. Kasılabilir proteinlerin miktarının artmasıyla birlikte miyotübüller kas fibrillerine dönüşür (Carlson, 1996). Bu çalışmada 16. evreden itibaren göç eden hücrelerin somitlerin miyotom bölgesinde miyoblastları oluşturmak üzere şekillendikleri tespit edilmiştir. Bu evrede fibronektin yoğunluğu fazladır. 18. evrede ise göç eden hücrelerin giderek azalması ve farklılaşmanın meydana gelmesiyle birlikte ECM’ de fibronektin yoğunluğu da azalmıştır. Bu

aşamada hücreler birbirlerine ve matrikse daha sıkı tutunacağından laminin miktarının fibronektinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Bazal membran bileşenlerinin morfogenezdeki temel rolü in vitro (Bernfield *et al.*, 1984; Ekblom, 1989) ve in vivo olarak erken embriyolarda gösterilmiştir (Leivo *et al.*, 1980; Herken ve Barrach, 1985; Bortier *et al.*, 1989; Miosge *et al.*, 1993; Zagris *et al.*, 1993). Embriyonik gelişim sırasında sinuzoid farklılaşması, olgunlaşmamış hepatositlerin olgun hepatositler haline dönüşmesi gerçekleşir. Bu gibi oluşumlarda bazal membran bileşenleri önemli bir rol oynar. Karaciğer gelişiminin başında endotel hücrelerince çevrelenmiş hepatosit yığınları şeklindedir. Hepatositler farklılaştıkça tip IV kollajen ve lamininden oluşan bazal laminaya, onun altında da fibronektine bağlı tip I kollajen bulunur. Laminin ve fibronektin dağılımı bozulursa, bu normal gelişim de bozulmaktadır. Perisinuzoidal alanlarda kısa süreli laminin ekspresyonu hepatik rejenerasyon ve ontogenezin özellikleridir. Her bir sürecin tamamlanmasındaki normal erişkin hepatik mimarisinde laminin ekspresyonu baskılanır. Wewer *et al.*, 1992, rejenerasyon ve gelişen neonatal karaciğerde laminin  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  ve  $\gamma 1$  zincirlerinin ortaya çıktığını göstermiştir. Bu bulgular perisinuzoidal alanlarda laminin fenotipinin, hepatik morfogenezin bu formlarını düzenlemede önemli olduğunu işaret etmektedir. Laminin bu etkileri endotel hücreleri ya da hepatosit farklılaşmasını düzenleyerek gerçekleştirir. Hepatik sinuzoidal damarlanmanın gelişiminde lamininin rolü olduğu kabul edilir (Barioz *et al.*, 1988). Sinuzoidal damarlanmanın gelişimi tamamlanınca laminin ekspresyonu baskılanır. Yaptığımız çalışmada 14. evrede karaciğerde yoğun bir laminin varlığı gözlenmiştir. Kan damarlarını astarlayan endotel hücrelerinin ve hepatositlerin gelişimine bağlı olarak 16. ve 18. evrelerde laminin miktarı artmıştır. Fibronektinin ise özellikle 14. ve 16. evrelerde, farklılaşmakta olan bölgelerde yoğun olduğu tespit edilmiştir. Ancak miktarı lamininden azdır. 18. evrede farklılaşmış olan hepatositlerin oluşumuyla fibronektin miktarının oldukça azaldığı belirlenmiştir.

Ratlarda yapılan çalışmada, barsakta laminin immunohistokimyasal olarak gebeliğin 12. gününde epitel-mezenşim bağlantı yerinde ve mezenşim içindeki birkaç hücrede tespit edilmiştir. Gelişimin daha ileri evrelerinde, villus oluşumundan hemen önce, mezenşimde boyanma yoğunlaşır ve iki belirgin bölgede göze çarpar: epitelium-



mezenşim ara yüzeyinin hemen altı ve kas tabakasına farklılaşacak olan mezenşimin en periferik bölgesi (Simon-Assmann *et al.* 1986). Bu veri lamininin gelişim süresince belirli hücreler tarafından sentezlendiğini göstermektedir. Simo *et al.* (1991)' in rat embriyoları ile yaptığı çalışma laminin miktarının özellikle epitelyum yüzeyinde gelişme ilerledikçe arttığını göstermiştir. Yaptığımız çalışmada benzer bulgular elde edilmiştir. Sindirim sistemi değerlendirildiğinde 14. ve 16. evrede laminin miktarı barsakta oldukça fazladır. 18. evrede ise laminin miktarı artmıştır. Laminin dağılımının özellikle bazal lamina ve epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde yoğun olduğu görülmüştür. Midede de benzer şekilde laminin miktarının fazla olduğu tespit edilmiştir. 14. evrede epitel hücrelerinin etrafında fibronektin yoğunken, 16 ve 18. evrelerde epitel oluşumunun ilerlemesiyle miktarı azalmaktadır.

Memeli pankreatik primordiumu erken fetal dönemde ön barsak endoderminden oluşur (Pictet ve Rutter, 1972). Organogenez süresince embriyonik pankreatik epitelyumun farklılaşmasının bölgesel mezenşimin etkisi ve kontrolünde olduğu hakkındaki çalışmalar, pankreatik gelişimde bazal membranın spesifik rolüyle ilgili sonraki çalışmalara bir temel oluşturmuştur (Golosow ve Grobstein, 1962; Wessels ve Cohen, 1967; Fell ve Grobstein, 1968; Levine *et al.*, 1973; McEvoy *et al.*, 1973; Sakakura *et al.*, 1979). Tek başına bazal membranın duktal pankreatik morfogenezin oluşumunda yeterli olduğu gösterilmiştir (Gittes *et al.*, 1996). Yapılan çalışmada pankreasta asinusların oluşumuna bağlı olarak laminin miktarının fazla olduğu tespit edilmiştir. Fibronektin yoğunluğu ise lamininden azdır.

Koroid pleksus, kan – beyin bariyerinin ara birimlerinden biridir. Embriyonik gelişim sırasında nöral tüpün kapanmasıyla, tüp bir sıvı ile dolar ve bu da koroid pleksus tarafından salgılanan serebrospinal sıvının kaynağıdır. Bütün memeli türlerinde koroid pleksus, beyindeki damarlanmanın henüz az olduğu erken dönemde ortaya çıkar. Bu nedenle koroid pleksus erişkin beyninden daha çok, henüz gelişimini tamamlamamış beyinin beslenmesinde çok daha önemli bir role sahiptir. Kan – beyin bariyeri terimi, kan ve serobrospinal sıvı içeren beyin ekstrasellular sıvısı arasındaki materyal değişimini kontrol eden morfolojik yapılar ve fizyolojik mekanizmalar serisini tanımlamada kullanılır.

Netsky ve Shuangshoti (1975), insan fetusunda koroid pleksusun morfolojik gelişimi hakkında bilgi vermiştir. Daha detaylı çalışmalar pek çok tür için de yapılmıştır: insan (Voetmann, 1949; Kappers, 1958; Shuangshoti ve Netsky, 1966; Jacobsen *et al.*, 1982a,b; Catala, 1998), tavşan (Strong, 1956, 1964a,b), koyun (Jacobsen *et al.*, 1983), fare (Knudsen, 1964; Sturrock, 1979) ve rat (Cancilla *et al.*, 1966; Wislocki ve Ladman, 1958). Olgunlaşmamış koroid epitelyum hücreleri, daha gelişmiş olanlardan çok daha az sayıda sil ve mikrovillus içerir. Bu durum belki de gelişim süresince koroid pleksusun salgı kapasitesinde bir artışı yansıtmaktadır (Saunders, 1992).

Memeli fetal koroid pleksusu hakkındaki çalışmalar fetal kuzularda Møllgård *et al.*, (1976, 1979), fetal ratlarda Tauch *et al.*, (1984) ve fetal insanda Møllgård ve Saunders (1986) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar koroid pleksus epitelyum hücrelerinin, gelişimin oldukça erken döneminde oldukça iyi oluşmuş sıkı bağlantılar ile bağlandığını göstermiştir. Memeli koroid pleksusu sıkı bağlantılarının ultrayapısal çalışmalarından elde edilen kanıtlar, erken beyin gelişiminde oldukça etkili bir protein geçiş bariyeri varlığını kanıtlamıştır (Dziegielewska *et al.*, 1980, 1991; Knott *et al.*, 1997). Çalışmamızda koroid pleksustaki laminin miktarının gelişimin ileri evrelerinde arttığı gözlenmiştir. Laminin, integrin resöptörü aracılığıyla hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimini sağlayarak morfogenezde önemli rol oynamaktadır. Gelişimin erken evrelerinde, koroid pleksus epitelyum hücrelerinin oldukça sıkı bağlandığı göz önünde tutulursa, elde edilen bulgulardan lamininin koroid pleksus epitelyum hücrelerinin bağlanmasında etkili olduğu sonucuna varılabilir. Koroid pleksus epitelindeki fibronektin miktarı ise farklılaşmanın tamamlanmasına bağlı olarak gelişme ilerledikçe azalmaktadır.

Elde edilen son veriler, kardiyak ekstrasellüler matriksin büyüme ve gelişimde kritik bir rol oynadığını göstermiştir. ECM kalp gelişimi, büyümesi ve kardiyak fonksiyonlarını temas ettikleri hücre davranışlarını direkt olarak ayarlayarak etkiler (Borg *et al.*, 1990; Pelouch *et al.*, 1993; Weber *et al.*, 1994). Embriyonik, fetal ve neonatal evrelerde kalp gelişiminde ECM' nin rolü göç, hücre sıralanması, adhezyon, farklılaşma, damar gelişimi ve kalp kapakçığı oluşumu için gerekli olan sinyalleşmeyi kapsar (Duband *et al.*, 1990; Damsky ve Werb, 1992). Hücre

adhezyon molekülleri laminin ve fibronektin önemli non-kollajen glikoproteinlerdir. Bu iki yüksek moleküler ağırlıklı protein ağının organizasyonu sürekli ve yeterli kardiyak fonksiyonunun sürdürülmesinde gereklidir (Borg, 1982; Borg ve Terracio, 1990). Fibronektin kültür hücrelerinin adhezyonunu teşvik eder (Hynes *et al.*, 1982), embriyogenezde doku organizasyonunu etkiler (Armstrong ve Armstrong, 1990), kılcal damar endotel hücrelerinde görüldüğü gibi gelişim düzenleyici bir fonksiyona sahiptir (Ingber, 1990). Fare miyokardiyumunda mezenseşimal hücreler tarafından üretilen fibronektin embriyogenezde ve erişkin organlarında doku yapısının korunmasında düzenleyici bir fonksiyona sahiptir (Ahamuda, 1981). Bu çalışmada fibronektinin çoğu evrede genellikle benzer miktarlarda olduğu tespit edilmiştir. Fibronektin kalpte kan damarları etrafında daha yoğun olarak bulunmuştur. Bu sonuç fibronektinin endotel hücreleri ile interstisyum ve bazal membranlar arasındaki sıkı bağlantıya aracılık ettiğini göstermektedir (Wayner *et al.*, 1988). Fibronektinin kollajen ve diğer matriks proteinlerine bağlandığı gösterilmiştir (Stenman ve Vaheri, 1978). Hücre içi iskeletle talin-vinkulin-aktin bağlantısı ile etkileşir (Hynes, 1981), ayrıca kan pıhtılaşması ve yara iyileşmesinde de önemli bir role sahiptir (Hilenski *et al.*, 1991; Farhadian *et al.*, 1995). Aynı şekilde lamininin de gelişim evreleri süresince sabit miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Laminin özellikle endotel hücreleri ve miyokardiyal hücrelerin bazal membranlarında yoğun olarak gözlenmiştir. Buna göre laminin miyokard hücrelerine bağlanarak interstisyumun oluşumunun devamlılığı ve hücre farklılaşması ve gelişimini sağlamış olur.

Akciğer gelişiminde bronşiolerin oluşumu sırasında diğer ECM bileşenlerinin yanı sıra fibronektin de önemli rol oynamaktadır. Akciğerleri oluşturmak üzere göğüs bölgesine göç eden hücrelerin epitelial dokulara farklılaşması sırasında fibronektine ihtiyaçları vardır. Bu farklılaşmanın gerçekleşmesiyle birlikte dokuda fibronektin yoğunluğu azalırken, diğer bir ECM bileşeni olan lamininde artış gözlenmektedir (Carlson, 1996). Bu çalışmada erken evredeki embriyo kesitlerinde akciğer hücrelerinde ve çevresinde laminin yoğunluğunun daha az olduğu saptanmıştır. İleri evrelerde ise laminin yoğunluğunda bir artış gözlenmiştir. Akciğerde fibronektin yoğunluğunun erken evrelerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Daha sonraki evrelerde göç eden hücreler yavaş yavaş alveolleri oluşturmak üzere düzenlenirken

epitel dokuya farklılaşmaktadır ve fibronektin yoğunluğu da buna bağlı olarak azalmaktadır.

Lamininin pek çok farklı organ sisteminin gelişiminde hücre bağlanması, gelişme, göç ve farklılaşmada önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Ekblom *et al.*, 1980, 1990; Evercooren *et al.*, 1982; Terranova *et al.*, 1984; Engvall *et al.*, 1986; Kleinman *et al.*, 1987, 1990; Klein *et al.*, 1988; Leivo ve Engvall, 1988; Ocalan *et al.*, 1988; Davis *et al.*, 1989; Beck *et al.*, 1990; Ehrig *et al.*, 1990; Ishii *et al.*, 1992; Schuger *et al.*, 1992; Yurchenco *et al.*, 1993; Timpl ve Brown, 1994). Laminin bu fonksiyonunu molekül üzerinde bulunan spesifik alanlar ve integrinler aracılığıyla hücre yüzeyiyle etkileşimi sayesinde gerçekleştirir. Sıçan embriyoları ile yapılan çalışmalarda, mezenşimal hücrelerin metanefrik hücrelere farklılaşmasında, böbrek tübüllerinin oluşumu boyunca farklı indükleyicilerin etkili olduğu gösterilmiştir. İndüklenmemiş mezenşimal hücrelerin ECM' i tip I kollajen, tip III kollajen ve fibronektin içermektedir. Mezenşimal hücreler epitelyal hücrelere dönüşmeye başladıkça ECM' de de değişimler meydana gelmektedir. Mezenşimin epitelyum tübüllerine farklılaşmasının başlamasıyla, tip I kollajen ve tip III kollajen mezenşimal hücrelerden uzaklaşır ve epitelyum hücrelerinin karakteristik matriks bileşenleri olan tip IV kollajen ve laminin ile yer değiştirir (Carlson, 1996). Bu çalışmada da erken evrelerde böbrek tübüllerinde laminin miktarı daha az iken, evreler ilerledikçe böbrek tübüllerinin sayısı artmakta ve buna karşılık laminin yoğunluğu da artmaktadır. Memelilerde kalıcı böbrek birbiri ardından ortaya çıkan üç taslak ile oluşur: pronefroz, mesonefroz ve metanefroz. Pronefroz ve mesonefroz geçici organlardır, fakat metanefroz ya da kalıcı böbreğin oluşumu için gereklidirler. 14. evredeki embriyoda böbrek tübülleri etrafı fibronektin pozitif reaksiyon vermiştir. Sonraki evrelerde metanefroz böbrek oluşumu sırasında mezenşimal hücrelerin metanefrik hücrelere dönüşümü nedeniyle fibronektin yoğunluğunun arttığı görülmüştür. Fakat miktarı lamininden daha azdır.

Hücrelerin buldukları ortama tutunması ve göçleri için oldukça önemli ECM bileşenleri olan laminin ve fibronektin, erken embriyo gelişiminde göz kapsülünün oluşumunda da etkilidir. Sıçan embriyolarıyla yapılan bir çalışmada göz merceğindeki laminin ve fibronektin dağılımı immünohistokimyasal teknik

kullanılarak gösterilmiştir. Gelişimin erken evrelerinde göz kapsülünü oluşturan ektodermal hücrelerin bazal laminasında fibronektin bulunurken, daha ileriki dönemlerde sadece laminin tespit edilmiştir (Parmigiani ve McAvoy, 1991). Yaptığımız çalışmada 14. evredeki embriyoda gözde kapsül ve mercekteki laminin yoğunluğunun oldukça fazla olduğu, fibronektinin ise çok az bir miktarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışma sonucunda, eksternal morfolojik karakterlere dayanılarak *Myotis myotis* türü yarasaların embriyonik gelişim evreleri belirlenmiştir. Bununla birlikte yarasaların gelişimiyle ilgili veriler sınırlı sayıda türü kapsamaktadır. Bu nedenle yapılan çalışma Vespertilionid yarasa embriyolojisi için bir temel sağlayacak ve gelecekte sadece yarasalar için değil, aynı zamanda memeliler için de karşılaştırmalı embriyolojik çalışmalarda uygulanabilir olacaktır. Çalışmada ayrıca belirlenen gelişim evrelerinde birçok organın oluşumunu yönlendiren ve gelişimde önemli rol oynayan hücrelerarası madde bileşenlerinden laminin ve fibronektin dağılımı gösterilmiştir. Daha önce total yarasa embriyosu gelişiminde laminin ve fibronektin dağılımını inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Elde edilen bulgular ışığında laminin ve fibronektinin organ gelişiminde etkili olduğu ve miktarlarının özellikle hücre farklılaşması ve göçüne bağlı olarak değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Gelecekte diğer matriks bileşenlerinin de yarasa embriyo gelişiminde çalışılması yararlı olacaktır.

**KAYNAKLAR**

- Adams, J.C. and Watt, F.M. 1993. Regulation of development and differentiation by the extracellular matrix. **Development**, 117; 1183-1198.
- Adams, R.A. 1992. Stages of development and sequence of bone formation in the little brown bat, *Myotis lucifugus*. **J. Mammal.**, 73; 160-167.
- Ahamuda, G., Rennard, S., Figueroa, A. and Silver, M. 1981. Cardiac fibronectin: Developmental distribution and quantitative comparison of possible sites of synthesis. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 13; 667-678.
- Albert, E. 1995. The extracellular matrix in development. Organization of the early vertebrate embryo, Ed. By Nikolas Z., Plenum Press, Chapter 4, pp. 149-167, New York.
- Allen, H. 1895. On the embryos of bats. Contributions from the Zoological Laboratory of the University of Pennsylvania, vol. 1, pp. 3-42.
- Altringham, J.D. 1996. Bats: Biology and behavior. Oxford Univ. Press, p. 264, Oxford.
- An, S.S., Jimenez-Barbero, J., Petersen, T.E. and Llinas, M. 1992. The two polypeptide chains in fibronectin are joined in antiparallel fashion: NMR structural characterization. **Biochemistry**, 31; 9927-9933.
- Armstrong, P. and Armstrong, M. 1990. An instructive role for the interstitial matrix in tissue patterning: tissue segregation and intercellular adhesion. **J. Cell Biol.**, 110; 1439-1455.
- Ashkensas, J., Muschler, J., Bissell, and Mina, J. 1996. The extracellular matrix in epithelial biology: Shared molecules and common themes in distant phyla. **Dev. Biol.**, 180; 433-444.
- Aumailley, M., Wiedemann, H., Mann, K. and Timpl, R. 1989. Binding of nidogen and the laminin-nidogen complex to basement membrane collagen type IV. **Eur. J. Biochem.**, 184; 241-248.
- Badwaik, N.K. and Rasweiler, J.J. IV. 2001. Altered trophoblastic differentiation and increased trophoblastic invasiveness during delayed development in the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*. **Placenta**, 22; 124-144.
- Bancroft, J.D. and Cook, H.C. 1994. Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone, p. 457, London.

- Barioz, C.M., Sengel, P. and Grimaud, J.A. 1988. Immunolocalization of matricial components during the early stages of chick embryonic liver development. **Biol. Struct. Morphol.**, 1; 3-14.
- Beck, K., Hunter, I. and Engel, J. 1990. Structure and function of laminin: anatomy of a multidomain glycoprotein. **Faseb J.**, 4; 148-160.
- Bernfield, M., Banerjee, S.D., Koda, J.E. and Rapraeger, A.C. 1984. Remodeling of the basement membrane: morphogenesis and maturation. In *Basement Membranes and Cell Movement*, Ciba Foundation Symposium, 108; 179-196, Pitman Publishers, London.
- Bissell, M.J., Hall, H.G. and Parry, G. 1982. How does the extracellular matrix direct gene expression? **J. Theor. Biol.**, 99; 31-68.
- Borg, T.K. 1982. Development of the connective tissue network in the neonatal hamster heart. **Anat. Rec.**, 165; 435-444.
- Borg, T.K. and Terracio, L. 1990. Interaction of the extracellular matrix with cardiac myocytes during development and disease. In *Issues in Biomedicine* (T. Robinson, ed.) Karger, pp. 113-129, Basel.
- Borg, T.K., Xuehui, M., Hilenski, L.L., Vinson, N. and Terracio, L. 1990. The role of extracellular matrix on myofibrillogenesis in vitro. In *Developmental Cardiology: Morphogenesis and Function* (E.B. Clark and Takao, eds.), Futura, pp. 175-190, Mt. Kosco.
- Bortier, H., De Bruyne, G., Espeel, M. and Vakaet, L. 1989. Immunohistochemistry of laminin in early chicken and quail blastoderms. **Anat. Embryol.**, 180; 65-69.
- Boucaut, J.C., Darribere, T., Boulekbache, H. and Thiery, J.P. 1984a. Prevention of gastrulation but not neurulation by antibodies to fibronectin in amphibian embryos. **Nature**, 307; 364-367.
- Boucaut, J.C., Darribere, T., Poole, T. J., Aoyama, H., Yamada, K.M. and Thiery, J.P. 1984b. Biologically active synthetic peptides as probes of embryonic development: a competitive peptide inhibitor of fibronectin function inhibits gastrulation in amphibian embryos and neural crest cell migration in avian embryos. **J. Cell Biol.**, 99; 1822-1830.
- Brakebusch, C. and Fassler, R. 2003. The integrin-actin connection, an eternal love affair. **Embo. J.**, 22(10); 2324-2333.

- Bronner-Faraser, M. 1986. Analysis of the early stages of trunk neural crest migration in avian embryos using monoclonal antibody HNK-1. **Developmental Biology**, 115; 44-55.
- Burgeson, R.E. 1987. The collagens of skin. **Curr. Probl. Dermatol.**, 17;61-75.
- Cancilla, P.A., Zimmerman, H.M. and Becker, N.H. 1966. A histochemical and fine structure study of the developing rat choroid plexus. **Acta Neuropathol.**, 6; 188-200.
- Carlson, B.M. 1996. Pattern's foundations of embryology. 6th Edition, McGraw-Hill companies, p. 704, New York.
- Carroll, S.B., Grenier, J.K., Weatherbee, S.D. 2004. From DNA to diversity: molecular genetics and the evolution of animal design, second ed. Blackwell Science, Malden.
- Carsons, S.E. 1989. Fibronectin in Health and Disease. CRC Press, Inc., p. 312, Florida.
- Catala, M. 1998. Embryonic and fetal development of structures associated with the cerebro-spinal fluid in man and other species. Part I: The ventricular system, meninges and choroid plexuses. **Arch. Anat. Cytol. Pathol.**, 46; 153-69.
- Chen, W.T., Chen, J.M. and Mueller, S.C. 1986. Coupled expression and colocalization of 140K cell adhesion molecules, fibronectin, and laminin during morphogenesis and cytodifferentiation of chick lung cells. **J. Cell. Biol.**, 103; 1073-1090.
- Chiquet, M. 1992. Tenascin: An extracellular matrix protein involved in morphogenesis of epithelial organs. **Kidney Int.**, 41; 629-631.
- Christe, P., Arlettaz, R. and Vogel, P. 2000. Variation in intensity of a parasitic mite *Spinturnix myoti* in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host *Myotis myotis*. **Ecology letters**, 3; 207-212.
- Chung, A.E. 1993. Laminin. In: Zern, M.A. and Reid, L.M. (Eds.). Extracellular Matrix, Marcel Dekker, pp. 25-48, New York.
- Chung, A.E. 1995. The extracellular matrix in development. In: Zagris, N., Duprat, A.M., Durston, A. (Eds.). Organization of the Early Vertebrate Embryo, vol. 279. Plenum Press, pp. 149-167, New York.
- Clark, E.A. and Brugge, J.S. 1995. Integrins and signal transduction pathway: the road taken. **Science**, 268; 233-238.



- Cooper, A.R. and McQueen, H.A. 1983. Subunits of laminin are differentially synthesized in mouse eggs and embryos. **Dev. Biol.**, 96; 461-471.
- Corbet, G.B. and Southern, H.N. 1977. The Handbook of British Mammals. Blackwell Scientific Publications, p. 520, Great Britain.
- Cretekos, C.J., Weatherbee, S.D., Chen, C.H., Badwaik, N.K., Niswander, L., Behringer, R.R. and Rasweiler IV., J.J. 2005. Embryonic staging system for the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for the mammalian order Chiroptera, based upon timed pregnancies in captive-bred animals. **Dev. Dyn.**, 233; 721-738.
- Cumming, G.S. and Bernard, R.T.F. 1997. Rainfall, food abundance and timing of parturition in African bats. **Oecologia**, 111; 309-317.
- Damsky, C.H. and Werb, Z. 1992. Signal transduction by integrin receptors for extracellular matrix: cooperative processing of extracellular information. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 4; 772-281.
- Darribere, T., Boucher, D., Lacroix, J.C. and Boucaut, J.C. 1984. Fibronectin synthesis during oogenesis and early development of the amphibian *Pleurodeles waltlii*. **Cell Differentiation**, 14; 171-177.
- Darribere, T., Guida, K., Larjava, H., Johnson, K.E., Yamada, K.M., Thiery, J.P. and Boucaut, J.C. 1990. In vivo analyses of integrin b1 subunit function in fibronectin matrix assembly. **J. Cell Biol.**, 110; 1813-1823.
- Darribere, T., Yamada, K.M., Johnson, K.E. and Boucaut, J.C. 1988. The 140-kDa fibronectin receptor complex is required for mesodermal cell adhesion during gastrulation in the amphibian *Pleurodeles waltlii*. **Dev. Biol.**, 126; 182-194.
- Davis, L.A., Ogle, R.C. and Little, C.D. 1989. Embryonic heart mesenchymal cell migration in laminin. **Dev. Biol.**, 133; 37-43.
- DeSimone, D.W. 1994. Adhesion and matrix in vertebrate development. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 6; 747-751.
- Dong, L.J. and Chung, A.E. 1991. The expression of the genes for fibronectin, laminin A, laminin B1 and laminin B2 in murine lens morphogenesis and eye development. **Differentiation**, 48; 157-172.
- Doran, J.E., Mansberger, A.R. and Reese, A.C. 1980. Cold insoluble globulin-enhanced phagocytosis of gelatinized targets by macrophage monolayers: a model system. **J. Reticuloendothel. Soc.**, 27; 471-483.

- Downs, K.M. and Davies, T. 1993. Staging of gastrulating mouse embryos by morphological landmarks in the dissecting microscope. **Development**, 118; 1255-1266.
- Duband, J.L., Dufour, S. and Thiery, J.P. 1990. The instructive role of fibronectins in cell migration during embryonic development. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 588; 273-280.
- Dziegielewska, K.M., Evans, C.A.N., Malinowska, D.H., Møllgård, K., Reynolds, M.L. and Saunders, N.R. 1980. Blood-cerebrospinal fluid transfer of plasma proteins during fetal development in the sheep. **J. Physiol.**, 300; 457-465.
- Dziegielewska, K.M., Habgood, M.D., Møllgård, K., Stagaard, M. and Saunders, N.R. 1991. Species-specific transfer of plasma albumin from blood into different cerebrospinal fluid compartments in the fetal sheep. **J. Physiol.**, 439; 215-237.
- Eakin, G.S. and Behringer, R.R. 2004. Diversity of germ layer and axis formation among mammals. **Semin Cell Dev. Biol.**, 15; 619-629.
- Edelman, M.G. 1988. Morphoregulatory molecules. **Biochem.**, 27; 3533-3543.
- Ehrig, K., Leivo, I. and Engvall, E. 1990. Merosin and laminin: Molecular relationship and role in nerve-muscle development. **Annu. N.Y. Acad. Sci.**, 580; 276-280.
- Eklblom, M., Klein, G., Mugrauer, G., Fecker, L., Deutzmann, R., Timpl, R. and Eklblom, P. 1990. Transient and locally restricted expression of laminin A chain mRNA by developing epithelial cells during kidney organogenesis. **Cell**, 60; 337-346.
- Eklblom, P. 1980. Basement membrane proteins and growth factors in kidney differentiation. **In: The Role of Extracellular Matrix in Development**, R.E. Trelstad, ed. Alan R. Liss, pp. 173-206, New York.
- Eklblom, P. 1981. Formation of basement membranes in the embryonic kidney: An immunohistological study. **J. Cell Biol.**, 91; 1-10.
- Eklblom, P. 1989. Developmentally regulated conversion of mesenchyme to epithelium. **Faseb J.**, 3; 2141-2150.
- Eklblom, P., Alitalo, K., Vaheri, A., Timpl, R. and Saxen, L. 1980. Induction of a basement membrane glycoprotein in embryonic kidney: possible role of laminin in morphogenesis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 77; 485-489.

- Engel, J. 1993. In *Molecular and Cellular Aspects of Basement Membranes* (Rohrbach, D. H. and Timpl, R., eds.), pp. 147-176, Academic Press, San Diego.
- Engvall, E., Davis, G.E., Dickerson, K., Ruoslahti, E., Varon, S. and Manthorpe, M. 1986. Mapping of domains in human laminin using monoclonal antibodies: Localization of the neurite-promoting site. **J. Cell Biol.**, 103; 2457-2465.
- Erickson, H.P. 1993. Tenascin-C, tenascin-R and tenascin-X: a family of talented proteins in search of functions. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 5; 869-876.
- Erickson, H.P. and Bourdon, M.A. 1989. Tenascin: an extracellular matrix protein prominent in specialized embryonic tissues and tumors. **Annu. Rev. Cell Biol.**, 5; 71-92.
- Evercooren, A.B.V., Kleinman, H.K., Ohno, S., Marangos, P., Schwartz, J.P. and Dubols-Dalcq, M.E. 1982. Nerve growth factor, laminin, and fibronectin promote neurite growth in human fetal sensory ganglia cultures. **J. Neurosci. Res.**, 8; 179-193.
- Eyal-Giladi, H. and Kochav, S. 1976. From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of development of the chick. **Dev. Biol.**, 49; 321-337.
- Farhadian, F., Contard, F., Corbier, A., Barrieux, A., Rappaport, L. and Samuel, J.L. 1995. Fibronectin expression during physiological and pathological cardiac growth. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 27; 981-990.
- Fell, P.E. and Grobstein, C. 1968. The influence of extra-epithelial factors on the growth of embryonic mouse pancreatic epithelium. **Exp. Cell Res.**, 53; 301-304.
- Geiger, B., Bershadsky, A., Pankov, R. and Yamada, K.M. 2001. Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix--cytoskeleton crosstalk. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, 2(11); 793-805.
- Gilbert, S.F. 1988. *Developmental Biology*. Sinauer Associates, p. 843, Massachusetts, USA.
- Gittes, G.K., Galante, P.E., Hanahan, D., Rutter, W.J. and Debase, H.T. 1996. Lineage-specific morphogenesis in the developing pancreas: role of mesenchymal factors. **Development**, 122; 439-447.
- Golosow, N. and Grobstein, C. 1962. Epitheliomesenchymal interactions in pancreatic morphogenesis. **Dev. Biol.**, 4; 242-255.

- Gould, S.J. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Harvard University Press, Cambridge.
- Grant, D.S., Tashiro, K., Segui-Real, B., Yamada, Y., Martin, G.R. and Kleinman, H.K. 1989. Two different laminin domains mediate the differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures in vitro. **Cell**, 58; 933-943.
- Haas, T.A. and Plow, E.F. 1994. Integrin-ligand interactions, a year in review. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 6; 656-662.
- Hall, B.K. 1998. *Evolutionary developmental biology*, second ed. Chapman and Hall, New York.
- Hamburger, V. and Hamilton, H.L. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **J. Morphol.**, 88; 49-92.
- Hamlett, G.W.D. 1935. Notes on the embryology of a phyllostomid bat. **Am. J. Anat.**, 56; 327-353.
- Hay, E.D. 1991. *Cell Biology of Extracellular Matrix*. 2nd Ed., Plenum Press, p. 468, New York.
- Heideman, S.R. 1993. A new twist on integrins and cytoskeleton. **Science**, 260; 1080-1081.
- Heine, U., Munoz, E.F., Flanders, K.C., Roberts, A.B. and Sporn, M.B. 1990. Colocalization of TGF-beta I and collagen I and III, fibronectin and glycosaminoglycans during lung branching morphogenesis. **Development**, 109; 29-36.
- Heinegard, D. and Oldberg, A. 1993. In *connective tissue and its heritable disorders. Molecular, genetic and medical aspects* (ed P.M. Royce and B. Steinmann), Wiley-Liss, pp. 189-209, New York.
- Hendrickx, A.G. 1971. *Embryology of the baboon*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Herken, R. and Barrach, H.J. 1985. Ultrastructural localization of type IV collagen and laminin in the seven-day-old mouse embryo. **Anat. Embryol.**, 197; 365-371.
- Hilenski, L.L., Terracio, L. and Borg, T.K. 1991. Myofibrillar and cytoskeletal assembly in neonatal rat cardiac myocytes cultured on laminin and collagen. **Cell Tissue Res.**, 264; 577-587.

- Hynes, R. 1981. Relationships between fibronectin and the cytoskeleton. **Cell Surf. Rev.**, 7; 97-139.
- Hynes, R., Destree, A. and Wagner, D. 1982. Relationship between fibronectin, actin, and cell substratum adhesion. Cold Spring Harbor Sym. **Quant. Biol.**, 46; 659-670.
- Hynes, R.O. 1985. Molecular biology of fibronectin. **Annu. Rev. Cell Biol.**, 1; 67-90.
- Hynes, R.O. 1990. Fibronectins. Springer-Verlag, p. 1538, New York.
- Hynes, R.O. 1992. Integrins: versatility, modulation and signaling in cell adhesion. **Cell**, 69; 11-25.
- Hynes, R.O. and Yamada, K.M. 1982. Fibronectins: multifunctional modular glycoproteins. **J. Cell Biol.**, 95; 369-377.
- Ingber, D. 1990. Fibronectin controls capillary endothelial cell growth by modulating cell shape. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 87; 3579-3583.
- Ishii, N., Wadsworth, W.G., Stern, B.D., Culotti, J.G. and Hedgecock, E.M. 1992. UNC-6, a laminin-related protein, guides cell and pioneer axon migrations in *C. elegans*. **Neuron**, 9; 873-881.
- Iwamatsu, T. 2004. Stages of normal development in the medaka *Oryzias latipes*. **Mech. Dev.**, 121; 605-618.
- Jacobsen, M., Clausen, P.P., Jacobsen, G.K., Saunders, N.R. and Møllgård, K. 1982a. Intracellular plasma proteins in human fetal choroid plexus during development. I. Developmental stages in relation to the number of epithelial cells which contain albumin in telencephalic, diencephalic and myelencephalic choroid plexus. **Dev. Brain. Res.**, 3; 239-250.
- Jacobsen, M., Jacobsen, G.K., Clausen, P.P., Saunders, N.R. and Møllgård, K. 1982b. Intracellular plasma proteins in human fetal choroid plexus during development. II. The distribution of prealbumin, albumin, alpha-fetoprotein, transferrin, IgG, IgA, IgM and alpha1-antitrypsin. **Dev. Brain. Res.**, 3; 251-262.
- Jacobsen, M., Møllgård, K., Reynolds, M.L. and Saunders, N.R. 1983. The choroid plexus in fetal sheep during development with special reference to intracellular plasma proteins. **Dev. Brain. Res.**, 8; 77-88.

- Jeong, J., Toida, T., Muneta, Y., Kosiishi, I., Imanari, T., Linhardt, R.J., Choi, H.S., Ji Wu, S. and Kim, Y.S. 2001. Localization and characterization of a chondroitin sulfate in the body of the giant African snail *Achatina fulica*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 130; 513-519.
- Johnson, K.E., Darribere, T. and Boucaut, J.C. 1990. Cell adhesion to extracellular matrix in normal *Rana pipiens* gastrulae and in arrested hybrid gastrulae *Rana pipiens* (m.) and *Rana esculenta* (f.). **Dev. Biol.**, 138; 86-99.
- Kappers, J.A. 1958. Structural and functional changes in the telencephalic choroid plexus during human ontogenesis. **In: Wolstenholem GEW, O'Connor CM, editors. Ciba Foundation Symposium on the Cerebrospinal Fluid**, pp. 3-31, Little Brown, Boston.
- Kar, L., Lai, C.S., Wolff, C.E., Nettesheim, D., Sherman, S. and Johnson, M.E. 1993. **J. Biol. Chem.**, 268; 8580-8589.
- Keski-Ojal, J., Mosher, D.F. and Vaheri, A. 1976. Cross-linking of a major fibroblast surface associated glycoprotein (fibronectin) catalysed by blood coagulation factor XIII. **Cell**, 9; 29-35.
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B. and Schilling, T.F. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. **Dev. Dyn.**, 203; 253-310.
- Klein, G., Ekblom, M., Fecker, L., Timpl, R. and Ekblom, P. 1990. Differential expression of laminin A and B chains during development of embryonic mouse organs. **Development**, 110; 823-837.
- Klein, G., Langegger, M., Timpl, R. and Ekblom, P. 1988. Role of laminin A chain in the development of epithelial cell polarity. **Cell**, 55; 331-341.
- Kleinman, H.K., Cannon, F.B., Laurie, G.W., Hassell, J.R., Aumailley, M., Terranova, V.P., Martin, G.R. and Dubois-Dalcq, M. 1985. Biological activities of laminin. **J. Cell Biochem.**, 27; 317-325.
- Kleinman, H.K., Graf, J., Iwamoto, Y., Kitten, G.T., Ogle, R.C., Sasaki, M., Yamada, Y., Martin, G.R. and Luckenbill-Edds, L. 1987. Role of basement membranes in cell differentiation. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 513; 134-145.
- Kleinman, H.K., Seshel, G.C., Tashiro, K.I., Weeks, B.S., Burrous, B.A., Adler, S.H., Yamada, Y. and Martin, G.R. 1990. Laminin in neuronal development. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 580; 302-310.

- Knott, G.W., Dziegielewska, K.M., Habgood, M.D., Li, Z.S. and Saunders, N.R. 1997. Albumin transfer across the choroid plexus of South American opossum (*Monodelphis domestica*). **J. Physiol.**, 499; 179-194.
- Knudsen, P.A. 1964. Mode of growth of the choroid plexus in Mouse embryos. **Acta Anat.**, 57; 172-182.
- Komazaki, S. 1988. Factors related to the initiation of cell migration along the inner surface of the blastocoelic wall during gastrulation. **Cell Differ.**, 24; 25-32.
- Kornblihtt, A.R., Pesce, C.G., Alonso, C.R., Cramer, P., Srebrow, A., Werbajh, S. and Muro, A.F. 1996. The fibronectin gene as a model for splicing and transcription studies. **Faseb J.**, 10; 248-257.
- Kramer, J.M., Johnson, J.J., Edgar, R.S., Basch, C. and Roberts, S. 1988. The *sqt-1* gene of *C. elegans* encodes a collagen critical for organismal morphogenesis. **Cell**, 55(4); 555-565.
- Lariviere, S. and Ferguson, S.H. 2003. Evolution of induced ovulation in North American carnivores. **J. Mamm.**, 84; 937-947.
- Laufer, E., Pizette, S., Zou, H., Orozco, O.E. and Niswander, L. 1997. BMP expression in duck interdigital webbing: a reanalysis. **Science**, 278; 305.
- Laurie, G.W., Horikoshi, S., Killen, P.O., Segui-Real, B. and Yamada, Y. 1989. In situ hybridization reveals temporal and spatial changes in cellular expression of mRNA for a laminin receptor, laminin, and basement membrane (type IV) collagen in the developing kidney. **J. Cell Biol.**, 109; 1351-1362.
- Le Douarin, N.M., Ziller, C. and Couly, G.F. 1993. Patterning of neural crest derivatives in the avian embryo: in vivo and in vitro studies. **Developmental Biology**, 159; 24-49.
- Leivo, I. and Engvall, E. 1988. Merosin, a protein specific for basement membranes of Schwann cells, striated muscle, and trophoblast, is expressed late in nerve and muscle development. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 85; 1544-1548.
- Leivo, I., Vaeheri, A., Timpl, R. and Wartiovaara, J. 1980. Appearance and distribution of collagens and laminin in the early mouse embryo. **Dev. Biol.**, 76; 100-114.
- Levine, S., Pictet, R. and Rutter, W. 1973. Control of cell proliferation and cytodifferentiation by a substance reactive with the cell surface. **Nat. New Biol.**, 246; 49-52.

- Marquette, D., Molnar, J., Yamada, K., Schlesinger, D., Darby, S. and Van Alten, V. 1981. Phagocytosis promoting activity of avian plasma and fibroblastic cell surface fibronectins. **Mol. Cell Biochem.**, 36; 147-155.
- Martinez-Hernandez, A. and Amenta, P.S. 1983. The basement membrane in pathology. **Lab. Invest.**, 48(6); 656-677.
- Martinez-Hernandez, A. and Amenta, P.S. 1995. The extracellular matrix in hepatic regeneration. **Faseb J.**, 9; 1401-1410.
- Mate, K.E., Robinson, E.S., Vandeberg, J.L. and Pedersen, R.A. 1994. Timetable of in vivo embryonic development in the grey short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). **Mol. Reprod. Dev.**, 39; 365-374.
- McCrary, E. 1938. The embryology of the opossum. **Am. Anat. Memoirs**, 16; 1-33.
- McEvoy, R.C., Hegre, O.D., Leonard, R.J. and Lazarow, A. 1973. Fetal rat pancreas: differentiation of the acinar cell component in vivo and in vitro. **Diabetes**, 22; 584-589.
- McNamara, K.J. 1997. Shapes of time: the evolution of growth and development. Johns Hopkins University Press, Baltimore
- Miosge, N., Günther, E., Becker-Rabbenstein, V. and Herken, R. 1993. Ultrastructural localization of laminin subunits during the onset of mesoderm formation in the mouse embryo. **Anat. Embryol.**, 187; 601-605.
- Møllgård, K. and Saunders, N.R. 1986. The development of the human blood-brain and blood-CSF barriers. **Neuropath Applied Neurobiol**, 12; 337-358.
- Møllgård, K., Lauritzen, B. and Saunders, N.R. 1979. Double replica technique applied to choroid plexus from early foetal sheep: completeness and complexity of tight junctions. **J. Neurocytol.**, 8; 139-149.
- Møllgård, K., Malinowska, D.H. and Saunders, N.R. 1976. Lack of correlation between tight junction morphology and permeability properties in developing choroid plexus. **Nature**, 264; 293-294.
- Monnet-Tschudi, F., Favrod, P., Burnand, M.B., Verdand, C. and Kucera, P. 1985. Fibronectin in the area opaca of the young chick embryo. **Cell Tissue Res.**, 241; 85-92.
- Morrison, P.R., Edsali, J.T. and Miller, S.G. 1948. Preparation and properties of serum and plasma proteins XVII. The separation of purified fibrinogen from fraction of human plasma. **J. Am. Chem. Soc.**, 70; 3103-3108.



- Mosher, D.F. 1989. Fibronectin. Academic Press, Inc., p. 474, San Diego.
- Mosher, D.F. 1990. Physiology of thrombospondin. **Annu. Rev. Med.**, 41; 85-97.
- Nakatsuji, N. and Johnson, K.E. 1983. Comparative study of extracellular fibrils on the ectodermal layer in gastrulae of five amphibian species. **J. Cell Sci.**, 59; 61-70.
- Netsky, M.G. and Shuangshoti, S. 1975. The choroid plexus in health and disease. University Press of Virginia, p. 351, Charlottesville.
- Neuweiler, G. 2000. The biology of bats. Oxford University Press, p. 310, New York.
- Nieuwkoop, P. and Faber, J. 1967. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Nowak, R.M. 1999. Walker's mammals of the world. 6th ed., The Johns Hopkins University Press, p. 287, Baltimore.
- O'Rahilly, R. and Muller, F. 1987. Developmental stages in human embryos. Carnegie Institution of Washington DC, p. 306, Washington.
- Ocalan, M., Goodman, S.L., Kuhl, U., Hauschka, S.D. and von der Mark, K. 1988. Laminin alters cell shape and stimulates motility and proliferation of murine skeletal myoblasts. **Dev. Biol.**, 125; 158-167.
- Ostrowsky, D., Cheney, C.M., Seitz, A.W. and Lash, J.W. 1983. Fibronectin distribution during somitogenesis in the chick embryo. **Cell Differentiation**, 13; 217-223.
- Paolella, G., Barone, M.V. and Baralle, F.E. 1993. Fibronectin. In: "Extracellular Matrix. Chemistry, Biology and Pathobiology with Emphasis on the Liver," Zern, M.A. and Reid, L.M. (eds). Marcel Dekker, pp. 3-24, New York.
- Parmigiani, C.N. and McAvoy, J.W. 1991. The rule of laminin and fibronectin in the development of the lens capsule. **Current Eye Research**, 10(6); 501-511.
- Paulsson, M. 1992. Basement membrane proteins: Structure, assembly, and cellular interaction. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.**, 27; 93-127.
- Pelouch, V., Dixon, I.M.C., Golfman, L., Beamish, R.E. and Dhalla, N.S. 1993. Role of extracellular matrix proteins in heart function. **Mol. Cell Biochem.**, 129; 101-120.

- Petersen, T.E., Thogersen, H.C., Skorstengaard, K., Vibe-Pedersen, K., Sahl, P., Sottrup-Jensen, L. and Magnusson, S. 1983. Partial primary structure of bovine plasma fibronectin: Three types of internal homology. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 80; 137-141.
- Pictet, R.L. and Rutter, W.J. 1972. Development of the embryonic pancreas. In Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology. Steiner DF, Freinkel N, Eds., American Physiological Society, pp. 67-76, Washington, DC.
- Pierschbacher, M.D., Hayman, E.G. and Ruoslahti, E. 1981. Location of the cell attachment site in fibronectin with monoclonal antibodies and proteolytic fragments of the molecule. **Cell**, 26; 259-267.
- Prockop, D.J. 1998. What holds us together? Why do some of us fall apart? What can we do about it? **Matrix. Biol.**, 16;519-28.
- Racey, P.A. 1979. The prolonged storage and survival of spermatozoa in Chiroptera. **J. Reprod. Fertil.**, 56; 391-402.
- Racey, P.A. 1982. Ecology of bat reproduction. In: Kunz (ed.), Ecology of bats, Plenum Press, pp. 57-104, NewYork.
- Raddatz, E., Monnet-Tschudi, F., Verdan, C. and Kuchera, P. 1991. Fibronectin distribution in the chick embryo during formation of the blastula. **Anat. Embryol.**, 183; 57-65.
- Raff, R.A. 1996. The shape of life: genes, development and the evolution of animal form. University of Chicago Press, Chicago.
- Rasweiler, J.J. 1993. Pregnancy in Chiroptera. **J. Exp. Zool.**, 266; 495-513.
- Richoux, V., Darribere, T., Boucaut, J.C., Flechon, J.E. and Thiery. J.P. 1989. Distribution of fibronectin and laminin in the early pig embryo. **Anat. Rec.**, 223; 72-81.
- Rohrbach, D. and Timpl, R. 1993. Molecular and Cellular Aspects of Basement Membranes. Academic Press, Orlando.
- Roskelley, C.D., Srebrow, A. and Bissell, M.J. 1995. A hierarchy of ECM-mediated signaling regulates tissue-specific gene expression. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 7; 736-747.
- Ruoslahti, E. 1988. Fibronectin and its receptors. **Annual Review of Biochemistry**, 57; 375-413.

- Ruoslahti, E. and Pierschbacher, M.D. 1987. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. **Science**, 238; 491-497.
- Sakakura, T., Sakagami, Y. and Nishizuka, Y. 1979. Persistence of responsiveness of adult mouse mammary gland to induction by embryonic mesenchyme. **Dev. Biol.**, 72; 201-210.
- Salas-Vidal, E., Valencia, C. and Covarrubias, L. 2001. Differential tissue growth and patterns of cell death in mouse limb autopod morphogenesis. **Dev. Dyn.**, 220; 295-306.
- Santos, A., Onofre, G., Oliveria, D., Machado, E., Allodi, S. and Silva, L. 2005. Heparan sulphate is the main sulfated glycosaminoglycan species in internal organs of the male cockroach, *Periplaneta americana*. **Micron**, 846; 1-6.
- Saunders, N.R. 1992. Ontogenetic development of brain barrier mechanisms. In: Bradbury MWB, editor. Physiology and pharmacology of the blood brain-barrier, vol. 103. Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag, pp. 327-369, Berlin.
- Schuger, L., O'Shea, K.S., Nelson, B.B. and Varani, J. 1990. Organotypic arrangement of mouse embryonic lung cells on a basement membrane extract: Involvement of laminin. **Development**, 110; 1091-1099.
- Schuger, L., Varani, J., Killin, P.P., Shubitz, A.P.N. and Gilbride, K. 1992. Laminin expression in the mouse lung increases with development and stimulates spontaneous organotypic rearrangement of mixed lung cells. **Dev. Dyn.**, 195; 43-54.
- Schumacher, S. 1932. Die Entwicklung der Fledermaus.ughaut. **Z. Anat. Entwicklungsgeschich**, 98; 703-721.
- Schwartz, M.A. and Ginsberg, M.H. 2002. Networks and crosstalk: integrin signalling spreads. **Nat. Cell Biol.**, 4(4); 65-68.
- Selleck, M.A.J., Scherson, T.Y. and Bronner-Fraser, M. 1993. Origins of neural crest cell diversity. **Developmental Biology**, 159; 1-11.
- Selwood, L. and Hickford, D. 1999. Early cell lineages in marsupial embryos. In: Moody SA, editor. Cell lineage and fate determination. Academic Press, pp. 505-519, San Diego.
- Shuangshoti, S. and Netsky, M.G. 1966. Histogenesis of the choroid plexus in man. **Am. J. Anat.**, 118; 283-316.

- Simmons, N.B. 2001. Reassessing bat diversity: how many species are there in the world? **Bat Res. News**, 42; 179-180.
- Simo, P., Simon-Assmann, P., Bouzigesl, F., Leberquier, C., Kedinger, M., Ekblom, P. and Sorokin, L. 1991. Changes in the expression of laminin during intestinal development. **Development**, 112; 477-487.
- Simon-Assmann, P., Kedinger, M. and Haffen, K. 1986. Immunocytochemical localization of extracellular-matrix proteins in relation to rat intestinal morphogenesis. **Differentiation**, 32; 59-66.
- Smyth, N., Vatansever, H.S., Murray, P.A., Frie, C., Paulsson, M. and Edgar, D. 1999. Absence of basement membranes after targeting the LamC1 gene results in embryonic lethality due to failure of endoderm differentiation. **J. Cell Biol.**, 144; 151-160.
- Spillmann, F.R. 1925. Beiträge zur Kenntnis des Fluges der Fledermause und der ontogenetischen Entwicklung ihrer Flugapparate. **Acta Zool.**, 4; 217-222.
- Stenman, S. and Vaheri, A. 1978. Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. **J. Exp.Med.**, 22; 1054-1064.
- Streeter, G.L. 1942. Developmental horizons in human embryos. **Contr. Embryol. Carneg. Instn.**, 30; 213-230.
- Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D. and Singer, F. 1981. Production of clones of homozygous diploid zebrafish (*Brachydanio rerio*). **Nature**, 291; 293-296.
- Strong, L.H. 1956. Early development of the ependyma and vascular pattern of the fourth ventricular choroid plexus in the rabbit. **Am. J. Anat.**, 99; 249-290.
- Strong, L.H. 1964a. The early embryonic pattern of internal vascularisation of the mammalian cerebral cortex. **J. Comp. Neurol.**, 123; 121-138.
- Strong, L.H. 1964b. The vascular and ependymal development of the early stages of the Tela Choroidea of the lateral ventricle of the mammal. **J. Morph.**, 114; 59-82.
- Sturrock, R.R. 1979. A morphological study of the development of the mouse choroid plexus. **J. Anat.**, 129; 777-793.
- Suzuki, S. 1991. Glycosaminoglycan chains of proteoglycans: approaches to the study of their structure and function. **Pure and Appl. Chem.**, 63; 543-554.

- Takeichi, M. 1988. The Cadherins: Cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. **Development**, 102; 639-655.
- Tauch, M.L., Vignon, X. and Bouchaud, C. 1984. Evidence for the effectiveness of the blood-CSF barrier in the fetal rat choroid plexus, a freeze fracture and peroxidase diffusion study. **Tissue Cell Res.**, 16; 65-74.
- Terranova, V.P., Williams, J.E., Liotta, L.A. and Martin, G.R. 1984. Modulation of the metastatic activity of melanoma cells by laminin and fibronectin. **Science**, 226; 982-985.
- Theiler, K. 1989. The house mouse: an atlas of embryonic development. 2nd ed. Springer-Verlag, p. 178, New York.
- Timpl, R. 1989. Structure and biological activity of basement membrane proteins. **European Journal of Biochemistry**, 180(3); 487-502.
- Timpl, R. and Aumailley, M. 1993. Other basement membrane proteins and their calcium-binding potential. In *Molecular and Cellular Aspects of Basement Membranes* (ed. D.H. Rohrbach and R. Timpl), CA: Academic Press, pp. 211-235, San Diego.
- Timpl, R. and Brown, J.C. 1994. The laminins. **Matrix Biol.**, 14; 275-281.
- Timpl, R. and Brown, J.C. 1996. Supramolecular assembly of basement membranes. **BioEssays**, 182; 123-132.
- Timpl, R. and Dziadek, M. 1986. Structure, development, and molecular pathology of basement membranes. **Int. Rev. Exp. Pathol.**, 29; 1-112.
- Timpl, R., Rodhe, H., Robey, P.G., Rennard, S.I., Foidart, J.M. and Martin, G.R. 1979. Laminin- A glycoprotein from basement membranes. **J. Biol. Chem.**, 254; 9933-9937.
- Tkachenko, E., Rhodes, J.M. and Simons, M. 2005. Syndecans: new kids on the signaling block. **Circ. Res.**, 96(5); 488-500.
- Tokita, M. 2006. Normal embryonic development of the Japanese pipistrelle, *Pipistrellus abramus*. **Zoology**, 109(2); 137-47.
- Tryggvason, K. 1993. The laminin family. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 5(5); 877-882.
- Vakaet, L. 1970. Cinphotomicrographic investigations of gastrulation in the chick blastoderm. **Arch. Biol.**, (Liege) 81; 387-426.

- Vakaet, L. and Bortier, H. 1995. Mapping of gastrulation movements in birds. In: Zagris, N., Duprat, A.M., Durston, A. (Eds.). *Organization of the Early Vertebrate Embryo*, vol. 279. Plenum Press, pp. 123-129, New York.
- Voetmann, E. 1949. On the structure and surface area of the human choroid plexuses: a quantitative anatomical study. **Acta Anat.**, 8(Suppl 10); 1-116.
- Von der Mark, K. and Goodman, S. 1993. In connective tissue and its heritable disorders. *Molecular, genetic and medical aspects* (ed P.M. Royce and B. Steinmann), Wiley-Liss, pp. 211-236, New York.
- Wayner, E., Carter, W., Piotrowicz, R. and Kunicki, T. 1988. The function of multiple extracellular matrix receptors in mediating cell adhesion to extracellular matrix: preparation of monoclonal antibodies to fibronectin receptor that specifically inhibit cell adhesion to fibronectin and react with platelet glycoproteins Ic-IIa. **J. Cell Biol.**, 107; 1881-1891.
- Weber, K.T., Sun, Y., Tyagi, S.C. and Cleutjens, J.P.M. 1994. Collagen network of myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms. **J. Mol. Cell Cardiol.**, 26; 279-292.
- Wessels, N. and Cohen, J. 1967. Early pancreas organogenesis: morphogenesis, tissue interactions, and mass effects. **Dev. Biol.**, 15; 237-270.
- Wewer, U.M., Engvall, E., Paulsson, M., Yamada, Y. and Albrechtsen, R. 1992. Laminin A, B1, B2, S, and M subunits in the postnatal rat liver development and after partial hepatectomy. **Lab. Invest.**, 66; 378-389.
- Wislocki, G.B. and Ladman, A.J. 1958. The fine structure of the mammalian choroid plexus. In: Wolstenholme GEW, O'Connor CM, editors. *Ciba Foundation Symposium on the Cerebrospinal Fluid*, pp. 3-31, Little Brown, Boston.
- Woods, A. 2001. Syndecans: transmembrane modulators of adhesion and matrix assembly. **J. Clin. Invest.**, 107(8); 935-941.
- Wu, T.C., Wan, Y.J., Chung, A.E. and Damjanov, I. 1983. Immunohistochemical localization of entactin and laminin in mouse embryos and fetuses. **Oev. Bioi.**, 10; 496-505.
- Yamada, K.M. and Clark, R.A.F. 1996. Provisional matrix. In the molecular and cellular biology of wound repair (ed. R. A. F. Clark), Plenum Press, pp. 51-93, New York.

- Yamada, K.M. 1991. Fibronectin and other cell interactive glycoproteins. In E. D. Hay, editor, *Cell Biology of the Extracellular Matrix*. Plenum Press, pp. 111-145, New York.
- Yanagishata, M. 1993. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. **Acta Pathol. Jap.**, 43; 283-293.
- Yilmazer, S. 1996. Uygulamalı Ültrastüktürel immünohistokimya kurs notları, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Yurchenco, P., Sung, U., Ward, M.D., Yamada, Y. and O'Rear, J.J. 1993. Recombinant laminin G domain mediates myoblast adhesion and heparin binding. **J. Biol. Chem.**, 268; 8356-8365.
- Yurchenco, P.D. and Schnittny, J.C. 1990. Molecular architecture of basement membranes. **Faseb J.**, 4; 1577-1590.
- Zagris, N. and Stavridis, V. 1995. The expression of the genes for laminin in the early embryo. *Organization of the early vertebrate embryo*, Ed. Zagris N., Plenum Press, pp. 169-183, New York.
- Zagris, N., Stavridis, V. and Chung, A.E. 1993. Appearance and distribution of entactin in the early mouse embryo. **Differentiation**, 54; 67-71.
- Zetter, B.R. and Brightman, S.E. 1990. Cell motility and the extracellular matrix. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, 2; 850- 856.
- Zou, H. and Niswander, L. 1996. Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. **Science**, 272; 738-741.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Emine Pınar PAKSUZ  
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın / 22.10.1978

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Trakya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat, Fakültesi, Biyoloji Bölümü  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### a) Yayınlar

##### -SCI

Turgut M, Koca Y, Kaplan S, Metin K, Üzüm N.T, Soylu E, Avcı A, Rağbetli M, **Beytaş E.P**, Olgun K. 2007. Effects of Ca<sup>2+</sup> channel blocker verapamil on tissue regeneration in a lizard tail autotomy model: a biochemical and histological study. *Amphibia-Reptilia*. 28:7-15.

##### -Diğer

Başımoğlu Koca Y., Koca S., Olgun K., **Beytaş P.**, Taşkın Üzüm N. 2006. Blood cell morphology, erythrocyte size and micronucleus counts of *Neurergus crocatus* (Cope, 1862) (Urodela: Salamandridae) in Turkey. *Russian Journal of Herpetology*. 13(2):83-88.

#### b) Bildiriler

##### -Uluslararası

Turgut M, Koca Y, Kaplan S, Metin K, Üzüm N.T, Soylu E, Avcı A, Rağbetli M, **Beytaş E.P**, Olgun K.. Effects of Ca<sup>2+</sup> channel blocker



verapamil on tissue regeneration in a lizard tail autotomy model: a biochemical and histological study. 4th Asian-Pacific International Congress of Anatomists (APICA), Poster, 7-10 September, 2005.

#### **-Ulusal**

1. **Beytaş, E.P.**, Türkozan, O. 2004. Bozdağlar (Ödemiş) ve civarındaki *Testudo graeca* Linnaeus 1758 türünün taksonomik incelenmesi. XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 91. 21-24 Haziran, Adana.
2. Üzüm, N., Avcı, A., **Beytaş, E.P.**, Olgun, K. 2004. Türkiye' de yaşayan *Triturus karelinii* (Strauch 1870) için yeni bir populasyon: Mersinbeleni (Aydın) populasyonu. XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 45. 21-24 Haziran, Adana.
3. Başımoğlu Koca, Y., **Paksuz, E. P.**, Acar, N., Özkan, B., Paksuz, S. 2006. *Myotis capaccinii*'nin (Chiroptera, Vespertilionidae) böbrek yapısının histolojik olarak değerlendirilmesi. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 314. 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.
4. Başımoğlu Koca, Y., **Paksuz, E. P.**, Acar, N., Paksuz, S., Özkan, B. 2006. *Rhinolophus mehelyi* (Chiroptera, Rhinolophidae) karaciğer dokusunun ışık mikroskop düzeyinde incelenmesi. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 316. 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.
5. Başımoğlu Koca, Y., Gürcü, B., **Paksuz, E. P.** Acar, N. 2006. *Laudakia stellio*'nun (LINNAEUS,1758) trake dokusunun histolojik yapısı ve kıkırdak dokusunda glikozaminoglikanların dağılımı. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 315-316. 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.
6. Başımoğlu Koca, Y., Gürcü, B., Acar, N., **Paksuz, E. P.** 2006. *Laudakia stellio*'da (LINNAEUS,1758) özofagusun histolojik yapısı ve goblet hücre

içeriğinin histokimyasal olarak belirlenmesi. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 314. 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.

**7.** Ayaz, A., Acar, N., **Paksuz, E.P.**, Başımoğlu Koca, Y. 2006. *Laudakia stellio* (Dikenli Keler) kalbinin histolojik olarak incelenmesi. 13. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi. 20-23 Eylül, İzmir.

**8.** Avcı, A., **Paksuz, E.P.**, Ilgaz, Ç., Üzüm, N., Arat, Ö., Olgun, K. 2008. Türkiye’de yayılış gösteren *Eirenis* ve *Rhynchocalamus* cinslerine ait bazı türlerin kan hücre morfolojisi ve eritrosit büyüklükleri. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 569. 23-27 Haziran, Trabzon.

**9.** Üzüm, N., **Paksuz, E.P.**, Avcı, A., Olgun, K. 2008. *Triturus vulgaris* (Küçük semender)’te embriyolojik ve larval gelişim üzerine histolojik bir çalışma. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı syf: 535-536. 23-27 Haziran, Trabzon.

**10.** **Paksuz, E.P.**, Paksuz, S., Özkan, B., Yılmaz, N. 2008. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) kalın barsak dokusunun histolojik yapısı ve goblet hücrelerinde glikozaminoglikan çeşitlerinin belirlenmesi. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı Syf: 566-567. 23-27 Haziran, Trabzon.

**11.** **Paksuz, E.P.**, Paksuz, S., Özkan, B. 2008. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) ve *Miniopterus schreibersii* (Kuhl, 1817)’ de seminifer epitel siklusu. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı Syf: 567. 23-27 Haziran, Trabzon.

**12.** Paksuz, S., **Paksuz, E.P.**, Özkan, B. 2008. Bazı yarasalar türlerinde beyaz kan hücresi sayımı. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı Syf: 567-568. 23-27 Haziran, Trabzon.

**c) Katıldığı Projeler**

1. Kertenkelelerde kalsiyum kanal antagonisti Verapamil'in kuyruk rejenerasyonu üzerine olan etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi (ADÜ. Araştırma Fonu Saymanlığı. Proje No; FEF-03011. 2003-2004).

2. *Myotis myotis*' in (Büyük Farekulaklı Yarasa) embriyo gelişim evreleri ve bu evrelerdeki bazı hücrelerarası madde bileşenlerinin dağılımının incelenmesi, ADÜ BAP, FBE-08037. 2008-

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi (2002-2009)

Trakya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi (2009-devam ediyor )

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : [epbeytas@adu.edu.tr](mailto:epbeytas@adu.edu.tr)

Tarih : 25. 05. 2009