



FATMA ÇELENK	DICLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.		DOKTORA TEZİ	DIYARBAKIR-2022
--------------	------------------------------------	--	--------------	-----------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNEK VE KOYUN DİLİNDE İNTERMEDİYER
FİLAMANLARDAN SİTOKERATİN, LAMİNİN, DESMİN VE
VİMENTİN'İN DİFERANSİYEL DAĞILIMI**

Veteriner Hekim Fatma ÇELENK
DOKTORA TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN

Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

DİYARBAKIR 2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Fatma ÇELENK ‘in hazırladığı “**İnek ve Koyun Dilinde İntermediyer Filamanlardan Sitokeratin, Laminin, Desmin ve Vimentin’in Diferansiyel Dağılımı**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel yönden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

26 /05 /2022

Danışman: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı:

Üye:

Üye:

Üye:

Üye:

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 31.08.2020 tarih ve 16/9 sayılı isim değişikliği sonrası da 15/06 /2021 tarih ve 12/6 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

..../..../2022

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarında etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

26/05/2022

Fatma ÇELENK

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam süresince emeklerini, yardımlarını esirgemeyen bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN'a, tavsiye ve önerileri ile her konuda bana katkı sağlayan çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Aydın KETANİ'ye, Sayın Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ'e ve Sayın Doç. Dr. M. Erdem AKBALIK'a, doktora eğitimi süresince birlikte çalışmaktan kıvanç duyduğum ve çalışmamın laboratuvar aşamalarında bana destek olan değerli arkadaşşımlarım Dr.Uğur TOPALOĞLU'na, Veteriner Hekim Nurşin AYDIN'a, eğitim hayatım boyunca çok büyük emeği olan değerli aileme, doktora süresince desteğini yanımda hissettiğim canım eşim Metin ÇELENK'e ve bu süreçte varlığı ile beni motive eden biricik oğlum Muhammed Agit ve kızım Delal Erva'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam'ın materyal kısmında dil dokularını temin etmemde yardımcı olan Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Serkan ERDOĞAN'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından VETERİNER.20.005 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Ön Sayfalar	Sayfa No
ONAY-----	I
BEYAN -----	II
TEŞEKKÜR -----	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ-----	IV
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ-----	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ-----	VIII
TABLolar LİSTESİ-----	XVI
1.ÖZET SAYFASI.....	1
1.1.Türkçe Özet.....	1
1.2. İngilizce Özet (Abstract).....	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	9
3.1. Dil.....	9
3.1.1. Dilin embriyolojisi.....	9
3.1.2. Dilin anatomik yapısı.....	11
3.1.3. Dilin histolojik yapısı.....	13
3.1.4. Dil papillaları (Papilla lingue)	14
3.1.4.1. Mekanik papillalar.....	14
3.1.4.2. Lezzet (Tat), ısı ve dokunum ile ilgili papillalar	15
3.1.4.3. Tat tomurcukları (Gemma gustativa-Kalikuli gustatorii).....	16
3.2.Ara (intermedier) Filamentler	17
3.2.1.Sitokeratinler.....	17
3.2.1.1. Sitokeratin 8 (CK 8)	20
3.2.1.2. Sitokeratin 18 (CK 18)	22
3.2.1.3. Sitokeratin 19 (CK 19)	23
3.2.2.Vimentin	25
3.2.3.Desmin	27
3.2.4.Laminin	30
4. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	33
4.1. Doku Numunelerinin Temini	33

4.1.2. Histolojik analiz ve boyama	33
4.1.3. İmmunohistokimyasal analiz	33
4.1.4. İmmunohistokimyasal boyanma sonuçlarının değerlendirilmesi	35
4.1.4.1. Yarı kantitatif değerlendirilme	35
5. BULGULAR	37
5.1. Dilin Yapısal Özellikleri (histokimyasal görünüm).....	37
5.2. İmmunohistokimyasal Ekspresyonlar	39
5.3. Sitokeratin 8 (Ck8).....	44
5.4. Sitokeratin 18 (CK 18).....	50
5.5. Sitokeratin 19 (CK19).....	54
5.6. Vimentin	57
6. TARTIŞMA	67
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
8. KAYNAKLAR	77
9. ÖZGEÇMİŞ.....	99
10. EKLER.....	101
Ek-1. Yayımlanan Makale Bilgisi.....	101
11. ORJİNALLİK RAPORU	102

KISALTMALAR ve SİMGELER

CK: Sitokeratin

IF: İntermediyer filament-ara filament

GFAP: Glial fibriler asidik protein

EHS: Engelbreth- Holm-Swarm Tümörü

GİS: Gastro-intestinal sistem

N: Nervus

GL: Glandula lingualis

HİP: High impact polystyrene

LMWCK: Low molecular weight cytokeratin (düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin)

HMWCK: Hight molecular weight cytokeratin (yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin)

KRT8: Keratin 8

MAP: Mitojen aktif protein

PKC: Protein kinaz C

Tpa: Doku tipi plazminojen aktivatörü

KRT 19: Keratin 19

KD: Kilo dalton

Aa: Amino asit

RT-PCR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

HIV: Human immunodeficiency virüs (insan bağışıklık yetmezliği virüsü)

EMT: Epitelial mezenkimal transition

BOS: Beyin omurilik sıvısı (Liquor cerebrospinalis)

LDL: Low density lipoprotein (düşük yoğunluklu lipoprotein)

m RNA: Messenger RNA

DES: Desmin

HT: Heart failure (kalp yetmezliği)

RNA: Ribonükleik asit

Myod: Myogenic differantion (myogenik farklılaşma)

MRF4: Myogenic regulatory factor 4 (myogenik düzenleyici faktör 4)

ES: Embriyonik kök hücre

PBS: Phosphate Buffer Saline

APES: 3-aminopropyl-triethoxysilane

DAP: Diaminobenzidine

SEK: Sitokeratin

SMA: Smooth muscle actin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil- 1: Keratinlerin sınıflandırılması.

Şekil- 2: Keratin filamentlerinin demetleşmesi.

Şekil-3A and B: (A) Tip I ve II nin moleküler yapısı, (B) Keratin üzerindeki sıcak nokta mutasyon bölgeleri.

Şekil- 4A and B: (A) Normal oral mukozada keratin dağılımındaki bölgesel varyasyon, (B) Normal diş etinde sitokeratin dağılım paternleri.

Şekil -5: Cytokeratin 8'in immunofloresan görüntüsü.

Şekil-6: CK8/18 filamentlerin aktifleşme süreci.

Şekil-7: İnsan, fare ve sıçan hücrelerinden ekprese edilen sitokeratin 19 proteinin diziliminin farklılıkları.

Şekil -8: CK 19 proteinin helezonik yapısı.

Şekil -9: Endotel hücresinde vimentin görünümü.

Şekil-10. Desmin proteininin şematik görüntüsü.

Şekil-11. Desmin ara filament proteininin (sarı) hücre içerisinde oluşturduğu ağ yapısının şematik görüntüsü.

Şekil- 12. Laminin reseptörlerinin matrikse özel bağlanma şekli.

Şekil-13. Laminin 6 moleküler izoformunun gösterimi.

Şekil 14A: İnek dilinin genel görünümü, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Müköz bez, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar:100 µm.

Şekil 14B: Koyun dilinin genel görünümü, E: Epitel, Ok: Papilla fungiformis, *: Papilla filiformis, LP: Lamina propriya, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar: 100 µm.

Şekil 14C: Koyun dilinin genel görünümü, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Müköz bez, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar: 100 µm.

Şekil 14D: Koyun dilinde genel görünüm, *: Seröz Von- Ebner bezleri, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar: 50 µm.

Şekil 14E: İnek dilinde kaslar arasına yerleşmiş perifer sinir kesitleri, Ok: Perifer sinir, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar: 50 µm.

Şekil 15A: CK 8 için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Hematoksilen, Bar: 50 µm.

Şekil 15B: CK 8 için koyun dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, *: Papilla filiformis, Gill Hematoksilen, Bar: 50 µm.

Şekil 15C: CK 18 için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 50 µm.

Şekil 15D: CK 18 için koyun dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 50 µm.

Şekil 15E: CK 19 için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15F: CK 19 için koyun dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15G: Vimentin için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15H: Vimentin için koyun dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15I: Laminin için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15İ: Laminin için koyun dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propria, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 15J: Desmin için inek dilinde immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, Ok Başı: Lamina muskularis, Gill Haematoksilen, Bar: 100 µm.

Şekil 16A: CK 8 pozitif kontrol için normal rat meme dokusu, Bar: 50 µm.

Şekil 16B: CK 8 pozitif kontrol için insan meme karsinomu, Bar: 50 µm.

Şekil 16C: CK18 pozitif kontrol için inek abomasum, Bar: 25 µm.

Şekil 16D: CK18 pozitif kontrol için insan prostat kanser dokusu, Bar: 25 µm.

Şekil 16E: CK 19 pozitif kontrol için insan meme karsinomu, Bar: 50 µm.

Şekil 16F: CK 19 pozitif kontrol için insan meme karsinomu, Bar: 50 µm.

Şekil 16G: Vimentin pozitif kontrol için inek abomasum, Bar: 25 µm.

Şekil 16H: Vimentin pozitif kontrol için boğa testis dokusu, Bar: 25 µm.

Şekil 16I: Laminin pozitif kontrol inek abomasum, Bar: 25 µm

Şekil 17A: İnek dilinde apeks bölgesinde CK 8 ile negatif ve pozitif reaksiyon veren alanlar, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Tat tomurcuğu, *: Seröz bez, Ok Başı: Kanallar, Bar: 100 µm.

Şekil 17B: Koyun dilinde apeks bölgesinde CK 8'in negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, [: Papilla filiformis, Ok: Papilla fungiformis, *: Lamina muskularis, Bar: 100 µm.

Şekil 17C: İnek dilinde apeks bölgesinde CK 8 ile negatif reaksiyon veren tat tomurcukları, Ok: Tat tomurcuğu, Bar: 25 µm.

Şekil 17D: Koyun dilinde CK8 ile negatif sonuç veren damar dokusu, Bar: 25 µm.

Şekil 17E: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 8 lokalizasyonu, *: Serö-müköz bez, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17F: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 8 lokalizasyonu, *: Serö-müköz bez, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17H: Koyun dilinde torus bölgesinde seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Seröz von ebner bezleri, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17I: İnek dilinde torus bölgesinde Seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Seröz von ebner bezleri, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17İ: İnek dilinde torus bölgesinde seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Ebner bezleri, Ok Baş: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 17J: İnek dilinde radiks bölgesinde müköz bezlerde negatif CK 8 görünümü, Bar: 25 µm.

Şekil 17K: Koyun dilinde radiks bölgesinde seröz Von Ebner bezlerde negatif CK 8 görünümü, Bar: 25 µm.

Şekil 17L: İnek dilinde akıtıcı kanalda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17M: Koyun dilinde akıtıcı kanallarda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17N: Koyun dilinde akıtıcı kanalda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Akıtıcı kanal, *: Seröz Ebner bezi, Bar: 50 µm.

Şekil 17O: İnek dilinde akıtıcı kanalda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Akıtıcı kanal, *: Seröz Ebner bezi, Bar: 50 µm.

Şekil 17Ö: İnek dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

Şekil 17P: Koyun dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

Şekil 18A: İnek dilinde CK 18 lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18B: İnek dilinde CK 18 lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Seröz bez, Ok: Lamina muskularis, Bar: 100 µm.

Şekil 18C: Koyun dilinde CK 18 lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Seröz bez, Ok: Lamina muskularis, Bar: 100 µm.

Şekil 18D: İnek dilinde damarlarda ve kaslarda CK 18 negatif lokalizasyon, Ok: Damar, Ok Baş: Lamina muskularis, Bar: 50 µm.

Şekil 18E: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 18 lokalizasyonu, Ok Baş: Seröz kısım, Ok: Müköz kısım, *: Kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 18F: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 18 lokalizasyonu, Ok Baş: Seröz kısım, Ok: Müköz kısım, Bar: 50 µm.

Şekil 18G: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde CK 18 immunolokalizasyon, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18H: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde CK 18 immunolokalizasyon, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18I: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 100 µm.

Şekil 18İ: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18J: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18K: İnek dilinde akıtıcı kanallarda CK 18 lokalizasyonu, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 18L: Koyun dilinde akıtıcı kanallarda CK 18 lokalizasyonu, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 18M: İnek dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 18 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

Şekil 19A: İnek dilinde CK 19 negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Serö-müköz bez, Bar: 100 µm.

Şekil 19B: Koyun dilinde CK 19 negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Bar: 50 µm.

Şekil 19C: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 19D: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 19E: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 19 lokalizasyonu, Ok: müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 19F: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 19 lokalizasyonu, Bar: 25 µm.

Şekil 19G: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 19H: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 20A: İnek dilinde vimentin lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Bağdoku hücreleri, Ok Başı: Endotel, Bar: 25 µm.

Şekil 20B: Koyun dilinde vimentin lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Bağdoku hücreleri, Ok Başı: Endotel, Bar: 25 µm.

Şekil 20C: İnek dilinde müköz bezlerde vimentin negatif görünüm, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 20D: Koyun dilinde müköz bez ve kanallarda vimentin negatif görünüm, Ok: Müköz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 20E: Vimentin ile damar endotelinde ve bağdoku hücrelerinde pozitif, boşaltım kanalında negatif izlenim, Ok: Damar endoteli, Ok Başı: Bağdoku hücreleri, *: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 20F: Kaslarda vimentin negatif izlenim, Ok: Lamina muskularis, Ok Başı: Damar endoteli, *: Bağdoku hücreleri, Bar: 50 µm.

Şekil 20G: İnek dilinde bağdoku da vimentin lokalizasyonu, Ok: Yağ hücreleri, Ok Başı: Bağdoku hücreleri, Bar: 50 µm.

Şekil 20H: İnek dilinde lenf folikülünde vimentin lokalizasyonu, Ok: Lenf folikülü, Bar: 100 µm.

Şekil 20I: Koyun dilinde len folikülünde vimentin lokalizasyonu, Ok: Lenf folikülü, Bar: 25 µm.

Şekil 20İ: Serö-müköz bezlerde ve perifer sinirlerde vimentin lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Ok Baş: Perifer sinirde endonerium, *: Yağ hücresi, Bar: 50 µm.

Şekil 20J: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz ebner bezlerinde vimentin lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 20K: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz ebner bezlerinde vimentin lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Bar: 50 µm.

Şekil 21A: İnek dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, *: Bağdoku hücreleri, [: Damar, Bar: 25 µm.

Şekil 21B-1: Epitelde tad tomurcuklarında laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Tat tomurcukları, Ok baş: Lenf folikülü, *: Bağdoku hücreleri, Kıvrımlı Ok: Kollagen iplikler, Bar: 50 µm.

Şekil 21B-2: Epitelde tad tomurcuklarında laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Tat tomurcukları, Bar: 25 µm.

Şekil 21C: Koyun dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, Bar: 25 µm.

Şekil 21D: İnek dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, *: Bağdoku hücreleri, [: Damar, Bar: 25 µm.

Şekil 21E: Damar ve iskelet kaslarında laminin lokalizasyonu, Ok: Damar, Ok Baş: İskelet kasları, Bar: 50 µm.

Şekil 21F: İskelet kaslarında laminin immunreaktivitesi, Ok: İskelet kasları, Bar: 25 µm.

Şekil 21G: Perifer sinirlerde laminin immunreaktivitesi, Ok Baş: Perifer sinirler, Ok: İskelet kasları, Bar: 25 µm.

Şekil 21H: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-ebner bezlerinde laminin immunreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 50 µm.

Şekil 21I: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-ebner bezlerinde laminin immunreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 21İ: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz von-ebner bezlerinde laminin immunreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 21J: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde laminin immunreaktivitesi, Ok: Serö-müköz bez, Ok Başı: Kanallar, Bar: 50 µm.

Şekil 21K: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde laminin lokalizasyonu, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 21L: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde laminin lokalizasyonu, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 21M: Akıtıcı kanallarda laminin lokalizasyonu, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 21N: Serö-müköz bezlerde laminin immunreaktivitesi, Ok: Serö-müköz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, *: Damar, Bar: 25 µm.

Şekil 21O: Epitelde lamini'nin halka şeklindeki lokalizasyonu, Ok: Halka şeklindeki görünüm, Bar: 25 µm.

Şekil 22A: İnek dilinde desmin immunreaktivitesi, Ok: Lamina muskularis, Bar: 250 µm.

Şekil 22B: Koyun dilinde desmin immunreaktivitesi, Ok: Lamina muskularis, Bar: 250 µm.

Şekil 22C: Damarlarda desmin immunreaktivitesi, Ok: Damar düz kasları, Bar: 50 µm.

Şekil 22D: Damarlarda desmin immunreaktivitesi, Ok: Damar düz kasları, Bar: 50 µm.

Şekil 22E: İnek dilinde desmin lokalizasyonu, Ok: Lamina muskularis, Bar: 100 µm.

Şekil 22F: Koyun dilinde desmin lokalizasyonu, Ok: Lamina muskularis, Bar: 25 µm.

Şekil 22G: İnek dilinde müköz bezlerde desmin negatif izlenimi, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 22H: İnek dilinde serö-müköz bezlerde desmin negatif lokalizasyonu, Bar: 50 µm.

Şekil 22I: Koyun dilinde perifer sinirlerde desmin negatif lokalizasyonu, Bar: 50 µm.

Şekil 22İ: İnek dilinde çizgili kaslarda desmin immunreaktivitesi, Bar: 25 µm.



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Laminin biyolojik aktiviteleri

Tablo 2: Kullanılan antikorlara ait bilgiler

Tablo 3: İnek ve koyun dillerinde intermedier flamanların immunohistokimyasal ekspresyonlarına ait semikantitatif skörlama.



1.ÖZET

İnek ve Koyun Dilinde İntermediyer Filamanlardan Sitokeratin, Laminin, Desmin ve Vimentin'in Diferansiyel Dağılımı.

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Fatma ÇELENK

Danışmanı: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

Anabilim Dalı: Veteriner Histoloji ve Embriyoloji

1.1.Türkçe Özet

Amaç: İnek ve koyun dillerinde sitokeratin (CK) filamentlerinden olan 8, 18 ve 19 ile vimentin, laminin ve desmin ara filamentlerini immunohistokimyasal olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, materyal olarak özel mezbahalarda 24 aylık erkek-dişi koyun ve ineklerden alınan 10 adet dil kullanıldı. Doku örnekleri %10'luk formol-alkol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik aşamalardan geçirilerek parafinde bloklandı. Hazırlanan bloklardan, alınan seri kesitlere öncelikle dilin genel yapısını göstermek amacıyla Crossman'nın üçlü boyaması yapıldı, sonrasında ise belirlenen sitokeratin, vimentin, laminin ve desmin için immunohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı.

Bulgular: Değerlendirme sonucunda, immun boyanmanın sitokeratinler arasında büyük oranda benzer yoğunlukta olduğu fakat vimentin, laminin ve desmin de ise değişik yoğunlukta dağılımı tespit edildi. Reaksiyonun sitokeratinlerde özellikle seröz asini ile kanal epitellerinde, vimentin ve lamininde bağdoku ve endotel hücreleri ile seröz asinilerde, desmin de ise çizgili ve düz kas hücrelerinde lokalize olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları, inek ve koyun dillerinde CK8, 18, 19 ile vimentin ve desminin dil epitelinde lokalize olmadığını göstermiştir. Böylece çeşitli sitokeratinlerin belirli hücre tiplerinin karakteristiği olan spesifik polipeptit setlerinde ekspresse edildiği bulgusu, epitel hücrelerini spesifik sitokeratin paternlerine göre ayırt etmemize ve sınıflandırmamıza izin vermiştir. Beraberinde vimentinin mezodermal kökenli doku veya organlarda, desminin kas dokusunda bulunduğu

lamininlerin de bazal membran oluşumu, yapılanması ve stabilitesi ile sinir doku rejenerasyonu ile epiteliyal tat tomurcuklarının inervasyonu ve farklı dokuları (parenkimal ve interstisyel bağ dokularını) hem ayırmada hemde bağlamada önemli roller oynamış olduğunu da söyleyebiliriz. Ayrıca hücrel ve doku bağlamında intermediyer filamentlerin yapısını, işlevini ve dinamiklerini daha sistematik moleküler biyolojik tekniklerle tasarlayacak çalışmalarada bulgularımızın katkı sağlayabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: Ara filamentler, Çift tırnaklı, Desmin, Dil, İmmunohistokimya, Laminin sitokeratin 8, 18, 19, Vimentin.



Differential Distribution of Cytokeratin, Laminin, Desmin and Vimentin from Intermediate Filaments in Cow and Sheep Tongue.

Student's Surname and Name: ÇELENK Fatma

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

Department: Veterinary Histology and Embryology

1.2. Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the changes in the distribution of cytokeratin filaments CK8, 18 and 19 and vimentin, laminin and desmin intermediate filaments in cow and sheep tongues.

Material and Method: In the study, 10 tongues taken from 24-month-old male and female sheep and cows during daily slaughter in private slaughterhouses serving in were used. All tissue samples used were fixed in a %10 formol- alcohol solution, and then the tissues were passed through routine histological stages and blocked in paraffin. Serial sections were taken from the paraffin blocks and these sections were firstly stained with Crossman's Triple staining to show the general structure of the tongue, and then immunohistochemical staining method was applied to determine cytokeratin, vimentin, laminin and desmin.

Results: As a result of the observation, it was determined that there was a similar density and distribution of the cytokeratins, but different intensities and localization of vimentin, laminin and desmin. In particular, it was observed that the reaction was localized in serous acini and canal epithelium for cytokeratins, in connective tissue, endothelium, muscles and serous acini for vimentin and laminin and in the striated and smooth muscles for desmin.

Conclusion: In this study showed that ck8, 18, 19 and vimentin, desmin antibodies were not present in the epithelium of cow and sheep tongues. Thus, the finding that the diverse cytokeratins are expressed in specific sets of polypeptides that are characteristic of certain cell types allows us to distinguish and classify epithelial cells with respect to their specific cytokeratin pattern. Moreover, we may say that vimentin was located in tissues or organs of mesodermal origin, desmin was located in muscle

tissue, and laminin play important roles in the formation, structure and stability of the basement membrane, nerve tissue regeneration and innervation of epithelial taste buds, as well as separating and connecting different tissues (parenchymal and interstitial connective tissues). In addition, our findings may contribute to the studies that will design the structure, function and dynamics of the intermediate filaments in the context of cellular and tissue with more systematic molecular biological techniques.

Keywords: Cytokeratin 8, 18, 19, Desmin, Immunohistochemistry, Intermediate filaments, Laminin, Ruminant, Tongue, Vimentin.



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Beslenme mekanizmaları, omurgalı canlıların çevrelerine adaptasyon başarısının belirlenmesinde önemli bir faktördür (1). Türlerin beslenmesinde, ağız boşluğundaki diğer organlar ile birlikte dil hayati bir rol oynar. Tüm memeli türlerinde, besin kaynaklarındaki farklılıklar ve her bir türün özel habitatından dolayı dillerde yapısal farklılıklar meydana gelmiştir. Bundan dolayı da memelilerde dilin morfolojik ve histolojik özellikleri memelilerin yaşam tarzları arasındaki farklılıkların bir yansıması olarak kabul edilir (2).

Dil, besin maddelerinin mekanik olarak küçük parçalara ayrılması ve yapısında bulunan bezlerin yapmış olduğu tükürük salgısı ile de gıda maddelerini karıştırarak hem yutmayı kolaylaştırmakta hem de sindiriminin başlatılmasına yardımcı olmak gibi birtakım görevleri yerine getirmekle beraber aynı zamanda gustator sistemin bir parçası olarak üzerindeki duyu papillalarına yerleşen tat alma hücreleri ile de farklı tatları algılama özelliğine sahiptir. Tüm canlılar için hayati öneme sahip olan bahsi geçen bu olaylar zinciri de birçok moleküler proteinler (sitokeratinler, desmin v.b.) ile hormonlar aracılığıyla düzenlenmekte ve bu etmenler arasında da çok güçlü bağlar olduğu net olarak görülmektedir (3).

Omurgalılarda dil mukozası tat ve mekanik işlemleri yerine getirmek üzere farklılaşan papillar sistemlerden ve bunları örten çok katlı keratinize bir epitelden meydana gelir (4,5). Dil mukozası sert olup dorsal ve lateral kısımların altında bulunan kas tabakalarına kuvvetli bir şekilde yapışmasına rağmen ventralde daha az keratinize ve gevşektir (6). Oral epitel farklı stres şekillerine (mekanik gibi) ve yoğunluğuna maruz kaldığında, epitel hücreleri bu fonksiyonel ihtiyaçlara göre bölgesel farklılıklar göstermektedir. Bundan dolayı da dil mukozasında keratin adı verilen intrasitoplazmik filamentli diziler meydana gelmiştir (7). Hücre içinde bilgi ve madde akışının kontrolünü sağlayan hücre iskeleti dilin yapısında önemli bir role sahiptir. Hücre hareketi, bölünmesi, fagositoz, salgı, sinyal iletimi gibi birçok görev üstlenen hücre iskeletinin yapısında başlıca mikrofilyamanlar, mikrotübülüsler ve ara (intermediyer) filamentler (IF) olmak üzere 3 farklı protein tipi bulunur. IF 'ler, amino asit dizileri ve protein yapılarına göre beş ana tipe ayrılır. Tip I-IV sitoplazmik IF'leri vimentin, keratin, nörofilamentler tarafından oluşturulurken, tip V IF proteinleri olan laminler

çekirdek iskeletini oluştururlar (8). Epitel hücrelerde sitokeratin, mezenşimal hücrelerde vimentin, kas hücrelerinde desmin, sinir hücrelerinde nörofilamentler ve astrositlerde ise glial fibriler asidik protein filamentleri bulunur (9).

Ara (intermediate) filamentler, heterojen yapıda (40-200kDa) 8-10 nm kalınlığında olup en fazla sinir, kas ve epitel hücrelerinde bulunurlar. Hücre türüne göre değişik yapıda olarak hücrenin türünün belirlemede kullanılırlar. Ara filamentler; hücrenin şeklini verme ve kutuplaşma, organel lokalizasyonu, sitoplazma uzantılarının desteklenmesi, hücre ve dokulara mekanik destek sağlama ve hücrenin membranına organel bağlanması gibi pek çok işlevi yerine getirmekle görevlidir (8,10). Hücre iskeleti filamentleri arasında en önemlisi 20 tipin izole ve karakterize edildiği sitokeratin filamentleri ailesidir (11). Epitel hücrelerin iskeletini meydana getiren intermedier filamentler sitokeratinlerdir ve farklı alt tiplere ayrılırmaları molekül ağırlıklarına göre olur. Genelde, molekül ağırlığı yüksek sitokeratinlerin çok katlı epitelle, molekül ağırlığı düşük sitokeratinlerin ise glandüler ve basit epitelle ait olduğu bildirilmiştir (12). Sitokeratin 1-8 ve 9-17’inde dahil olduğu bir dizi sitokeratinin, tabakalı dokularda veya tabakalaşma potansiyeli olan dokularda lokalize olması, bu keratin tiplerinin bulunduğu dokulardaki tabakalaşma süreci ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Embriyogenez süresince çok katlı epitelin tek katlı epitelden köken aldığı ve bu morfolojik değişikliklere de sitokeratin ekspresyonunun eşlik ettiği açıkça gösterilmiştir (13).

Molekül ağırlığı en düşük olan sitokeratin basit epitelial hücrelerde bulunan Sitokeratin-19 (CK-19)’dur. Çok katlı ve kompleks epitellerde ise ancak bazal tabakada görülebilir (14). Sitokeratin 8/18 (CK8/18) ise normal epitelde, hücre kültürlerinde ve karsinomlarda en bol bulunan filamentlerden biridir. CK8/18 filamentleri hücrelere yapısal bütünlük sağladığı gibi hücre içi taşıma mekanizmalarını ve sinyalleşmeyi de etkilemektedir. CK-8 basit epitel hücrelerinin sitoplazmasında CK18 ile dimerler oluşturan yapısal bir proteindir. Diğer keratin molekülleri ile birlikte CK8, hücre şeklini belirleyen ve hücrelerin mekanik stres ile başa çıkmasını sağlayan koruyucu bir çerçeve şekillendirir. Ayrıca, sitokeratin molekülleri sitokin kaynaklı apoptotik hücre içi sinyallerin inhibisyonunun düzenlenmesinde de görev almaktadır. Bu sonuçlar, ara filamentlerin hücre yüzeyi ile çekirdek arasındaki taşıma süreçlerini düzenlediğini ve nükleer metabolizmayı etkilediğini göstermektedir (15).

Dört tip ara filamentten biri olan vimentin'in, mezenşimden köken alan birçok hücreye yapısal desteklik sağladığı bildirilmiştir. Diğer ara filament proteinleri gibi, vimentin proteinleri de iyi kontrol edilen bir polimerizasyon mekanizması aracılığıyla hassas bir filament ağı oluşturur ve genellikle çekirdeği çevreleyerek sitoplazma boyunca uzanır (16). Vimentin hücre büyümesi, hücre döngüsü ve tümör farklılaşması gibi önemli olaylarda yer alır. Özellikle, patolojik bozukluklarda vimentin ekspresyonunun önemli miktarlarda arttığı ortaya konulmuştur (17).

Bazal membranların glikoproteini olan laminin, ilk olarak murin EHS tümöründen izole edilmiştir. Laminin, çapraz şekilli bir yapı oluşturacak şekilde uzamsal olarak düzenlenmiş A (400 kD), B1 ve B2 (220 kD) olmak üzere üç polipeptit zincirinden oluşan bir yapıya sahiptir. Son zamanlarda, çeşitli dokularda farklı zincir bileşimine sahip çeşitli laminin izoformları tanımlanmıştır (18). Laminin izoformları, tekli zincirlerin yapısal değişimlerinden meydana gelir. Şu ana kadar, farklı dokularda en az 16 farklı laminin izoformunun dağılımları ve fonksiyonları ortaya konulmuştur. Lamininler, bazal membran oluşumuna katılma, hücre farklılaşması, çoğalması ve göçü gibi birçok hücreyel olayın düzenlenmesinde stabilize edici veya ayırıcı fonksiyonları yerine getirmekle görevlidirler (19, 20).

Çizgili kas ve tendonlar arasındaki bağlantıda kritik bir rol oynayan desmin, vimentin ile birlikte mezenkimal hücrelerin stabilitesini sağlamaktadır (21). Desmin de vimentin gibi, yapısal destek, hücre göçü, hücreyel farklılaşma ve kasılma ile ilgili olan hücreyel olayların düzenlenmesini sağlayan bir proteindir. Desmin özellikle kas hücreleri tarafından eksprese edilir (22). Yapılan çalışmalarda desmin'nin miyoblastlardan, miyotüplerden ve miyofibrillerden eksprese olduğu ve böylelikle de miyojenik farklılaşmanın ilk aşamaları için spesifik bir belirteç olarak görev yaptığı gösterilmiştir (23).

Hücre iskeletinin yapısına katkı sağlayan intermedier moleküller ile ilgili bilgi birikimimiz son yıllarda artmış olsa da henüz bu konuda aydınlatılmayan birçok soru vardır. Farklı çalışmalarla bu moleküllerinin ekspresyon ile fonksiyonları, dil gelişimindeki rolleri, sinyal iletimdeki rolleri ve bunun hücre diferansiyasyona etkisinin araştırılarak tespit edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle bu tez çalışması inek ve koyunlarda intermedier filamentlerden olan sitokeratin 8, 18 ve 19 ile vimentin,

desmin ve laminin gibi hücre iskeleti komponentlerinin inek ve koyun dillerinde lokalize olup olmadıklarını ve lokalize oldukları dokulardaki rollerinin ne olduğunu ortaya koymayı sağlamak amacıyla planlanmıştır.

Önceki çalışmalarda, evcil ve yabani birçok memeli türünde dilin morfolojik ve histolojik yapısı ışık ve elektron mikroskopik olarak detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur (24). Bununla birlikte, dilde sitokeratin, vimentin, desmin, lamininin ekspresyonu ile hücresel lokalizasyonlarını ve dağılımını gösteren çalışmaların daha çok insan ve laboratuvar hayvanları üzerine yoğunlaştığı da belirlenmiştir. Özellikle de inek ve koyun dillerinde bu intermedier filamentlerin lokalizasyonu ve hücresel dağılımlarını gösteren kapsamlı çalışmaların bulunmaması da bu tez çalışmasının yapılmasında etkili olmuştur. Bu çalışma, sitokeratin ailesinden CK8, 18, 19 ile vimentin, desmin ve laminin gibi ara filamentlerin inek ve koyun dillerinin luminal-bez epitel hücreleri, bağdoku, kas, sinir hücreleri ve damarlardaki varlığını immunohistokimyasal teknikler kullanılarak göstermek amacıyla tasarlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Dil

Dil, geniş getirenlerin ve diğer hayvanların beslenmeye yardımcı olarak kullandığı ana araçtır. Dilin morfolojisi çeşitli türlerde tanımlanmış olup papillaların mekanik ve tat olarak ayırımı ile tat tomurcuklarının yapısı ve sayısı belirlenmiştir. (25). Dilin yapısı ruminant canlılarda kutan mukoza özelliği gösterir. İskelet kasları asıl yapısını oluşturur ve transversal, longitudinal, vertikal yönlerde uzanan bu kaslar çok yönlü dil hareketine imkan verir. Epitel altında uzanan lamina propriya dar bir alana sahiptir. Submukoza tabakasında seröz, müköz ve serö-müköz karakterde bezler bulunur. Lamina propriya ve submukoza içerisinde bol miktarda sinir lifleri, yağ doku, lenf folikülleri ve kan damarları yer almaktadır (26)

3.1.1. Dilin embriyolojisi

Evcil hayvanlarda dil, gebelikte embriyonik gelişiminin 23. gününde oluşmaya başlar. 28. günde, farinks taslağının tabanından gelişir (27). Birinciden dördüncü faringeal arka kadar faringeal arklar dilin farklı kısımlarının gelişmesine katkı sağlar. Mezodermin proliferasyonuna bağlı olarak, birinci yutak arkı seviyesinde, iki lateral ve bir de medial dil şişkinliği olan tuberculum impar olmak üzere üç yükselti meydana gelir. İkinci yutak arkı bölgesinde kopula (copula) olarak adlandırılan bir yükselti şekillenirken, üç ve dördüncü yutak arkları bölgesinde medial bir konumda hipofaringeal tümsek (eminencia) olarak isimlendirilen ek bir şişkinlik şekillenir. İnsan ve karnivorlarda, medial dil şişkinliği dil gelişimine çok az katkı yapar. Bununla birlikte, çift tırnaklı türlerde medial dil şişkinliğinin, dil gövdesinin öne doğru dorsal kabartısının oluşumuna önemli katkı yaptığı kabul edilmektedir. Lateral dil şişkinliklerinin kaynaşma hattı, insan ve karnivorların dil yüzeyinde bir medial oluk halinde görülebilir. Dilin gelişimi, tuberculum impar denen birinci faringeal arkta medial bir şişliğin büyümesiyle başlar. Tükürük bezlerinin gelişimi esnasında 5. haftada ağız boşluğu arka kısmındaki taban epiteline doğru iki lateral lingual şişlik büyümeye başlar. Yanal şişliklerin boyutu arttıkça, sonunda birleşirler ve tuberculum impar ile üst üste gelirler. Lateraldeki iki dil şişkinliğinin birleşmesi, orta hatta doğru uzanır ve medial şişkinlikle kaynaşarak, dilin 2/3'ünü yani corpus linguayı oluşturur, dilin corpus ve apex kısımlarının ön üçte ikisinin oluşumuna yol açar. İçten tafartan

mezodermle desteklenen bu ektodermal kabartılar daha sonra birbirleri ile kaynaşıp dilin uç ve gövde kısımlarını oluştururlar. Dilin bu bölgesini kaplayan mukozanın kökeni birinci faringeal arkta olduğu için; duyu innervasyonunu V. kranial sinirin (N. trigeminus) mandibular dalından alır. İkinci, üçüncü ve dördüncü faringeal arkların mezoderminden, hipobranşiyal üstünlük olarak bilinen başka bir ortanca şişlik gelişmeye ve dilin arka üçte birini meydana getirmeye başlar. Dilin kök bölümü ise, birinci yutak kavsinden üçüncü bir kabartı halinde gelişir. Dilin bu bölgesini kaplayan mukoza, duyu innervasyonunu IX kranial sinirden (N. glossopharygeus) almaktadır (27–30). Lateral dil şişkinliklerinin kaynaşma hattı, insan ve karnivorların dil yüzeyinde bir medial oluk halinde görülebilir. Dilin kaudal 1/3' ü, daha sonra atrofiye olan kopula üzerindeki hipofaringeal şişkinliğin tedrici olarak proliferasyonu ile şekillenir. Dilin rostral 2/3'lük kısmının epitel ektoderm kökenli iken, kaudal 1/3' lük kısmının epitel endoderm kökenlidir (27).

Gebeliğin 8. haftasında lingual epitelde tat tomurcuğu gelişiminin ilk göstergesi ortaya çıkar. Gebeliğin 9. ve 11. haftaları arasında pek çok tat tomurcuğu primordial gelişir. Embriyonik dönemin sonuna doğru, dilin üst yüzünde dil papillaları gelişir. Dilin dorsal yüzeyi, sirkumvallate papilla, fungiform papilla, filiform papilla ve foliat papilla gibi çok sayıda papilla içeren tabakalı bir skuamöz epitel ile kaplıdır. Papilla filiformisler alttaki mezoderm uyarması ile çoğalan silindirik biçimindeki evaginasyonlardan gelişir. Bu papillalar, mekanik basıncı algılayan sinir uçlarına sahiptir. Papilla vallata ya da daha yaygın adlandırılmayla papilla sirkum (circum) vallata, dilin korpus ve radiks bölümleri arasındaki sınırdaki bulunan epitel hücrelerinin farklı hızda çoğalmalarıyla şekillenirler. Bunların tipik morfolojileri, çember biçimi tabanlarını çevreleyen derin bir oluğun bulunmasıdır. Dil kökünün lateral yüzlerindeki epitel kıvrımları papilla foliataları şekillendirir. Ruminantlarda papilla foliatalar şekillenmez. Tat tomurcuğu gelişimi papillanın epitel hücreleri ve VII, IX ve X. kranial sinirlerin gustatorik nöronları arasındaki etkileşimle başlatılır. Tat tomurcuğu papilla sirkumvallata ve foliatalarda bulunur (27–29).

Dilin iç kısmındaki bağdokusu ve çizgili kaslar mezenşimden oluşur. Dil kasları, oksipital miyotomlardan göç eden miyoblastlardan gelişir. Palatoglossus kası dışında innervasyonlarını XII kranial sinirden (hipoglossal sinir) alırlar. Dilin kasları, dış ve iç kasları içerir. XII. kranial sinir tarafından innerve edilen oksipital somitlerden göç

eden miyoblastlar ekstrinsik dil kaslarını şekillendirir. Bunun sonucu olarak, dilin ekstrinsik kasları XII. kranial sinirle innerve edilir. Dilin çok yönlü hareket etmesine olanak sağlayan ekstrinsik kaslar dört adet olup (N. styloglossus, N. genioglossus, N. hyoglossus, N. palatoglossus) dile bitişik yapılardan kaynaklanır. Diğer yandan, inferior longitudinal, superior longitudinal, enine ve dikey kaslarını içeren dört çift intrinsik kasın kökeni ve dilin içine sokulması da bulunur. Dilin bağ dokusu ve damarları faringeal mezenşimden gelişir. Dilin rostral 2/3' lük kısmının epiteli arkus mandibularisi kapladığından, bunun somatik sensorik innervasyonu V. kranial sinirin ramus mandibularisi aracılığı ile gerçekleşir. Dilin üçüncü kaudal kısmının epiteli, üçüncü yutak arkından köken alır ve sensorik somatik innervasyonunu da IX. kranial sinirle sağlar. Dilin rostral 2/3' lük bölümü, visseral tat duyusunu VII. kranial sinirin ramus korda tympanisinden, kaudal üçüncü dil bölümü de tat duyusu innervasyonunu IX. kranial sinirden alır. Başlangıçta dil kökü dil gövdesinden daha hızlı büyür. Ağız boşluğu genişledikçe, dilin gövdesi de büyür ve rostrale doğru uzayarak ağız boşluğunu doldurur (28–30).

3.1.2. Dilin anatomik yapısı

Dilin anatomik yapısına bakıldığında, canlılar da başlıca üç kritik işlevde önemli bir rol oynamak üzere tertiplenmiş olduğu görülür. Bunlar: Konuşma, yutma, tat ve nefes almadır. Konuşmayla sesleri oluşturur, yiyecekleri iter, havayolu açıklığını korur. Dil, gastrointestinal sistem ve solunum sistemi girişindeki yerleşimi nedeniyle bu işlevleri yerine getirmek için ideal bir konumdadır. Dil, kemik, eklem veya hava dolu odacıkları olmayan, ancak yine de ağız boşluğu içinde hareket etmesi gereken deforme olabilen bir yapı olduğu için vücutta neredeyse benzersizdir (31,32). Dil mandibula'nın ramus'ları arasında ve ağız boşluğu tabanında yerleşmiş olup tat alma ile yutmada görev alan pembe renkli kaslı bir organdır. Kedi ve insanda geniş ve kısayken, herbivorlarda uzun ve dardır. Apex linguae, corpus linguae ve radix linguae olmak üzere üç ana bölümden oluşan dil hem iskelet yapılarına (os hyoideum, mandibula ve os temporale'nin processus styloideus'u) hem de yumuşak yapılara (pharynx duvarı ve palatum molle) bağlanır (33–35).

Apex Linguae: Dilin en öndeki ve en hareketli sivri uç kısmıdır. Üst yüzü sığırdı biraz dışbükeydir. Equide de ise median bir oluğa sahiptir (33–35). Dilin

altında, frenulum linguae'nin yan taraflarında her iki yanda birer tane önden arkaya ve içten dışa doğru uzanan plika yer alır. Plicae sublinguales olarak bilinen bu plikalar, glandula sublingualis'lerin üst kenarlarınının ağız tabanını saran mukozadan meydana gelen kabartılardır. Plica sublingualis'lerin ön uçlarında birer adet ufak papilla bulunur. Caruncula sublingualis olarak adlandırılan bu papillalar üstünde major glandula ve glandula mandibularis kanalları açılır (36).

Corpus Linguae: Dilin gövde kısmıdır. Damakla bitişik olan, tat tomurcukları ve lingual papillalarla dolu pürüzlü bir üst (dorsum linguae) yüzeye ve lingual frenulum tarafından ağız boşluğunun tabanına bağlanan pürüzsüz bir alt (facies ventralis linguae) yüzeye sahiptir. Dilin caudodorsal yüzeyi dorsum linguae'yı oluşturur. Burada dorsum linguae'yı radix linguae'yı oluşturan faringeal parçaya (arka 1/3 bölüm) ve neredeyse yatay olan oral (ya da bukkal) parçaya (ön 2/3 bölüm) ayıran V şeklinde sulcus terminalis bulunmaktadır. Dorsum linguae'da, orta bölümde foramen caecum olarak isimlendirilen ufak bir çöküntü bulunur. Köpek ve insanda median bir oluğa sulcus medianus linguae'ye sahiptir. Ruminantlarda bu yüzün arka yarısını torus linguae denilen bir şişlik işgal eder. Sadece sığırlarda bulunan bu kabartının önünde derin bir çöküntü olan fossa linguae yer alır. Yan kenarına da margo linguae denilir. Yanal yüzler herbivorlarda özellikle atta çok yüksektir.(33–35)

Radix Linguae: Dilin tabanı, organın en arka kısmıdır. Faringeal parça radix linguae'yı oluşturur ve dikey olarak yerleşmiştir. Epiglottis'in köküne kadar uzanır. İsthmus faucium'un tabanını oluşturur. Posterolateral yüzey boyunca yaprak papillaları ile birlikte lingual bademcikler olarak bilinen çok sayıda lenfoid agregalar ile doludur (33–35).

Dilin kökünde bulunan tükürük bezleri muköz salgı meydana getiri. Bu koyu muköz salgının burada radix linguae'yı ıslatarak yutkunma esnasında besinlerin farinkse daha çabuk ulaşması sağlanır (36).

Dili çevreleyen çok sayıda önemli yapı bulunur. Ön ve yan, üst ve alt diş sıraları ile çevrelenmiştir. Üstten sert (ön kısım) ve yumuşak (arka kısım) damakla sınırlanmıştır. Altta, dilin kökü, ağız boşluğunun tabanının mukozası ile sürekli, dilaltı tükürük bezleri ve damar demetleri ağız boşluğu tabanının mukozasının altında yer alır (35).

Tunica Mucosa Linguae (Dil Mukozası): Dil bir nevi özel bir mukoza ile kaplıdır. Lateral ve dorsal bölgede dil mukozası sertken, ventral bölgede daha yumuşaktır. Üst yüzünde değişik fonksiyonlara sahip çok sayıda kabartı bulunur. Bu kabartılara papillae linguales adı verilir. Bunların çoğu kolaylıkla gözle görülebilir. Her ırk ve tür için papilla hacmi, sayısı ve dağılımı farklıdır. Tat duyusu dilde bulunan tat papillaları (papillae gustatoriae) ile alınır. Bu papillalar, mekanik etkili (papillae filiformis, papillae conica, papilla lentiformes) ve tat, ısı ile ilgili papillalar (papilla vallata, papilla fungiformis, papilla foliata) olmak üzere ikiye ayrılır.

Tat duyusu, chordo tympani (n. facialis'in kolu), n. glossopharyngeus ve n. vagus tarafından tad tomurcuklarından alınır. (34,36–38).

3.1.3. Dilin histolojik yapısı

Dil (Lingua, Glossa), cavum oris'te bulunan diğer organlarla beraber gıdaların tutulması, çiğnenmesi ve yutulmasında önemli bir görev alır (34,36,38,39). Dilin dorsal yüzeyi, değişen sıcaklık ve dokulardaki gıda bolusları ile temastan kaynaklanan kuruma ve aşınma riski daha fazla olduğundan, keratinize epitel ile kaplıdır. Dilin alt yüzü mekanik etkilerin azlığından dolayı daha ince bir epitel ile kaplıyken, dilin üst yüzeyi keratinize ve çok kalın bir epitelle kaplıdır (40,41). Bununla birlikte, dilin ventral yüzeyi ve faringeal kısmı, sert ortamdan nispeten iyi korunur. Bu nedenle bu bölgelerdeki epitel keratinize değildir. Dil, özel bir mukoza (kutan mukoza) ile kaplı olup esas yapısını iskelet kasları oluşturur. Bu kaslar dile çok yönlü hareket olanağı sağlayabilecek bir örgütlenme gösterir (26,39). İskelet kası telleri longitudinal, vertikal ve transversal yönlerde yerleşerek dilin çok yönlü hareketine olanak sağlar (39).

Dil; lümenin etrafını saran dört katmandan oluşur. Bunlar; tunika mukoza, submukoza, tunika muskularis, tunika adventisya (seroza) dır. Dilin tunika mukozasında lumenden dış kılıfa doğru üç katlı bir yapı gözlenir. Lamina epitelyalis; çok katlı yassı keratinize hücrelerden meydana gelir. Lamina propriya; çok dar bir alandan ibarettir. Düz kas hücrelerinden ve ince lenf ve kan damarlarından meydana gelir. Bol miktarda sinir telleri, yağ doku, kan damarları ve lenf folikülleri içerir. Kas teli demetlerinin arasını bağ doku ile doludur. Bu bağ dokuda ve submukoza içerisinde dil bezleri (glandule linguales) bulunur. Çoğunluğu müköz, seröz ve serö-müköz salgı yapan bezler salgılarını dilin yüzeyine akıtırlar. Seröz karakterdeki (Ebner Bezleri)

bezler salgılarını tat alma ile ilgili oluşumların (gemma gustativa) yüzeylerine doğru akıtırlar. Lamina muskularis; düz kas lifleri oluşur. Dili çeviren submukoza sinir açısından da bayağı zengindir. Dilin tunika muskularisi kas dokudan ve serozası ince bir zardan oluşur. (26,39,42,43).

Yapı ve yerleşim yerlerine göre dil bezleri 3 gruba ayrılır;

I. Müköz bezler: Daha çok dilin kök bölümünde yerleşmiş olup salgılarını lingual tonsil kriptalarına akıtırlar (39).

II. Seröz bezler (Ebner bezleri): Sulkus terminalis bölümünde bulunur. Salgılarını sirkumvallata papillaların oluklarına bırakırlar. Seröz salgı ile tat tomurcukları yıkanarak çeşitli tatların algılanması gerçekleşir (39).

III. Serö-müköz bezler (Nuhn bezleri): Dilin ön kısmında apekse yakındır. Asinusları kas kitlesi içine gömülüdür, genelde dilin alt yüzüne yakındırlar ve duktusların geneli de dilin ventral yüzüne açılır. Dilin dorsal yüzünün 1/3 arka bölümü ile 2/3 ön bölümü arasında V-şeklinde oluk (sulkus terminalis) bulunur. Oluğun arka kısmında 1/3'lük bölümün (dil kökünün) yüzey epiteli, burada yer alan lingual tonsillerin kriptalarını meydana getirmek üzere invaginasyonlar yapar. Lamina propriyada lenfoid doku (lingual tonsiller) yer alır. Çok katlı yassı olan dil epiteli dilin dorsal yüzünde kalın, ventral yüzünde incedir ve bu yüzde çoğunlukla keratinleşme göstermez. Dorsal yüzde pek fazla makroskopik papilla yer alır. Mekaniksel ve duyu alma işlevlerine göre ikiye ayrılan papillalar, morfolojik niteliklerine göre adlandırılır (36,38,39).

3.1.4. Dil papillaları (Papilla linguales)

3.1.4.1. Mekanik papillalar

Papilla filiformis (İplik şeklinde papilla); dilin ön ucunda yerleşik olup sadece mekanik etkiye sahip olan bu papillalar etçillerde ve genişgetirenlerde en gelişmiş durumdadır (26,39). Kedide dikensi oluşum gösterir. Papillalar arasında en bol bulunanıdır. Dilin arka kısmında ileri derecede boynuzlaşmış olan bu papillalar, kedide ve genişgetirenlerde çiğneme sırasında ağzın açık kaldığı durumlarda besin maddelerinin ağızdan dökülmesini önler (26,37). Bu papillalarda tat cisimcikleri bulunmaz. Keratinizasyon göstermeleri sebebiyle beyazımtırak görünürler ve

fazlasıyla serttirler. Ateşli hastalık esnasında dil kuruyunca bu papillaların sert karakteri daha belirgin olur (36–38).

Papilla konise (Koni şeklinde papilla); özellikle genişgetirenlerde dilin dip kısmında, kedi köpek ve domuz da dil kökü üzerinde, dudak ve yanağın iç kısmında yer alan koni şeklinde papillalardır. Bu papillar filiform papillalardan daha büyüktürler ve genellikle yoğun bir keratinleşme göstermezler (26,39).

Papilla lentiformis (Mercimek şekilli papilla); genişgetirenlerde dilin arka kısmında mediyan olarak bulunan daha basık ve yüzeyi düz mekanik etkiye sahip bir papilla türüdür (26,39).

3.1.4.2. Lezzet (Tat), ısı ve dokunum ile ilgili papillalar

Duyuların alınması ile ilgilidir ve bunlara tat tomurcukları (gemma gustativa) denir. Bu tomurcuklar, epitel kat içinde ve bu kat kalınlığınca yer alan oluşumlardır (26).

Papilla fungiformis (Mantar şeklinde papilla); papilla filiformislerin arasına yerleşmiş kubbe şeklindeki papillalardır. Filiformlardan büyük olup, sayıca daha azdırlar, dil ucuna doğru sayıları artar, mantara benzer şekilleri vardır. Yüzeyleri keratinleşmiş çok katlı yassı epitelden oluşan üst yüzeylerinde bir veya daha çok sayıda tat tomurcuğuna sahip papillalardır. Gemma gustativalar bu papillaların en kubbeli bölümünde epitel kat içinde yer alır. At ve genişgetirenlerde az bulunur, koyun, keçi, domuz, etçillerde bol miktardadır. Bu papillalar ısı ve dokunum duyularını alır (39).

Papilla foliata (Yaprak şeklinde papilla); dil kökünün iki kenarı boyunca dil mukozasının yaptığı yaprak şeklinde olan dürümlerdir. Gevışgetirenlerde olmayan bu papillalar, domuz, at, tavşan ve köpekte çok gelişmişken insan ve kedide fazla küçülmüş ya da tam gelişmemiş haldedir. Bu papillalar da tat alımında görevli olduğundan dolayı bol miktarda seröz bezlerin (Ebner Bezleri) yakınlarında bulunur. Bezlerin salgıları, akıtıcı kanallarla mukoza dürümleri arasındaki yarıkların tabanına akıtılır (39).

Papilla sirkumvallata (Hendekli-oluklu papilla); sulkus terminalinin her bir uzvunun önünde 4 ile 6 büyük papilladan oluşan bir set çizgi halinde uzanır. Tat alım

yönünde farklılaşan bu papillalar, etçillerde dilin kök kısmında kapalı ucu yutağa dönük olarak V şeklinde yer alır. Ruminantlarda ise dilin kök bölümünün yan kenarlarında iki sıralı haldedir. Ruminantlarda hendeğe taraf epitel katta olup, at ve domuzda sayıca az ama epeyce büyüktür. Kedide hendeğin dip tarafında, domuzda hendeğin her iki kısmında yer alır. Yüzeyleri çok katlı yassı epitel ile kaplıdır. Üst yüzeylerinde bir veya daha fazla tat tomurcuğu bulunur. Seröz salgı yapan Ebner bezleri salgılarını tat tomurcuklarının bulunduğu hendeğe akıtır (26,36,39). Bu hendekler, yapıya boşalan seröz karakterdeki salgıların drenajını kolaylaştırır.

3.1.4.3. Tat tomurcukları (Gemma gustativa-Kalikuli gustatorii)

Tüm ağız boşluğu içerisine dağılmış olan tat tomurcukları dil üzerinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Her tat tomurcuğu berrak ve ovaldir. Tat hücreleri, çözünmüş molekülleri bağlayan ve onları tattan sorumlu reseptörlere yaklaştıran çok sayıda mikrovillusla çevrili apikal bir tat gözenegine sahiptir. Fungiform, foliyat ve sirkumvallat papillaların çok katlı yassı epiteli içine yerleşen tat cisimcikleri, tat duyularını alan, elipsoid şeklinde boya almayan oluşumlardır. Memelilerde tat tomurcukları çoğunlukla 3 tip hücreden oluşmuşlardır.

I-Gustatif (Şemoreseptör) Reseptör Hücreleri: İnce ve uzun olan bu hücreler, çekirdeğin bulunduğu kısımda şişkinlik gösterir. Çekirdekleri kromatinden zengindir. Tat duyusunu epitelin yüzeyinden alarak bazal laminaya kadar uzanır. Bu hücrelerin apikal yüzlerinde koni şeklinde uzantıları vardır ve bu uzantılarıyla duyuları alarak, bazal kısımlardan tat tomurcuğunu saran afferent sinir tellerine iletirler.

II-Destek Hücreleri: Bu hücreler gustatif hücreleri dıştan tamamen sardıkları gibi, içte bu hücrelerin arasında bulunarak desteklik sağlarlar. Apikal yüzlerinde görülen mikrovilluslar tat delikçiğini sınırlandırır.

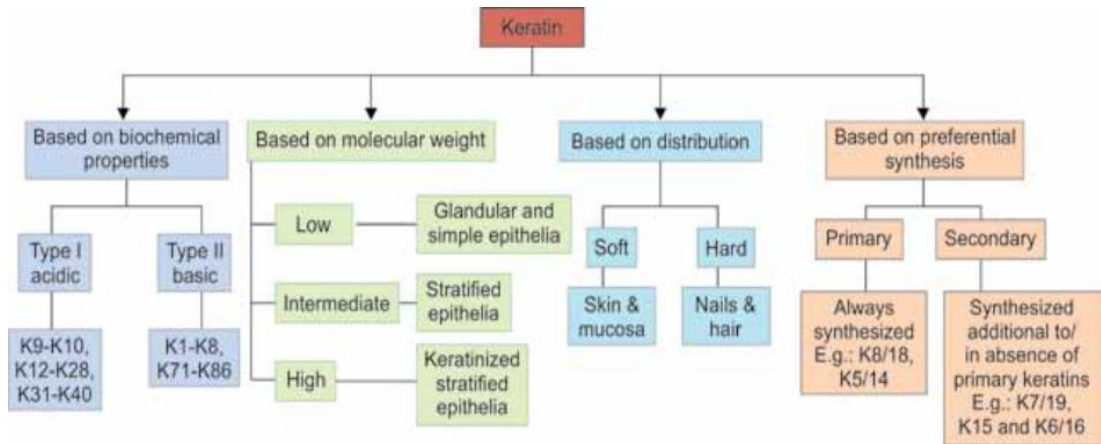
III-Köken Hücreler: Tat tomurcuklarının yaşam süreleri yaklaşık olarak ortalama 10 gün kadardır. Böylelikle bu hücreler bölünüp farklılaşarak, ölen tat reseptör hücreleri ve destek hücrelerinin yerini doldururlar.

Tat tomurcukları 4 uyarana da algılamaktadır. Tuzlu, tatlı, ekşi ve acı. Dilin posterolateral kısım tuzlu ve asit, ucu tatlı, sirkumvallat papillalar ise acı tadı algılar (26,39).

3.2.Ara (intermedier) Filamentler

3.2.1.Sitokeratinler

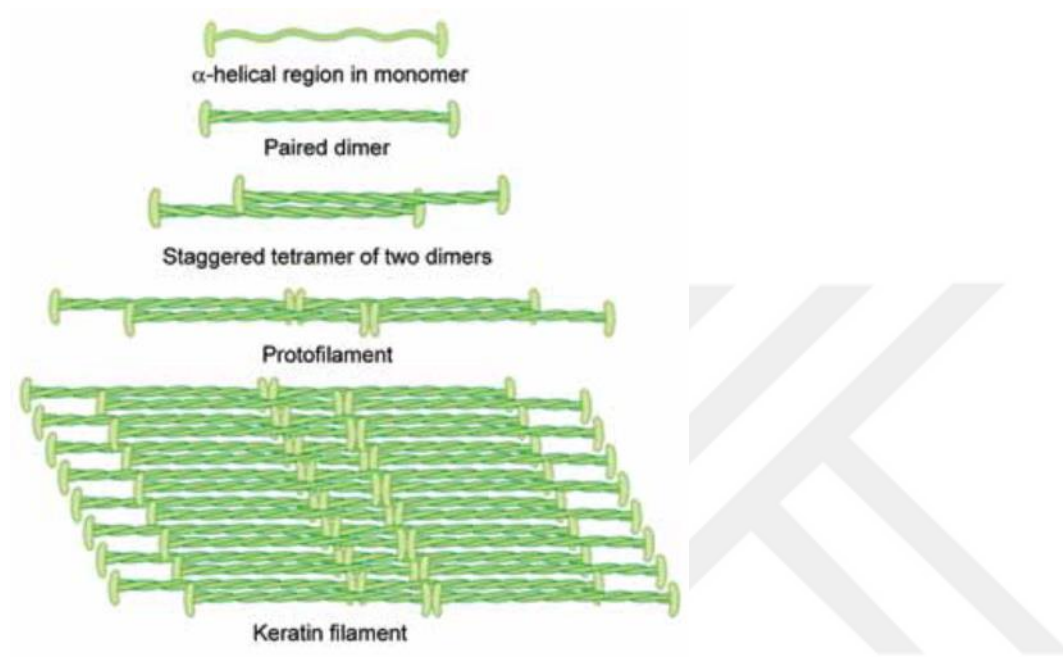
Keratinler, hücre iskeletinin önemli bir bileşeni olan ara filament proteinlerinin en büyük alt grubu olup, yunanca boynuz anlamına gelen “kera” kelimesinden isimlerini alırlar (44). Genel anlamda çok çeşitli olup farklılaşmış hücrelerin toplam protein içeriğinin yaklaşık %80’ini oluşturan, herhangi bir omurgalı epitelinde üretilen spesifik fizikokimyasal özelliklere sahip, ara filament oluşturan proteinler (10 nm çapında) olarak tanımlanırlar (45–47). Hücre iskeletinin epitelyal ara filament proteinleri olarak bilinen sitokeratinler, altı molekül sınıfı oluşturan yaklaşık 65 homolog proteinden oluşan bir aileden türetilen çeşitli elementler sınıfını oluştururlar (48). Çeşitli memeli dokularında sitokeratin ekspresyon paternleri biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak geniş çapta araştırılmış ve farklı tipte epitel hücrelerinin farklı sitokeratin moleküllerini eksprese ettiği bulunmuştur (49). Yine yapılan çalışmalarda insan dokularında en az 19 çeşit sitokeratin ve 54 fonksiyonel keratin geni varlığı bildirilmiştir (48,50). Keratinler epitel hücre iskeletinin bir parçası olarak hücrelerin ve dokuların mekanik stabilitesi ve bütünlüğünü sağlamak için önemlidir. Çoğu ökaryotik hücrenin sitoplazmalarında uzun ve 10 nm çapında dallanmamış ara filamentlerden (IF) oluşan az çok ayrıntılı bir hücre iskeleti sistemini içerirler (45).



Şekil- 1: Keratinlerin sınıflandırılması (7)

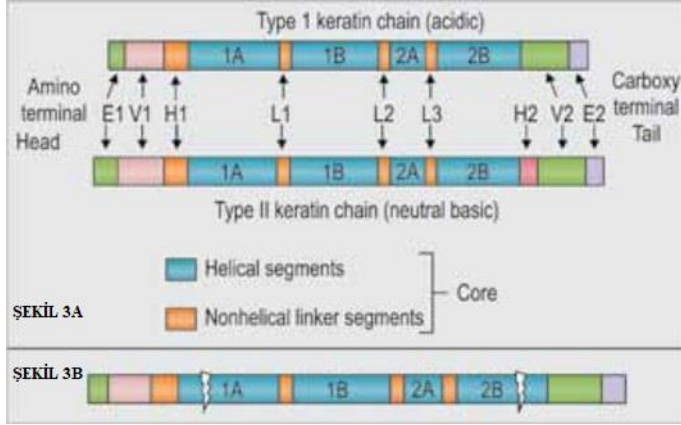
Keratinlerin, moleküler ağırlığı 44 ila 66 kDa arasında değişim gösterir. Filament düzeneği, bir tip I zincirinin bir eşleştirilmiş dimeriyle oluşur ve böylelikle iki eşleştirilmiş dimer kademeli bir tetramer oluşturmak için antiparalel bir tarzda birleşir. İki tetramer, protofilamenti oluşturmak için yanal olarak bir araya toplanır.

Sonrasında bu tür sekiz protofilament, keratin filamentini oluşturan bir ip halinde bükülür. Bu nedenle, her bir ayrı keratin filamenti, 32 ayrı α sarmal bobinin bir enine kesitine sahiptir. Güçlü yanal hidroforbik etkileşimler, polipeptit zincirlerini stabilize ederek demetlenir ve sitoplazma boyunca yayılan makromoleküler ağlar halinde birleştirilir (Şekil 2)(51,52).



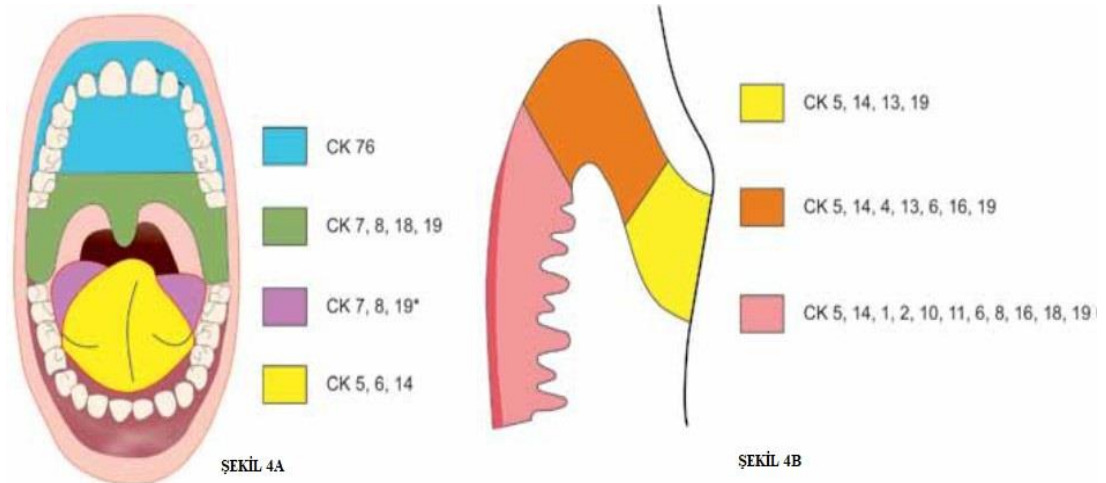
Şekil- 2: Keratin filamentlerinin demetleşmesi (7)

Tüm keratin molekülleri, α -sarmal konformasyona sahip 310 aminoasitten oluşan merkezi bir çubuk alanını içerir. Bu merkezi çekirdek yapı, sarmal olmayan üç bağlayıcı diziyle (L1, L2 ve L3) ayrılmış dört alt alandan (1A, 1B, 2A, 2B) oluşur (Şekil 3A). Keratin filamentleri arasındaki çeşitlilik amino ve karboksi terminallerindeki (H, V ve E uç alanları) sarmal olmayan uzantılarda bulunur (52–55). Bununla beraber alan 1A'da sarmal başlatma peptidi (HIP) olarak adlandırılan, her çubuk üzerinde yüksek oranda korunmuş iki sarmal sınır dizisi motifi vardır.



Şekil-3A and B: (A)Tip I ve II nin moleküler yapısı, (B) Keratin üzerindeki sıcak nokta mutasyon bölgeleri (7)

Memeli keratinleri yapılarına, işlevlerine ve düzenlemelerine göre iki ayrı gruba ayrılır. Sistein zengini keratinler doğada daha serttir ve epidermal uzantılarda (saç ve tırnaklar) bulunan 'sert' keratinleri oluştururken, epitel hücrelerinde gevşek şekilde paketlenmiş olan sitoplazmik keratin filament demetleri ise 'yumuşak veya sito' keratin olarak adlandırılır (48,56,57). Sitokeratinler epitel hücrelerinin temel yapısal proteinleri olup ağız boşluğunda, tükürük bezi epitelinde bol miktarda bulunur ve odontogenez sırasında da ifade edilir. Ayrıca sitokeratinler, tanısal patolojide önde gelen biyo belirteçlerdir.



Şekil- 4A and B: (A) Normal oral mukozada keratin dağılımındaki bölgesel varyasyon, (B) Normal diş etinde sitokeratin dağılım paternleri. * Tat tomurcukları (7)

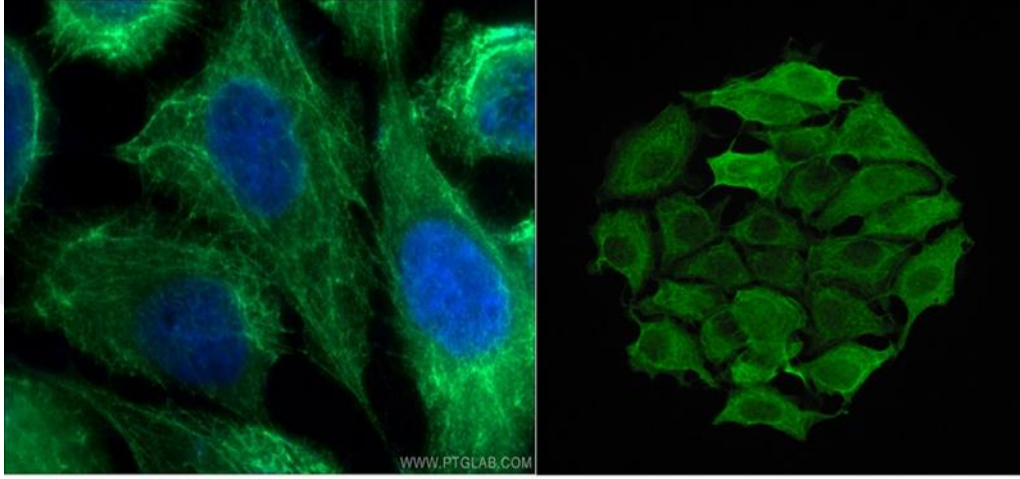
Sitokeratinlerin başlıca iki kategorisi vardır; asidik tip I ve bazik veya nötr tip II sitokeratinler. Her kategori içerisinde, her bir alt ailenin bir üyesini içeren özel çiftler halinde ifade edilip (58) düşük moleküler ağırlıktan (LMWCK'ler) yüksek moleküler ağırlığa (HMWCK'ler) kadar azalan boyut sırasına göre numaralandırılırlar. Sitokeratinlerin ekspresyonu farklılaşmaya bağlı olarak gelişimsel olarak düzenlenir (59,60) ve beraberinde bazik bir CK (Tip II: 1-8 numaralı) ile eşleştirilmiş asidik bir CK'den (Tip I: 9-20 numaralı) oluşan heterodimer yapıyı ortaya çıkarırlar.

Keratinler, farklı epitel hücrelerinde ifade edilip gruplanırlar ve (48) temel olarak da basit (tek katmanlı) epitelde eksprese edilen keratinler basit epitel keratinleri olarak adlandırılır ve K7, K8, K18, K19, K20, K23'ü içerirler (61). K8, K18 ve K19 başlıca incebağırsak ve kolon epitelinde eksprese edilen basit keratinlerdir (48,49). Sitokeratin 8/18 (CK8/18) filamenti, yüksek molekül ağırlıklı skuamöz keratinler olup normal epitelde, kültürlenmiş hücre dizilerinde ve karsinomlarda bulunan en bol Tip I: Tip II filamentlerden biri olarak kabul edilir. İşlevsel olarak, CK8/18 filamentleri hücrelere yapısal bütünlük sağlar, ancak aynı zamanda hücre içi taşıma mekanizmalarını ve sinyalleşmeyi de etkiler (15,50,62,63). CK 19 düşük molekül ağırlıklı asidik tip basit keratinler grubunda olup düzenleyici işlevleri yanında hücre içi sinyal yollarında da yer alırlar (7,64).

3.2.1.1. Sitokeratin 8 (CK 8)

Sitokeratin ailesinin düşük moleküler ağırlıklı basit yapılı epiteli olan sitokeratin 8, bağırsak epitelinden en bol olarak eksprese edilen, heterodimer yapıda bir proteindir. (44,65–68) Tip II sitoskeletal 8 sitokeratin-8 (CK-8) veya keratin-8 (K8) olarak da bilinir, insanlarda KRT8 geni tarafından kodlanan bir keratin proteinidir. Genellikle keratin 18 ile eşleştirilerek basit epitel hücrelerinin (69) sitoplazmasında birlikte (70) bir dimer oluştururlar. Ayrıca bu yapılarıyla ve diğer keratinlerle birlikte CK8/CK18, hücre şeklini belirleyen ve hücrelerin mekanik stresle başa çıkmasına imkan sağlayan stabilize edici bir çerçeve oluştururlar. Bunun yanında ayrıca sinyal moleküllerinin, metabolitlerin ve patojenlerin hücreye yönlendirilmiş bir şekilde hareket ettirebildiği bir "yollar" ağını temsil ederler. CK8'in hücreler içinde lokalizasyonunun düzenlenmesi ve ara filamentlere polimerizasyonu, fosforilasyonuna bağlıdır. Bu bağlamda MAP kinaz ailesi üyesi (MAPK14) p38 (71)

ve PKC-ε ile ilgili kinaz olmak üzere (72) iki ana kinaz ailesi aracılık eder. Stres altında p38 aracılık eder ve keratin organizasyonunu düzenler (73). Yüksek p38 kinaz aktivitesi, keratin granüllerinin oluşumu ile bağlantılıyken, düşük p38 aktivitesi (yani düşük CK8 fosforilasyonu) filament ağının önlenmiş bir demontesiyle ilişkilendirilebilir (73,74).



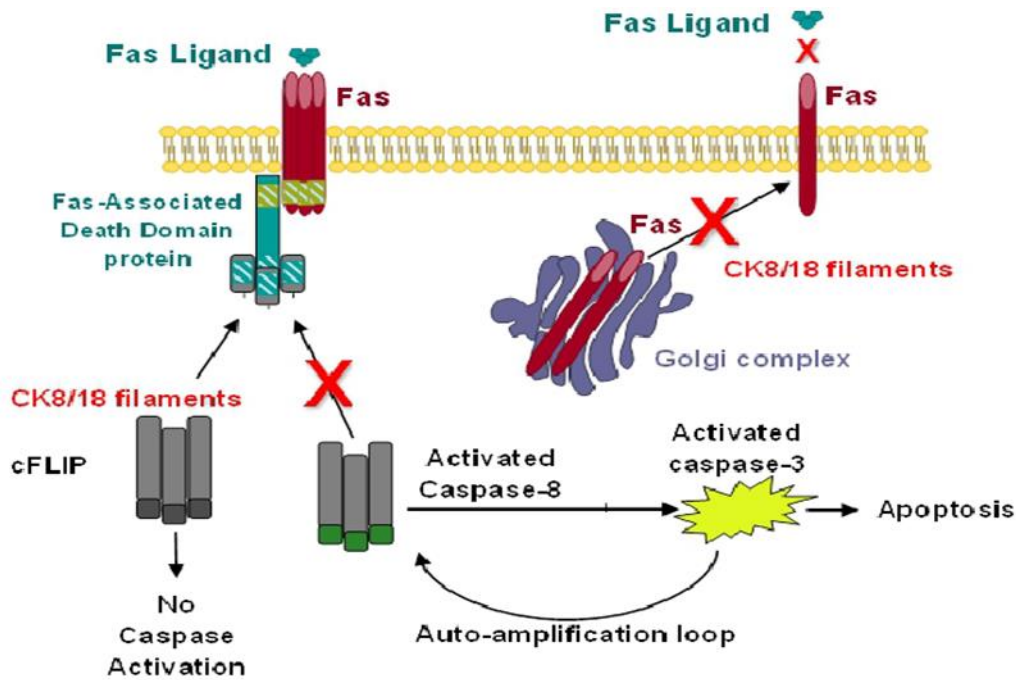
Şekil -5: Cytokeratin 8'in immunofloresan görüntüsü (75)

CK8 transgenik farelerin karsinom hücrelerinin plazma membranında ektopik olarak eksprese edildiğinde (76), bir doku tipi plazminojen aktivatörü (tPA) (77–80) olarak hizmet eder ve tümör hücrelerinin yeniden şekillenmesine veya çevre dokuyu istila etmesine yardımcı olabilir (81,74). Sindirim, solunum ve ürogenital sistemlerin glandüler epitelinde, hem endokrin hem de ekzokrin hücreler de ayrıca mezotelyal hücreler ile bunlardan kaynaklanan adeno-karsinomlarda hücre içi filament rolü üstlenirler (82). Sağlıklı donörlerde ve hastalarda CK8'e özgü oto-antikorlar profili üzerine yapılan bir çalışmada, oto-antikor titrelerinin normal ve hasta kişileri ayırt edebildiğini, ancak iyi huylu ve kötü huylu hastalık vakaları arasında ayırım yapmadığını ortaya koymuştur (83). Displastik lökoplakide CK8 pozitifliği'nin, karsinogenezis'in erken evreleri ile ilişkili olması transforme epitelin ayırt edici özelliklerindendir. (74). Ayrıca çalışmalarda CK8'in erken evrede baş ve boyun maligniteleri için değerli bir belirteç olduğu bildirilmiştir (74). Böylelikle de bu bölge malignitesinin teşhisi ne kadar erken olursa, prognoz hasta için de o kadar iyi olur. Ck 8/18 ekspresyonunun indüklenmesinin, Ck 8/18 transfeksiyonundan sonra fenotipik özelliklerde önemli bir değişiklik ile sonuçlanabileceği gösterilebilir (84). Bu değişiklikler, artan bir tümör agresifliği ve kötü hasta prognozu için ilk ipuçlarını

verebilecek artan bir hücre hareketliliği içermekte olup bu bulguların klinik bağlamda, özellikle prognostik önem açısından önemi belirsizdir (85). CK 8, kanda dolaşan tümör hücrelerini numaralandıran testlerde epitel kökenli hücreleri hematopoetik hücrelerden ayırt etmek için genellikle keratin 18 ve keratin 19 ile birlikte kullanılır (86). Genel anlamda, CK8 karsinogenez sürecinde yer alarak (84,87–90) hücre bağlanması, protein sentezi, G1 / S faz geçişi ve stres adaptasyonu modüle eden sinyalleme süreçlerinde rol oynarlar. (74,91).

3.2.1.2. Sitokeratin 18 (CK 18)

Sitokeratin ailesinin asidik tip düşük molekül ağırlıklı proteini olan Sitokeratin 18 temel alt ünitelerinde heterodimerik çiftler halinde bulunur (92). Sitokeratin 18, Sitokeratin 8/18 (CK8/18) filamenti olarak normal epitelde, kültürlenmiş hücre dizilerinde ve karsinomlarda bulunan en bol Tip I: Tip II filamentlerden biri olarak kabul edilir. İşlevsel olarak, CK8/18 filamentleri hücrelere yapısal bütünlük sağlar, ancak aynı zamanda hücre içi taşıma mekanizmalarını ve sinyalleşmeyi de etkiler (15,62,63). CK8 de olduğu gibi sindirim, solunum ve ürogenital yolların glandüler epiteli, hem endokrin ve ekzokrin hücreler hem de mezotelyal hücrelerden kaynaklanan adenokarsinomlarda görülürler (82)



Şekil-6: CK8/ 18 filamentlerin aktifleşme süreci ⁽⁹³⁾

Genel olarak CK18, CK8 ile birlikte eksprese edilir ve çeşitli parankimatöz epitel de dahil olmak üzere basit epitel hücrelerinin birincil keratin çiftini oluşturur (48,94,95). Bunlar, embriyogenezde ortaya çıkan ilk keratinlerdir (96) ve aynı zamanda filogenezi sırasında en eski keratinler olarak kabul edilmektedirler (97). Bazı epitel hücrelerinde, mevcut tek olan keratinler CK8 ve CK18'dir. Bunun klasik örneği de karaciğerde normal hepatositlerde karakteristik keratin çifti halinde görülür. Bazı keratinize olmayan tabakalı skuamöz epitelde bile, K8 ve K18 bazal hücre tabakasında eksprese edilebilir (13, 98). Böylelikle, K8 ve K18 farklılaşan keratinositlerde bulunmalarına rağmen normal epitel dokuları arasında yaygın olarak dağılılabılır. K8 ve K18'in ekspresyonu'nun, bazı düz kas hücreleri ve lenf düğümlerinin fibroblastik retikulum hücreleri gibi, nadir mezenkimal hücrelerde (daha sık fetal evrelerde) görülmesiyle birlikte K8 ve K18'in kesinlikle epitele özgü olmadığı anlaşılmıştır (45).

3.2.1.3. Sitokeratin 19 (CK 19)

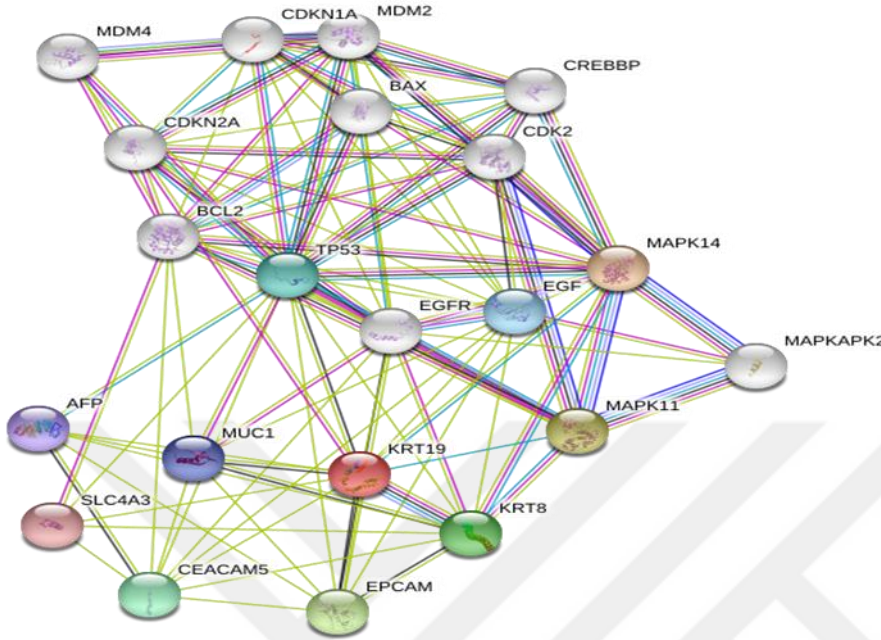
Sitokeratin-19 (CK-19) tip I sitoskeletal 19 veya keratin-19 (K19) olarak da bilinir. İnsanlarda KRT19 geni tarafından kodlanan moleküler ağırlığı en düşük 40 kDa ve izoelektrik noktası 5,3 olan proteindir (48,99). Heterotipik keratin zincir çiftleri halinde düzenlenmiş asidik proteinlerden oluşur ve kromozom 17q12-q21 bölgesinde kümelenir (100). İlgili aile üyelerinin aksine, bilinen bu en küçük asidik sitokeratin, epitel hücrelerinde temel bir sitokeratin ile eşleşmemektedir. Sitokeratin 19, yapıcı tabakalı epitelyal keratinlerle birlikte fokal olarak eksprese edilir (13,45,98).

Sitokeratin 19	İnsan CK19 proteini	Fare CK19 proteini	Sıçan CK19 proteini
Uzunluğu	400	403	403
Ağırlığı (Da)	44106	44542	44636
Dizilimi	İnsan CK19 protein dizilimi	Fare CK19 protein dizilimi	Sıçan CK19 protein dizilimi

Şekil-7: İnsan, fare ve sıçan hücrelerinden eksprese edilen sitokeratin 19 proteinin diziliminin farklılıkları ⁽¹⁰¹⁾

Tüm CK'ler gibi, CK19 da bir baş, bir merkezi çubuk ve bir kuyruk olmak üzere 3 alandan oluşur. Sıralama analizleri yoluyla, insan CK19'unun, sarmal olmayan bir N-terminal "baş" alanı 79 aa [1-79], bir alfa sarmal merkezi "çubuk ile başlatıcı metionin dahil olmak üzere 400 amino asit (aa) uzunluğu ve " 307 aa [80-387] alanı

ve 13 aa [388-400] kısa bir alfa-sarmal C-terminal kuyruk alanına (102) sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil -8: CK 19 proteinin helezonik yapısı ⁽¹⁰³⁾

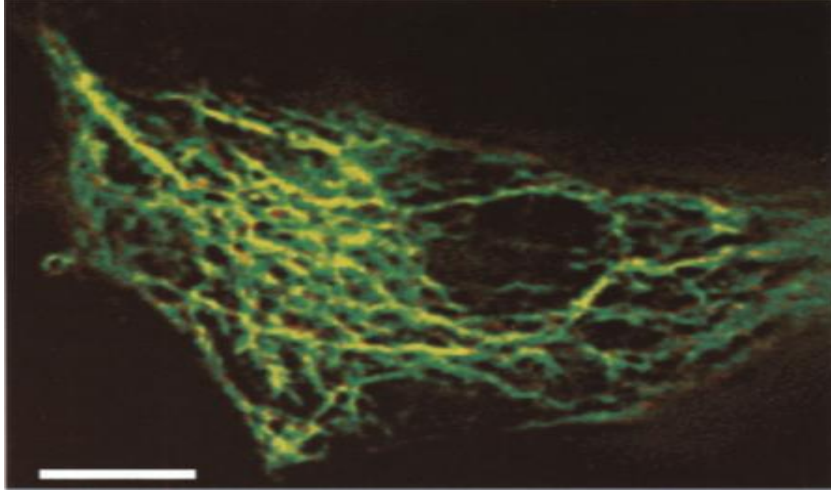
Sitokeratin 19 (CK19) çoğunlukla kök hücreler, transforme hücreler veya tümörlü hücreler gibi yüksek plastisiteye sahip epitel dokularında bulunan tip I sitokeratindir. (99) Glandüler tip epitel ve karsinomlarda gözlenir, buna karşın hepatosit ve hepatosellüler karsinomlar ile reaksiyona girmez (65,66,104). Yüksek duyarlılığı nedeniyle CK19 lenf düğümlerinde, periferik kanda ve meme kanseri hastalarının kemik iliğinde yayılan tümör hücrelerinin RT-PCR aracılığı ile tespitinde en çok kullanılan belirteçlerden biridir (67). Bununla beraber CK 19, testlerde epitel kökenli hücreleri hematopoetik hücrelerden ayırt etmek için kanda dolaşan tümör hücrelerini kendine bağlayarak ve genellikle de keratin 8 ve keratin 18 ile birlikte kullanılır (105). Temel işlevleri olarak, hücrenin yapısal bütünlüğünü desteklemek için elastikiyet kazandırmak, hücre içi taşıma, apoptoz, hücre polaritesi ve hareketliliği, hücre büyümesi ve çoğalması gibi hücresel süreçlerde yer alma görevleri sayılabilir (48). Epitelyal embriyogenez, doku rejenerasyonu, doku onarımı ve doku gelişimi sırasında CK19'un ekspresyon seviyesi artar. Ayrıca da normal dokulardan premalign lezyonlara ve karsinoma geçişte CK19'un kanserlerin karsinogenezinde artan bir ekspresyona sahip olduğu da gösterilmiştir (99).

3.2.2. Vimentin

Mezenkimal hücrelerin ana ara filament (IF) proteini olan vimentin, hücre ve dokuların gelişimsel bir belirteci olarak kullanıldığı için intermediyer filamentlerin en iyi bilinen üyelerinden birisidir (106). Latince de “esnek çubuklar dizisi” anlamına gelen 'vimentum' dan ismini alan vimentin 57 kD ağırlığında olup fare fibroblast kültürlerinden izole edilmiş olan bir protein çeşididir (107). Fare gelişimi sırasında vimentin ekspresyonu embriyonik olarak 8.5 günde başlar ve fetal dönemde salınımı daha baskın bir hal alır (108). Proteinlerin ara filament ailesi insanlarda, farelerde ve diğer memelilerde yaklaşık 70 üyelik gen ailesi tarafından kodlanmaktadır (109). Kromozom 10p13 üzerinde bulunan ve tek bir gen tarafından kodlanan vimentin, 466 aminoasitten oluşan, amino ve karboksil uçlarında bulunan baş (77 rezidü) ve kuyruk (61 rezidü) domainleri ve bunların arasında oldukça korunmuş alfa-helikal rod domaini yer alan bir polipeptittir (110). İki monomer ko-translasyonel bir şekilde eksprese edilir ki bu da vimentin düzeneğinin ana subuniti olan dimer oluşumunu kolaylaştırır (111). Alfa helikal diziler, sarmal yüzeyi üzerinde bir "hidrofobik bölge" oluşturan hidrofobik aminoasit paterni içermektedir. Ayrıca, asidik ve bazik aminoasitlerin periyodik olarak dağılması, sarılmış sarmal dimerlerin stabilizasyonunda önemli rol oynamaktadır (112,113). Vimentin, kan damarlarını döşeyen endotelial hücreler, pankreatik prekürsör hücreler, renal tübüler hücreler, sertoli hücreleri, nöronal öncü hücreler, makrofajlar, nötrofiller, fibroblastlar ve lökositler dâhil mezenkimal hücrelerde yapısal ve yaygın olarak eksprese edilen yüksek oranda korunmuş bir proteindir (112,114–120). Vimentin proteini bağlanma, göç ve hücre sinyalizasyonunda yer alan bir dizi kritik proteinin düzenleyicisi olarak belirli dinamik hücresel süreçlere katkıda bulunur (121–123). Vimentin fonksiyonları olarak hücre fizyolojisi, hücresel etkileşimler ve organ homeostazının düzenlenmesi gibi dallar sayılabilirken (106) beraberinde hücre kasılması, göç, sertlik, sertleşme ve çoğalma gibi hayati mekanik ve biyolojik işlevlerde de önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (124). Vimentin, katarakt, Crohn hastalığı, romatoid artrit, HIV ve kanser de dâhil olmak üzere çok çeşitli pato-fizyolojik durumlarla bağlantılı olan bir proteindir. Vimentin hücrelerde, sitoplazmayı kapsayan bir filament ağı oluşturabildiği gibi hem hücrelerde hem de hücre dışı mikroçevrede lokalize olabilen daha küçük filamentli olmayan formlarda da bulunabilir. Vimentin yapısı, alt birim

değişimi, farklı boyutlara bölünme, yeniden yakalama, translasyon sonrası modifikasyonlar ve etkileşimli proteinler ile değiştirilebilir ve bu yapı hücredeki mikrotübüller boyunca çift yönlü olarak hareket eder (125). Son zamanlarda yapılan çalışmalar da mikrotübül motor sitoplazmik dyneini, bu hareketi yönlendiren eksik içe dönük motor olarak tanımlanmıştır.

Mitoz (126–131), farklılaşma (132) ve stres (133) gibi farklı hücresel durumlara özgü bölgeler ve kinazlar ile oldukça karmaşık bir fosforilasyon modeline (134–136) sahip (106) olan vimentin, EMT (EMT; epitelyal hücrelerin mezenkimal fenotip kazanarak şekillerini ve motilite yeteneklerini arttırdıkları yeniden programlama süreci)'nin en iyi bilinen belirteçlerinden biri olması nedeniyle de çok önemlidir. Vimentinin yara iyileşmesi gibi yapısal süreçlerde yer alıp yaygın olarak da eksprese edildiği (137) ve eksikliğinde embriyonik ve erişkin dönemde yaraların tedavisinde gerileme ve hücrelerin göç kapasitesinde azalış olduğu gösterilmiştir (138–141). Vimentin ara filament (IF) proteinleri, tümörijeniz, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ve kanserin metastatik yayılımı da dâhil olmak üzere kanserin başlaması ve ilerlemesinin birçok yönüne dâhil edilmiştir. Spesifik olarak, vimentin IF'leri, EMT'yi, tümör ilerlemesini, hücre göçünü ve istilasını, mitokondri gibi organellerin konumlandırılmasını ve ankrajını, hücre-hücre ve hücre-substrat yapışmasını içeren ana sinyal iletim yollarını düzenleyen temel bir bileşen olarak kabul edilmiştir (114,119,120,142). Vimentin hücre tipine spesifik olmayıp, değişken bir yapıya sahiptir ve çoğunlukla da fibröz ve kas dokusunda tesbit edilir. Hücre içinde kolesterol taşınmasında rol oynamanın yanı sıra organellerin yerini sabitlemeye yardımcı olarak da hücreye esneklik sağlar. Araştırmalarda genellikle mezenkimal tümörlerde bazı durumlarda da karsinomlarda pozitif boyandığı tespit edilmiştir. Yumuşak doku tümörlerinden rabdoid malignansilerde sitoplazmada globüler yapılanma ve nukleusta girintilenme halinde görülebilir. Overlerde ovarian stromal hücrelerde görülmüştür (107,143). Vimentinin; gastrointestinal tümörler, prostat kanseri, merkezi sinir sistemi tümörleri, malign melanom, meme kanseri ve akciğer kanseri de dâhil çeşitli epitel kanserlerinde aşırı miktarda eksprese edildiği görülmüştür (108,114).



Şekil -9: Endotel hücresinde vimentin görünümü (¹²⁴)

Vimentin; hücreler arası sinyalizasyon, hücresel onarım, hücre farklılaşması ve büyümesinin düzenlenmesi ile beraber hücrede strese gereken cevabın oluşmasında, mRNA'nın transportunda ve tümörün yayılmasında önemli roller üstlenmektedir (144,145). Hipoksi, travma gibi ağır nöron hasarlarında hücrede oluşan hasar durumlarında vimentin proteini ekstrasellüler aralığa salınır ve buradan da BOS 'a ve seruma geçer (139,146). Bu bilgilere ek olarak vimentinin düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) metabolizmasıyla da ilişkili olduğu bulunmuştur (113,147). Vimentin'in bilinen en önemli özelliği hücre membranını sağlamlaştırması ve strese karşı dayanıklılık oluşturmastır. Vimentinden arındırılmış hücreler ile normal hücreler karşılaştırıldığında vimentin bulunmayan hücrelerin en küçük bir travma karşısında kolayca bir şekilde dağıldığı gösterilmiştir(140,141).

3.2.3. Desmin

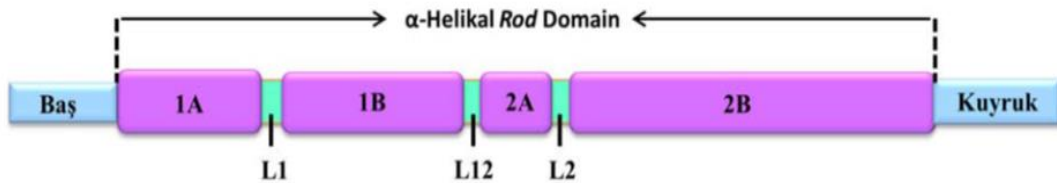
Kas dokusuna özgü bir protein olan Desmin başlıca kalp, iskelet ve düz kaslardaki ara filamentlerin önemli (IF'ler) ana bileşenidir. Kas hücreleri, desmin, vimentin, nestin, sinemin, senkoilin, laminler ve sitokeratinler de dahil olmak üzere birkaç ara filament (IF) proteini içerir (148). Desmin geni 1977 yılında saflaştırılmış olup, 1989 yılında karakterize edilip 1996'da nakavt hayvanlarda üretilmiştir. Desmin; 53,5 kDa büyüklüğünde, 470 aminoasitten oluşan, 2q35'de yerleşim gösteren DES geni tarafından kodlanmakta olan tip III sınıfı ara filament bir protein çeşididir (149,150). Molekül ağırlıkları sırasıyla 55000 ve 57000 Da olan ve tek bir subunitten

oluşan ara filamentlerden vimentin ve desmin hücre iskeletini oluşturan en stabil komponentlerdir (151–153).

Desmin birkaç molekül ile etkileşime girerek belirli işlevleri yerine getirir ve bu fonksiyonları etkileşimlerin her birine atfedilir. Kimyasal denatürasyon ve mekanik stabiliteye karşı direnci ve kas farklılaşma programı ile doğrudan etkileşime girmesi gibi hücre biyolojisine katkısı da dikkat çekicidir (154). Desmin, tümörlerin kökeninin bir belirtici olarak kullanıldığı için önemli bir tıbbi role sahiptir. Ancak tanımlanmasının üzerinden yaklaşık 30 yıl geçmesine rağmen desmin'in işlevi hala belirsizdir. Önerilen işlevler arasında myofibrillogenesis, kas için mekanik destek, mitokondriyal lokalizasyon, gen ekspresyonu regülasyonu ve hücre içi sinyalleşme yer alır. Yapılan ilk çalışmalar da, desminin birincil rolünün yapısal ve mekanik destek sağlamak olduğu sonucuna varılmış olmakla birlikte, son birkaç on yıldaki ufuk açıcı araştırmalar, desmin IF'lerin miyogenez (155), kas kasılması (150,156) ve mitokondriyal fonksiyon da (157–159) dâhil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri etkilediğini ortaya koymuştur. Desmin IF, kasılmalı miyofibrilleri sarkolemma ve hücresel organellere bağlayarak kasın yapısal ve hücresel bütünlüğüne, kuvvet aktarımına ve mitokondriyal homeostazına katkıda bulunur. Desmin'deki mutasyonlar, miyofibrillerin yanlış hizalanmasına, mitokondriyal disfonksiyona, insanlarda kardiyak ve iskelet miyopatilerine yol açan, genellikle protein agregatlarının birikmesiyle karakterize edilen mekanik bütünlüğün bozulmasına neden olan iskelet kası atrofisine neden olur (160–162). Çeşitli kronik stres modellerinde desmin parçaları kasta birikir, bu birikmeler farklı mekanizmalardan kaynaklanabilir; örneğin, kalp yetmezliği (HF) ile etkisiz degradasyon veya kas atrofisi ile artan degradasyon desmin'nin yaşam döngüsünde önemli bir olayı temsil eder (163). Embriyonik kök (ES) hücrelerinde hem antisens RNA hem de homolog rekombinasyon tekniklerinin kullanıldığı in vitro çalışmalar da, desmin ekspresyonunun inhibisyonu miyoblast füzyonunu ve miyotüp oluşumunu bloke ettiği için desminin miyogenez sırasında önemli bir rol oynadığı da gösterilmiştir (164). Nestin, vimentin ve desmin üç intermediyer filament olarak iskelet kası hücrelerinde eksprese edilir ve gelişimsel olarak düzenlenir. Nestin ve vimentin, farklılaşmanın erken evrelerinde eksprese edilir ve daha sonra gelişim süresince regüle edilirken, desmin ekspresyonu olgun miyofiberlerde baskın ara filament olmak için sürekli olarak artar. Böylelikle de ara

filament proteinlerinin görünümünün, iskelet kasının gelişiminde önemli bir rol oynadığı da gösterilmiş olunur (165).

Vimentin ve desmin filamentleri hücre içerisinde spesifik yerleşim göstererek hücre farklılaşması olayına katkı sunmaktadır. Vimentin; embriyonal hücreler ve bağ dokusunda geniş dağılım gösterirken, desmin kas hücreleri ile sınırlıdır (164,166,167). Desmin ara filamentleri düz, kalp ve olgun iskelet kası hücrelerinde bulunmakla beraber bazı özel yapılarda yoğun cisimler olarak çekirdeklerin etrafında, Z-çizgisi çevresinde veya kostamerlerde (Z diski ile kayıt içinde çevresel olarak hizalanmış alt sarkolemmal protein düzenekleri) daha konsantre halde bulunabilir. Z-disklerini; mitokondriye, çekirdek membranına, sarkoplazmik retikuluma, sarkolemmaya ve T-tübüllere bağlayarak üç boyutlu bir ağ yapısı oluştururlar (165,168,169). Diğer ara filament proteinleriyle oluşan bu ağ yapısı, kas hücresinin kasılması ve gevşemesi esnasında hücresel bütünlüğü koruyarak güç aktarımını kolaylaştırmaktadır (170,171). Memelilerin kalp kası hücrelerinde (toplam proteinin %2'si) iskelet kası hücrelerinden (%0.35) daha fazla desmin vardır (150). Embriyonik gelişimde desmin; kasa özgü birçok yapısal proteinin ve myogenic factor-4 (myogenin), myogenic differentiation-1 (myoD), myogenic regulatory factor-4 (MRF4) gibi transkripsiyon faktörlerinin ifadesine öncülük etmektedir (172). Bu durum, desmin proteininin kas oluşum süreci ve farklılaşmasındaki rolünü önemli hale getirmektedir. Diğer ara filament proteinlerine benzer ikincil yapısında, helikal olmayan baş ve kuyruk domainleri, merkezinde ise α -helikal rod domain yer almaktadır. Rod domain; 10 nm çapında filament yapısını oluşturur. Tüm ara filament proteinleri arasında evrimsel olarak en çok korunmuş olan bölgeler merkezi rod domainin iki uç segmenti olan 1A (amino-terminal) ve 2B'dir (karboksi-terminal) (Şekil 10) (173).



Şekil-10. Desminin şematik görüntüsü. Proteinin iki ucunda helikal olmayan baş ve kuyruk domainleri, merkezinde ise 4 segmentten oluşan α -helikal rod domain bulunmaktadır. Merkezi rod domainin 4 ana segmenti (1A, 1B, 2A ve 2B), linker bölgeleri ile (L1, L12, L2) birbirine bağlanmaktadır (174).

Desmin bu yapılar dışında, ayrıca kalp kasında interkalat disklerde, olgun iskelet kasında ise nöromüsküler ve miyotendinöz bağlantı bölgelerinde yer almaktadır (150). Kas hücresinin gevşemesi ve kasılması esnasında oluşan bu ağ yapısı sayesinde desmin, hücresel bütünlüğü koruyarak güç aktarımını kolaylaştırmaktadır (112,175). Desmin; homeostasinin ve hücre içi mekanokimyasal sinyal trafiğinin düzenlenmesi, kas farklılaşması ve rejenerasyonu, organellerin hücre içerisinde doğru pozisyonlarda lokalizasyonu için oldukça önemli bir proteindir (176).



Şekil-11. Desminin (sarı) hücre içerisinde oluşturduğu ağ yapısının şematik görüntüsü. (Capetanaki'den uyarlanmıştır (2002) (177,178).

3.2.4.Laminin

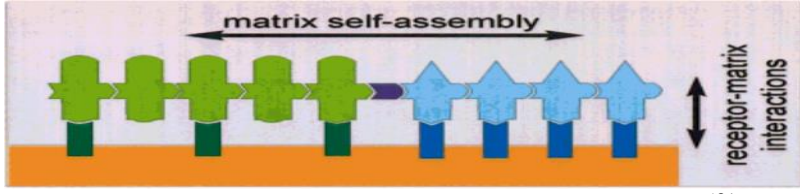
Bazal membranların yapısal iskeletinin ayrılmaz bir parçasını sağlayan Lamininler, hemen hemen her hayvan dokusunda en fazla bulunan glikoprotein ailesidir (179,180). Bazal membrana özgü protein olan laminin hem yapısal hem de biyolojik olarak aktif bir bileşendir. Bazal membranlarda bulunmakla beraber epitel doku, sinir, yağ hücreleri ile düz, çizgili ve kalp kasını çevreleyen ince hücre dışı matrikslerde de önemli miktarlarda bulunur. Tüm bazal membranlar, laminin, kollajen IV, çeşitli heparan sülfat proteoglikanlar ve entaktin/nidojen içeren ortak bir protein seti içerir. Bazal membran ağının gerçek bir yapısal bileşeni olmasının yanı sıra hücre farklılaşması, yapışması, göçü ve çoğalmasında çok sayıda biyolojik fonksiyona sahip en karmaşık ve ilginç hücre dışı matriks bileşeni olduğu ortaya çıkmıştır (181,182).

Laminin Biyolojik Aktiviteleri
Hücre Adezyonu
Hücre Büyümesi
Hücre Morfolojisi
Hücre Farklılaşması
Hücre Kurulu
Hücre Göçü

Tablo-1:Laminin biyolojik aktiviteleri (180)

Bazal membran, embriyogenez sırasında ortaya çıkan ilk hücre dışı matriks olup laminin saptanan ilk matriks proteindir (182). Laminin entegre bir kompleks oluşturmak için bazal membranın bileşenlerine tutunarak bunları birbirine bağlar (180). Hücre yapışması, büyümesi, morfolojisi ve farklılaşması üzerindeki etkilerine aracılık etmede rol oynayabilecek spesifik bir hücre yüzeyi reseptörü laminin için tanımlanmıştır. Laminin, embriyon gelişiminin erken döneminde ortaya çıkarak dört hücreli aşamadaki embriyonda tanımlanır (180). Embriyonun çoğu dokusunda epitelyal morfogenez sırasında erken dönemde ortaya çıkar ve bazı yetişkin dokularda majör epitelyal laminin olarak yaşam boyu kalır (183).

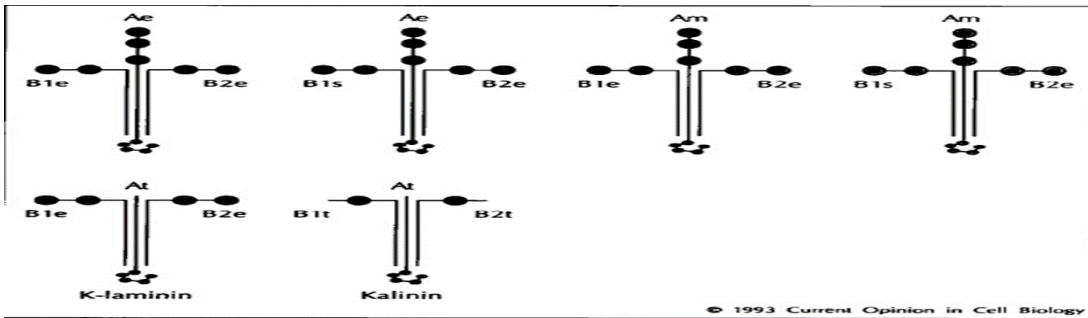
Laminin ile ilgili verilere bakıldığında, bazal membranların embriyonik hücrelerin belirli dokulara ayrılması ve farklılaşmasına izin veren bariyerler oluşturduğu görülmüştür. Laminin molekülü, tümör dokusundan veya plasentadan izole edildiği şekliyle, üç kısa ve bir uzun kollu çapraz şekilli bir yapı olarak görülür. Bu kaynaklardan elde edilen laminin A, B1 ve B2 olmak üzere üç farklı zincir içerir. Bu zincirler için klonlanmış nükleotid dizileri, bu zincirlerin uzunlukları boyunca ardışık olarak düzenlenmiş birkaç farklı alanı içeren homolog yapılar olarak görülür. Ayrıca boyutu ve şekli nedeniyle bazal membranı geçebilir ve hücre yüzeyindeki kollajen IV, heparan sülfat proteoglikanı ve entaktin/nidojen gibi çeşitli maddelere bağlanabilir. Bu maddeler, spesifik bir yüksek afiniteli membran reseptörü ve çeşitli diğer ligandları (heparan sülfat, gangliosidler ve sülfatitler) içerir. Laminin'e bağlanma, hücreye özgü tepkileri ortaya çıkararak salgı hücrelerinin polarize olmasına, nöral hücrelerin akson benzeri süreçleri genişletmesine, çeşitli hücrelerin göç etmesine ve farklılaşmasına neden olur. Bu bulgular, laminin'in önemli bir yapısal ve düzenleyici molekül olduğunu göstermektedir (182)



Şekil- 12. Laminin reseptörlerinin matrikse özel bağlanma şekli ⁽¹⁸⁴⁾

Bazal membran etkileşimleri, hücre dışı matrislerin mimarisini oluşturan iki etkileşim sınıfını gösteren şematik bir modeldir. Bir sınıf, heteropolimerlerin (açık yeşil ve mavi) oluşumuna yol açan yapısal bileşenler arasındaki bağlanma etkileşimlerinden oluşurken diğer sınıf, yapısal bileşenlerin hücre yüzeyi reseptörlerine (koyu yeşil ve mavi) bağlanmasından oluşur. Her bileşen molekülünün bir reseptör tarafından bağlanması gerekmez (sadece bir matris-matris etkileşimi ile bağlanır) ve böylelikle bazal membran mimarisi hücre yüzeyinin acil sınırlarının ötesine uzanabilir (179).

Laminin molekülü çok alanlı özel bir proteindir. Her molekülün 37 nm uzunluğunda birbirine çok benzeyen üç kısa kolu vardır ve her kol iki küresel ve iki çubuk benzeri parça içerir. Ek olarak, laminin, geniş bir küresel alanda sonlanan 77 nm uzunluğunda bir çubuktan oluşan uzun bir kol içerir (182). Laminin, en az altı olduğu bilinen sayısız moleküler izoformunun tanımlanmasıyla yapısının anlaşılması daha zor hale gelmiştir (181).



Şekil-13. Laminin 6 moleküler izoformunun gösterimi ⁽¹⁸¹⁾

4. GEREÇ ve YÖNTEMLER

4.1. Doku Numunelerinin Temini

Çalışmada materyal olarak Tekirdağ ve Diyarbakır illerinde hizmet veren özel mezbahalarda günlük kesimler sırasında aynı yemle beslenen 24 aylık erkek ve dişi koyun ve ineklerden alınan 10'ar adet dil kullanılmıştır. Öncelikle alınan dil örnekleri apeks, corpus, torus ve radiks olarak dört bölüme ayrılmıştır. Sonrasında her bir dilin apeks, gövde, torus ve radix bölümlerinden sırasıyla iki özdeş doku örneği (5 x 5 x 5 mm boyutunda) alınmıştır. Ele alınan doku örnekleri dilin tüm katmanlarını ve yapılarını araştırmak için mukozal, submukozal ve kas katmanlarını içerecek şekilde düzenlenmiştir.

4.1.2. Histolojik analiz ve boyama

Hayvanlardan alınan dil dokuları % 10'luk formol-alkol solüsyonunda 18 saat boyunca tespit işlemine tabii tutuldu ve sonrasında dokular bir gün boyunca çeşme suyu altında yıkandı. Yıkama işlemini takiben dokular dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek içerisinde benzol bulunan erimiş parafin içinde 58 °C inkübatörde 30 dk boyunca bekletilip ardından da temiz, erimiş parafin içerisinde 58 °C etüvde 4 saat bırakıldı. Daha sonra dokular sıvı parafine gömülerek bloklar haline getirildi. Hazırlanan parafin bloklarından rotary mikrotomunda (Leica RM-2125, Germany) kalınlığı 5µm olacak şekilde seri kesitler alındı. Bu kesitlerden birincisi normal lama alınarak Crossman'ın üçlü boyaması ile boyandı ve dilin genel mukoza yapısı, papillalar, bezler ve kaslar belirlendi (185).

4.1.3. İmmunohistokimyasal analiz

Hazırlanan diğer kesitler ise, 3-aminopropyl-triethoxysilane (APES) ile kaplanmış olan lamlara alındı. Adesivli lamlara alınan seri kesitlere CK8, CK18, CK19, vimentin, desmin ve laminin proteinlerini immunohistokimyasal olarak göstermek için indirek streptavidin-biotin kompleks yöntemi uygulandı (186). Seri kesitler lamlar içinde kasetlere yerleştirilerek 5'er dakikadan toplamda on dakika ksilolde deparafinizasyon işlemi uygulandı. Sonrasında dehidrasyon işlemini gerçekleştirebilmek amacıyla dokular, yüksekten düşüğe doğru olacak şekilde dereceli alkollerden geçirildi ve ardından distile suya alındı. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini gidermek amacıyla 20 dakika süresince metanol ile hazırlanmış %3'lük

H₂O₂'de bekletildi. Sonrasında preparatlar üç defa 5'er dk boyunca 0.01M Fosfat Buffer Saline (PBS)'de yıkandı. Akabinde, antijen retrieval işlemini gerçekleştirebilmek amacıyla sitrat tamponu (0.01 M, pH 6) hazırlanıp, kesitler 95°C'de 20 dk süreyle kaynatıldı ve takiben soğuması için bekletildi. Kesitler soğuyunca 0.01M phosphate buffer saline (PBS)'de yıkandı ve dokularda spesifik olmayan boyanmayı engellemek için de protein blocking çözeltisi (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Corporation) ile oda ısısında 15 dk. süresince inkübasyona tabii tutuldu. Sonrasında kesitler sitokeratin, vimentin, laminin için 1/100 desmin için 1/25 oranında seyreltilmiş primer antikorlarla (Tablo-2), kontrol preparatları ise PBS ile bir gece boyunca +4°C'de inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon ardından preparatlar 0.01M PBS'de 5 dk süresince üç defa yıkandı ve ardından da oda sıcaklığında 20 dk boyunca biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile uygulamaya tabi tutulup primer antikora bağlanma sağlandı. Bu işlemde sonra preparatlar tekrar 0.01M PBS'de 5 dk süresince üç kez yıkandı ve sonrasında streptavidin peroksidaz solüsyonunda (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dk reaksiyona tabi tutulup sonra da son defa 0.01M PBS'de 5 dk boyunca üç defa yıkandı. Kesitlerde ortaya çıkacak antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek için diaminobenzidine (DAP) kromojende 5-10 dk bekletildi. Sonrasında antijen-antikor reaksiyonunu göstermek için preparatlar 3'3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) ile 5-15 dk arasında inkübasyona alındı ve immunoreaksiyonun kontrolü yapıp preparatlar distile suya alınarak reaksiyon durduruldu. Zemin boyaması için preparatlar Mayer's Hematoksilende 2-3 dk bekletilip hemen arkasından da akan suda yıkandı. Daha sonra distile suda da yıkanan preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilip xylenele parlatılıp entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal işlemlerin özgüllüğü, pozitif ve negatif kontrol kullanılarak değerlendirildi. Negatif kontrollerde primer antikor yerine PBS kullanılarak inkübasyon sağlandı. Pozitif kontrol olarak sitokeratinler için rat, insan meme, inek abomasum ve insan prostat tümör dokusu, vimentin için boğa testis ve inek abomasum dokusu, desmin için kas dokusu ve laminin için de inek abomasumu kullanıldı. Boyanmış preparatlar dijital kamera (Nikon Coolpix 4500) ile donatılmış Nikon Eclipse E400 (Nikon, Tokyo, Japonya) araştırma mikroskobu kullanılarak fotoğraflandı.

Antikörün Adı	Antikörün Türü	Katalog Numarası
Anti-Cytokeratin 8 (C-43)	Mouse monoclonal	Abcam, ab2530
Anti-Cytokeratin 18 (C-04)	Mouse monoclonal	Abcam, ab668
Anti-Cytokeratin 19	Mouse monoclonal	Thermo Scientific, A53-B/A2.26 (Ks19.1)
Desmin (muscle cell marker)	Mouse monoclonal	Thermo Scientific, Ab-1
Laminin	Rabbit polyclonal	Novus Biologicals, NB300-144
Vimentin	Mouse monoclonal	Thermo Scientific, MS-129-R7

Tablo-2: Kullanılan antikörlere ait bilgiler

4.1.4. İmmunohistokimyasal boyanma sonuçlarının değerlendirilmesi

4.1.4.1.Yarı kantitatif değerlendirilme

İmmunohistokimyasal boyanmalar, yoğunluk skoruna (Intensity score) göre semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme ile sitokeratin, vimentin, desmin ve laminin ekspresyonlarının tespiti pozitif reaksiyon gösteren hücrelerde yarı kantitatif olarak yapıldı (187–189,198). Yoğunluk skorunda hücrelerdeki pozitif boyanma yoğunlukları 4 seviyede skorlandı.

-: Negatif (Yüksek büyütme objektifte hiçbir hücrede boyanma yok)

+: Zayıf (Sadece yüksek büyütme objektifte görülen boyanmış hücreler)

++: Orta (Düşük büyütme objektifte kolaylıkla görülen boyanmış hücreler)

+++ : Güçlü (çok düşük büyütme objektifte görülen boyanmış hücreler)

Hücrelerdeki immün boyanma reaksiyonlarının yoğunluk skoru iki bağımsız araştırmacı tarafından belirlendi (B.G.S, F.Ç). Boyanmış dil kesitleri CK8, 18,19, vimentin, desmin ve laminin ekspresyonlarında en yoğun boyanma alanlarını belirlemek için önce düşük güçte (x100 büyütme), sonra daha büyük (x200, x400) objektif büyütmede tarandı. Her bir dil kesiti için üç rastgele alan seçildi ve incelendi. Sonuç olarak; dil dokusunda bez ve kanal epiteli, tad tomurcukları, papillalar, stromal, kas hücreleri ile damar ve sinir hücreleri değerlendirildi (Tablo-3).

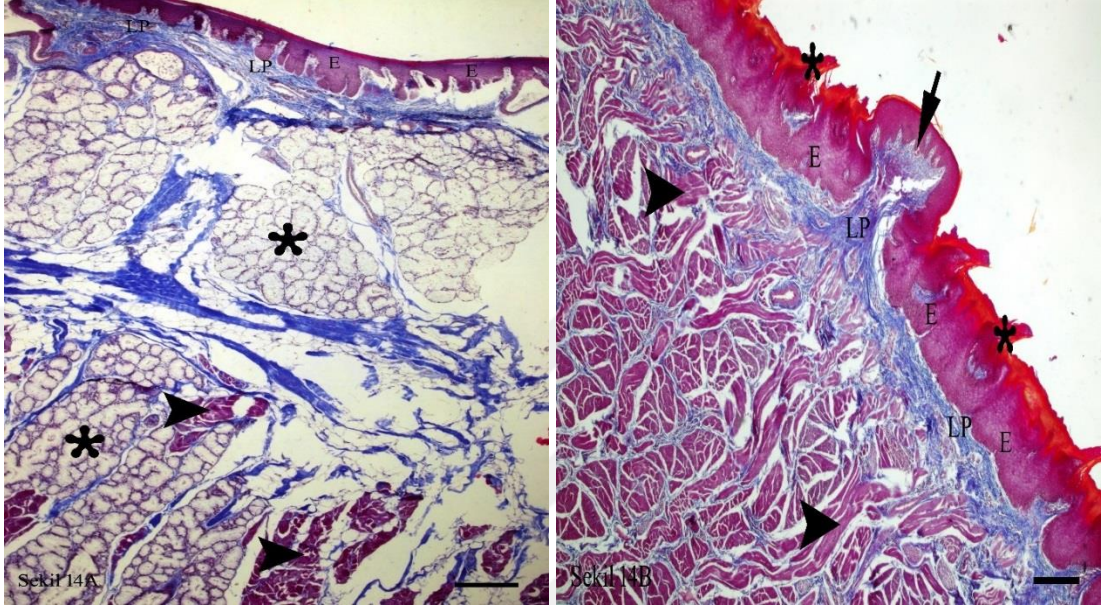
Perifer Sinirler	Kan Damarı Düz Kası	Kan Damarı Endoteli	Aktıcı Kanallar	Saf Müköz Bezler	Von Ebner Bezleri	Seröz Müköz Bezler	İskelet Kasları	Bağdoku	Tat Tomurcukları	Epitel	Dilin bölümleri	
											İnek	Koyun
++	N	N	+++	N	++/+++ +	++/N	N	N	N	N	CK8	
++	N	N	+++	N	++/+++ +	++/N	N	N	N	N	CK8	
++	N	N	+++	++	+++	++- +++/N	N	N	N	N	İnek	Koyun
++	N	N	+++	++	+++	++- +++/N	N	N	N	N	İnek	Koyun
N	N	N	++	N	++	+/N	N	N	N	N	CK19	
N	N	N	++	N	++	+/N	N	N	N	N	İnek	Koyun
+++	+++	+++	N	N	++	++/N	N	+++	N	N	Vimentin	
+++	+++	+++	N	N	++	++/N	N	+++	N	N	İnek	Koyun
N	+++	N	N	N	N	N	+++	N	N	N	Desmin	
N	+++	N	N	N	N	N	+++	N	N	N	İnek	Koyun
+++	+++	+++	+++	++	+++	++/N	+++	+++	+++	+++	İnek	Koyun
+++	+++	+++	+++	++	+++	++/N	+++	+++	+++	+++	İnek	Koyun

Tablo 3: İnek ve koyun dillerinde intermedier flamanların immunohistokimyasal ekspresyonlarına ait semikantitatif skorlama.

5. BULGULAR

5.1.Dilin Yapısal Özellikleri (histokimyasal görünüm)

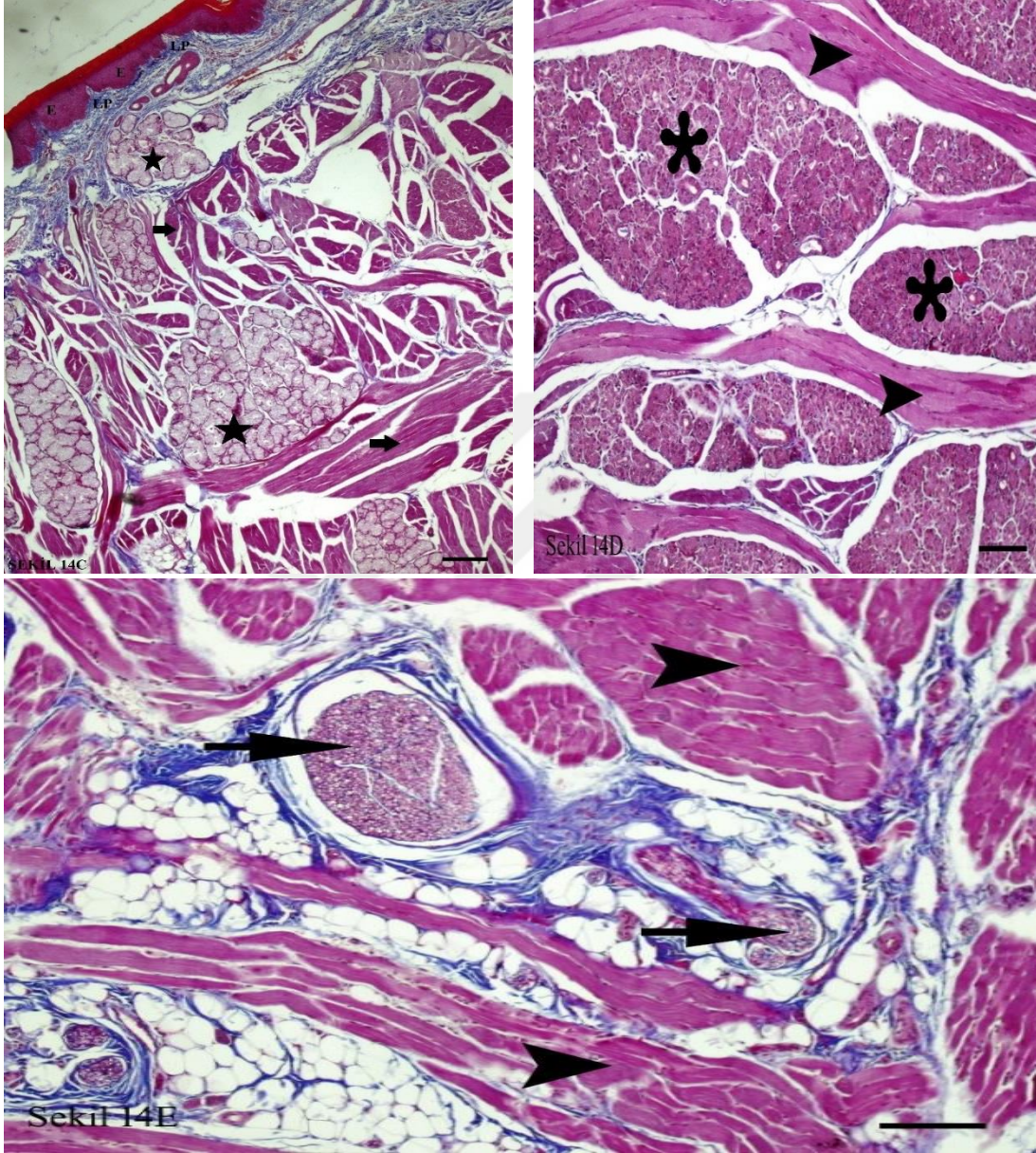
İnek ve koyun dillerinde dilin üst yüzey mukozasında çok katlı yassı keratinize epitel üzerine yerleşmiş papilla yapıları görüntülendi (şekil 14 A, B).



Şekil 14A: İnek dilinin genel görünümü, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Müköz bez, Ok Başı: Papilla muskularis. Üçlü boyama, Bar:100 µm.

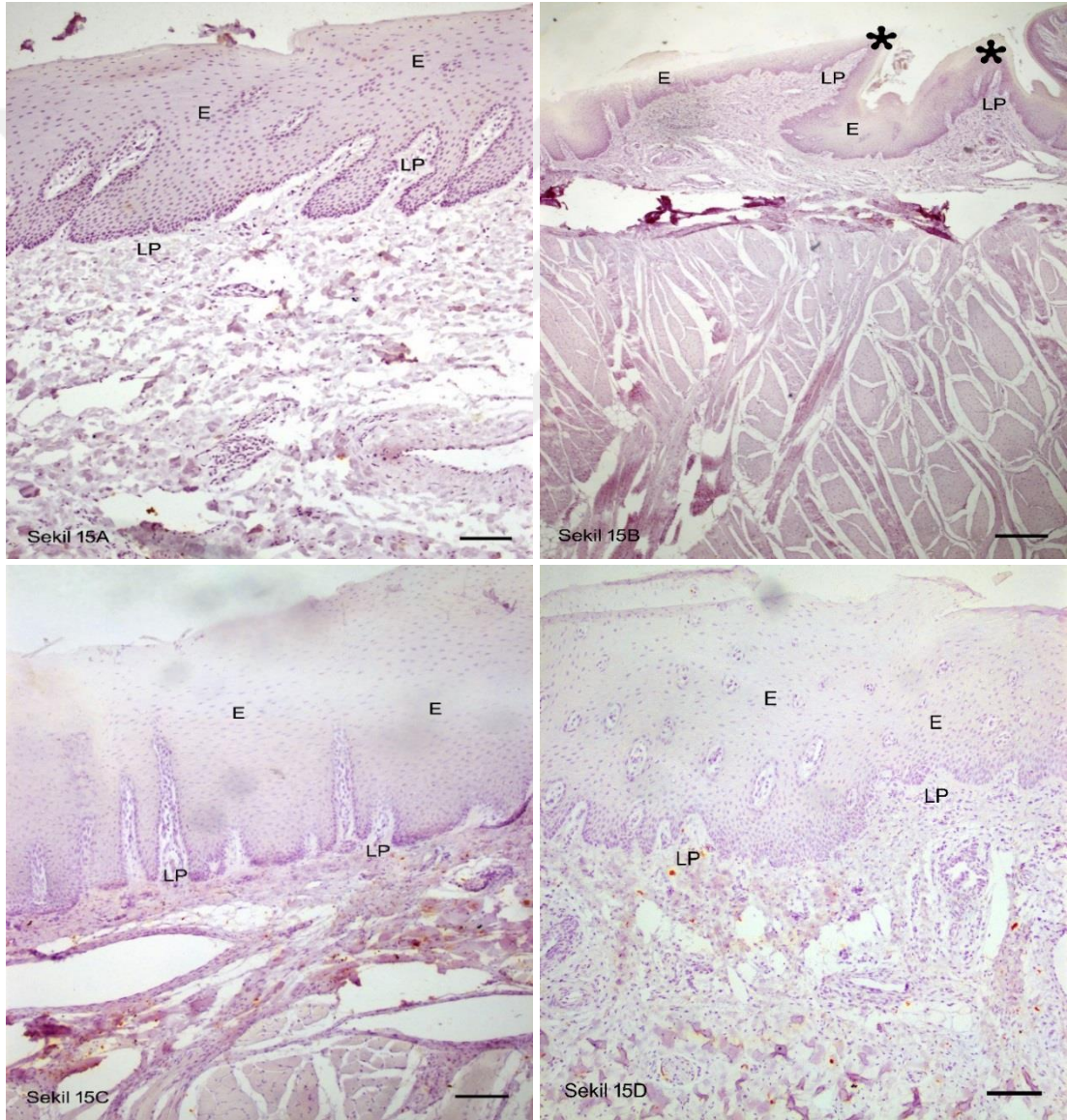
Şekil 14B: Koyun dilinin genel görünümü, E: Epitel, Ok: Papilla fungiformis, *: Papilla filiformis, LP: Lamina propriya, Ok Başı: Lamina muskularis. Üçlü boyama, Bar: 100 µm.

Epitelin altında bağdoku içerisinde çeşitli bağ doku hücreleri, seröz, müköz ve serö-müköz karakterde bezler ve akıtıcı kanallar ile longitudinal, servikal ve transversal geçen iskelet kas görüntüsü izlendi (Şekil 14 C, D, E).

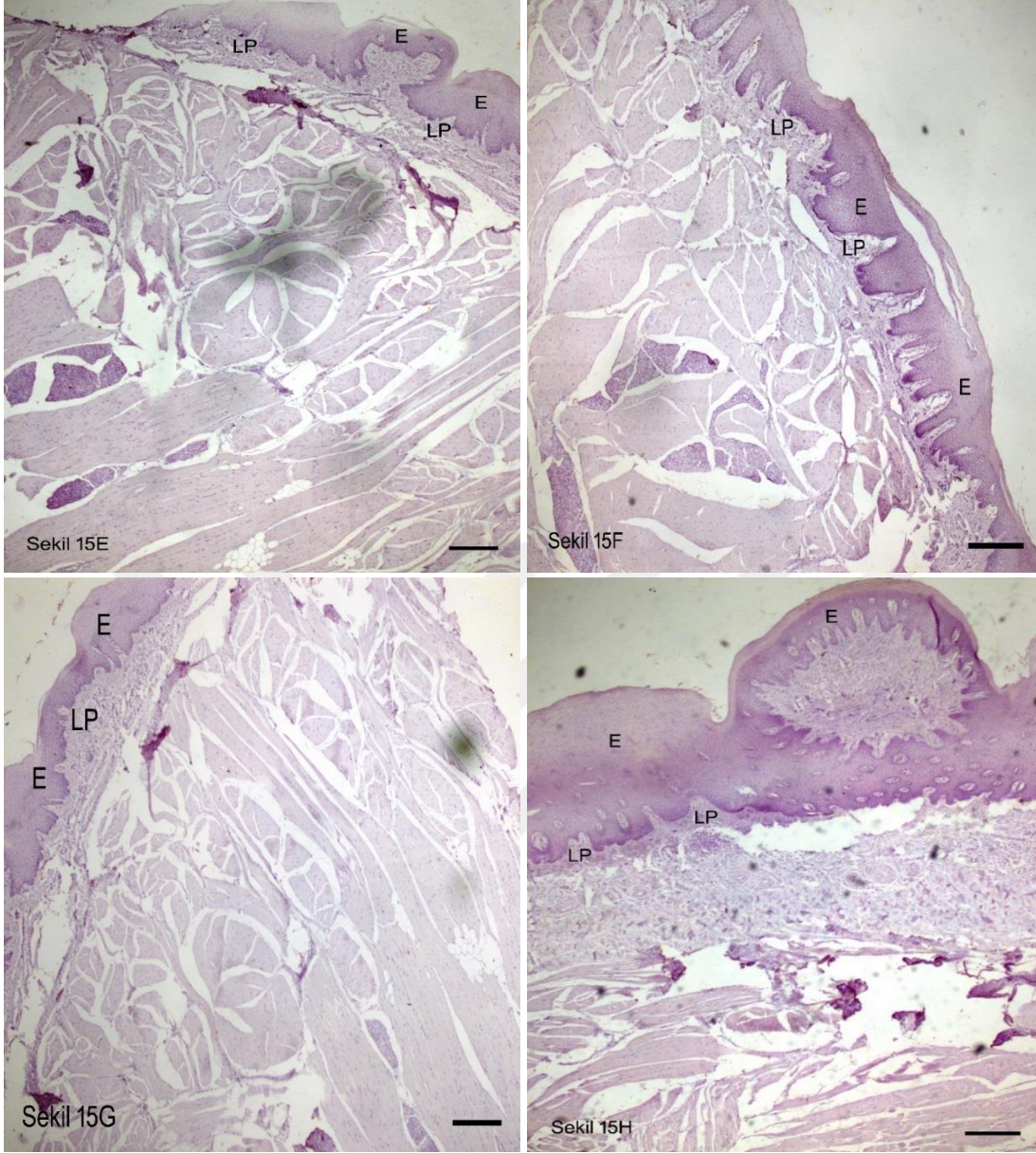


5.2. İmmunohistokimyasal Ekspresyonlar

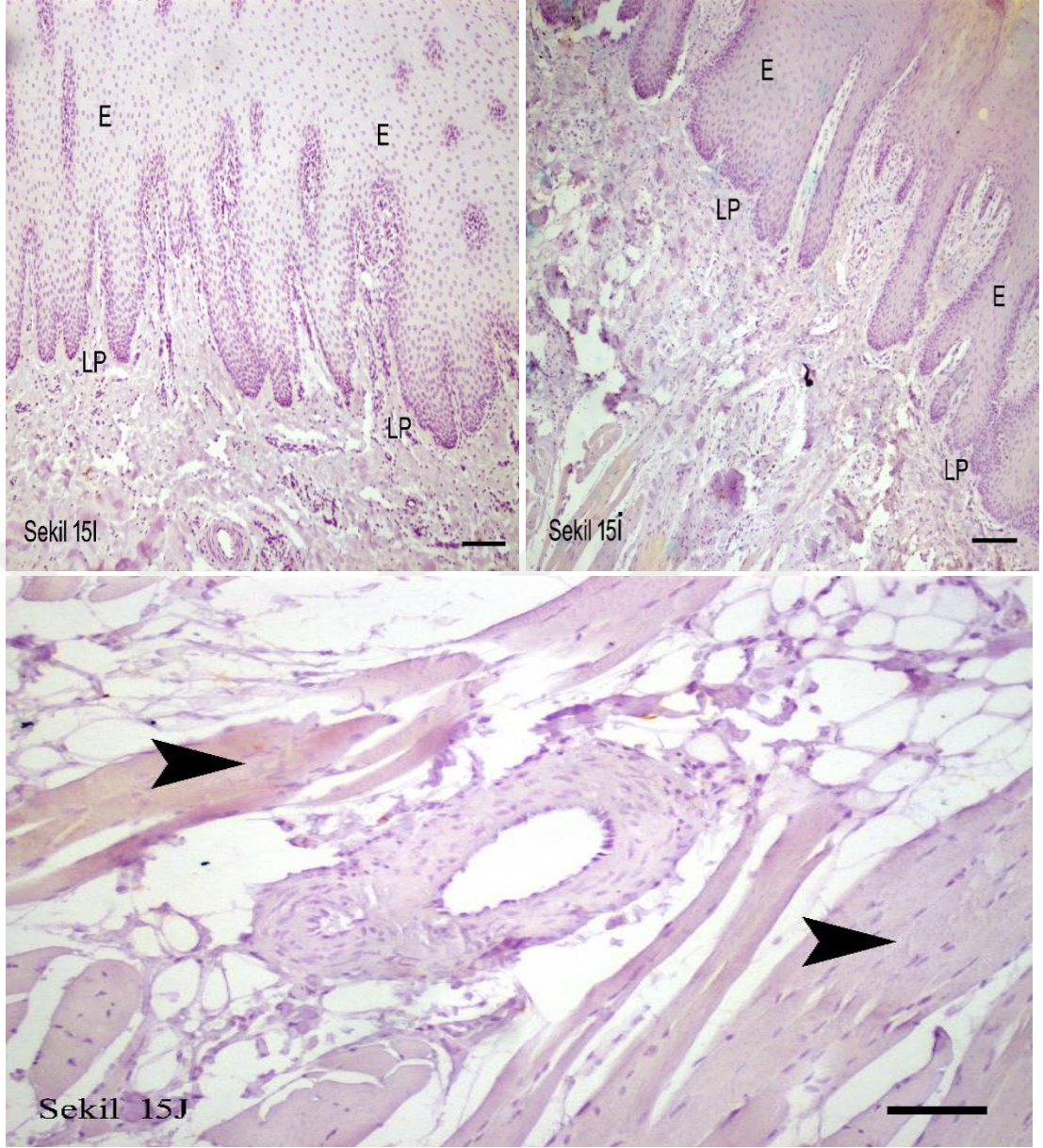
Bütün gruplar için kullanılan negatif kontrollerde immunoreaksiyon gözlenmezken (Şekil 15A, B, C, D, E, F, G, H, I, J) pozitif kontrollerde immunohistokimyasal ekspirasyonlar dikkati çekti (Şekil 16 A, B, C, D, E, F, G, H, I). Çalışmada, inek ve koyun dillerinde incelenen alanlarda sitokeratin 8, 18, 19 ile vimentin, laminin ve desmin lokalizasyonlarının membran ve sitoplazmik düzeyde olduğu ayrıca da immunoreaktivite dağılımlarında inek ve koyun ile dişi-erkek arasında bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.



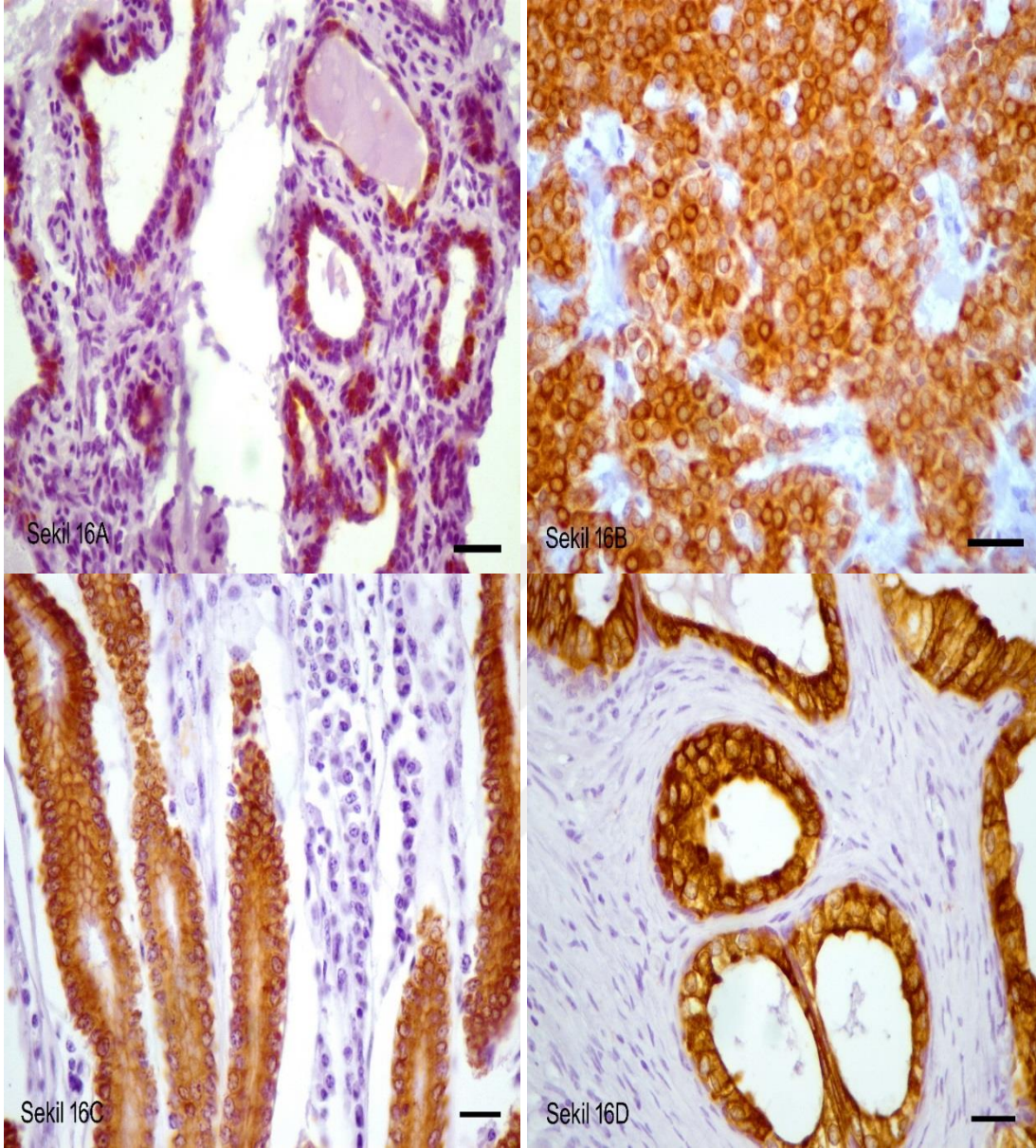
Şekil 15: CK 8 için inek dilinde (A, Bar: 50 µm) ve koyun dilinde (B, Bar: 50 µm), CK 18 için inek dilinde (C, Bar: 50 µm) ve koyun dilinde (D, Bar: 50 µm), immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Gill Haematoksilen.



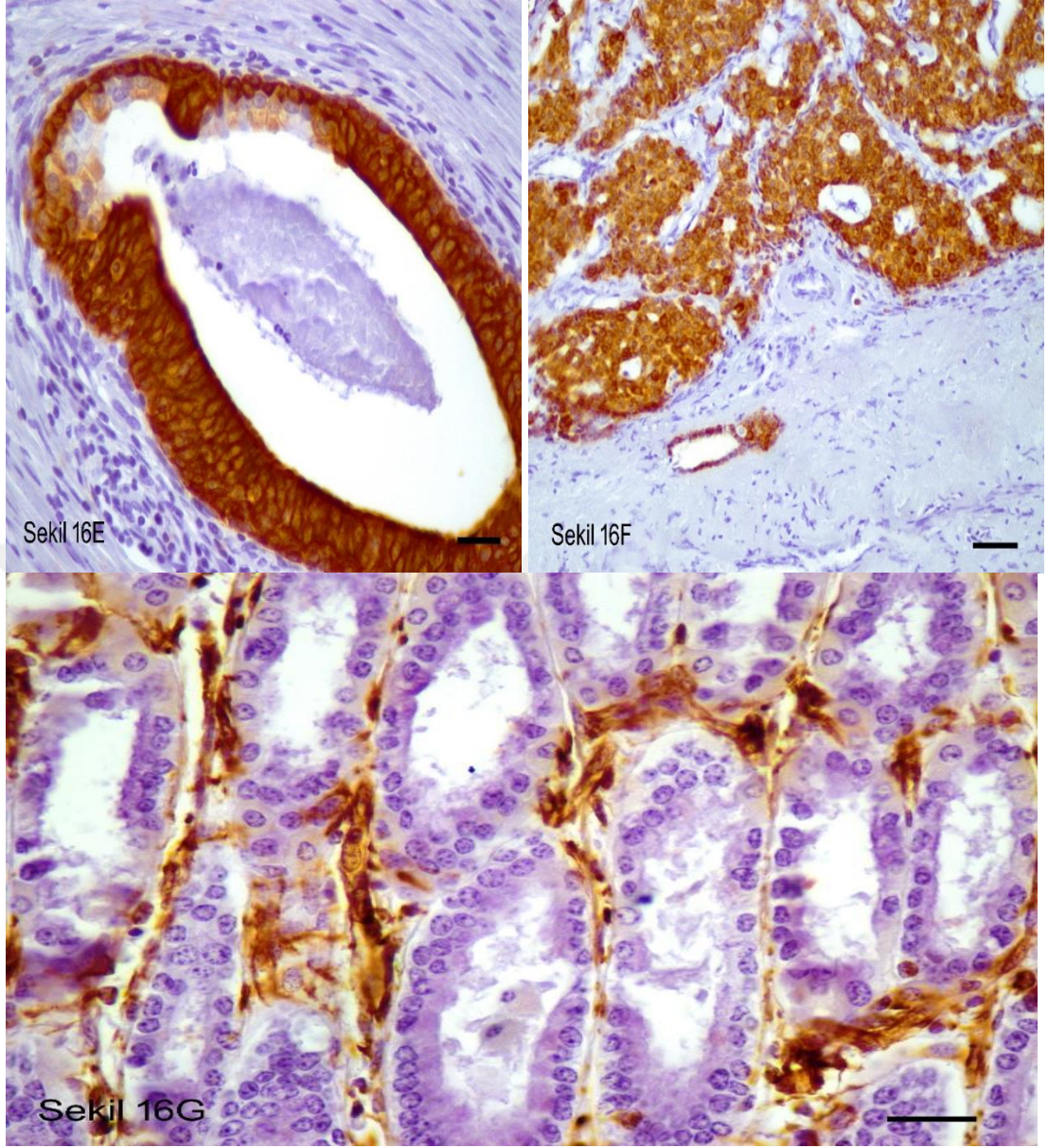
Şekil 15: CK 19 için inek dilinde (E, Bar: 100 μ m) ve koyun dilinde (F, Bar: 100 μ m), Vimentin için inek dilinde (G, Bar: 100 μ m) ve koyun dilinde (H, Bar: 100 μ m) immunohistokimyasal boyanmanın görülmediği negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Gill Haematoksilen.



Şekil 15: Laminin için inek dilinde (I, Bar: 100 µm) ve koyun dilinde (İ, Bar: 100 µm), Desmin için inek dilinde (J, Bar: 100 µm) immunohistokimyasal boyanmanın görülmeyen negatif kontrol, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok Başı: Lamina muskularis, Gill Haematoksilen.



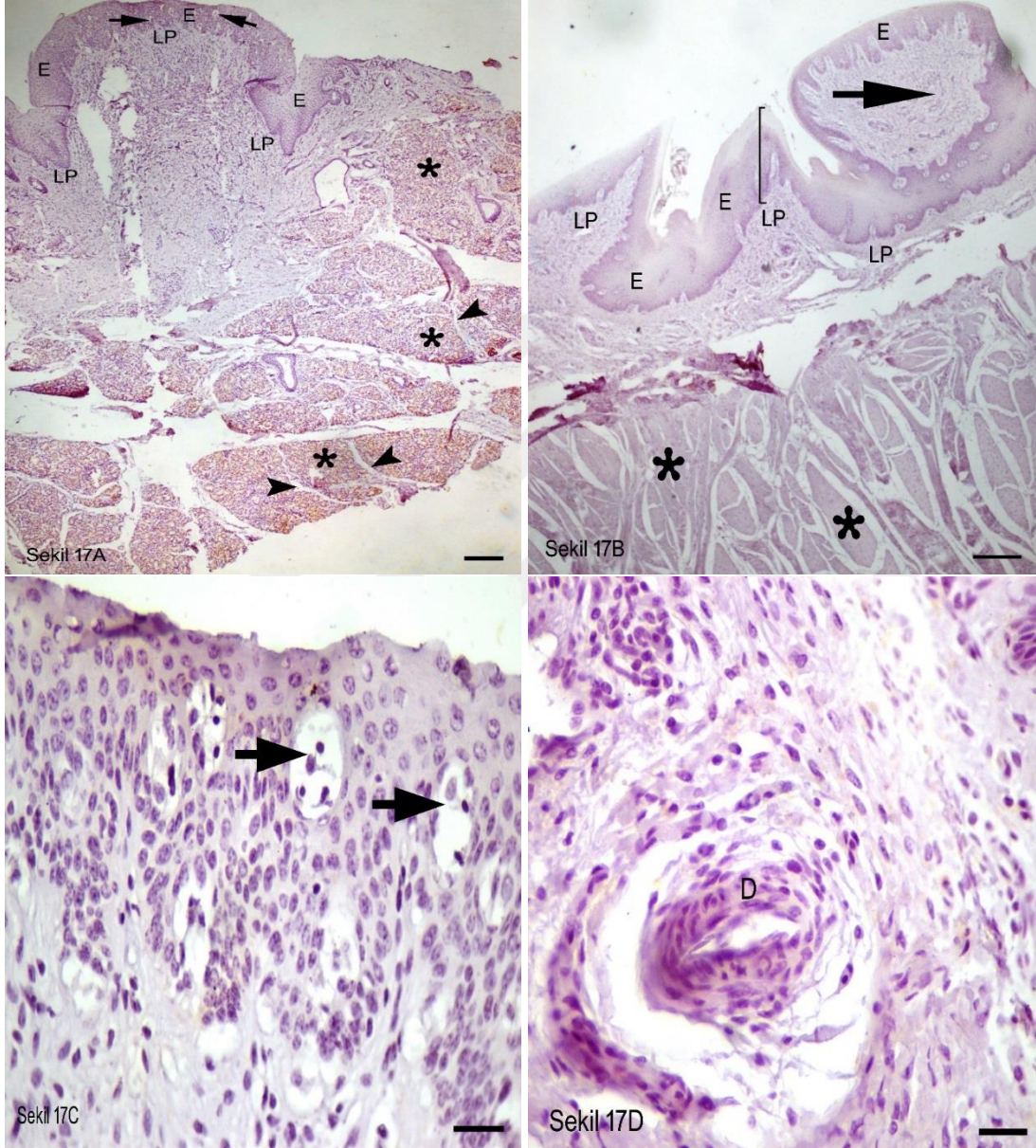
Şekil 16: CK 8 pozitif kontrol için normal rat meme dokusu (A, Bar: 50 μ m) ve insan meme karsinomu (B, Bar: 50 μ m), CK18 pozitif kontrol için inek abomasum (C, Bar: 25 μ m) ve insan prostat kanser dokusu (D, Bar: 25 μ m).



Şekil 16: CK 19 pozitif kontrol için insan meme karsinomu (E, Bar: 50 μ m) ve insan meme karsinomu (F, Bar: 50 μ m), Vimentin pozitif kontrol için inek abomasum (G, Bar: 25 μ m).

5.3.Sitokeratin 8 (Ck8)

İnek ve koyun dil dokusunun hem üst hemde alt yüzeyini kaplayan epitel katmanlarında, papillalarda, tad tomurcuklarında, bağdoku hücrelerinde, kas tabakasında, damarlarda immunoreaksiyon belirlenmedi (Şekil 17 A, B, C, D).



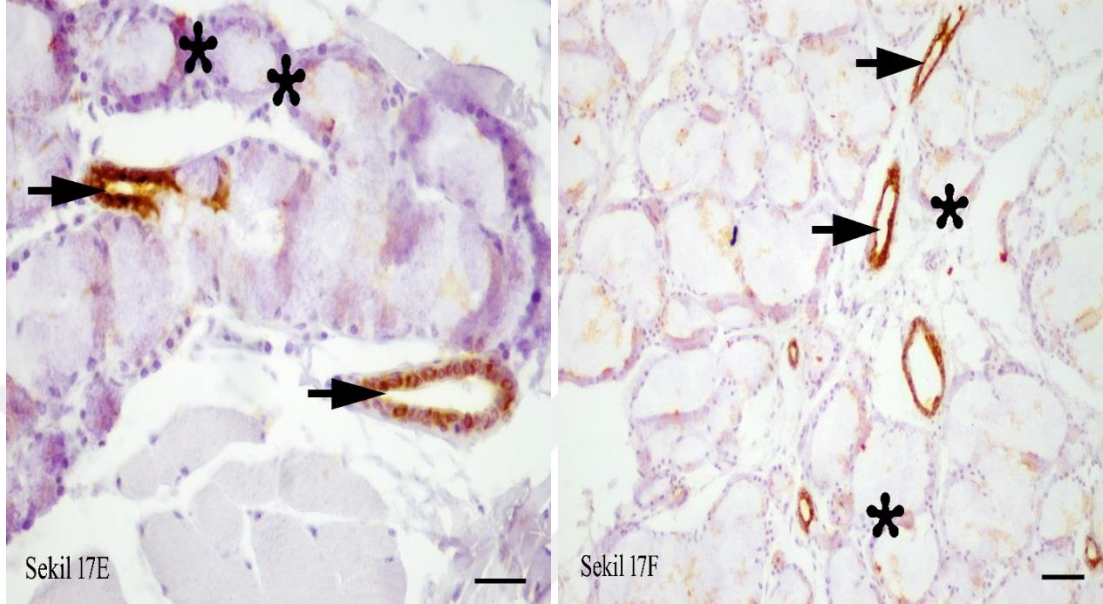
Şekil 17A: İnek dilinde apeks bölgesinde CK 8 ile negatif ve pozitif reaksiyon veren alanlar, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Tat tomurcuğu, *: Seröz bez, Ok Başı: Kanallar, Bar: 100 µm.

Şekil 17B: Koyun dilinde apeks bölgesinde CK 8'in negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, [: Papilla filiformis, Ok: Papilla fungiformis, *: Lamina muskularis, Bar: 100 µm.

Şekil 17C: İnek dilinde apeks bölgesinde CK 8 ile negatif reaksiyon veren tad tomurcukları, Ok: Tat tomurcuğu, Bar: 25 µm.

Şekil 17D: Koyun dilinde CK8 ile negatif sonuç veren damar dokusu, Bar: 25 µm. D: Damar (Arter)

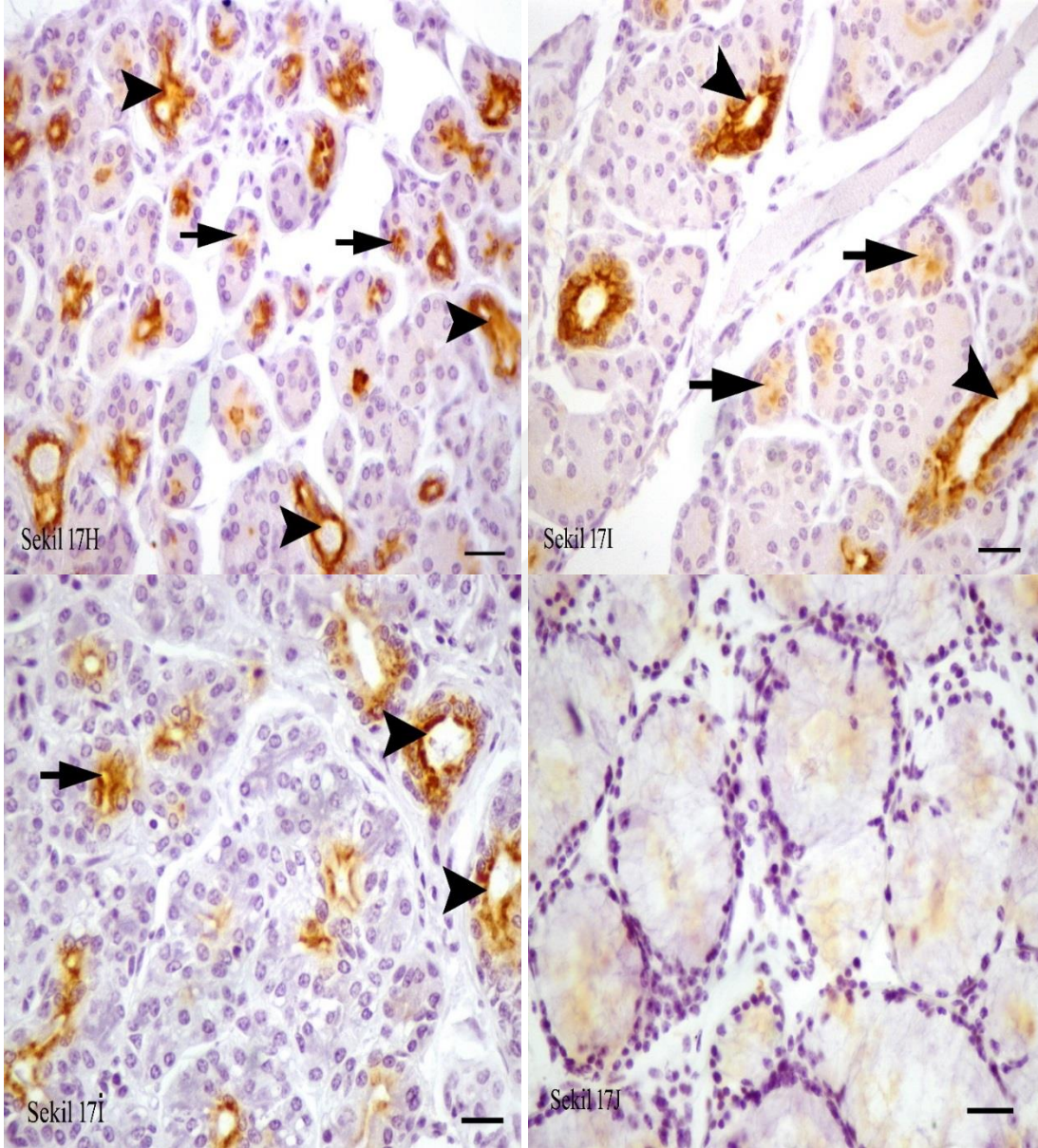
Submukoza içinde ve kas telleri arasındaki bağdokuda bulunan serö-müköz bezlerin seröz parçasının bazılarında bez epitel hücrelerinde orta derecede bir boyanma izlenirken müköz bezlerde izlenmedi (Şekil 17 E, F).



Şekil 17E: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 8 lokalizasyonu, *: Serö-müköz bez, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17F: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 8 lokalizasyonu, *: Serö-müköz bez, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Saf seröz Von Ebner bez epitel hücrelerinde boyanma yoğunluğunun orta dereceden kuvvetli yoğunluğa olacak şekilde ve özellikle de hücrelerin lümene bakan apikal kısımlarında yoğunlaştığı, müköz bez çekirdeklerinde ise immunoreaksiyonun oluşmadığı tespit edildi (Şekil 17 H, I, İ, J, K).

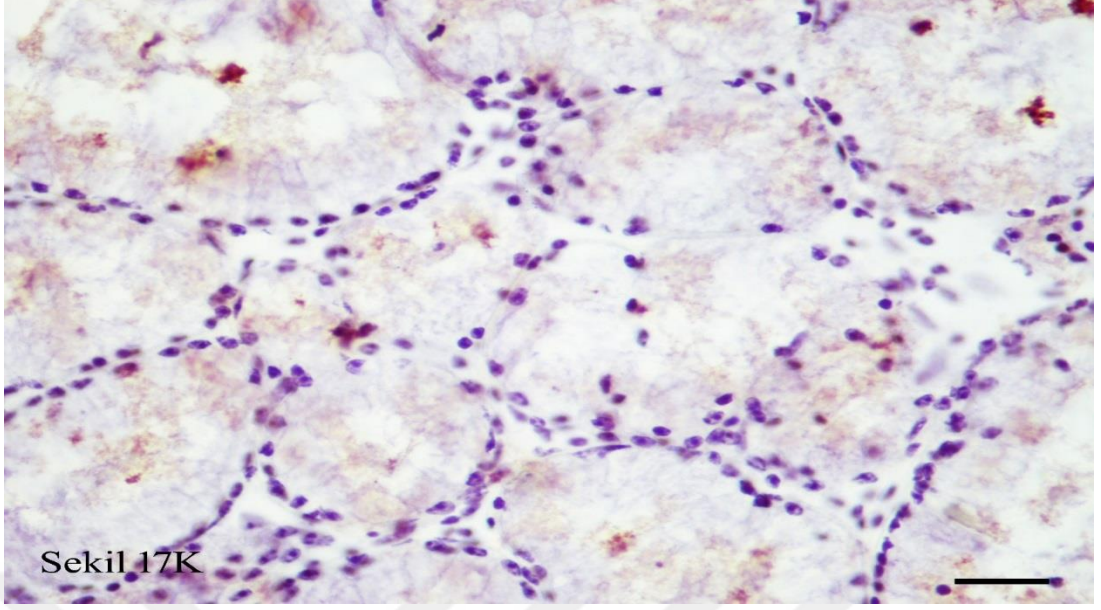


Şekil 17H: Koyun dilinde torus bölgesinde seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Ebner bezleri, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 17I: İnek dilinde torus bölgesinde seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Ebner bezleri, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

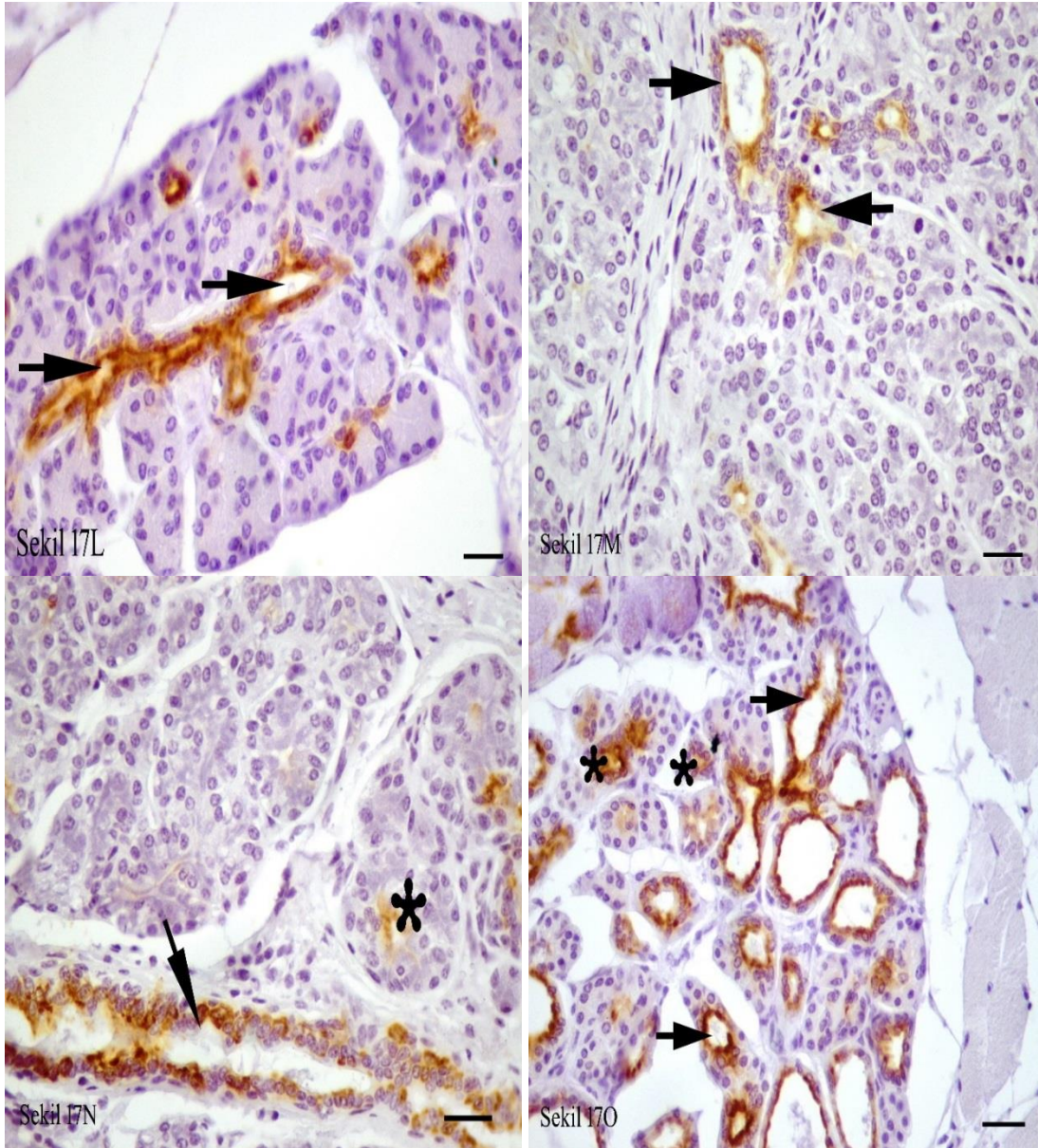
Şekil 17İ: İnek dilinde torus bölgesinde seröz von ebner bezlerinde CK 8 lokalizasyonu, Ok: Ebner bezleri, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 17J: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 8 görünümü, Bar: 25 µm.



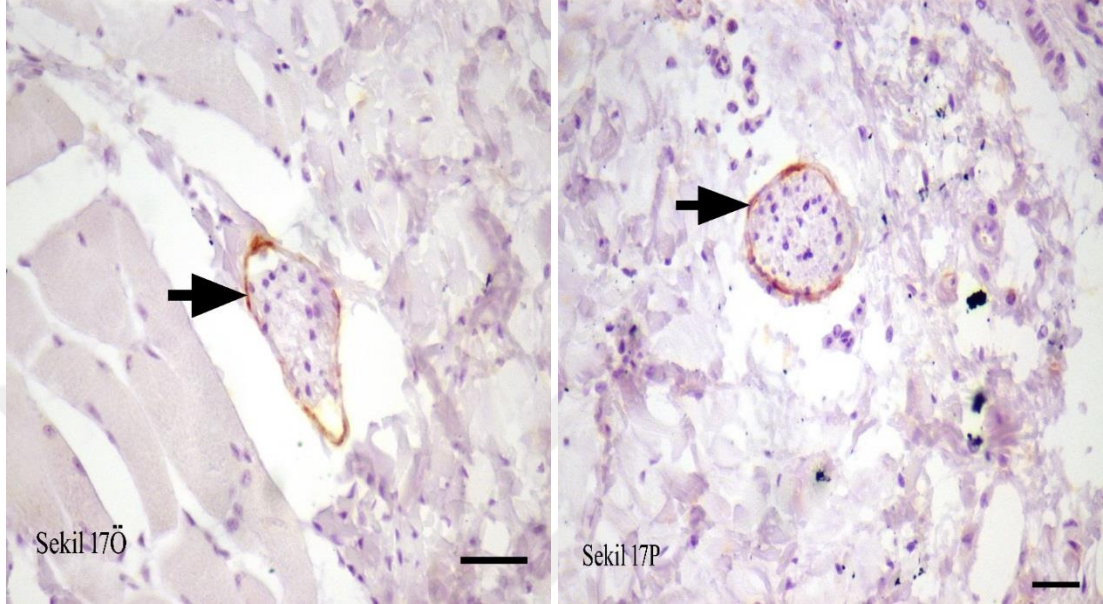
Şekil 17K: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 8 görünümü, Bar: 25 µm.

Bezlerin akıtıcı kanal epitellerinde immunreaksiyonun kuvvetli olması dikkate değerd (Şekil 17 L, M, N, O).



Şekil 17: İnek dilinde (L) ve koyun dilinde (M) akıtıcı kanalda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Akıtıcı kanal, Koyun dilinde Seröz Ebner bezi (N) ve İnek dilinde Seröz Ebner bezi (O) Bar: 50 µm. *:Seröz Von Ebner bezi

Bağdoku içerisinde yerleşmiş perifer sinir kesitlerinde, sinir demetini dıştan çevreleyen fibröz kılıf epinörium da orta yoğunlukta pozitif boyanmanın olduğu da gözlemlendi (şekil 17 Ö, P).

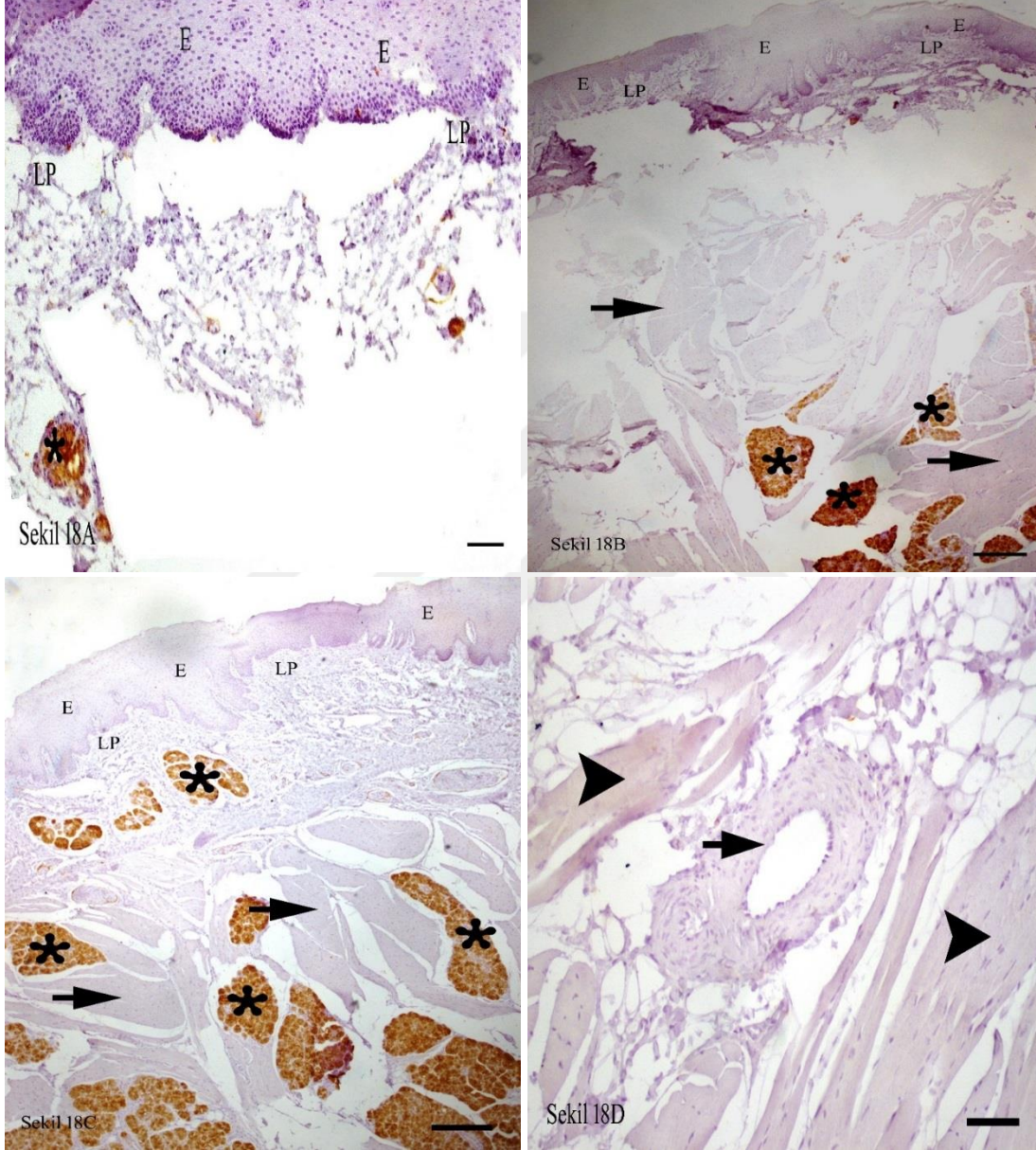


Şekil 17Ö: İnek dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

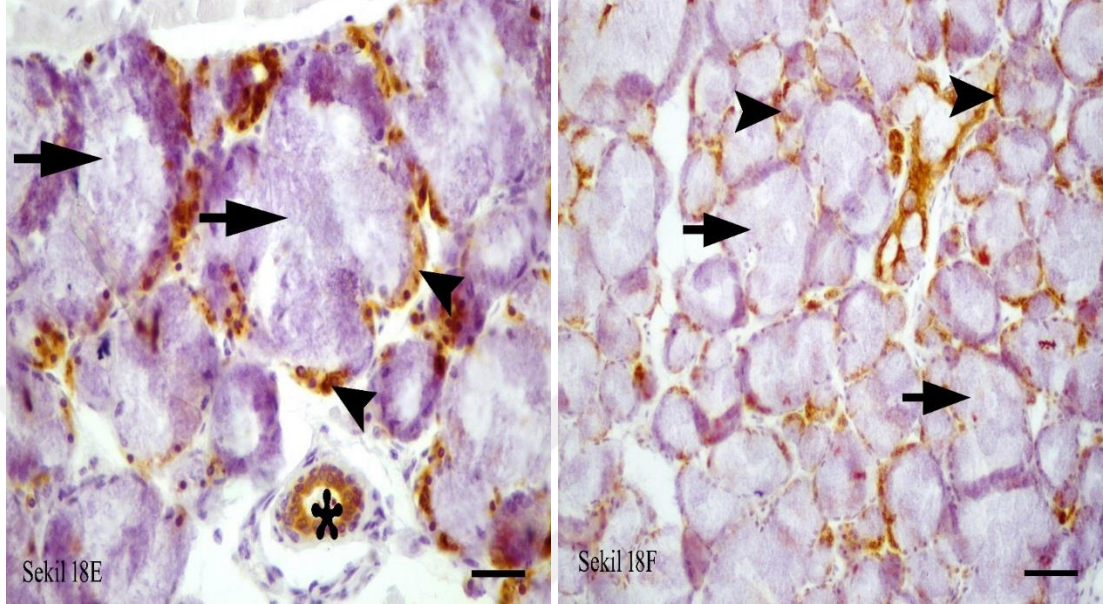
Şekil 17P: Koyun dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 8 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

5.4. Sitokeratin 18 (CK 18)

CK 8 gibi CK 18 de de inek ve koyun dilinde epitelde, papillalarda, tad tomurcuklarında, bağdoku hücrelerinde, kas tabakasında, damarlarda immunoreaksiyonun negatif olduğu görüldü (Şekil 18 A, B, C, D).



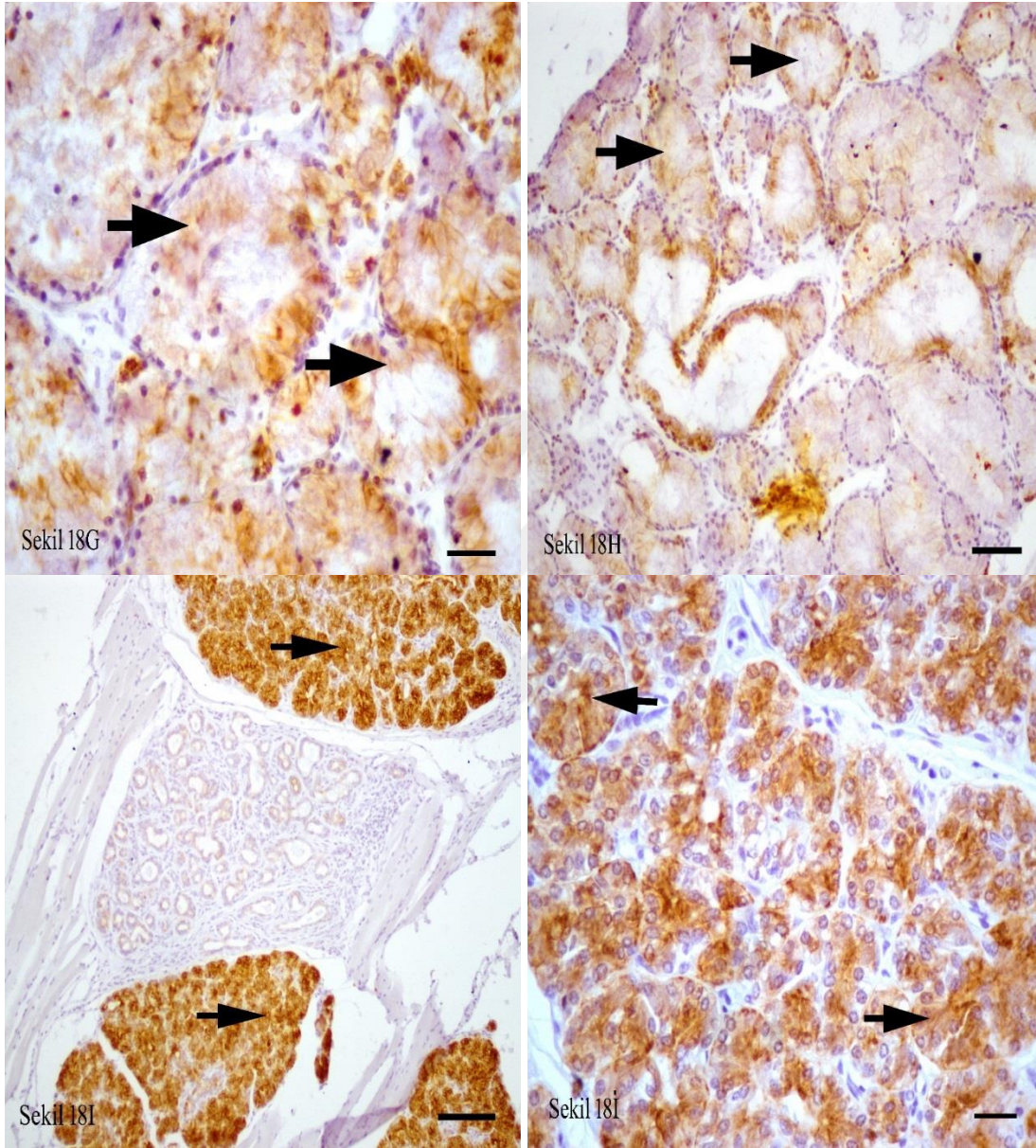
Serö-müköz bezlerin seröz kısmında bez epitel hücrelerinde ortadan güçlüye doğru bir yoğunlukta boyanma izlenirken, müköz bölümde negatif boyanma belirlendi (Şekil 18 E, F).



Şekil 18E: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 18 lokalizasyonu, Ok Başı: Seröz kısım, Ok: Müköz kısım, *: Akıtcı Kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 18F: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 18 lokalizasyonu, Ok Başı: Seröz kısım, Ok: Müköz kısım, Bar: 50 µm.

Müköz bez epitel hücrelerinde orta derecede bir boyanma izlenirken, seröz Von Ebner bez epitel hücrelerinde ise kuvvetli boyanma belirlendi (Şekil 18 G, H, I, İ, J).

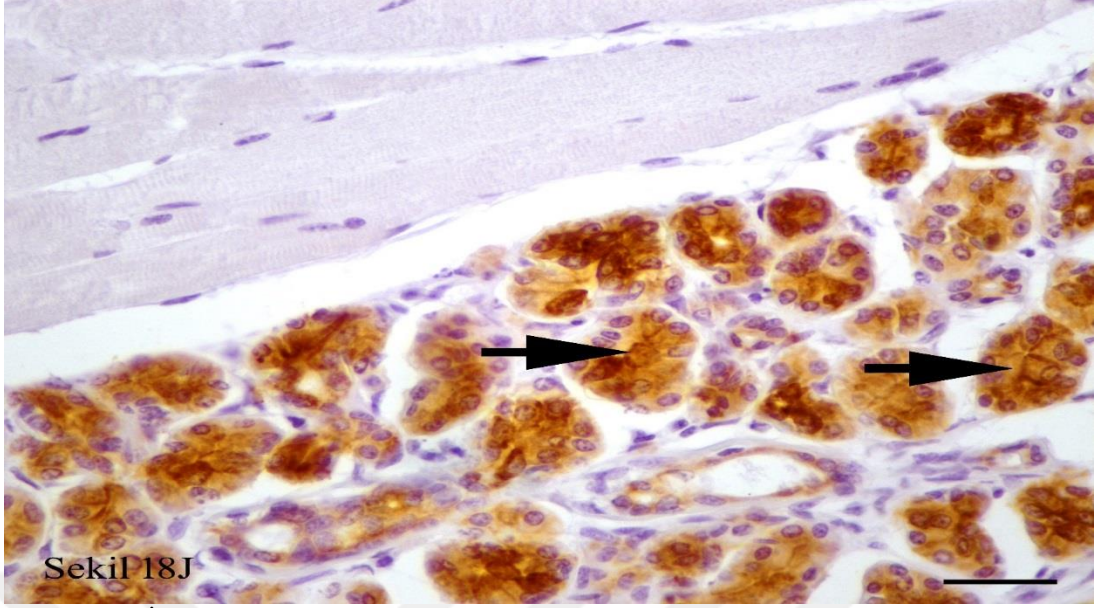


Şekil 18G: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde CK 18 immunolokalizasyon, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18H: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde CK 18 immunolokalizasyon, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 18I: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 100 µm.

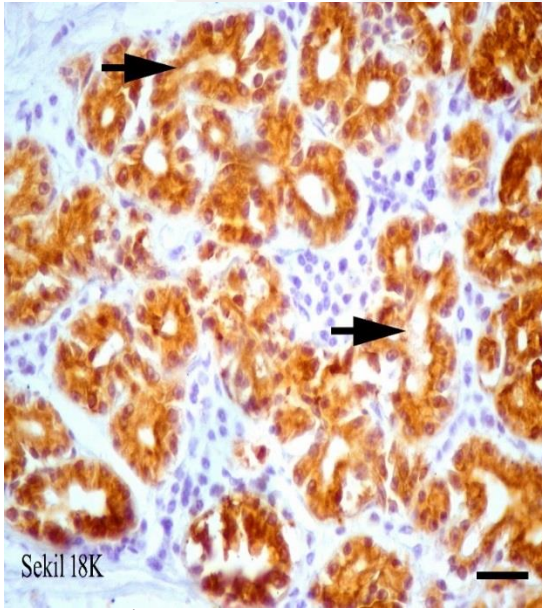
Şekil 18İ: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.



Sekil 18J

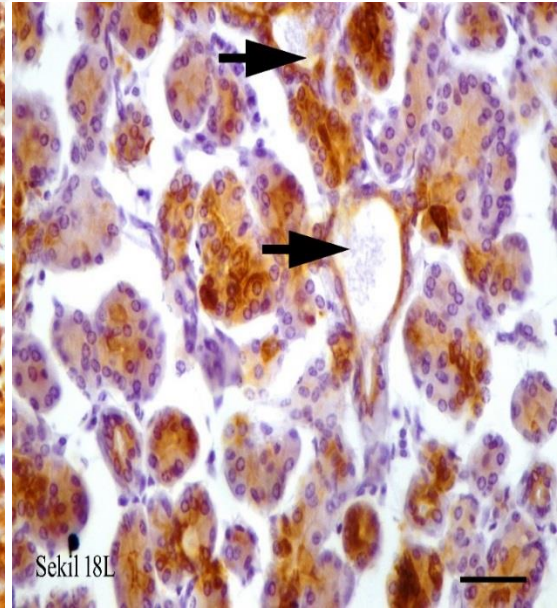
Şekil 18J: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde gözlenen CK 18 immunoreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Bezlerin akıtıcı kanal epitellerinde yoğun boyanma görüldü (Şekil 18 K, L).



Sekil 18K

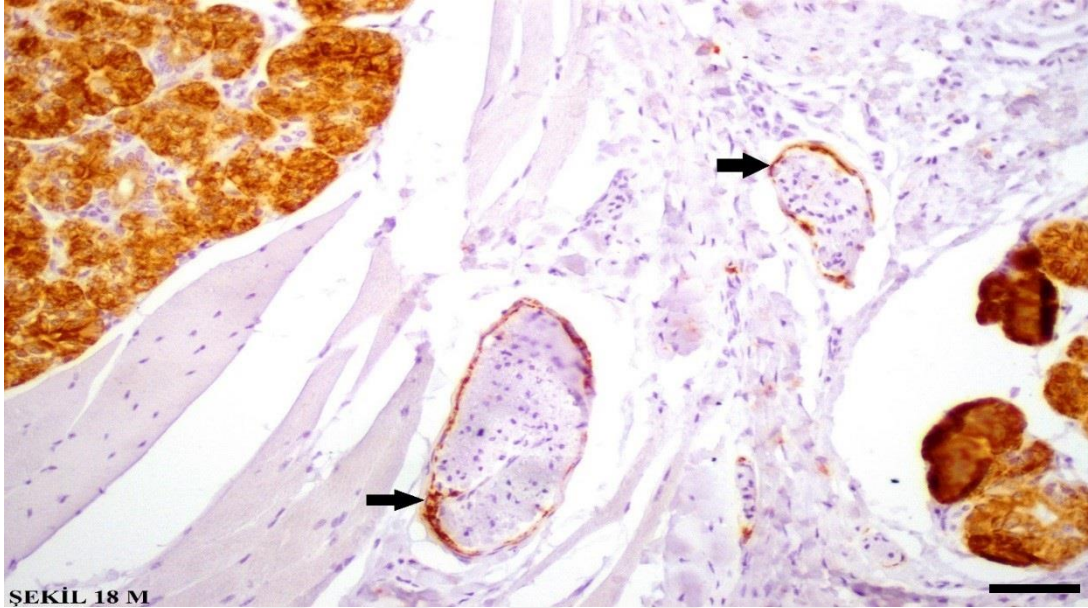
Şekil 18K: İnek dilinde akıtıcı kanallarda CK 18 lokalizasyonu, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.



Sekil 18L

Şekil 18L: Koyun dilinde akıtıcı kanallarda CK 18 lokalizasyonu, Ok: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Kaslar arasına yerleşmiş perifer sinir kesitlerinde bağ doku kılıflarından epineurumda boyanma dikkati çekti (Şekil 18 M).

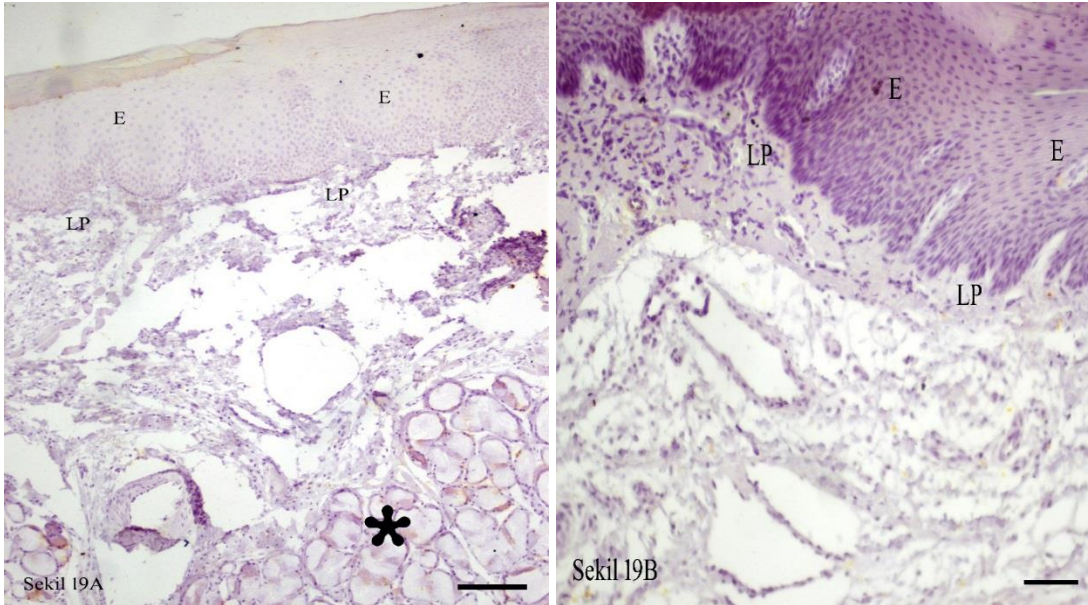


ŞEKİL 18 M

Şekil 18M: İnek dilinde perifer sinir kılıfı epineriumda CK 18 pozitif immunoreaksiyon, Ok: Epinerium, Bar: 50 µm.

5.5.Sitokeratin 19 (CK19)

CK 19 da inek ve koyun dil epitelinde, papillalarda, tad tomurcuklarında, bağdoku hücrelerinde, kas tabakasında, damarlarda ve perifer sinirlerde immunoreaksiyonun şekillenmediği görüldü (Şekil 19 A, B).



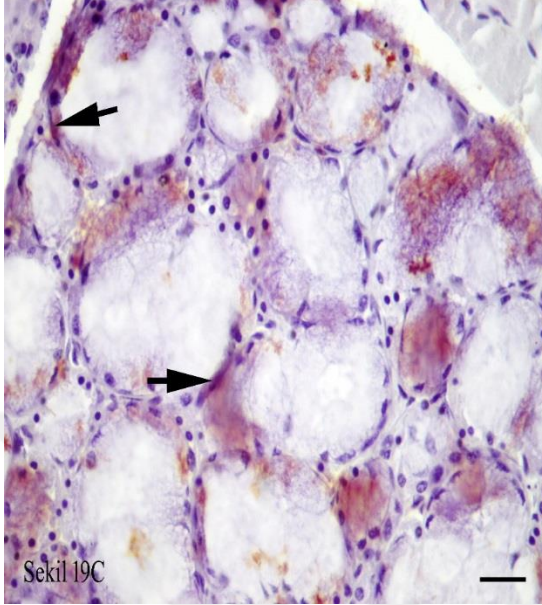
Şekil 19A

Şekil 19B

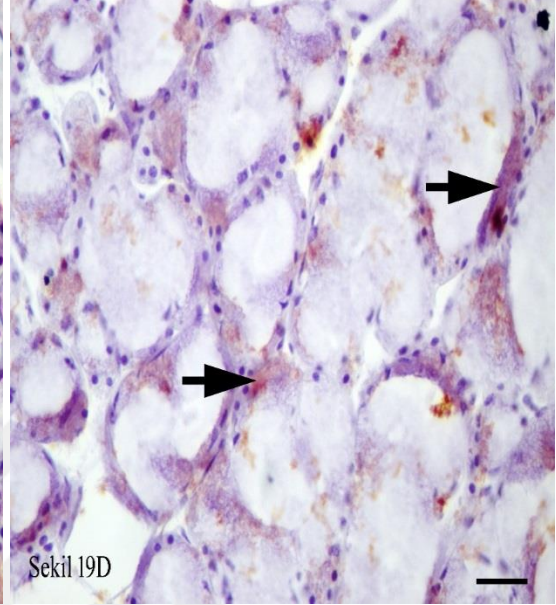
Şekil 19A: İnek dilinde CK 19 negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, *: Serö-müköz bez, Bar: 100 µm.

Şekil 19B: Koyun dilinde CK 19 negatif lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Bar: 50 µm.

Serö-müköz bezlerin seröz kısmında bez epitel hücrelerinde zayıf boyanma izlenirken, müköz bölümde negatif boyanma belirlendi (şekil 19 C, D).

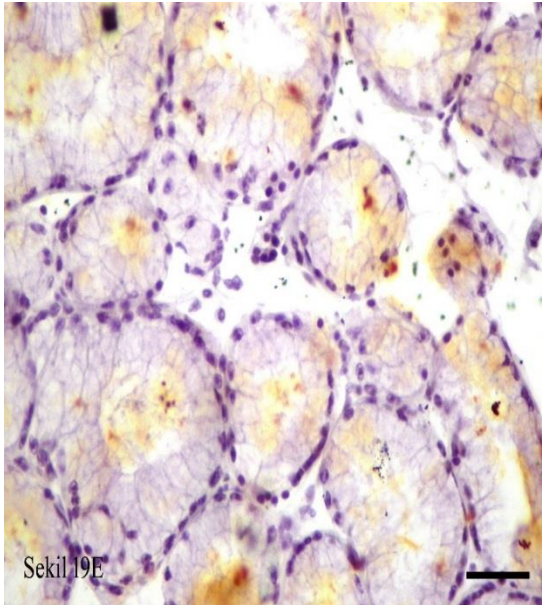


Şekil 19C: İnek dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Bar: 25 µm.

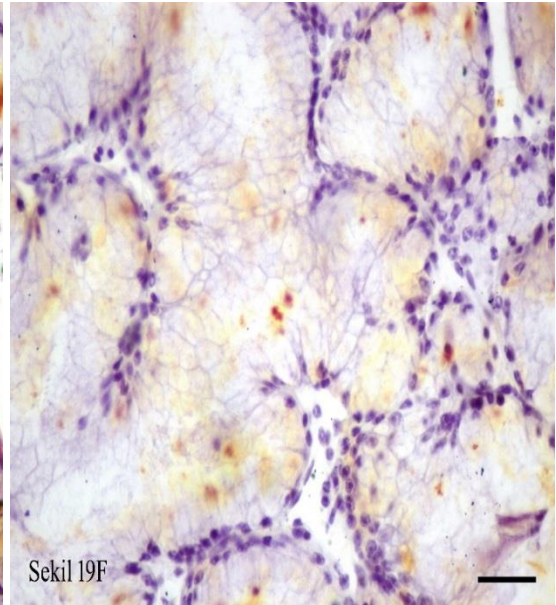


Şekil 19D: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Bar: 25 µm.

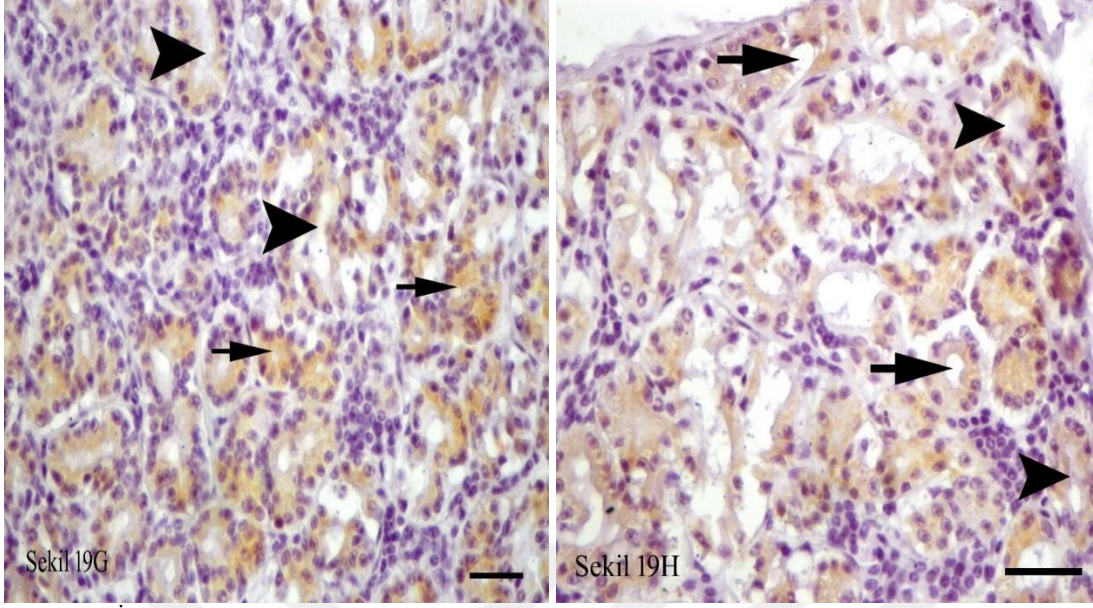
Müköz bez epitel hücrelerinde boyanma izlenmezken (şekil 19 E, F), saf seröz Ebner bez epitel hücrelerinde ve akıtıcı kanal epitellerinde orta derecede boyanma belirlendi (Şekil 19 G, H).



Şekil 19E: İnek dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 19 lokalizasyonu, Ok: müköz bez, Bar: 25 µm.



Şekil 19F: Koyun dilinde radiks bölgesinde saf müköz bezlerde negatif CK 19 lokalizasyonu, Bar: 25 µm.

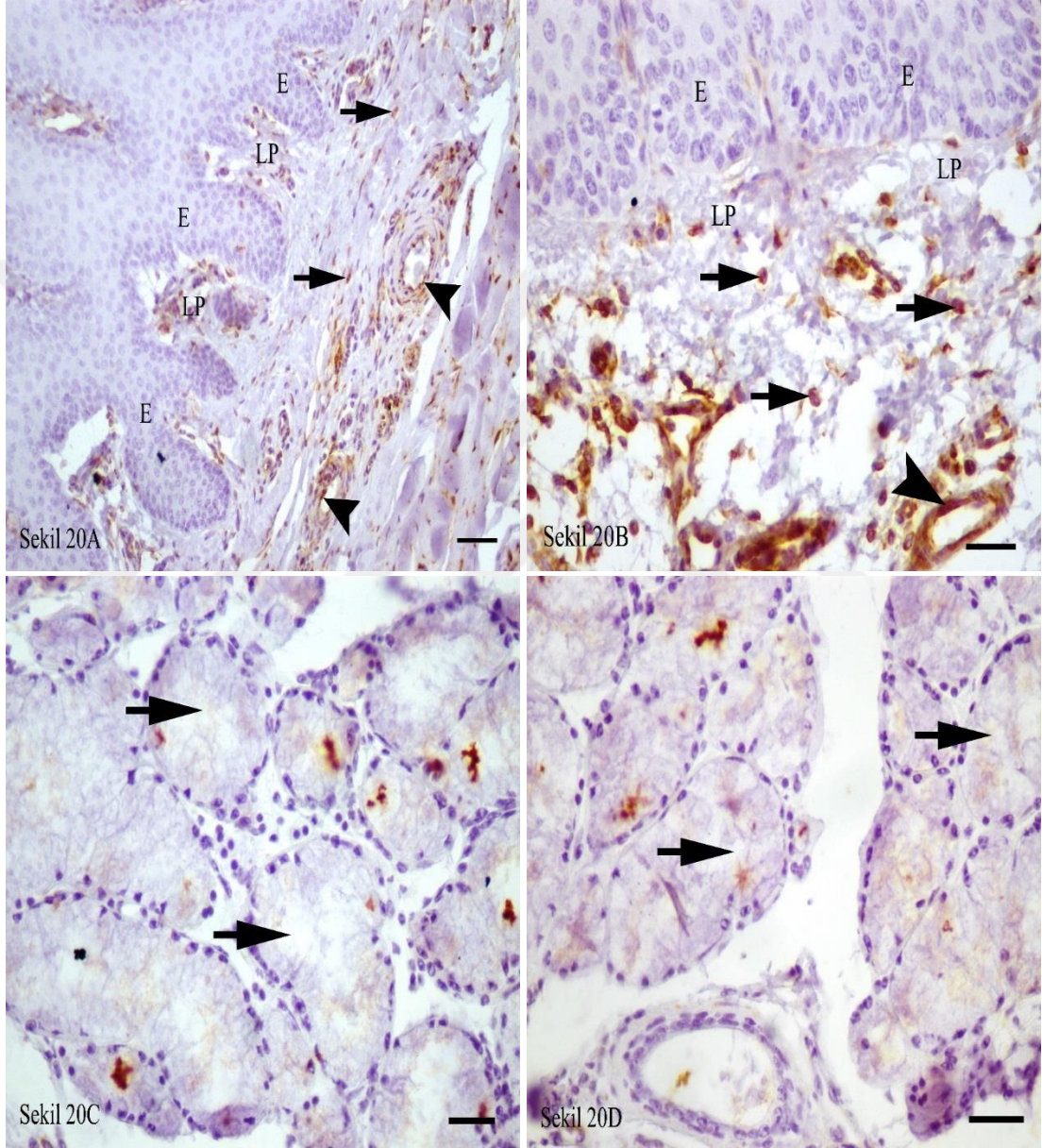


Şekil 19G: İnek dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 19H: Koyun dilinde torus bölgesinde saf seröz Von-Ebner bezlerinde CK 19 lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.

5.6. Vimentin

Genel olarak vimentin ile boyanmada çok katlı keratinize epitelde, kaslarda, bezlerin akıtıcı kanal epitelinde, müköz bezlerde reaksiyon şekillenmezken, subepitelyal bölge ve daha derin bölgede bağ doku içerisinde yoğun boyanma olduğu görülmüştür (Şekil 20 A, B, C, D, E, F).

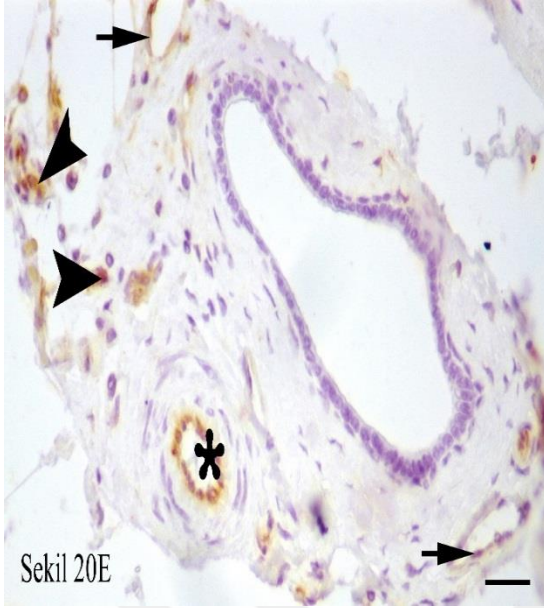


Şekil 20A: İnek dilinde vimentin lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Bağdoku hücreleri, Ok Başı: Endotel, Bar: 25 µm.

Şekil 20B: Koyun dilinde vimentin lokalizasyonu, E: Epitel, LP: Lamina propriya, Ok: Bağdoku hücreleri, Ok Başı: Endotel, Bar: 25 µm.

Şekil 20C: İnek dilinde müköz bezlerde vimentin negatif görünüm, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 20D: Koyun dilinde müköz bez ve kanallarda vimentin negatif görünüm, Ok: Müköz bez, Ok Başı: Akıtıcı kanal, Bar: 25 µm.



Sekil 20E

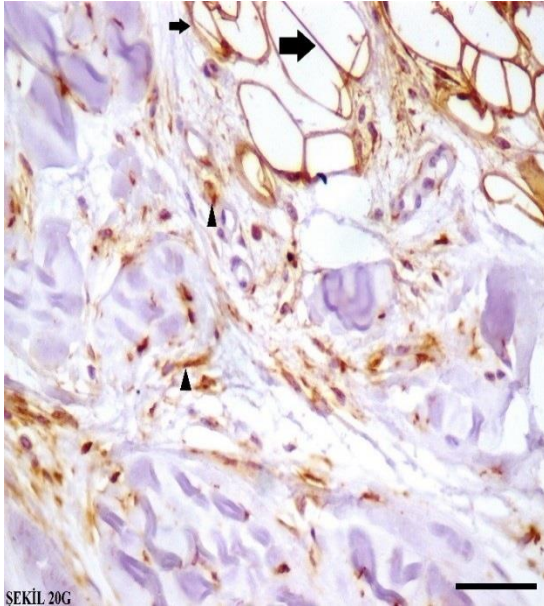


Sekil 20F

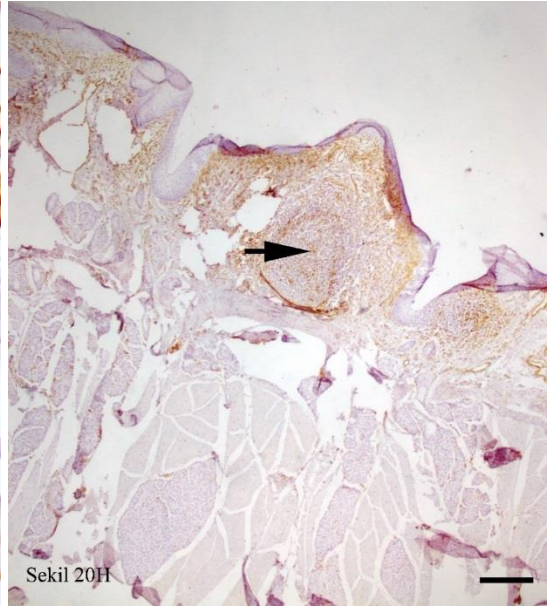
Şekil 20E: Vimentin ile damar endotelinde ve bağdoku hücrelerinde pozitif, boşaltım kanalında negatif izlenim, Ok: Damar endoteli, Ok Başı: Bağdoku hücreleri, *: Akıtıcı kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 20F: Kaslarda vimentin negatif izlenim, Ok: Lamina muskularis, Ok Başı: Damar endoteli, *: Bağdoku hücreleri, Bar: 50 µm.

Bağdoku içerisine yerleşen hücreler (özellikle fibroblast olduğu düşünülen), endotelyal hücreler, lenf folikülleri, yağ ve sinir hücreleri gibi mezenkimal kökenli hücrelerin çoğunda vimentinin eksprese edildiği görülmüştür (20 G, H, I, İ).



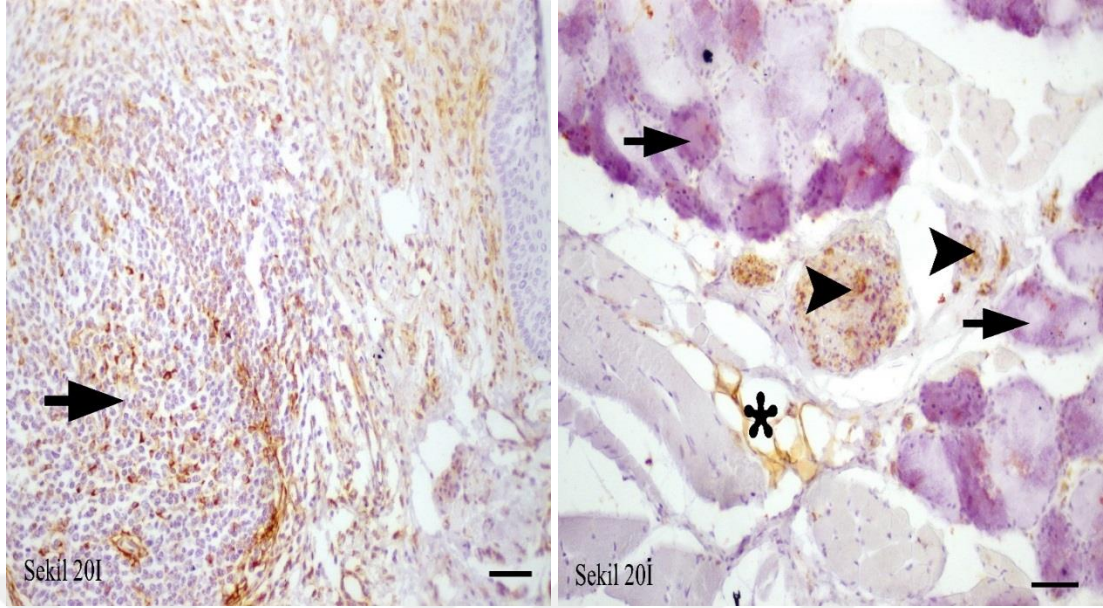
SEKİL 20G



Sekil 20H

Şekil 20G: İnek dilinde bağdoku da vimentin lokalizasyonu, Ok: Yağ hücreleri, Ok Başı: Bağdoku hücreleri, Bar: 50 µm.

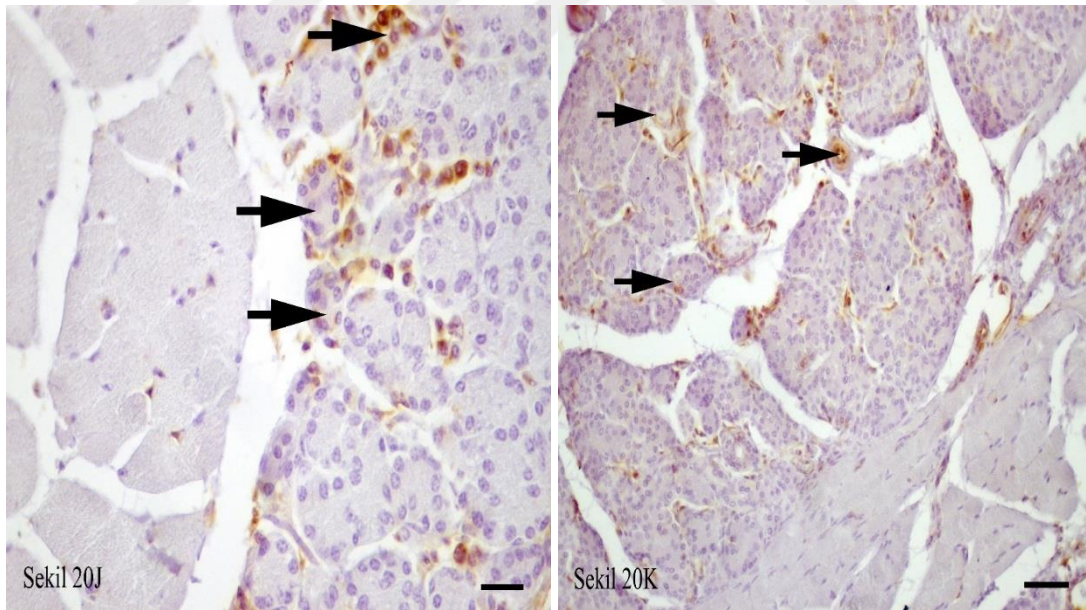
Şekil 20H: İnek dilinde lenf folikülünde vimentin lokalizasyonu, Ok: Lenf folikülü, Bar: 100 µm.



Şekil 20I: Koyun dilinde len folikülünde vimentin lokalizasyonu, Ok: Lenf folikülü, Bar: 25 µm.

Şekil 20İ: Serö-müköz bezlerde ve perifer sinirlerde vimentin lokalizasyonu, Ok: Serö-müköz bez, Ok Başı: Perifer sinirde endonerium, *: Yağ hücresi, Bar: 50 µm.

Serö-müköz bezlerin bazı seröz kısımları ile bazı seröz Von Ebner bezlerinde de orta derecede boyanma olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 20 İ, J, K).

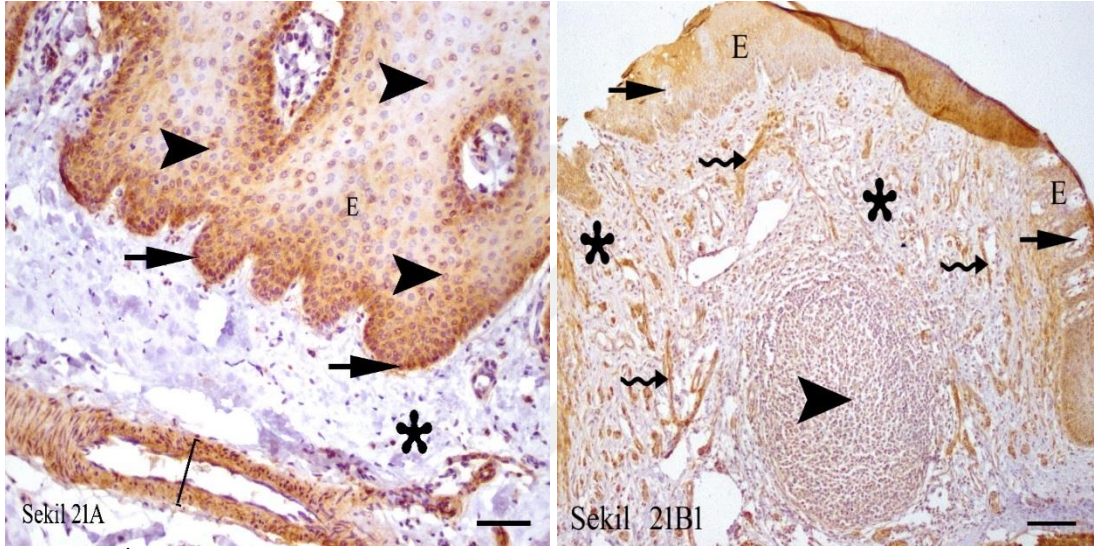


Şekil 20J: İnek dilinde torus bölgesinde seröz Von Ebner bezlerinde vimentin lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Bar: 25 µm.

Şekil 20K: Koyun dilinde torus bölgesinde seröz Von Ebner bezlerinde vimentin lokalizasyonu, Ok: Seröz bez, Bar: 50 µm.

5.7.Laminin

Laminin ekspresyonunun, çok katlı yassı epitelde bazal ve üst sıradaki poligonal şekilli hücrelerde, tat tomurcuklarında, bağdoku hücre ve ipliklerinde, damar endotelinde ve düz kaslarında, iskelet kaslarında, lenf foliküllerinde, seröz ebner bezleri ile bu bezlerin akıtıcı kanallarında, perifer sinirlerde (epineurum, perineurum, endoneurim) yoğun, serö-müköz bezlerin seröz asinileri ile müköz bezlerde ise orta derecede olduğu görülmüştür (Şekil 21 A, B, C, D, E, F, G, H, I, İ, J, K, L, M, N).

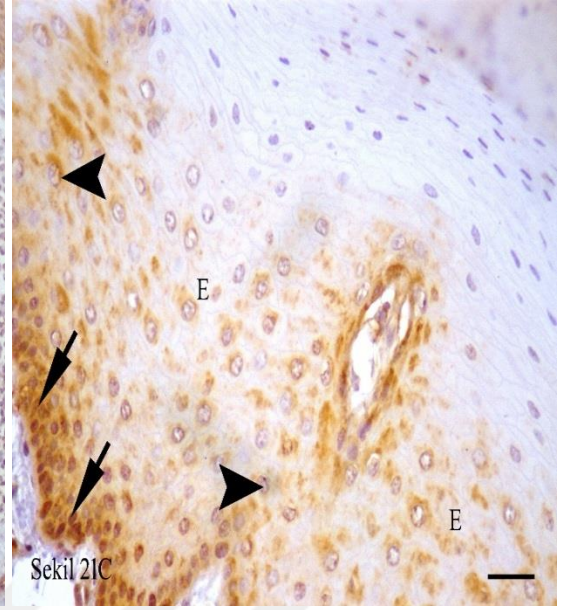


Şekil 21A: İnek dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, *: Bağdoku hücreleri, [: Damar, Bar: 25 µm.

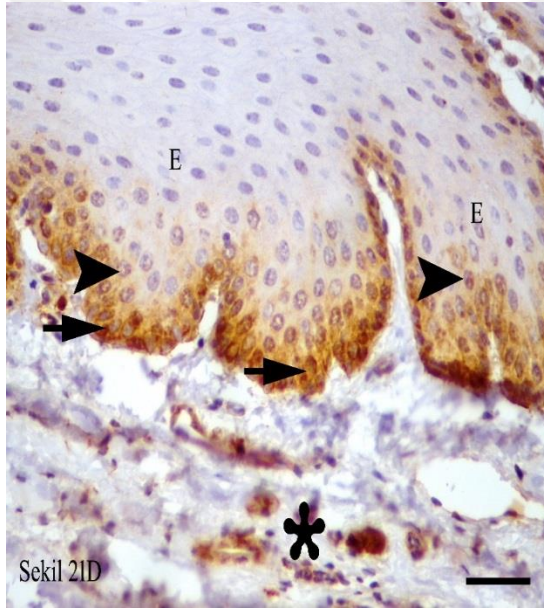
Şekil 21B-1: Epitelde tad tomurcuklarında laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Tat tomurcukları, Ok baş: Lenf folikülü, *: Bağdoku hücreleri, Kıvrımlı Ok: Kollagen iplikler, Bar: 50 µm.



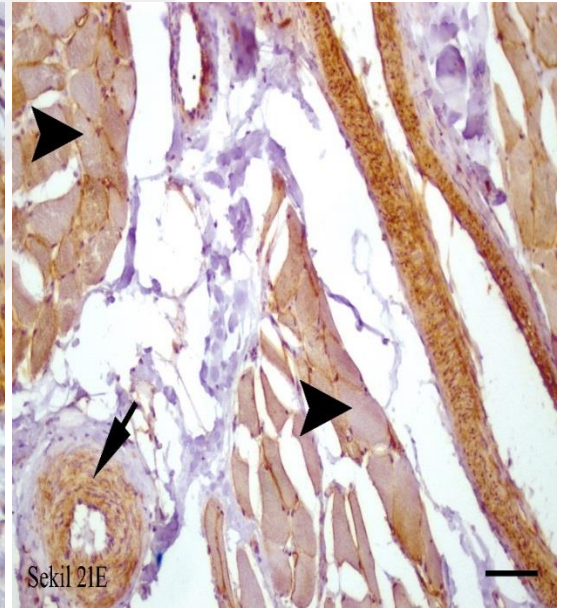
Şekil 21B-2



Şekil 21C



Şekil 21D



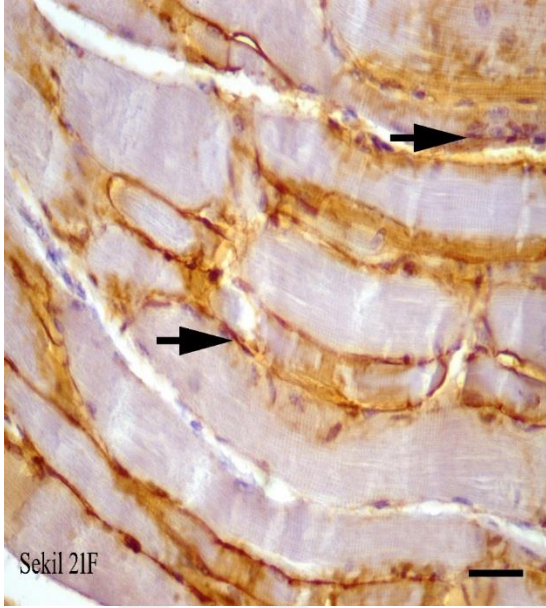
Şekil 21E

Şekil 21B-2: Epitelde tad tomurcuklarında laminin lokalizasyonu, Ok: Tat tomurcukları, Bar: 25 μ m.

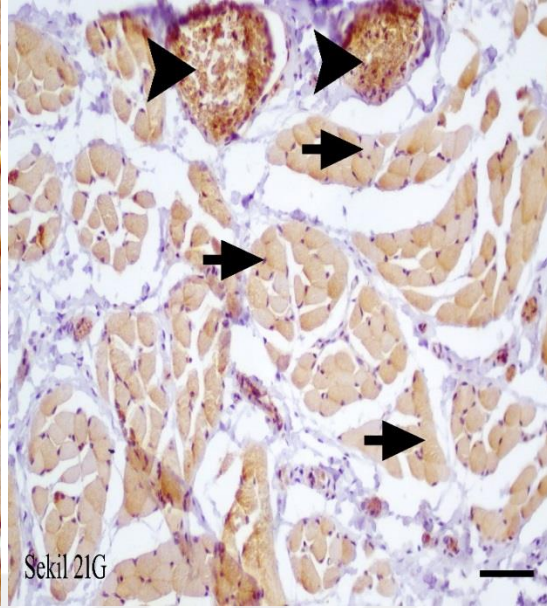
Şekil 21C: Koyun dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, Bar: 25 μ m.

Şekil 21D: İnek dilinde laminin lokalizasyonu, E: Epitel, Ok: Bazal hücreler, Ok Baş: Poligonal hücreler, *: Bağdoku hücreleri, Bar: 25 μ m.

Şekil 21E: Damar ve iskelet kaslarında laminin lokalizasyonu, Ok: Damar, Ok Baş: İskelet kasları, Bar: 50 μ m.



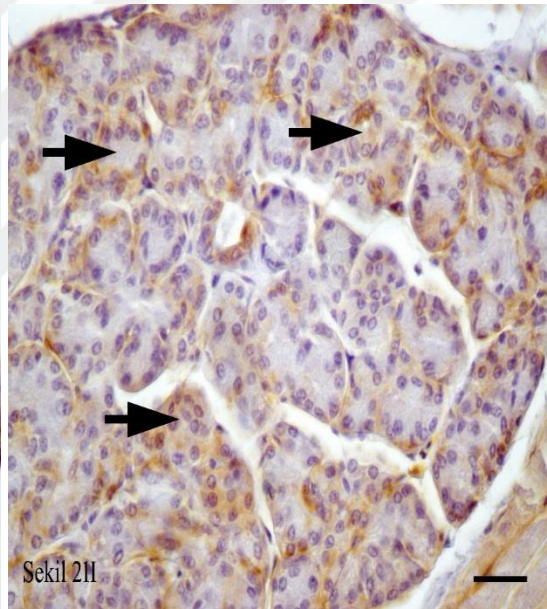
Sekil 21F



Sekil 21G



Sekil 21H



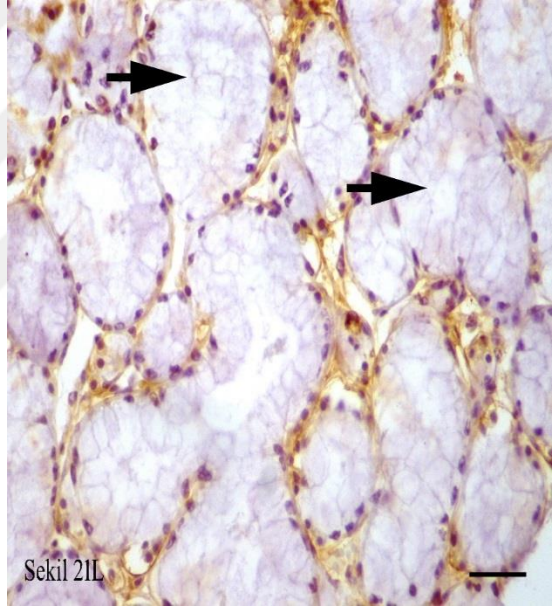
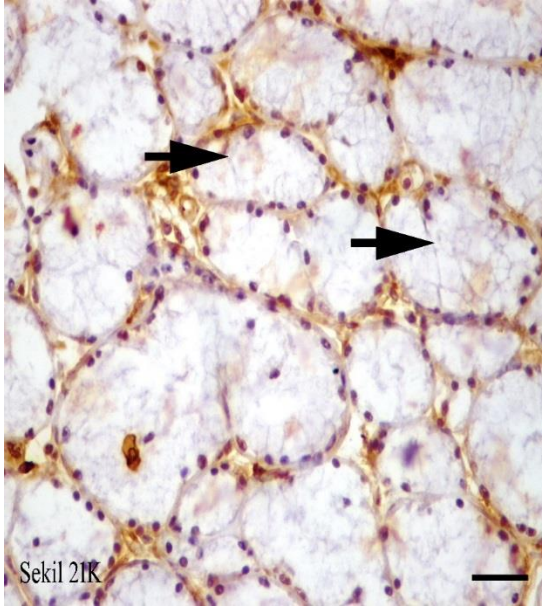
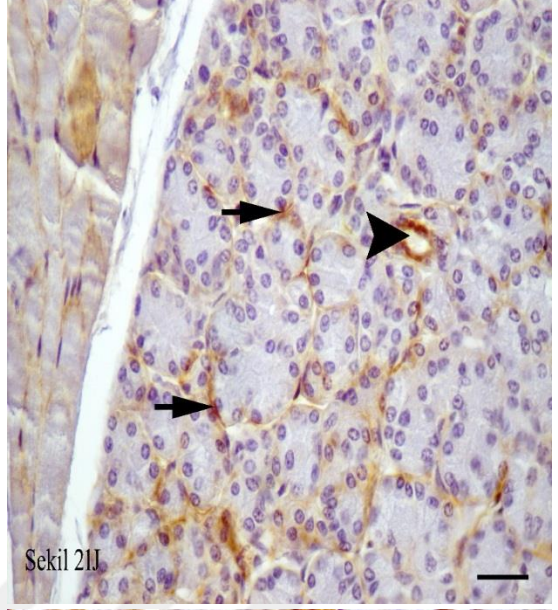
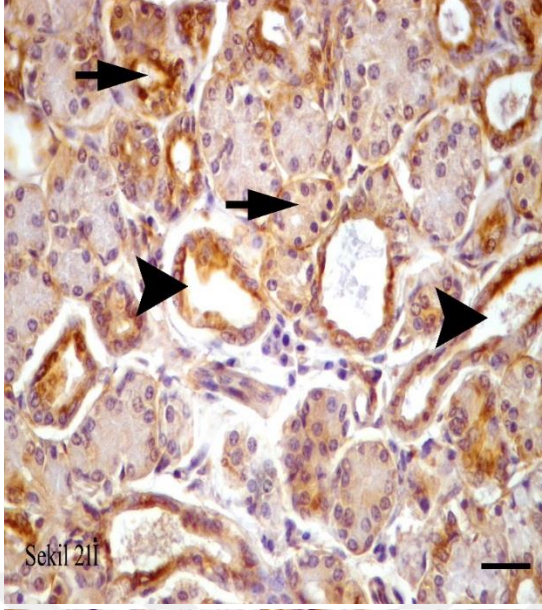
Sekil 21I

Şekil 21F: İskelet kaslarında laminin immunreaktivitesi, Ok: İskelet kasları, Bar: 25 μ m.

Şekil 21G: Perifer sinirlerde laminin immunreaktivitesi, Ok Başı: Perifer sinirler, Ok: İskelet kasları, Bar: 25 μ m.

Şekil 21H: İnek dilinde torus bölgesinde seröz Von-Ebner bezlerinde laminin Ok: Seröz bez, Bar: 50 μ m.

Şekil 21I: Koyun dilinde torus bölgesinde seröz Von-Ebner bezlerinde laminin immunreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Bar: 25 μ m.

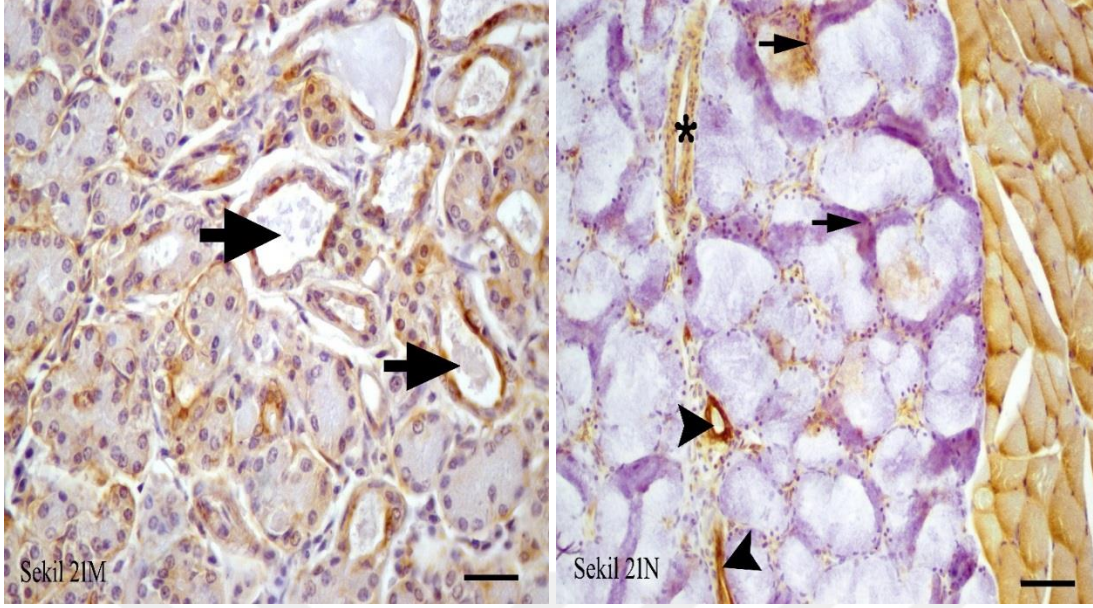


Şekil 21İ: Koyun dilinde torus bölgesinde seröz Von-Ebner bezlerinde laminin immunreaktivitesi, Ok: Seröz bez, Ok Başı: Akıtcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 21J: Koyun dilinde radiks bölgesinde serö-müköz bezlerde laminin immunreaktivitesi, Ok: Serö-müköz bez, Ok Başı: Akıtcı Kanal, Bar: 50 µm.

Şekil 21K: İnek dilinde radiks bölgesinde müköz bezlerde laminin lokalizasyonu, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.

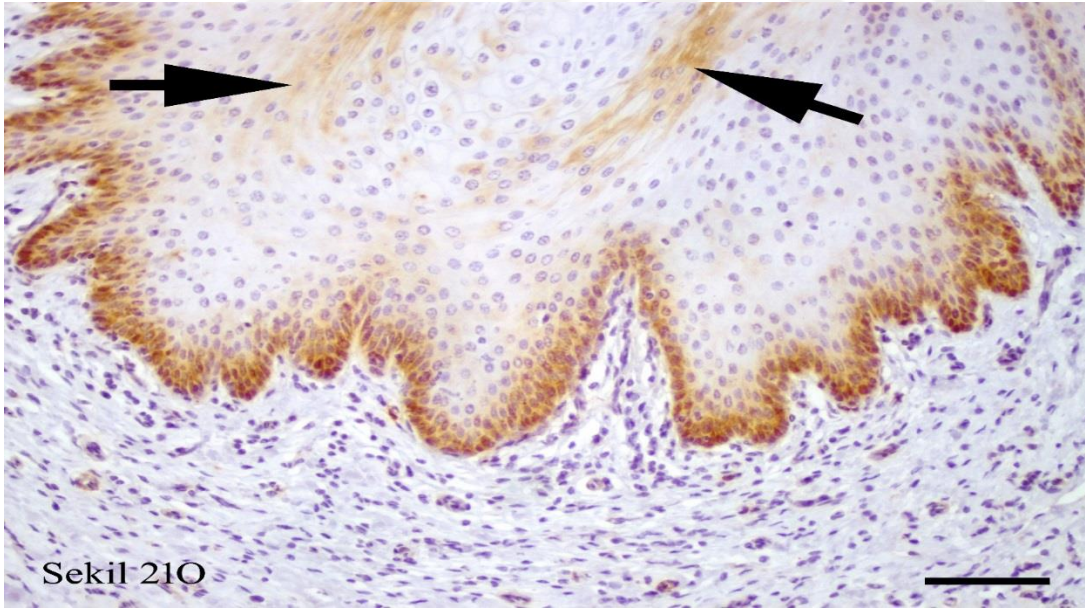
Şekil 21L: Koyun dilinde radiks bölgesinde müköz bezlerde laminin lokalizasyonu, Ok: Müköz bez, Bar: 25 µm.



Şekil 21M: Akıtcı kanallarda laminin lokalizasyonu, Ok: Akıtcı kanal, Bar: 25 µm.

Şekil 21N: Serö-müköz bezlerde laminin immunreaktivitesi, Ok: Serö-müköz bez, Ok Başı: Akıtcı kanal, *: Damar, Bar: 25 µm.

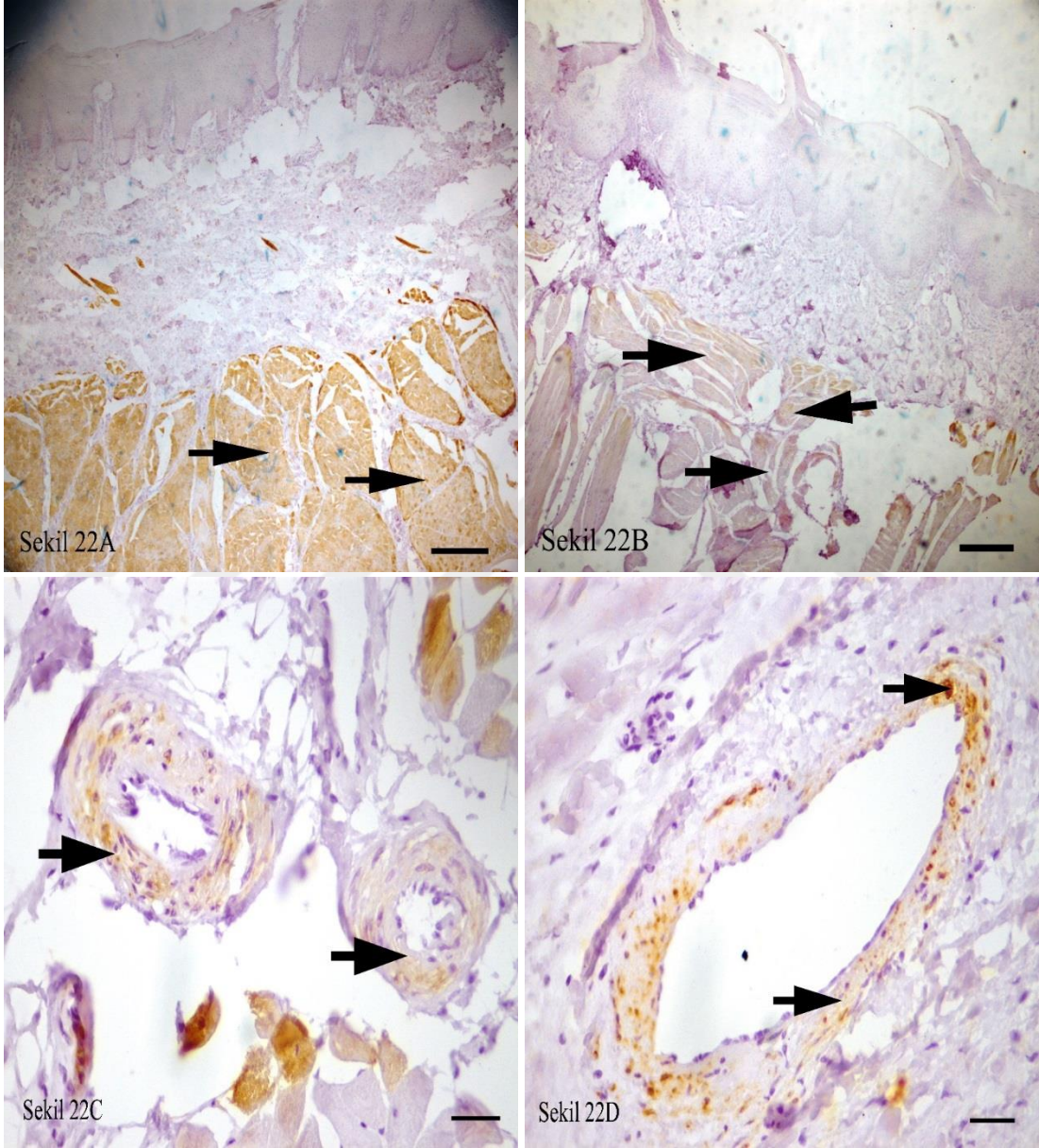
Epitelde özellikle poligonal şekilli hücrelerde kubbe şeklinde oluşan halka yapısı da dikkati çekmiştir (şekil 21 O).



Şekil 21O: Epitelde lamini'nin halka şeklindeki lokalizasyonu, Ok: Halka şeklindeki görünüm, Bar: 25 µm.

5.8. Desmin

Desmin ekspresyonu tutarlı bir şekilde iskelet kaslarında myofibrillerde ve damar duvarındaki düz kaslarda yoğun olurken, endotel hücrelerinde negatif olarak izlenmiştir. Epitelde, bağdokuda, bezlerde, akıtıcı kanallarda, sinir kesitlerinde reaksiyon görülmemiştir (Şekil 22 A, B, C, D, E, F, G, H).

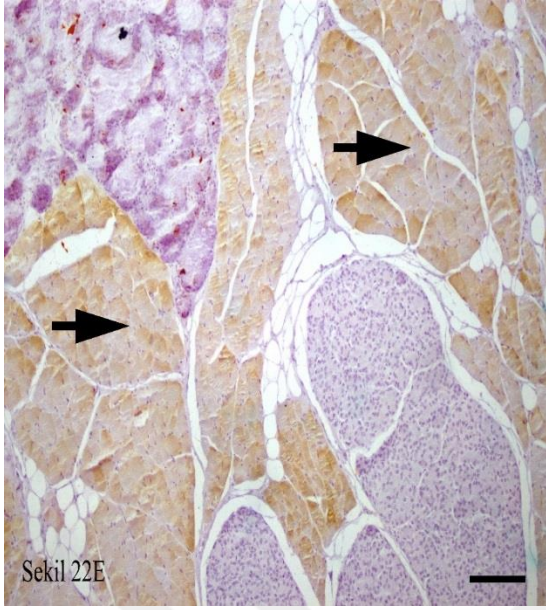


Şekil 22A: İnek dilinde desmin immunreaktivitesi, Ok: Lamina muskularis, Bar: 250 μ m.

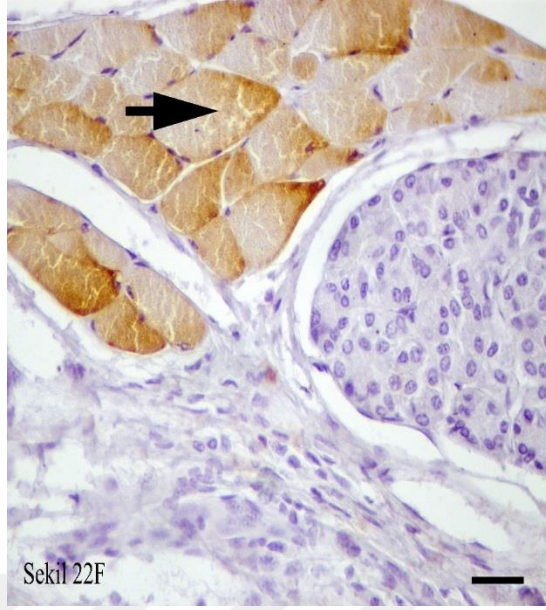
Şekil 22B: Koyun dilinde desmin immunreaktivitesi, Ok: Lamina muskularis, Bar: 250 μ m.

Şekil 22C: Damarlarda desmin immunreaktivitesi, Ok: Damar düz kasları, Bar: 50 μ m.

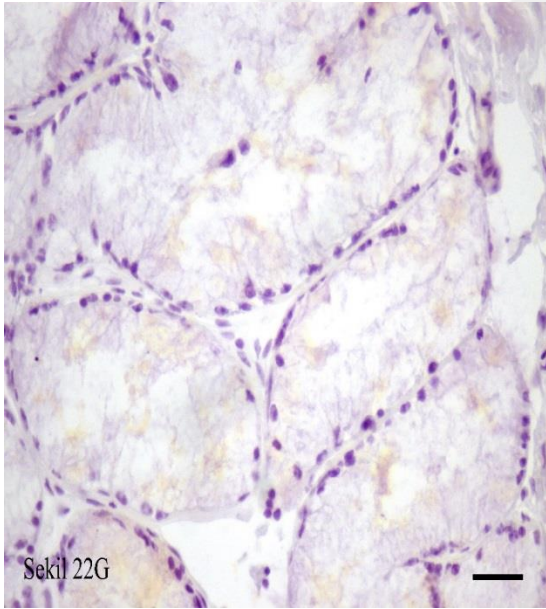
Şekil 22D: Damarlarda desmin immunreaktivitesi, Ok: Damar düz kasları, Bar: 50 μ m.



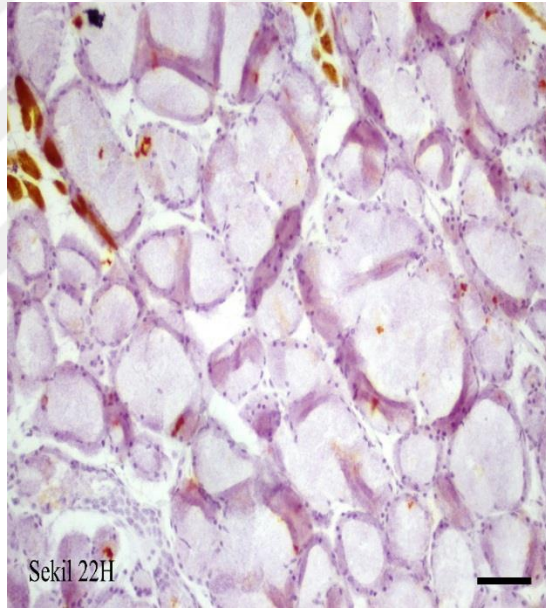
Sekil 22E



Sekil 22F



Sekil 22G



Sekil 22H

Şekil 22E: İnek dilinde desmin lokalizasyonu, Ok: Lamina muskularis, Bar: 100 μ m.

Şekil 22F: Koyun dilinde desmin lokalizasyonu, Ok: Lamina muskularis, Bar: 25 μ m.

Şekil 22G: İnek dilinde müköz bezlerde desmin negatif izlenimi, Bar: 25 μ m.

Şekil 22H: İnek dilinde serö-müköz bezlerde desminin negatif reaksiyonu, Bar: 50 μ m.

6.TARTIŞMA

Hücre için dengeleyici, mekanik bir role hizmet eden ara filamentler (IF) hayati bir zorunluluktur ve hücre içi iskeletin merkezi bileşenleridir (11,85). Epitelyal hücre ve doku mimarisi; büyük ölçüde hücre iskeletinin kendisini, hücre sınırındaki bağlantı komplekslerini ve çok sayıda ilişkili proteini içeren, hücre içi protein ağının bir parçası olan hücre iskeleti filamentleri tarafından belirlenir (190). Ara filamentler, farklı hücre içi hücreye özgü düzenleme mekanizmalarının yalnızca seyircileri ve belirteçleri olarak yorumlanırlar (85). Bu filamentlerin işlevsel rollerinin araştırılması bir ikilem olduğu kadar bir zorluk da teşkil etmektedir (81). Ara filamentlerin ekspresyonlarında şekillenen değişimlerin farklılaşmış hücresel davranışla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (191,192). Ayrıca yapılan literatür taramalarında sitokeratinlerin oynadığı roller ve sindirim sistemindeki ekspresyonlarının düzenleyici mekanizmasının daha az analiz edildiği görülmüştür. Sunulan çalışma inek ve koyun dillerinde bazı ara filament proteinlerinin (sitokeratin, vimentin, desmin, laminin) olası rollerinin ve dağılımlarının immunohistokimyasal değerlendirmeler neticesinde ortaya konulması üzerine planlanmıştır. Sitokeratinler (CK), hücresel bütünlüğü koruyan ve hücreden hücreye bağlantılara katılan epitele özgü ara filament proteinleri olup, epitelin ana farklılaşma belirteçleri olarak epiteldeki bölgeye özgü dağılımlarla ayırt edilebilmektedirler (193). Yapılan çalışmalarda sitokeratinlerin epitel bütünlüğün korunması, hücrelerin yapılandırılması ve düzenlenmesi, ayrıca hücre sinyal yollarında iletişimin sağlanması gibi önemli rollere sahip oldukları gösterilmiştir (44,194). Sitokeratin polipeptitlerinin ekspresyonu gelişim ve farklılaşma sırasında farklı şekilde düzenlenir (195). Literatür taramalarında bazı basit epitellerde (tek katlı) CK 8, 18 ve 19 polipeptitlerinin ekspresyonu görülmüştür. Buna karşılık tabakalı (skuamöz) epitelde sitokeratin ekspresyonunun karmaşık olduğu bildirilmiştir (195–197). Boch ve ark. (1997) insan ösafagus ve midesinde yaptıkları çalışmada, sitokeratin 8, 18 ve 19 ‘un ösafagusun çok katlı yassı epitelinde ekspresyon göstermediğini, buna karşın mide kolumnar hücrelerinde yaygın sitoplazmik ekspresyonlar gösterdiğini belirtmişlerdir (196). Yine yetişkin insan sindirim sisteminde yapılan başka bir çalışmada, keratinize olmayan tabakalı skuamöz epitelin bazal tabakasında Ck 19'un eksprese olduğu, ancak Ck 8 ve 18'in eksprese olmadığı belirtilmiştir (85). Michaela ve ark. (2015) orofarenks mukozasında çok katlı epitel

ve stromal hücrelerde CK 8'in negatif olduğunu gözlemlemişlerdir (198). Araştırmacılar CK8 ve 18 'in embriyogenez sırasında eksprese edilen en erken keratin olduğunu ve gebeliğin 27. haftasına kadar fetal bukkal mukoza ve dil epitelinde görüldüğünü ve daha sonra da ekspresyonunun çoğunun farklılaşan dokuda baskılandığını söylemişlerdir (84,85,197,199). Ağız boşluğunda CK 19 ekspresyonu hakkında da çelişkili raporlar sunulmuştur. Örneğin, Coltrera ve ark.(1992) (200) CK19'un ağız boşluğunun normal dokusunda bulunduğunu, Bartek ve ark. (1986) (201) da CK19 ekspresyonunun normal farklılaşma modellerinden büyük bir farklılık göstermeyebileceğini, çünkü CK 19'un hem basit hem de tabakalı epitelde normal olarak eksprese edilebileceğini öne sürmüşlerdir (199). Raul ve ark. (2004) çalışmalarında bizim çalışmamızla uyumlu olacak şekilde CK 8 ve 18'in normal olarak basit epitel de ifade edildiğini ancak tabakalı epitelin bu çifti ifade etmediğini belirtmişlerdir. Yine bu araştırmacılar dil, damak ve deri gibi keratinize edici çok katmanlı epitelde CK 5 ve 14 ile birlikte CK 1 ve 10'un eksprese edildiğini göstermişlerdir (84). CK8 ve 18'in birçok yönden benzer olması, sırasıyla tip II ve tip I alt ailelerine ait olmalarına rağmen her ikisinin de kromozom 12'de bulunması, ekspresyonlarının ras yolunun onkogenlerinin ekspresyonunu da düzenleyen AP1 ve ETS ailelerine ait transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenmesi gibi özellikleri nedeniyle bu sitokeratin çiftinin hücrelere yapısal bütünlük kazandırmanın yanı sıra da bazı düzenleyici işlevlere de sahip olabileceğini düşündürmüştür (84). Sawaf ve ark. (1990) ile Vaidya ve ark. (2000) insan dilinde yaptıkları çalışmada, sitokeratinlerin farklı epitelileri karakterize ettiğini göstermişlerdir (60,202). Bu araştırmacılar çalışmalarında, dilin ventral ve lateral yüzeylerinin özofagus tipi keratinize olmayan çok katlı yassı epitel ile örtülü olduğunu ve Ck8 ile 18'in negatif reaksiyon gösterdiğini, CK 19 'un da belirli bölgelerde sadece bazal hücre tabakasıyla sınırlı olduğunu ifade etmişlerdir (60, 211). Bazal hücrelerdeki bu ekspresyon farklılaşma durumu, genellikle suprabazal katmanda epitelyal transformasyon ile ilişkili olarak açıklanmıştır. Ayrıca araştırmacılar CK 19'un keratinize epitelin olağan bir bileşeni olmadığını, ancak belirli patolojik koşullarda eksprese edilebileceği düşüncesini de dile getirmişlerdir (60,202). Bizde çalışmamızda inek ve koyun dillerinde çok katlı keratinize olan dorsal epitelde ve üzerindeki papillalarda ve de çok katlı non keratinize olan ventral epitelde CK8, 18, 19 immun boyanmasını negatif olarak gözlemledik. Bu

durum sitokeratin ekspresyonunun farklılaşmaya bağlı olarak gelişimsel olarak düzenlenebileceği ve ayrıca da keratinizasyon durumuna göre de farklı dokularda değişiklikler gösterebileceği şeklinde yorumlanabilir. Dokulardaki sitokeratin profilinin hücre tipine, gelişim evresine, farklılaşma durumuna ve patolojik koşullara göre değişiklik gösterdiği de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (60). Bir dokudaki sitokeratin ekspresyonu gelişim sırasında belirli bir süre boyunca değişir ve belirli bir aşamada yetişkin ekspresyonu başlar. Vaidya ve ark.(2000) çalışmalarında fetal dilde 16. haftaya kadar 2-3 sıralı epitel hücre tabakası bulunduğunu ve bu tabakalı epitelde CK 1'in eksprese edildiğini, glandüler dokuda ise CK 8 ve 18'in ekspresyonunun görüldüğünü gözlemlemişlerdir (60). Sawaf ve ark.(1990) CK 8 ve 18'in 14. haftaya kadar dil epitelinden eksprese edildiğini daha sonrasında yavaş yavaş kaybolduğunu ve yetişkin dil epitelinde görülmediğini belirtmişlerdir (202). Embriyonik-fetal lingual epitelinin gelişimi sırasında sitokeratinlerin ekspresyonundaki bu evrim ile yetişkin epitelinde şekillenen patolojik durumlar ayrıca da tümör ve inflamatuvar süreçlerde epitelyal farklılaşmanın ortaya çıkması klinik açıdan önemli olabilir. Sitokeratinlerle ilgili yapılan çalışmalarda basit (tek katmanlı) epitelde ifade edilen keratinler, basit epitel keratinleri (SEK) olarak adlandırılmış ve bu grupta CK7, CK8, CK18, CK19, CK20 ve CK23'ten bahsedilmiştir (13, 61). Çalışmamızda, bu çalışmalara destek olacak şekilde tabakalı epitelin sadece tek katmanlı epitelden farklı hücre ve doku yapıları ile değil, aynı zamanda sitokeratin örnekleri ile de farklılık gösterdiğini ve ayrıca da CK8, CK18 ve CK19'un basit epitel tip keratin oldukları ve çok katlı yassı epitelde görülmediği sonucu çıkarılmıştır.

Yapılan çalışmalarda, çalışmamızla uyumlu olacak şekilde CK 8, 18 ve 19'un bezlerde ve akıtıcı kanallarda pozitif boyandığı görülmüştür (11,13,61,190,195,203). Witt ve ark.(1999) insan dilinde CK 8 ve 18'in Ebner bezlerinde pozitif immünreaktif olduğunu, Michaela ve ark. (2015) orofarenks mukozasındaki bezlerin, Schussler ve ark.(1992) ekzokrin pankreas da seröz bezlerin ve duktal kanalların, Bosch ve ark.(1997) insan ösafagusunda müsinöz ve seröz asiniler ile kanalların sitokeratin 8, 18 ve 19 la yoğun şekilde reaksiyona girdiğini bildirmişlerdir (11,13,195,198). Basit epitelin genellikle bezlerde ve kanallarda salgılama ve emilim ile ilgili organlarda bulunması bu hücrelerde SEK'lerin ekspresyonunun absorpsiyon ve sekresyon ile ilgili fonksiyonel sonuçlara sahip olmasının muhtemel olmasına ve ayrıca da kanalların

büyümesi ile farklılaşmasında rol oynayabileceği düşüncesine de desteklik etmektedir. Chu ve ark.(2002) sitokeratin dağılımlarının damar duvarında ve düz kaslarında değişken pozitiflik gösterebileceğini (204), Omary ve ark (2009) da normal damarlarda saptanamayan CK8 ve 18'in aterosklerotik lezyonlarda ekspresyonunun olabileceğini bildirilmişlerdir (61). Bizde çalışmamızda Omary ve arkadaşlarıyla uyumlu olacak şekilde CK8, 18 ve 19'un damar endotelinde ve kaslarında görülmediğini saptadık. Muhtemelen bu polipeptidlerin patolojik ve malign dokuda spesifik boyanması, tümörle ilişkili antijen olarak görev yapabileceklerini de akla getirebilir. Ayrıca da bu değişmiş keratin ekspresyonu, endotelden epitel fenotiplerine geçişi gerektiren bir metaplastik süreci de yansıtır olabilir. Millar ve ark. (1996) Yeni Zellanda Beyaz Tavşanı lakrimal ve Harder bezinde yaptıkları çalışmalarında sitokeratinlerin boyanma derecesine göre bazı farklılıklar gösterdiğini; CK8 'in intralobuler kanallarda yoğun bir şekilde boyandığını buna karşın Harder bezinin asiner hücrelerinin CK 18 için, gözyaşı bezinin asiner hücrelerinin ise CK 8 için immüno pozitif olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca bu bulguların formalinle sabitlenmiş insan çalışmalarından farklılık gösterdiğini ve görülen bu farklılığı da canlı türüne, kullanılan antikora ve tesbitin şekline (formalin-frozen) göre değişebileceğini de söylemişlerdir (205).

Mezenkimal hücrelerin ana IF proteini olan vimentin, normal olarak epitel hücrelerinde genellikle bulunmaz, ancak ekspresyonu neoplastik transformasyon ve in vitro kültür sırasında düzenlenebilmektedir (11, 195). Aynı zamanda alttaki bağ dokusu ile etkileşime giren “sınır çizgisi” epitelinde de varlığı bildirilmiştir. Epitel hücrelerinde vimentin ekspresyonuna yol açan faktörlerden biri hücre kültüründe gelişme ve diğeri de hücre göçü sırasında epitel de meydana gelen bütünlük bozulmalarıdır (11). Öncelikle vimentin, mezenkimal kökenli hücrelerden (lenf hücreleri, melanositler, endotel hücreleri ve fibroblastlar gibi) eksprese edilen ve en bol olarak bulunan IF dir (17). Yaptığımız araştırmalarda vimentin'in normal oral mukoza üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmaların çoğunlukla insanlar üzerinde olduğunu gözlemledik (11, 17, 206). Witt ve ark.(1999) insan dilinde yaptıkları çalışmada, çalışmamızla oldukça uyumlu olacak şekilde vimentinin interstisyel mezenkimal hücrelerde, endotel hücrelerinde ve en yoğun olarak da epitelin hemen altındaki dermal papillaların mezenkimal yapılarında dağıldığını göstermişlerdir (11). Franke ve

ark.(1979) yine çalışmamızla uyumlu olarak, rat ve inek dil mukozasında vimentin boyanmasının epitel hücrelerinde olmadığını, buna karşın mezenkimal kökenli hücrelerin vimentine karşı antikorlarla reaksiyona girdiğini göstermişlerdir (207). Yine başka bir araştırmada, prostat bezinde vimentin'in mezenkimal hücrelerde eksprese edildiği vurgulanmıştır (208). Yu-Chao Chang ve ark.(2002) normal insan bukkal mukoza fibroblastlarının sitoplazmasında yüksek oranda, bağ dokusundaki kollajen liflerinde ise orta düzeyde vimentin ekspresyonunu rapor etmişlerdir (16). Madekurozwa ve ark (2013) tavukların yumurta kanalında yaptıkları çalışmada, oviduktun infundibulum ve magnum bölgelerinde luminal epitelin bazal ve lateral kısımlarında güçlü sitoplazmik vimentin immun boyaması gözlemlerken, Shell gland ve vagina bölgelerinde ise negatif olarak gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada magnum, isthmus ve shell gland bölgelerinde bulunan bezlerde glandüler epitelin vimentin immunonegatif hücrelerden oluştuğu buna karşın infundibulum bölgesinde ki bezlerde ise vimentin reaksiyonunun immünopozitif olduğu bildirilmiştir. Ayrıca lamina propriya içerisine yerleşmiş fibroblastlarda ve damar endotel hücrelerinde orta ila güçlü vimentin immüno-lekelemesi olduğu ifade edilmiştir (22). Ayrıca başka bir çalışmada insanda endometrial glandular epitelin vimentin immünopozitif olduğu ancak at ve sığanda ise immünonegatif olduğu belirtilmiştir (209, 210). Vimentinin epitelde ve bezlerde pozitif veya negatif immun boyanma reaksiyonunun farklılık göstermesi türe bağlı özellik olabileceği gibi, farklı dokular arasında da değişiklik göstermesi de muhtemeldir. Bununla beraber özellikle de vimentinin mezenkimal kökenli hücrelerden daha güçlü eksprese olması, mezenkimden türemiş hücrelerin genel özellikleri olan hücresel stabilite ve doku bütünlüğünün koruması gibi önemli görevleri olduğunu da göstermektedir.

Laminin hücre adezyonu, büyümesi, morfolojisi, farklılaşması, göçü ve aglütinasyonu ile hücre dışı matriksinin tamirini etkileyebilecek çeşitli biyolojik aktivitelere sahip çok işlevli olan bir proteindir (180). Diğer hücre dışı matris molekülleri gibi, çeşitli dokuların gelişimi sırasında çeşitli hücre davranışlarında laminin rolleri belirtilmiş ve muhtemelen molekülün çeşitli izoformlarında bulunan çoklu alt birim zincirlerinin farklı rollere aracılık ettiği gösterilmiştir (211). Çalışmalarda lamininin epitelyal ve mezenkimal hücrelere özgü moleküler izoformları tanımlanmış ve muhtemelen de laminin bu farklı doku kompartımanlarında hücreye

özgü işlevlere sahip olduğu gösterilmiştir (211). Laminin lokalizasyonu bazal membran boyunca bulunan hücrelerden bazal membranın oldukça yukarısında yer alan hücrelere kadar uzanan bir yayılıma sahiptir. Laminin dil epitelini, altındaki mezenşimden ayıran ince bir çizgi şeklinde varlığını devam ettirir. Laminin ayrıca da komşu hücreler arasında "köprüler" oluşturarak makrofaj-tümör hücre etkileşimleri sırasında olduğu gibi, hücreler arası etkileşimleri uyardığı da gösterilmiştir (212). Çalışmamızın bulgularıyla uyumlu olacak şekilde Jıtpukdeebodıntra ve ark.(2002) dilde yaptıkları çalışmalarında, lamininin dil epitelini alttaki mezenşimden açıkça ayıran sürekli bir çizgi halinde dağılmış olduğunu göstermişlerdir (213). Yine benzer bir çalışmada Mistretta ve Haus (1996) tarafından koyun dillerinde lamininin bazal membran içinde sürekli olarak dağıldığı, sadece tat tomurcuklarının olduğu yerde çalışmamızın aksine kesintiye uğradığı gösterilmiştir (211). Sergio Line ve ark.(1995) rat dilinde yaptıkları çalışmada laminin immünoreaktivitesinin, dil epitelini altta yerleşen bağ dokusundan ayıran ince bir çizgi şeklinde lokalize olduğunu ifade etmişlerdir (18). Başka bir araştırmada, Korgun ve ark.(2007) rat uterusunda laminin lokalizasyonunun uterusun lümen-glandüler epitelinin bazal membranında, myometriumun düz kas hücrelerinde orta-kuvvetliye, farklılaşmamış stromal hücrelerinde ise zayıf bir şekilde olduğunu belirtmişlerdir (210). Bu araştırmacılar laminin ekspresyonunun, implantasyon sırasında artan ekspresyonla hücresel farklılaşmaya eşlik ediyor gibi görüldüğünü söylemişlerdir. Tavuklarda yapılan bir çalışmada oviduktun tübüler bezlerinin ve kan damarlarının bazal mebranlarının laminin immünopozitif olduğu bildirilmiştir (22).

Lamininin epitelde ve bazal membrandaki varlığı, hücre proliferasyonu, koruyuculuğu ve hücre konumunun belirlenmesi gibi işlevlerde fonksiyonel rollere sahip olmasından dolayı önemlidir. Bu çalışmada ve diğer araştırmalarda laminin immünoreaktivitesinin epitel altındaki bazı bağdokusu hücrelerinde, sinirlerin, kan damarlarının endotelial ve düz kas hücreleri, iskelet kası ile tükürük bezlerinin asiner ve duktal hücrelerinin bazal membranında da bulunduğu gösterilmiştir (18). Perifer sinirlerde ve tad tomurcuklarında laminin görülmesini; nöron göçünü uyarma, akson uzaması ve sinir rejenerasyonu gibi faaliyetleri destekleme yönünde olabileceği görüşüyle yorumlayabiliriz. Kan damarı duvarının farklı katmanlarındaki laminin ekspresyon işlevi hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır. Çalışmalarda laminin

ekspresyonunun, endotel hücre tipine, damar büyümesi ve aktivasyonunun durumuna bağlı değişkenlik gösterebileceği vurgulanmıştır (214). Bununla birlikte bugüne kadarki veriler, esas olarak lamininin damar duvarından hücre göçünü inhibe etmede ve mural hücre farklılaşmasını desteklemede ve potansiyel olarak aynı zamanda mekanik algılama ve mekanik transdüksiyonda ki rollerini desteklemektedir (214). Lamininler tarafından endotelyuma ve damar duvarının mural hücrelerine aktarılan moleküler bilgiyi anlamak, damar fizyolojisi ve vasküler patolojilerle ilişkili yeniden şekillenme süreçlerini anlamamıza da yardımcı olacaktır. Lamininlerin kas lifleri bazal membranında görülmesi kas bütünlüğü ve işlevi üzerine olan olumlu etkisindedir göstermektedir.

Miyojenik farklılaşmanın bir belirteci olan desmin yapısal destek, hücre göçü, hücresel farklılaşma ve kasılma ile ilgili görevleri olan hücre iskeleti proteinlerindendir (22,215). Çalışmalar, evrim sırasında vimentin, desmin, SMA ve laminin sıralama dizilerinin korunduğunu göstermiştir (22). Desmin, tüm kas tipleri için bir belirteç olarak tanımlanırken, Z disklerinin çevresiyle ilişkili olup sarkolemmada bulunur. (22,176). Dilin kas sistemi bağlılık, belirleme ve morfogenez de dâhil olmak üzere miyojenik farklılaşma çalışması için bir model sistem olarak uygun bir görünüm sergiler. Hücre iskeleti proteinlerini araştıran desmin izoenzimlerine karşı antikor kullanılan immünohistokimyasal çalışmalar, normal ve neoplastik iskelet kası hücrelerinin teşhisinde özellikle yararlı olmuştur (23). İnsan, domuz, at, sıçan ve farenin miyometriyumunda desmin immüno-ekspresyonu sitoplazmik boyama olarak rapor edilmiştir (210). Tavuklarda yapılan çalışmalarda çalışmamızla uyumlu olacak şekilde epitel altı damar ağındaki endotel hücrelerinin desmin için immüno-negatif bununla birlikte endotel hücrelerini çevreleyen tunika ortamının (tunika muskularisteki düz kas hücreleri) immüno-pozitif olduğu gösterilmiştir (22). Diğer çalışmalarla uyumlu olacak şekilde çalışmamızda dilde bulunan iskelet kaslarının güçlü desmin immün boyama gösterdiği gözlemlenmiştir (21,23). Rat uterusunda yapılan çalışmada da çalışmamıza paralel olacak şekilde uterus ve endometriyal bez epitelinde, stromal ve endotel hücrelerinde desmin saptanmadığı gösterilmiştir. Böylelikle çalışmamızda desmin'nin sadece çizgili ve düz kas hücrelerine özgü lokalize olduğunu söyleyebiliriz. Desmin, tüm füzyon öncesi miyoblastlarda, miyotüplerde ve miyofibrillerde ifade edilir. Daha da ötesinde desmin

ifadesi, miyoblastlardaki alfa-aktinlerden önce gelir ve böylelikle de desmin'in miyogenik farklılaşmanın ilk aşamaları için spesifik bir belirteç olduğu da gösterilir. Miyogenez, hücre bağılılığı, hücre döngüsünden çıkış, farklılaşmanın başlaması, hücre teması ve hizalanması ve hücre yapışması ve füzyonu dahil olmak üzere birkaç aşamaya ayrılabilir. Desmin, bu süreçlerin bir veya daha fazlasına aktif olarak katılabilir ve doğrudan miyoblast füzyonuna dâhil olabilir. Daha önceki çalışmalarda da, desmin eksikliğinin miyoblast füzyonunu ve miyotüp oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Bununla birlikte desminin düşük seviyelerde de olsa uydu hücrelerde ve çoğalan miyoblastlarda eksprese edildiği belirtilmiştir (176). Ayrıca desmin, çizgili kaslarda yapı ve işlevin düzenlenmesini entegre etmede açıkça merkezi bir rol oynayarak ağıza alınan besin maddelerinin parçalanması esnasında kas fonksiyonunun düzenlenmesinde ki önemini de gösterir. Desminin organel konumlandırma, sarkolemmmanın organizasyonu ve stabilitesi ve mekanik transdüksiyon sinyallerinin entegrasyonu gibi çeşitli hücresel süreçleri düzenlediği mekanizmalara ek olarak da, mitokondri veya çekirdek gibi organellerin dışından içine sinyallerin entegrasyonu için bir sinyal platformu görevi görebildiği de vurgulanmıştır (176). Böylelikle de çalışma çizgili kasların fizyolojisinde geniş bir rol oynayan desminin kas fonksiyonunun düzenlenmesinde IF'lerin ek rollerini ortaya çıkarmamıza da vesile olmuştur.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız literatür taramalarında ara filamentlerin çoğunlukla insanlarda göze çarpan oluşumları nedeniyle araştırmacılar tarafından kapsamlı bir şekilde ele alındığı görüldü. Sunulan çalışmayla da inek ve koyun dillerinde hücre iskeleti proteinlerinden olan CK8, 18, 19 ile vimentin, desmin ve laminin proteinlerinin ekspresyonunda görülen değişikliklerin, hücre yapısı ve fonksiyonu üzerinde farklı etkiler yaratabileceğini de belirgin bir şekilde gözlemlemiş olduk. Ara filamentler proteinleri, omurgalı organizmaların çeşitli işlevleri için ihtiyaç duyulan moleküller olarak temel bir görev görebilirler. CK8, 18 ve 19'un normal tabakalı squamöz epitelde eksprese edilmediği, ancak oral squamous hücre karsinomları dâhil olmak üzere karsinomlarda sıklıkla anormal şekilde eksprese edildiği ve ekspresyonlarının invazyon ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu da söyleyebiliriz. Böylelikle de sitokeratinlerin (CK), hücre farklılaşmasının belirteçleri ve malignitelerde histodiagnoza yardımcı kaynak olarak kullanılabilir olabileceği düşüncesi de desteklenmiş olunur. Ara filamentin ana proteinlerinden olan vimentin normal epitel hücrelerinde genellikle yoktur, ancak ekspresyonu neoplastik transformasyon sırasında düzenlenebilir. Bağdoku, endotel hücreleri ve lenf folikülleri gibi mezenkimal kökenli hücrelerde vimentinin artan ifadesi bu proteinin hücrelerde uyarılmış aktivite ile ilgili rollerinin olduğunu akla getirebilir. Böylelikle de vimentin ekspresyonunun hücre büyümesi, hücre döngüsü, tümör farklılaşması ve tümörijeniz sürecinde önemli ölçüde artan bir değerde olduğu da gösterilir. Bu çalışmada laminin immünoaktivitesinin dili oluşturan dokular arasında yaygın bir şekilde dağılmış olduğu görülmüştür. Böylelikle de bu çalışmayla laminin'in immünohistokimyasal analizinin inek ve koyun dilinin mikroskopik anatomisini incelemek için yararlı bir belirteç olduğu söylenebilir. Ayrıca çalışmanın sonucunda, laminin dağılımının bir sinirin gireceği epitelyal bir konumun belirlenmesinde rol oynayabileceği ve epitelyal tat tomurcuklarının innervasyonu için de rehberlik sağlayabileceği kanısına da varılmıştır. Çalışmamızın hücre iskeleti proteinlerinden bir diğeri olan desminin, dil kas sisteminde çizgili ve düz kaslarda lokalize olmasının hücresel bağlılık- belirleme ve kasılma da dahil olmak üzere kas-miyojenik konum çalışması için bir model sistem olarak da özellikle uygun olabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca desmin izoenzimlerine karşı antikorlar

kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmaların, normal ve neoplastik iskelet kası hücrelerinin teşhisinde özellikle yararlı olabileceği düşüncesini de sunabiliriz.

Bu çalışmada intermediyer filamentlerden sitokeratin, vimentin, laminin ve desmin ekspresyonu ve dağılımları ile ilgili güncel bilgilere genel bir bakış sunmaya çalıştık. İmmünohistokimyasal ekspresyon profillemeye teknolojileri doğal olarak tanımlayıcıdır ve bu nedenle aynı proteinlere karşı kullanılan farklı monoklonal antikolar ile türler arası farklılıkların olabileceğini söyleyebiliriz. Bununla birlikte hücre ve doku bağlamında intermediyer filamentlerin yapısını, işlevini ve dinamiklerini daha sistematik bir şekilde araştırarak ortaya çıkaran bulguların moleküler düzeyde kombine edilmesi de önemlidir.

Sonuç olarak, ara filament ekspresyon modelindeki herhangi bir değişikliğin, önemli hücre özelliklerindeki değişiklikleri yansıttığını veya altında yattığını belirterek çalışmadan elde edilen immünohistokimyasal ve kantitatif verilerin ilgili çalışmalara ışık tutabileceği kanaatindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Roth G, Wake DB. Conservation and innovation in the evolution of feeding in vertebrates. Wake D, Roth G, editors. New York: John Wiley & Sons; 1989.
2. Iwasaki SI. Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. J Anat. 2002; 201(1):1–13.
3. Sağsöz H, Erdoğan S, Saruhan BG. The expressions of some metabolic hormones (leptin, ghrelin and obestatin) in the tissues of sheep tongue. J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol. 2020; 49(1):112–120.
4. Tadjalli M, Pazhoomand R. Tongue papillae in lambs: A scanning electron microscopic study. Small Rumin Res. 2004; 54(1–2):157–164.
5. Kurtul I, Atalgin SH. Scanning electron microscopic study on the structure of the lingual papillae of the Saanen goat. Small Rumin Res. 2008; 80(1–3):52–56.
6. König H, Liebich H. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas. Germany: Schattauer GmbH; 2007.
7. Rao RS, Patil S, Ganavi BS. Oral cytokeratins in health and disease. J Contemp Dent Pract. 2015; 15(1):127–136.
8. Cooper GM, Hausman RE. The Cell: Molecular Approach. Çeviren: Sakızlı M, Atabey N. Hücre: Moleküler Yaklaşım, 3. basım, İzmir Kitabevi, İzmir; 2006.
9. Milli ÜH, Hazirolu R, Aydın Y, Gülbahar MY. Köpek Meme Tümörlerinde Sitokeratin, Vimentin ve Alfa-Düz Kas Aktin Intermedier ve Mikro Filamentlerinin Immunohistokimyasal Lokalizasyonu. Turkish J Vet Anim Sci. 2000; 24(1):81–92.
10. Beyaz F, Bayram G, Alan E. Vimentin, Sitokeratin, α -SMA ve Desmin'in Yeni Zellanda Tavşanı Testis ve Epididimisindeki İmmunohistokimyasal Ekspresyonu. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2009; 6(2):111–119.

11. Witt M, Kasper M. Distribution of cytokeratin filaments and vimentin in developing human taste buds. *Anat Embryol (Berl)*. 1999; 199(4):291–299.
12. Sawaf MH, Shabana AHM, Pelissier A, Forest N, Ouhayoun JP. Characterization of cytokeratin patterns in the developing human tongue. *Int J Dev Biol*. 1991; 35(2):91–100.
13. Bosch FX, Leube RE, Achtstatter T, Moll R, Franke WW. Expression of simple epithelial type cytokeratins in stratified epithelia as detected by immunolocalization and hybridization in situ. *J Cell Biol*. 1988; 106(5):1635–1648.
14. Öksüz H. Tiroidin Papiller Karsinomlarında Galektin-3 ve Sitokeratin-19 Ekspresyonlarının Tümör Progresyonu ile İlişkisi. Sağlık Bakanlığı, Uzmanlık Tezi, 2005, Ankara.
15. Townson DH, Putnam AN, Sullivan BT, Guo L, Irving-Rodgers HF. Expression and distribution of cytokeratin 8/18 intermediate filaments in bovine antral follicles and corpus luteum: An intrinsic mechanism of resistance to apoptosis? *Histol Histopathol*. 2010; 25(7):889–900.
16. Chang YC, Tsai CH, Tai KW, Yang SH, Chou MY, Lii CK. Elevated vimentin expression in buccal mucosal fibroblasts by arecoline in vitro as a possible pathogenesis for oral submucous fibrosis. *Oral Oncol*. 2002; 38(5):425–430.
17. Nayak MT, Singh A, Desai RS, Vanaki SS. Immunohistochemical analysis of vimentin in oral submucous fibrosis. 2013; 2013:1-6.
18. Line SRP, Fortes L, Graner E, Almeida OP. Immunochemical characterization and distribution of laminin in the rat tongue. *Acta Histochem*. 1995; 97(3):307–312.
19. Kosmehl H, Berndt A, Strassburger S, et al. Distribution of laminin and fibronectin isoforms in oral mucosa and oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 1999; 81(6):1071–1079.

20. Franz M, Wolheim A, Richter P, et al. Stromal laminin chain distribution in normal, hyperplastic and malignant oral mucosa: Relation to myofibroblast occurrence and vessel formation. *J Oral Pathol Med*. 2010; 39(4):290–298.
21. Kim JH, Jin ZW, Murakami G, Cho BH. Characterization of mesenchymal cells beneath cornification of the fetal epithelium and epidermis at the face: An immunohistochemical study using human fetal specimens. *Anat Cell Biol*. 2016; 49(1):50–60.
22. Madekurozwa MC. An Immunohistochemical Study of the Oviduct in the Domestic Fowl (*Gallus domesticus*). *J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol*. 2013; 42(1):48–56.
23. Mayo ML, Bringas P, Santos V, Shum L, Slavkin HC. Desmin expression during early mouse tongue morphogenesis. *Int J Dev Biol*. 1992; 36(2):255–263.
24. Ding Y, Yu S, Shao B. Anatomical and histological characteristic of the tongue and tongue mucosa linguae in the cattle-yak (*Bos taurus* × *Bos grunniens*). *Front Biol (Beijing)*. 2016; 11(2):141–148.
25. Toprak B, Candan S, Özyurt Koçakoğlu N. Ankara Keçisinde (*Capra Hircus*) Dil Papillalarının Işık ve Taramalı Elektron Mikroskopik Yapısı Üzerine İncelemeler: I. Tat Papillaları*. *Etlik Vet Mikrobiyoloji Derg*. 2020; 31(2):158–166.
26. Tanyolaç A. Özel Histoloji. Ankara: Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti.; 1999.
27. Shuttleworth G, Thomson BP. Veterinary embryology. Malatya: Medipress Yayıncılık Ltd. Şti; 2007.
28. Jain P, Rathee M. Embryology, Tongue. StatPearls Publishing; 2019.
29. Witt M, Reutter K. Embryonic and early fetal development of human taste buds: A transmission electron microscopical study. *Anat Rec*. 1996;

246(4):507–523.

30. Hassa O, Aştı R. Embriyoloji. Ankara: Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti.; 1997.
31. Stone M, Woo J, Lee J, et al. Structure and variability in human tongue muscle anatomy. *Comput Methods Biomech Biomed Eng Imaging Vis.* 2018; 6(5):499–507.
32. Kier WM, Smith KK. Tongues, tentacles and trunks: the biomechanics of movement in muscular-hydrostats. *Zool J Linn Soc.* 1985; 83(4):307–324.
33. Onar V, Armutak İlkay E. Temel Anatomi ve Histoloji Bilgisi. İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi Yayınları; 2010; s:83
34. Dursun, Nejdett; Karakaş K. Veteriner Anatomi I. Ankara: Medisan Yayınevi; 2007.
35. Singh DR. Essentials of Anatomy for Dentistry Students. Çeviren: Bilge O, Uyanıkgil Y, Bilecenoğlu B, Çelik S. Diş Hekimliği İçin Anatominin Temelleri. 2. Basım, İstanbul Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2019, s: 543-560.
36. Odar İV. Anatomi Ders Kitabı. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık, 1986: 43-49.
37. Tütüncü O. Boz Irk Sığırlarda Dil Papillalarının Anatomik Yapısının Elektron Mikroskopik İncelenmesi. Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2020, Balıkesir (Danışman: Prof. Dr. Şükrü Hakan ATALGIN).
38. König HE, Liebich HG, Bragulla H. Veterinary Anatomy Of Domestic Mammals: Textbook And Colour Atlas. 3. Ed., Stuttgart, New York: Schattauer Gmbh&Co.; 2015: 309-314.
39. Özer A. Veteriner Özel Histoloji. Bursa: Dora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti;

2018.

40. Banks W. Applied veterinary histology. Baltimore: Williams and Wilkins Co; 1981.
41. Merrillees N. Basic Histology. New York; 1976.
42. Lanyon LE, Bee JA. Textbook of veterinary histology, 3rd edn. Philadelphia: Lea&Febiger; 1988.
43. Gülmez N. Sindirim sistemi I: Ağız Boşluğu. Veteriner Özel Histoloji. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım AŞ; 2008.
44. Majumdar D, Tiernan JP, Lobo AJ, Evans CA, Corfe BM. Keratins in colorectal epithelial function and disease. *Int J Exp Pathol*. 2012; 93(5):305–318.
45. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: Biology and pathology. *Histochem Cell Biol*. 2008; 129(6):705–733.
46. Pekny M, Lane EB. Intermediate filaments and stress. *Exp Cell Res*. 2007; 313(10):2244–2254.
47. Rao RS, Patil S, Ganavi BS. Oral cytokeratins in health and disease. *J Contemp Dent Pract*. 2015; 15(1):127–136.
48. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*. 1982; 31(1):11–24.
49. Barrett AW, Cort EM, Patel P, Berkovitz BKB. An immunohistological study of cytokeratin 20 in human and mammalian oral epithelium. *Arch Oral Biol*. 2000; 45(10):879–887.
50. Takiguchi-Hayashi K, Mizuno T, Yasugi S. Cytokeratin expression in the stomach epithelia of the chicken embryo is regulated by epithelial-mesenchymal interactions. *Zoolog Sci*. 1996; 13(2):263–270.

51. Chaffey N. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. Molecular biology of the cell. 4th edn. Ann Bot. 2003; 91(3):401–401.
52. Levin L. Oral Cells and Tissues. Illinois: Quintessence Publishing Co., Inc; 2004.
53. Lane EB, McLean WHI. Keratins and skin disorders. J Pathol. 2004; 204(4):355–366.
54. Parry DAD, Strelkov S V., Burkhard P, Aepli U, Herrmann H. Towards a molecular description of intermediate filament structure and assembly. Exp Cell Res. 2007; 313(10):2204–2216.
55. Geisler N, Weber K. The amino acid sequence of chicken and muscle desmin provides a common structural model for intermediate filament proteins. EMBO J. 1983; 2(4):625–625.
56. Fraser RDB, MacRae TP, Parry DAD, Suzuki E. Intermediate filaments in α -keratins. Proc Natl Acad Sci U S A. 1986; 83(5):1179–1183.
57. Coulombe PA, Bousquet O, Ma L, Yamada S, Wirtz D. The “ins” and “outs” of intermediate filament organization. Trends Cell Biol. 2000; 10(10):420–428.
58. Hatzfeld M, Franke WW. Pair formation and promiscuity of cytokeratins: Formation in vitro of heterotypic complexes and intermediate-sized filaments by homologous and heterologous recombinations of purified polypeptides. J Cell Biol. 1985; 101(5):1826–1841.
59. Franke WW, Schmid E, Schiller DL, et al. Differentiation-related patterns of expression of proteins of intermediate-size filaments in tissues and cultured cells. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1982; 46(1):431–453.
60. Vaidya MM, Sawant SS, Borges AM, Naresh NK, Purandare MC, Bhisay AN. Cytokeratin expression in human fetal tongue and buccal mucosa. J Biosci.

2000; 25(3):235–242.

61. Omary MB, Ku NO, Strnad P, Hanada S. Toward unraveling the complexity of simple epithelial keratins in human disease. *J Clin Invest.* 2009; 119(7):1794–1805.
62. Singh S, Koke JR, Gupta PD, Malhotra SK. Multiple roles of intermediate filaments. *Cytobios.* 1994; 77(308):41–57.
63. Eriksson JE, Dechat T, Grin B, et al. Introducing intermediate filaments: From discovery to disease. *J Clin Invest.* 2009; 119(7):1763–1771.
64. Nanda KDS, Ranganathan K, Devi U, Joshua E. Increased expression of CK8 and CK18 in leukoplakia, oral submucous fibrosis, and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemistry study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012; 113(2):245–253.
65. Galarneau L, Loranger A, Gilbert S, Marceau N. Keratins modulate hepatic cell adhesion, size and G1/S transition. *Exp Cell Res.* 2007; 313(1):179–194.
66. Ku NO, Omary MB. A disease- and phosphorylation-related nonmechanical function for keratin 8. *J Cell Biol.* 2006; 174(1):115–125.
67. Lau ATY, Chiu JF. The possible role of cytokeratin 8 in cadmium-induced adaptation and carcinogenesis. *Cancer Res.* 2007; 67(5):2107–2113.
68. Linder S, Havelka AM, Ueno T, Shoshan MC. Determining tumor apoptosis and necrosis in patient serum using cytokeratin 18 as a biomarker. *Cancer Lett.* 2004; 214(1):1–9.
69. Leube RE, Bosch FX, Romano V, Zimbelmann R, Höfler H, Franke WW. Cytokeratin expression in simple epithelia: III. Detection of mRNAs encoding human cytokeratins nos. 8 and 18 in normal and tumor cells by hybridization with cDNA sequences in vitro and in situ. *Differentiation.* 1986; 33(1):69–85.
70. Magin TM, Vijayaraj P, Leube RE. Structural and regulatory functions of

- keratins. *Exp Cell Res*. 2007; 313(10):2021–2032.
71. Ku NO, Azhar S, Bishr Omary M. Keratin 8 phosphorylation by p38 kinase regulates cellular keratin filament reorganization. Modulation by a keratin 1-like disease-causing mutation. *J Biol Chem*. 2002; 277(13):10775–10782.
 72. Omary MB, Baxter GT, Chou CF, Riopel CL, Wei Yu Lin, Strulovici B. PKC ϵ -related kinase associates with and phosphorylates cytokeratin 8 and 18. *J Cell Biol*. 1992; 117(3):583–593.
 73. Wöll S, Windoffer R, Leube RE. p38 MAPK-dependent shaping of the keratin cytoskeleton in cultured cells. *J Cell Biol*. 2007; 177(5):795–807.
 74. Matthias C, Mack B, Berghaus A, Gires O. Keratin 8 expression in head and neck epithelia. *BMC Cancer*. 2008; 8(1):267.
 75. Cytokeratin 8'in immunofloresan görüntüsü. Available at: <https://www.ptglab.com/products/KRT8-Antibody-10384-1-AP.htm>. Accessed March 24, 2022.
 76. Gires O, Andratschke M, Schmitt B, MacK B, Schaffrik M. Cytokeratin 8 associates with the external leaflet of plasma membranes in tumour cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 328(4):1154–1162.
 77. Hembrough TA, Kralovich KR, Li L, Gonias SL. Cytokeratin 8 released by breast carcinoma cells in vitro binds plasminogen and tissue-type plasminogen activator and promotes plasminogen activation. *Biochem J*. 1996; 317(3):763–769.
 78. Hembrough TA, Li L, Gonias SL. Cell-surface cytokeratin 8 is the major plasminogen receptor on breast cancer cells and is required for the accelerated activation of cell-associated plasminogen by tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem*. 1996; 271(41):25684–25691.
 79. Hembrough TA, Vasudevan J, Allietta MM, Glass WF, Gonias SL. A cytokeratin 8-like protein with plasminogen-binding activity is present on the

external surfaces of hepatocytes, HepG2 cells and breast carcinoma cell lines. *J Cell Sci.* 1995; 108(3):1071–1082.

80. Kralovich KR, Li L, Hembrough TA, Webb DJ, Karns LR, Gonias SL. Characterization of the binding sites for plasminogen and tissue-type plasminogen activator in cytokeratin 8 and cytokeratin 18. *J Protein Chem.* 1998; 17(8):845–854.
81. Chu YW, Runyan RB, Oshima RG, Hendrix MJC. Expression of complete keratin filaments in mouse L cells augments cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90(9):4261–4265.
82. <https://en.wikipedia.org/wiki/Cytokeratin>. Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/Cytokeratin> %0A. Accessed March 24, 2022.
83. Ahlemann M, Schmitt B, Stieber P, Gires O, Lang S, Zeidler R. Evaluation of CK8-specific autoantibodies in carcinomas of distinct localisations. *Anticancer Res.* 2006; 26(1 B):783–789.
84. Raul U, Sawant S, Dange P, Kalraiya R, Ingle A, Vaidya M. Implications of cytokeratin 8/18 filament formation in stratified epithelial cells: Induction of transformed phenotype. *Int J Cancer.* 2004; 111(5):662–668.
85. Fillies T, Werkmeister R, Packeisen J, et al. Cytokeratin 8/18 expression indicates a poor prognosis in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *BMC Cancer.* 2006; 6(1):10.
86. Haimov E, Windoffer R, Leube RE, Urbakh M, Kozlov MM. Model for Bundling of Keratin Intermediate Filaments. *Biophys J.* 2020; 119(1):65–74.
87. Lam KY, Loke SL, Ma LT. Cytokeratin expression in non-neoplastic oesophageal epithelium and squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Virchows Arch.* 1995; 426(4):345–349.
88. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, Mitsuya T. Coordinate expression of cytokeratin 8 and cytokeratin 17 immunohistochemical staining in cervical intraepithelial

- neoplasia and cervical squamous cell carcinoma: An immunohistochemical analysis and review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2008; 108(3):598–602.
89. Gharib TG, Chen G, Wang H, et al. Proteomic analysis of cytokeratin isoforms uncovers association with survival in lung adenocarcinoma. *Neoplasia.* 2002; 4(5):440–448.
90. Cintorino M, Tripodi SA, Santopietro R, et al. Cytokeratin expression patterns as an indicator of tumour progression in oesophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2001; 21(6 A):4195–4201.
91. Wang Y, He QY, Tsao SW, Cheung YH, Wong A, Chiu JF. Cytokeratin 8 silencing in human nasopharyngeal carcinoma cells leads to cisplatin sensitization. *Cancer Lett.* 2008; 265(2):188–196.
92. Rekhtman N, Bishop JA. Quick Reference Handbook for Surgical Pathologists. Heidelberg: Springer. 2011; p:4–8. .
93. H. D, M.H. C. Ovarian Follicular Atresia. In: Basic Gynecology - Some Related Issues. InTech; 2012.
94. Franke WW, Schiller DL, Moll R, et al. Diversity of cytokeratins. Differentiation specific expression of cytokeratin polypeptides in epithelial cells and tissues. *J Mol Biol.* 1981; 153(4):933–959.
95. Owens DW, Lane EB. Keratin mutations and intestinal pathology. *J Pathol.* 2004; 204(4):377–385.
96. Franke WW, Grund C, Jackson BW, Illmensee K. Formation of cytoskeletal elements during mouse embryogenesis: IV. Ultrastructure of primary mesenchymal cells and their cell-cell interactions. *Differentiation.* 1984; 25(1–3):121–141.
97. Blumenberg M. Concerted gene duplications in the two keratin gene families. *J Mol Evol.* 1988; 27(3):203–211.

98. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation. Expression profiles in epithelia and epithelial tumors. *Veroff Pathol.* 1993; 142:1-197.
99. Mujiyambere B, Jayaraj R, Suja S. Cytokeratin 19 (CK19) as a marker for Epithelial Differentiation and Malignant Transformation: Its Clinical relevance in Diagnosis, Prognosis and Treatment response monitoring. *IRE Journals.* 2018; 2(3):51–61.
100. KRT19 keratin 19 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. 2008. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3880>. Accessed March 24, 2022.
101. İnsan, Fare Ve Sıçan Hücrelerinden Ekprese Edilen Sitokeratin 19 Proteinin Diziliminin Farklılıkları. Available at: <https://www.sinobiological.com/resource/cytokeratin-19/proteins>. Accessed March 24, 2022.
102. Bader BL, Magin TM, Hatzfeld M, Franke WW. Amino acid sequence and gene organization of cytokeratin no. 19, an exceptional tail-less intermediate filament protein. *EMBO J.* 1986; 5(8):1865–1875.
103. CK 19 proteinin helezonik yapısı. Available at: <https://www.sinobiological.com/resource/cytokeratin-19/proteins>. Accessed March 24, 2022.
104. Cytokeratins in Tumor Detection | www.antibodies-online.com. Available at: <https://www.antibodies-online.com/areas/cancer-research/cytokeratins-in-tumor-detection/>. Accessed March 24, 2022.
105. Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004; 10(20):6897–6904.
106. Ivaska J, Pallari HM, Nevo J, Eriksson JE. Novel functions of vimentin in cell adhesion, migration, and signaling. *Exp Cell Res.* 2007; 313(10):2050–2062.
107. Çağırır FT. Endometriomaların Histokimyasal (Pas, Van Gieson) Ve

- İmmünohistokimyasal (Vimentin, Nse, Syn, Pgp9.5, P53, C-Kit) Boyanma Özelliklerinin Normal Over Dokusu ve Nonendometriotik Ovarian Kistlerle Karşılaştırılması. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2012, Malatya (Danışman: Prof. Dr. Önder ÇELİK).
108. Franke WW, Grund C, Kuhn C, Jackson BW, Illmensee K. Formation of Cytoskeletal Elements During Mouse Embryogenesis: III. Primary Mesenchymal Cells and the First Appearance of Vimentin Filaments. Differentiation. 1982; 23(1–3):43–59.
 109. Hesse M, Magin TM, Weber K. Genes for intermediate filament proteins and the draft sequence of the human genome: novel keratin genes and a surprisingly high number of pseudogenes related to keratin genes 8 and 18. J Cell Sci. 2001; 114:2569–75. .
 110. Goldie KN, Wedig T, Mitra AK, Aeby U, Herrmann H, Hoenger A. Dissecting the 3-D structure of vimentin intermediate filaments by cryo-electron tomography. J Struct Biol. 2007; 158(3):378–385.
 111. Chang L, Shav-Tal Y, Trcek T, Singer RH, Goldman RD. Assembling an intermediate filament network by dynamic cotranslation. J Cell Biol. 2006; 172(5):747–758.
 112. Fuchs E. Intermediate Filaments: Structure, Dynamics, Function, and Disease. Annu Rev Biochem. 1994; 63(1):345–382.
 113. Ustaalioglu YE. Plazma Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (Ngal), Vimentin ve Fibronektin (Fn) Düzeylerinin Meme Kanserinin Tanısı, Kemoterapiye Yanıt ve Prognoz İle İlişkisinin Değerlendirilmesi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2015, Bursa (Danışman Prof. Dr. Engin ULUKAYA).
 114. Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy. Cell Mol Life Sci. 2011; 68(18):3033–3046.
 115. Steinert PM, Marekov LN, Fraser RDB, Parry DAD. Keratin intermediate

- filament structure. Crosslinking studies yield quantitative information on molecular dimensions and mechanism of assembly. *J. Mol. Biol.* 1993;230(2):436–452.
116. Mckeon FD, Kirschner MW, Caput D. Homologies in both primary and secondary structure between nuclear envelope and intermediate filament proteins. *Nature*. 1986; 319(6053):463–468.
 117. Steinert PM. Structure, function, and dynamics of keratin intermediate filaments. *J Invest Dermatol*. 1993; 100(6):729–734.
 118. Crystal RG, Randell SH, Engelhardt JF, Voynow J, Sunday ME. Airway epithelial cells: Current concepts and challenges. *Proc Am Thorac Soc*. 2008; 5(7):772–777.
 119. Kidd ME, Shumaker DK, Ridge KM. The role of Vimentin intermediate filaments in the progression of lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014; 50(1):1–6.
 120. Ekshyyan O, Aw T. Apoptosis: A Key in Neurodegenerative Disorders. *Curr Neurovasc Res*. 2005; 1(4):355–371.
 121. Eckes, B. et al. Impaired mechanical stability, migration and contractile capacity in vimentin-deficient fibroblasts. *J. Cell Sci*. 1998; 111:1897–1907. .
 122. Eckes B, Colucci-Guyon E, Smola H, et al. Impaired wound healing in embryonic and adult mice lacking vimentin. *J Cell Sci*. 2000; 113(13):2455–2462.
 123. Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, Markovitz DM. Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nat Cell Biol*. 2003; 5(1):59–63.
 124. Wang N, Stamenovic D. Mechanics of vimentin intermediate filaments. *J Muscle Res Cell Motil*. 2002; 23(5–6):535–540.
 125. Danielsson F, Peterson MK, Araújo HC, Lautenschläger F, Gad AKB.

- Vimentin diversity in health and disease. *Cells*. 2018; 7(10):1. – 38 of 38.
126. Chou YH, Bischoff JR, Beach D, Goldman RD. Intermediate filament reorganization during mitosis is mediated by p34cdc2 phosphorylation of vimentin. *Cell*. 1990; 62(6):1063–1071.
 127. Chou YH, Opal P, Quinlan RA, Goldman RD. The relative roles of specific N- and C-terminal phosphorylation sites in the disassembly of intermediate filament in mitotic BHK-21 cells. *J Cell Sci*. 1996; 109(4):817–826.
 128. Goto H, Kosako H, Tanabe K, et al. Phosphorylation of vimentin by RHO-associated kinase at a unique amino-terminal site that is specifically phosphorylated during cytokinesis. *J Biol Chem*. 1998; 273(19):11728–11736.
 129. Goto H, Yasui Y, Kawajiri A, et al. Aurora-B regulates the cleavage furrow-specific vimentin phosphorylation in the cytokinetic process. *J Biol Chem*. 2003; 278(10):8526–8530.
 130. Takai Y, Ogawara M, Tomono Y, et al. Mitosis-specific phosphorylation of vimentin by protein kinase C coupled with reorganization of intracellular membranes. *J Cell Biol*. 1996; 133(1):141–149.
 131. Yamaguchi T, Goto H, Yokoyama T, et al. Phosphorylation by Cdk1 induces Plk1-mediated vimentin phosphorylation during mitosis. *J Cell Biol*. 2005; 171(3):431–436.
 132. Gard DL, Lazarides E. Cyclic AMP-modulated phosphorylation of intermediate filament proteins in cultured avian myogenic cells. *Mol Cell Biol*. 1982; 2(9):1104–1114.
 133. Stefanovic S, Windsor M, Nagata K, Inagaki M, Wileman T. Vimentin Rearrangement during African Swine Fever Virus Infection Involves Retrograde Transport along Microtubules and Phosphorylation of Vimentin by Calcium Calmodulin Kinase II. *J Virol*. 2005; 79(18):11766–11775.
 134. Eriksson JE, Brautigam DL, Vallee R, Olmsted J, Fujiki H, Goldman RD.

- Cytoskeletal integrity in interphase cells requires protein phosphatase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89(22):11093–11097.
135. Eriksson JE, He T, Trejo-Skalli A V., et al. Specific in vivo phosphorylation sites determine the assembly dynamics of vimentin intermediate filaments. *J Cell Sci*. 2004; 117(6):919–932.
136. Kochin V, Imanishi SY, Eriksson JE. Fast track to a phosphoprotein sketch - MALDI-TOF characterization of TLC-based tryptic phosphopeptide maps at femtomolar detection sensitivity. *Proteomics*. 2006; 6(21):5676–5682.
137. Minin AA, Moldaver M V. Intermediate vimentin filaments and their role in intracellular organelle distribution. *Biochem*. 2008; 73(13):1453–1466.
138. Kim HS, Suh YH. Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*. 2009; 196(2):168–179.
139. Doğantürk S. Yenidoğan Sarılığında Vimentin Ve Tau Düzeyleri. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2020, Şanlıurfa (Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Hüseyin GÜMÜŞ).
140. Özçetin H, Tamçelik N. Fakoemulsifikasyon. Bursa: TOD EğitimYayınları; 2004, 1-10.
141. Pınar CL. Katarakt Hastalarının Lens Ön Kapsülünde Icam-1 ve Vimentin'in Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2015, Erzurum (Danışman: Doç. Dr. İlknur AKYOL SALMAN).
142. Their JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumor progression. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2(6):442–454.
143. Dabbs D. Diagnostik İmmunohistochemistry 2006:200, 253, 263, 337, 338, 339, 450, 451, 553-4, 556-8, 665. .
144. Rile N, Liu Z, Gao L, et al. Expression of Vimentin in hair follicle growth cycle of inner Mongolian Cashmere goats. *BMC Genomics*. 2018; 19(1):4–11.

145. Bayram E. Doksorubisin'in Farklı Formlarının Vimentin, Topoizomeraaz Ve Antioksidan Enzim Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Deneysel Meme Tümör Modelinde Araştırılması. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2019, Edirne (Danışman: Doç. Dr. Özlem DEMİRKIRAN).
146. Stirling DP, Koochesfahani KM, Steeves JD, Tetzlaff W. Minocycline as a neuroprotective agent. *Neuroscientist*. 2005; 11(4):308–322.
147. Sarria AJ, Panini SR, Evans RM. A functional role for vimentin intermediate filaments in the metabolism of lipoprotein-derived cholesterol in human SW-13 cells. *J Biol Chem*. 1992; 267(27):19455–19463.
148. Carlsson L, Thornell LE. Desmin-related myopathies in mice and man. *Acta Physiol Scand*. 2001; 171(3):341–348.
149. Xue ZG, Cheraud Y, Brocheriou V, et al. The mouse synemin gene encodes three intermediate filament proteins generated by alternative exon usage and different open reading frames. *Exp Cell Res*. 2004; 298(2):431–444.
150. Paulin D, Li Z. Desmin: A major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. *Exp Cell Res*. 2004; 301(1):1–7.
151. Capetanaki YG, Ngai J, Lazarides E. Characterization and regulation in the expression of a gene coding for the intermediate filament protein desmin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(22 I):6909–6913.
152. Li Z, Mericskay M, Agbulut O, et al. Desmin is essential for the tensile strength and integrity of myofibrils but not for myogenic commitment, differentiation, and fusion of skeletal muscle. *J Cell Biol*. 1997; 139(1):129–144.
153. Milner DJ, Weitzer G, Tran D, Bradley A, Capetanaki Y. Disruption of muscle architecture and myocardial degeneration in mice lacking desmin. *J Cell Biol*. 1996; 134(5):1255–1270.

154. Costa ML, Escaleira R, Cataldo A, Oliveira F, Mermelstein CS. Desmin: Molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein. *Brazilian J Med Biol Res.* 2004; 37(12):1819–1830.
155. Fuchs C, Gawlas S, Heher P, et al. Desmin enters the nucleus of cardiac stem cells and modulates Nkx2.5 expression by participating in transcription factor complexes that interact with the nkx2.5 gene. *Biol Open.* 2016; 5(2):140–153.
156. Diermeier S, Iberl J, Vetter K, et al. Early signs of architectural and biomechanical failure in isolated myofibers and immortalized myoblasts from desmin-mutant knock-in mice. *Sci Rep.* 2017; 7(1):1–14.
157. Capetanaki Y, Bloch RJ, Kouloumenta A, Mavroidis M, Psarras S. Muscle intermediate filaments and their links to membranes and membranous organelles. *Exp Cell Res.* 2007; 313(10):2063–2076.
158. Fountoulakis M, Soumaka E, Rapti K, et al. Alterations in the heart mitochondrial proteome in a desmin null heart failure model. *J Mol Cell Cardiol.* 2005; 38(3):461–474.
159. Alam S, Abdullah CS, Aishwarya R, et al. Aberrant mitochondrial fission is maladaptive in desmin mutation–Induced cardiac proteotoxicity. *J Am Heart Assoc.* 2018; 7(14):1–22.
160. Cohen S, Zhai B, Gygi SP, Goldberg AL. Ubiquitylation by Trim32 causes coupled loss of desmin, Z-bands, and thin filaments in muscle atrophy. *J Cell Biol.* 2012; 198(4):575–589.
161. Aweida D, Rudesky I, Volodin A, Shimko E, Cohen S. GSK3- β promotes calpain-1–mediated desmin filament depolymerization and myofibril loss in atrophy. *J Cell Biol.* 2018; 217(10):3698–3714.
162. Volodin A, Kosti I, Goldberg AL, Cohen S. Myofibril breakdown during atrophy is a delayed response requiring the transcription factor PAX4 and desmin depolymerization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017; 114(8):E1375–E1384.

163. Agnetti G, Herrmann H, Cohen S. New roles for desmin in the maintenance of muscle homeostasis. *Febs J.* 2021; febs.15864.
164. Gao J, Li Z, Paulin D. A novel site, Mt, in the human desmin enhancer is necessary for maximal expression in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1998; 273(11):6402–6409.
165. Li Z, Marchand P, Humbert J, Babinet C, Paulin D. Desmin sequence elements regulating skeletal muscle-specific expression in transgenic mice. *Development.* 1993; 117(3):947–959.
166. Li H, Capetanaki Y. An E box in the desmin promoter cooperates with the E box and MEF-2 sites of a distal enhancer to direct muscle-specific transcription. *EMBO J.* 1994; 13(15):3580–3589.
167. Van De Klundert FAJM, Jansen HJ, Bloemendal H. A proximal promoter element in the hamster desmin upstream regulatory region is responsible for activation by myogenic determination factors. *J Biol Chem.* 1994; 269(1):220–225.
168. Kuisk IR, Li H, Tran D, Capetanaki Y. A single MEF2 site governs desmin transcription in both heart and skeletal muscle during mouse embryogenesis. *Dev Biol.* 1996; 174(1):1–13.
169. Mericskay M, Parlakian A, Porteu A, et al. An overlapping CArG/octamer element is required for regulation of desmin gene transcription in arterial smooth muscle cells. *Dev Biol.* 2000; 226(2):192–208.
170. Raguz S, Hobbs C, Yagüe E, Ioannou PA, Walsh FS, Antoniou M. Muscle-specific locus control region activity associated with the human desmin gene. *Dev Biol.* 1998; 201(1):26–42.
171. Li Z, Colucci-Guyon E, Pinçon-Raymond M, et al. Cardiovascular lesions and skeletal myopathy in mice lacking desmin. *Dev Biol.* 1996; 175(2):362–366.
172. Li H, Capetanaki Y. Regulation of the mouse desmin gene: Transactivation by

- MyoD, myogenin, MRF4 and Myf5. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21(2):335–343.
173. Goldman RD, Cleland MM, Murthy SNP, Mahammad S, Kuczmarski ER. Inroads into the structure and function of intermediate filament networks. *J Struct Biol.* 2012; 177(1):14–23.
174. Tang DD. Intermediate filaments in smooth muscle. *Am J Physiol - Cell Physiol.* 2008; 294(4).
175. Lazarides E. Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature.* 1980; 283: 249-56.
176. Hnia K, Ramspacher C, Vermot J, Laporte J. Desmin in muscle and associated diseases: beyond the structural function. *Cell Tissue Res.* 2015; 360(3):591–608.
177. Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton: A potential regulator of muscle mitochondrial behavior and function. *Trends Cardiovasc Med.* 2002; 12(8):339–348.
178. Koyunlar C. Desma Ve Desmb Knockout Zebra Balığı Modellerinde Desmin İfadesinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Pervin Dinçer).
179. Colognato H, Yurchenco PD. Form and function: The laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn.* 2000; 218(2):213–234.
180. Kleinman HK, Cannon FB, Laurie GW, et al. Biological activities of laminin. *J Cell Biochem.* 1985; 27(4):317–325.
181. Tryggvason K. The laminin family. *Curr Opin Cell Biol.* 1993; 5(5):877–882.
182. Martin GR, Timpl R. Laminin and other basement membrane components. *Annu Rev Cell Biol.* 1987; 3(1):57–85.
183. Ekblom P, Lonai P, Talts JF. Expression and biological role of laminin-1. *Matrix Biol.* 2003; 22(1):35–47.

184. Colognato H, Yurchenco PD. Form and function: The laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn.* 2000; 218(2):213–234.
185. Hovey RC, Goldhar AS, Baffi J, Vonderhaar BK. Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor expression in epithelial and stromal cells during mouse mammary gland development. *Mol Endocrinol.* 2001; 15(5):819–831.
186. Sağsöz H. Sıçanların meme dokusunda gebelik, laktasyon ve laktasyon sonrası dönemde epidermal büyüme faktörü (egfr) ve vasküler endoteliyal büyüme faktörü (vegfr) reseptörlerinin dağılımın immunohistokimyasal olarak gösterilmesi. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2009, Diyarbakır (Danışman: Doç. Dr. M. Aydın KETANİ).
187. Çelenk F. Yetişkin boğa ve koçların testis ve epididimal kanal ünitesindeki vimentinin immunohistokimyasal dağılımı. *Dicle Üniversitesi Vet Fakültesi Derg.* 2021; 14(2):83–88.
188. Mudduwa LKB. Quick score of hormone receptor status of breast carcinoma: Correlation with the other clinicopathological prognostic parameters. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009; 52(2):159–163.
189. Detre S, Saccani Jotti G, Dowsett M. A “quickscore” method for immunohistochemical semiquantitation: Validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *J Clin Pathol.* 1995; 48(9):876–878.
190. Woelfle U, Sauter G, Santjer S, Brakenhoff R, Pantel K. Down-Regulated Expression of Cytokeratin 18 Promotes Progression of Human Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2004; 10(8):2670–2674.
191. Watanabe S, Ichikawa E, Takahashi H, Otsuka F. Changes of cytokeratin and involucrin expression in squamous cell carcinomas of the skin during progression to malignancy. *Br J Dermatol.* 1995; 132(5):730–739.
192. Morgan PR, Su L. Intermediate filaments in oral neoplasia. I. Oral cancer and epithelial dysplasia. *Eur J Cancer Part B Oral Oncol.* 1994; 30(3):160–166.

193. Bombeccari Gian P. Immunoexpression of cytokeratin-19 in the oral lichen planus and related oral squamous cell carcinoma. *Ann Stomatol (Roma)*. 2017; 8(3):104.
194. Herrmann H, Aebi U. Intermediate Filaments: Molecular structure, assembly mechanism, and integration into functionally distinct intracellular scaffolds. *Annu Rev Biochem*. 2004; 73(1):749–789.
195. Schussler MH, Skoudy A, Ramaekers F, Real FX. Intermediate filaments as differentiation markers of normal pancreas and pancreas cancer. *Am J Pathol*. 1992; 140(3):559–568.
196. Boch JA, Shields HM, Antonioli DA, Zwas F, Sawhney RA, Trier JS. Distribution of cytokeratin markers in Barrett's specialized columnar epithelium. *Gastroenterology*. 1997; 112(3):760–765.
197. Jaiswal P, Yadav YK, Sinha SS, Singh MK. Expression of Cytokeratin 8 in oral squamous cell cancer. *Indian J Pathol Oncol*. 2020; 5(1):55–60.
198. Andratschke M, Hagedorn H, Nerlich A. Expression of the epithelial cell adhesion molecule and cytokeratin 8 in head and neck squamous cell cancer: A comparative study. *Anticancer Res*. 2015; 35(7):3953–3960.
199. Xu XC, Lotan R, Lee JS, Lippman SM, Hong WK, Ro JY. Increased Expression of Cytokeratins CK8 and CK19 is Associated with Head and Neck Carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1995; 4(8):871–876.
200. Coltrera MD, Zarbo RJ, Sakr WA, Gown AM. Markers for dysplasia of the upper aerodigestive tract; Suprabasal expression of PCNA, p53, and CK19 in alcohol-fixed, embedded tissue. *Am J Pathol*. 1992; 141(4):817–825.
201. Bártek J, Bártková J, Taylor-Papadimitriou J, et al. Differential expression of keratin 19 in normal human epithelial tissues revealed by monospecific monoclonal antibodies. *Histochem J*. 1986; 18(10):565–575.
202. Sawaf MH, Ouhayoun JP, Shabana AHM, Forest N. Cytokeratin expression in

- human tongue epithelium. *Am J Anat.* 1990; 189(2):155–166.
203. Adhikari N, Neupane S, Aryal YP, et al. Immunolocalization patterns of cytokeratins during mouse salivary gland morphogenesis. *Mech Dev.* 2017; 145(July 2018):S144.
 204. Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology.* 2002; 40(5):403-439.
 205. Millar TJ, Herok G, Koutavas H, Martin DK, Anderton PJ. Immunohistochemical and histochemical characterisation of epithelial cells of rabbit lacrimal glands in tissue sections and cell cultures. *Tissue Cell.* 1996; 28(3):301–312.
 206. Liu PF, Kang BH, Wu YM, et al. Vimentin is a potential prognostic factor for tongue squamous cell carcinoma among five epithelial-mesenchymal transition-related proteins. *PLoS One.* 2017; 12(6):1–15.
 207. Franke WW, Appelhans B, Schmid E, Freudenstein C, Osborn M, Weber K. Identification and Characterization of Epithelial Cells in Mammalian Tissues by Immunofluorescence Microscopy Using Antibodies to Prekeratin. *Differentiation.* 1979; 15(1–3):7–25.
 208. Heatley M, Maxwell P, Whiteside C, Toner P. Vimentin and cytokeratin expression in nodular hyperplasia and carcinoma of the prostate. *J Clin Pathol.* 1995; 48(11):1031–1034.
 209. Aupperle H, Schoon D, Schoon HA. Physiological and pathological expression of intermediate filaments in the equine endometrium. *Res Vet Sci.* 2004; 76(3):249–255.
 210. Korgun ET, Cayli S, Asar M, Demir R. Distribution of laminin, vimentin and desmin in the rat uterus during initial stages of implantation. *J Mol Histol.* 2007; 38(4):253–260.
 211. Mistretta CM, Haus LF. Temporal and spatial patterns of tenascin and laminin

- immunoreactivity suggest roles for extracellular matrix in development of gustatory papillae and taste buds. *J Comp Neurol.* 1996; 364(3):535–555.
212. Noel A, Callé A, Emonard H, Nusgens B, Foidart J, Lapiere C. Antagonistic Effects Of Laminin And Fibronectin In Cell-To-Cell And Cell-To-Matrix Interactions In MCF-7 Culture. *Vitr Cell Dev Biol.* 1988; 24(5):373–380.
213. Jitpukdeebodintra S, Chai Y, Snead ML. Developmental patterning of the circumvallate papilla. *Int J Dev Biol.* 2002; 46(5):755–763.
214. Yousif LF, Di Russo J, Sorokin L. Laminin isoforms in endothelial and perivascular basement membranes. *Cell Adhes Migr.* 2013; 7(1):101–110.
215. Debus E, Moll R, Franke WW, Weber K, Osborn M. Immunohistochemical distinction of human carcinomas by cytokeratin typing with monoclonal antibodies. *Am J Pathol.* 1984; 114(1):121–130.

9.ÖZGEÇMİŞ



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Adı	Fatma	Soyadı	ÇELENK
Doğum Yeri		Doğum	
Uyruğu	T.C.	Tel	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Lisans		
Lise		

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			

10.EKLER

Ek-1. Yayımlanan Makale Bilgisi

	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi https://dergipark.org.tr/tr/pub/duvetfd Araştırma Makalesi/Research Article Dicle Üniv Vet Fak Derg 2021;14(2):83-88 DOI: 10.47027/duvetfd.913722	
ISSN:1307-9972		e-ISSN:1308-0679

Yetişkin Boğa ve Koçların Testis ve Epididimal Kanal Ünitesindeki Vimentinin İmmünohistokimyasal Dağılımı

Fatma ÇELENK^{1,*,§}, Berna GÜNEY SARUHAN^{2,§}, M. Erdem AKBALIK^{2,§}, Uğur TOPALOĞLU^{2,§}, Nurgün AYDIN^{1,§}, Bayram BAYRAM^{3,†}

¹Diğerbaker Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şube Müdürlüğü, Diğerbaker, TÜRKİYE
²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Diğerbaker, TÜRKİYE
³Gırmak Üniversitesi, İdil Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, İdil/Şırnak, TÜRKİYE

*ORCID: 0000-0002-9677-8372; §ORCID: 0000-0002-5111-5424; §ORCID: 0000-0001-9895-0593; §ORCID: 0000-0002-8306-491X
†ORCID: 0000-0003-0265-5163; §ORCID: 0000-0002-5758-918X

Gölg Tarihi/Received 12.04.2021	Kabul Tarihi/Accepted 24.05.2021	Yayın Tarihi/Published 31.12.2021
------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

Öz

Çalışma hücre iskeletinin yapısına giren vimentin proteininin boğa ve koç testis, epididimis, ductus deferens ve rete testis daki lokalizasyonlarını ortaya koymak amacıyla planlandı. Araştırmada, 8 adet sağlıklı, yetişkin boğa ve koçtan alınan doku örnekleri kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyamalar için Strept-ABC boyama metodu uygulandı. Bu çalışmada, boğalarda ve koçlarda incelenen alanlarda vimentin immunoreaktivitelerinin dağılımının farklı olmadığı görüldü. Vimentin immunoreaktivitesi, seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazmalarında, intertübüler alanlarda Leydig hücrelerinde ve rete testis epitel hücrelerinin vimentin intermediyer filamentlerini içermesi, boğa ve koç testislerinde bu yapıların mezöjenital kökenli olduğunu belirtir. Ayrıca vimentin filamentlerinin Leydig hücrelerinde pozitif boyanması mikrotübüllerin hücre içi salgı ürünlerinin taşınmasında aktif bir rol oynadığını göstermektedir. Böylelikle vimentin filamentlerinin erkek genital sistemde hücre iskeletine desteklik sağlama, spermatogenezin olgunlaşması ve korunması gibi önemli roller üstlendiği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Vimentin, testis, epididymis, ductus deferens, rete testis

Immunohistochemical Distribution of Vimentin in the Testis and Epididymal Duct Unit of Adult Bulls and Rams

Abstract

This study was planned to determine the immunohistological localization of vimentin proteins that which enters the structure of the cytoskeleton, in bull and ram testes, epididymis, ductus deferens and rete testis. The testis, epididymis, deferens and rete testis patterns taken from eight healthy, adult, male bull and ram formed the material of our study. For the determination of the localization of vimentin, a strept-ABC immunohistochemical staining procedure was applied. In this study it was observed that, the distribution of vimentin immunoreactivity was not different in the areas examined in bulls and rams. The vimentin immunoreactivity was determined in perinuclear cytoplasm of Sertoli cells, epithelium of tubuli recti and rete testis, and endothelium of blood vessels. In conclusion, the vimentin is found in the Sertoli and Leydig cells and epithelium of rete testis suggest that those structures are derived from mesoderm. In addition, the positive staining of the vimentin filaments in Leydig cells indicates that the microtubules play an active role in the transport of cellular secretory products. Thus, it has been shown that vimentin filaments play important roles such as providing support to the cytoskeleton in the male genital system, maturation and protection of spermatogenesis.

Key Words: Vimentin, testis, epididymis, ductus deferens, rete testis

Giriş

Hücre iskeleti (sitoskeleton), mikrofilamanlar (aktinler, 6-7 nm), intermediyer filamanlar (sitokeratinler, vimentin, desmin, 8-10 nm) ve mikrotübülüslerden (tübülünler, 25 nm) meydana gelen protein tabiatındaki sitosolik bir oluşumdur. Bu bileşenler birbirleriyle yakın ilişkiindedir ve hücre iskeletini meydana getirir. Bu proteinlerin hücre yapısı ve fonksiyonları üzerindeki başka görevleri; hücreye şekil verme, kutuplaşma, organellerin konumlandırılması, sitoplazmik uzantıların desteklenmesi ve organellerin hücre membranına bağlanması olarak açıklanmaktadır. Intermediyer filamanlar, yapısal olarak birbirlerine benzeyen ancak kimyasal olarak birbirinden farklı birçok ara filamentten oluşan ve farklı hücrelerde yerleşim gösteren yapılardır. Başlıca; sitokeratinler (epitel hücreleri), vimentin (mezöjenital hücreler), desmin (kas hücreleri), nörofilamentler (sinir hücreleri) ve glial fibriller protein (glia hücreleri) olmak üzere beş alt gruba ayrılmaktadır [1, 2].

Memeğlerin üreme organlarında ve eşi hücrelerini üreten yollarında mikrofilamentlerin ve ara filamentlerin immünohistokimyasal olarak gösterilmesi son zamanlarda ilgi görmesine rağmen buradaki rolleri halen çok net değildir. Ara

11.ORJİNALLİK RAPORU

Doküman Görüntüleyici Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 04-Nis-2022 12:28 +03

NUMARA: 1801244241

Kelime Sayısı: 14063

Gönderildi: 1

İnek ve koyun
dilinde intermediyer
filamanlar... Fatma
Çelenk tarafından

Benzerlik Endeksi

%9

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources: %8
Yayınlar: %2
Öğrenci Ödevleri: %1

[alıntıları çıkar](#)

[bibliyografyayı çıkar](#)

[küçük eşleşmeleri çıkar](#)

mod:

raporu hızlı görüntüle (klasik)

Change mode

[yazdır](#)

[yenile](#)

[İndir](#)

3% match (04-Ara-
2021 tarihli
internet)

<http://acikerisim.dicte.edu.tr>

1% match (01-Tem-2019 tarihli internet)
<http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080>

1% match (06-Mar-
2021 tarihli
internet)

<http://docplayer.biz.tr>

1% match (08-Ara-
2021 tarihli
internet)

<http://dSPACE.balikesir.edu.tr>

1% match (18-Haz-