



## Kanatlı Proventrikulusunda Vasküler Endotel Büyüme Faktörü ve Reseptörlerinin Dağılımı

Hakan SAĞSÖZ<sup>1\*</sup>, Berna GÜNEY SARUHAN<sup>1</sup>, Mehmet Erdem AKBALIK<sup>1</sup>,  
Uğur TOPALOĞLU<sup>1</sup>, Muzaffer Aydın KETANİ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

Geliş Tarihi/Received  
08.11.2017

Kabul Tarihi/Accepted  
13.12.2017

Yayın Tarihi/Published  
25.12.2017

### Öz

Bu çalışmada kanatlı proventrikuluslarında vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve reseptörlerinin (flt1/fms, flk1/KDR) fizyolojik rollerini daha iyi anlamak için, immünohistokimya kullanılarak hücrel lokalizasyonları incelendi. Çalışmanın materyalini 10 adet (5 erkek ve 5 dişi) tavuk oluşturdu. Proventrikulustan elde edilen doku örnekleri rutin histolojik işlemler için % 10 formol-alkolde tespit edildi. Kanatlı proventrikuluslarında luminal ve bez epitel hücreleri, stromal ve düz kas hücreleri ile damarların endotel ve düz kas hücrelerinin VEGF ve reseptörleri için pozitif immunreaksiyon gösterdiği belirlendi. Bununla birlikte VEGF ve reseptörlerinin bez epitel hücrelerinde daha güçlü sitoplazmik bir ekspresyon gösterdiği saptandı. Sonuç olarak VEGF ve reseptörlerinin kanatlı proventrikulusundaki non-endotelial hücrelerde çoğalma, farklılaşma, apoptozis ve anjiogenezisin sağlanmasında kritik bir rolünün olabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** flt1/fms, proventrikulus, tavuk, VEGF

### The Distribution of Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptors in Avian Proventriculus

#### Abstract

In this study, to gain a better understanding of the physiological roles of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (flt1/fms, flk1/KDR), in the avian proventriculus were examined cellular localizations by immunohistochemistry. For this study, 10 avian (5 males and 5 females) were used. Tissue samples from proventriculus were fixed in 10% formol-alcohol for routine histological processing. Positive immunoreaction for VEGF and its receptors was determined in the luminal and gland epithelial cells, stromal, smooth muscle cells and endothelial and smooth muscle cells of blood vessels in the avian proventriculus. However, it was determined that VEGF and its receptors showed a very strong cytoplasmic expression in glandular epithelial cells. As a result, it is thought that VEGF and its receptors may play a critical role in the proliferation, differentiation, apoptosis and angiogenesis of non-endothelial cells in the avian proventriculus.

**Keywords:** chicken, flt1/fms, proventriculus, VEGF

### Giriş

Kanatlılarda sindirim sistemi türe özgüdür ve memelilerin sindirim sisteminden farklıdır (1). Bu hayvanlarda sindirim sistemi gaga ve ağız boşluğu ile başlar ve ürogenital yolla birleşerek kloaka ile son bulur. Kanatlılarda mide ise iki bölümden

oluşmaktadır. Birinci bölüm yemek borusunun açıldığı bezsel mide (proventriculus), ikinci bölüm bunun altında bulunan ve kas yapısı çok daha gelişmiş olan taşlık (gizzard)'tır (2). Anatomik olarak, proventrikulus iğ ve elips şeklinde bir

boşluktan ibaret olup, büyüklüğü türlere göre değişim gösterir. Tavuk ve güvercinlerde oransal olarak dar olan bu boşluk, albatros, leylek, martı ve karabatak gibi etle beslenen kanatlılarda oldukça geniştir ve esnek bir yapıya sahiptir (1, 3). Histolojik olarak, proventrikulusun mukozası glandular özelliktedir ve bez içeren mukoza, dürümler şeklinde lümene kadar uzanır. Lamina epiteliyalis mukus salgılayan tek katlı yüksek prizmatik epitel hücreleri tarafından örtülmüştür. Epitel hücreleri arasında kadeh hücreleri bulunmaz. Lamina propriya, gevşek bağ doku özelliğinde dar bir katmandır. Submukoza katmanı geniş bir alanı kaplar ve yapısında yüzeysel basit tübüler ve derin proventriküler bezler olmak üzere iki tip bez bulundurulur. Bu bezlerdeki hücreler hem hidroklorik asit hem de pepsinojen salgılayan tek bir hücre tipini içerir. Böylece bu hücreler memelilerdeki prensipal ve pariyetal hücrelerin her ikisinin fonksiyonunu birden yerine getirir. Hücrelerin şekilleri de fonksiyonlarına göre kübik ya da prizmatik olabilir. Tunika muskularis, içte longitudinal, ortada sirküler ve dışta tekrar longitudinal düz kas hücrelerinden oluşur. Organı en dıştan tunika seroza katmanı sarar (1-4).

Memelilerin aksine, kanatlılarda alt ve üst çene, modifikasyona uğrayarak gagaya dönüşmüş, dudaklar, bukkal mukoza, dişler ve diş etleri yok olmuştur (5). Bundan dolayı da, yiyeceklerin tutulması, parçalanması ve yutulması sınırlanmış ve sindirim sistemi mukozası (proventrikulus da dâhil olmak üzere) direkt olarak mekanik ve toksik etkiler ile karşı karşıya kalmıştır (6). Bunu önlemek için, proventrikulus mukozasının yapısında bulunan prizmatik epitel hücrelerin salgıları ile mukustan bir bariyer oluşturulmuş ve çeşitli moleküler faktörler yardımı (anjiogenik ve büyüme faktörleri gibi) ile de proventrikulus mukozasındaki hücrelerin sağkalımı, yenilenmesi, göçü ve tamiri sağlanarak

mukozanın bu etkilere karşı korunması hedeflenmiştir (5,7).

Yeni kan damarlarının şekillenme süreci olan anjiogenesis; üreme, gelişim, doku tamiri, yara iyileşmesi, yangı ve tümör progresyonlarını da içeren fizyolojik ve patolojik olaylar için temeldir. Bu süreçlerde endotel hücre çoğalması, göçü ve sağkalımı anjiogenik faktörlerin sıkı kontrolüne bağlıdır ve çeşitli moleküllerin uyarımları ile düzenlenir. Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulana vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'dür. VEGF, 45 kDa'luk, homodimerik, heparin-bağımlı bir glikoprotein olup, çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189, ve VEGF206 gibi izoformları bulunmaktadır. VEGF, aktivitesini üç reseptör ile gerçekleştirir: Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörleri VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (flk-1/KDR) ve VEGFR-3 (flt-4)'dür. Bunlardan VEGFR-1 ve R-2 endotel hücreleri üzerinde, VEGFR-3 ise lenf damarları üzerinde bulunur. VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfoinositol-3 kinaz, fosfolipaz-C ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinini fosforile ederek hücrelerdeki çoğalma, göç ve farklılaşmayı uyarır (8).

Yapılan kapsamlı literatür taramalarında, VEGF ve reseptörleri (flk1/KDR ve flt1/fms) ile ilgili çalışmaların sadece memelilerde yapıldığı görülmüştür (9-12). Kanatlıların proventrikulusunda bu faktörlerin ekspresyonlarını ve hücre lokalizasyonlarını ortaya koyan çalışmalar mevcut değildir. Sunulan çalışma, tavukların proventrikulusundaki VEGF ve reseptörlerinin (flk1/KDR ve flt1/fms) ekspresyonlarını ve hücre tiplerine göre lokalizasyonlarını immunohistokimyasal olarak

belirlemek için yapıldı. Bununla birlikte bu ligand ve reseptörlerin dokuların gelişim, onarım ve iyileşme süreçlerindeki düzenleyici rollerini dikkate aldığımızda tavukların proventrikulusundaki özellikle de non-endotelial hücrelerdeki fizyolojik rollerinin ortaya konması amaçlandı.

### **Materyal ve Metod**

#### **Hayvanlar ve örneklerin alınması**

Çalışmada 5 dişi (2.2 kg) ve 5 erkek (2.7 kg) olmak üzere toplam 10 adet erişkin ve sağlıklı tavuk ve horoz kullanıldı. Hayvanlara, Dicle Üniversitesi Yerel Etik Kurulunun yönergesi doğrultusunda muamele edildi. Eter anestezisi altında hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, proventrikulus total olarak çıkarıldı. Alınan doku örnekleri %10 formol-alkol solüsyonunda 18 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik prosedürü takiben parafinde bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her bir bloktan üç adet preparat hazırlandı ve her bir preparat en az iki kesit içermekteydi.

#### **İmmunohistokimyasal boyama**

Alınan seri kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda çalkalandı. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler distile suda hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 20 dakika muamele edildikten sonra 0.01 M Fosfat Buffer Saline (PBS)'de iki kez 5'er dakika yıkandı. Antijen retrieval işlemi uygulanmaksızın, immünoglobulinlerin özgül olmayan bağlanmalarını engellemek için bloking serumda 15 dakika muamele edilen kesitler fare monoklonal anti-VEGF (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA-USA, cat. no. 53462), tavşan poliklonal anti-flt1/fms (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA-USA, cat. no. 316) ve fare monoklonal anti-flk1/KDR primer antikolarları

(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA-USA, cat. no. 6251) ile +4°C'de 1:200 seyreltme ve 1 gece süresince inkübe edildi. İnkübasyonu takiben 0.01 M PBS'te 4 kez yıkanan kesitler, biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile 20 dakika nem odasında, oda ısısında inkübe edilip, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra enzim konjugatlı strepavidinde (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dakika muamele edildi. Kesitler, tekrar 4 kez PBS ile yıkayıp AEC (Thermo Fisher Scientific) kromojen solüsyonlarında 5-15 dakika bekletildi. Gill'in hematoksileninde 1 dakika süreyle zıt boyama yapılan kesitler çeşme suyunda mavileşinceye kadar yıkandı. Kesitler daha sonra AEC'ye özel solüsyon ile kapatıldı. Boyamanın doğruluğunu kanıtlamak için pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Pozitif kontrol olarak insan meme tümörleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak alınan doku örnekleri ise primer antikor yerine PBS ile muamele edildi. Boyamalar sonrası preparatlar Nikon-Eclipse 400 dijital fotoğraf makinesi ataçmanlı araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

#### **İmmunohistokimyasal boyanma sonuçlarının değerlendirilmesi**

İmmunohistokimyasal boyanma, yoğunluk skoru (intensity score) kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi (13). Yoğunluk skorunda (I), hücrelerdeki pozitif boyanmalar (-) negatif, (+) zayıf, (++) orta ve (+++) güçlü şeklinde uygulandı. Seri kesitlerde, 10x, 20x ve 40x objektif büyütmelerinde gelişmiş güzel seçilen dört farklı bölgede yaklaşık 100 adet luminal epitel ve bez epitel hücresi, bağ doku ile düz kas hücresi değerlendirildi.

**Tablo 1.** Tavukların proventrikulusunda VEGF ve reseptörlerinin immunreaksiyonlarına ait yoğunluk skorları.

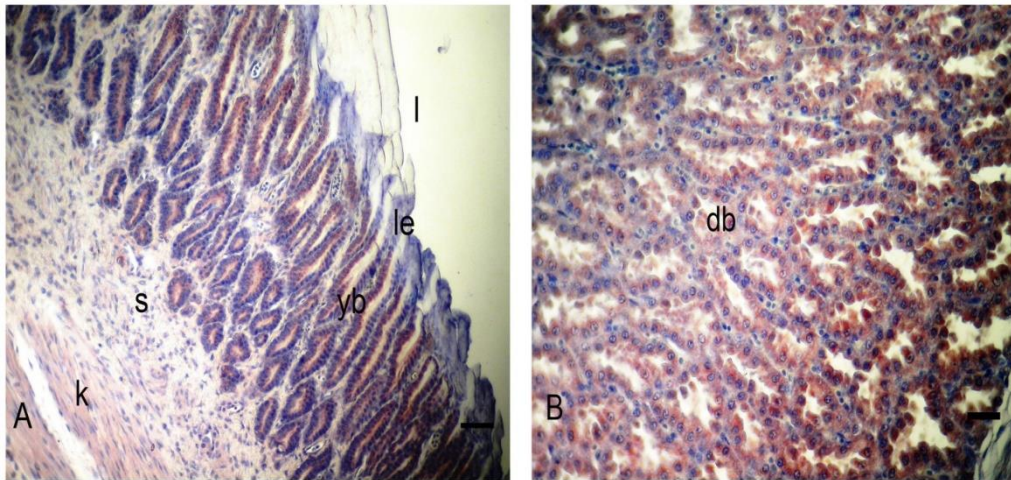
Organ katmanları	İmmunohistokimyasal parametreler		
	VEGF	flt1/fms	flk1/KDR
Luminal epitel hücreleri	+	++	+
Bez epitel hücreleri	++	+++	++
Stromal hücreler	+	+	+
Düz kas hücreleri	+	+	+

**Bulgular**

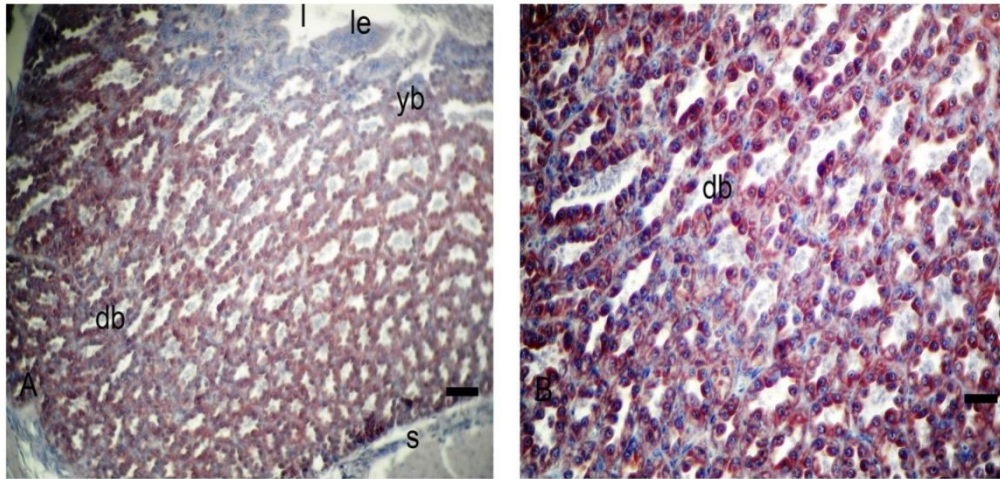
İmmunohistokimyasal boyamanın doğruluğunu göstermek için kullanılan negatif kontrollerde immunoreaktivite gözlenmezken, pozitif kontrollerde immun reaksiyon tespit edildi. VEGF ve reseptörlerindeki (flt1/fms, flk1/KDR) immunoreaktivitenin tavuklarda proventrikulusun bütün bölümlerinde farklılık gösterdiği belirlendi. VEGF ve flk1/KDR'nin luminal epitel, stromal ve düz kas hücrelerinde zayıf, yüzeysel ve derin bez epitel hücrelerinde daha güçlü sitoplazmik bir ekspresyon gösterdiği saptandı. Özellikle derindeki bez epitel hücrelerinin birçoğunda VEGF'nin perinükleer sitoplazmik ekspresyon gösterdiği tespit

edildi (Şekil 1, 2). Flt1/fms'nin luminal epitel hücrelerindeki apikal sitoplazmada orta yoğunlukta eksprese olduğu saptandı. Hem yüzeysel hem de derin bez epitel hücrelerinde flt1/fms'nin oldukça güçlü bir sitoplazmik ekspresyon gösterdiği belirlendi. Stromal ve düz kas hücrelerinde ise flt1/fms ekspresyonunun zayıf olduğu dikkati çekti (Tablo 1, Şekil 3). Ayrıca kan damarlarında VEGF ve reseptörlerinin benzer yoğunluklarda eksprese olduğu saptandı (Şekil 1-3).

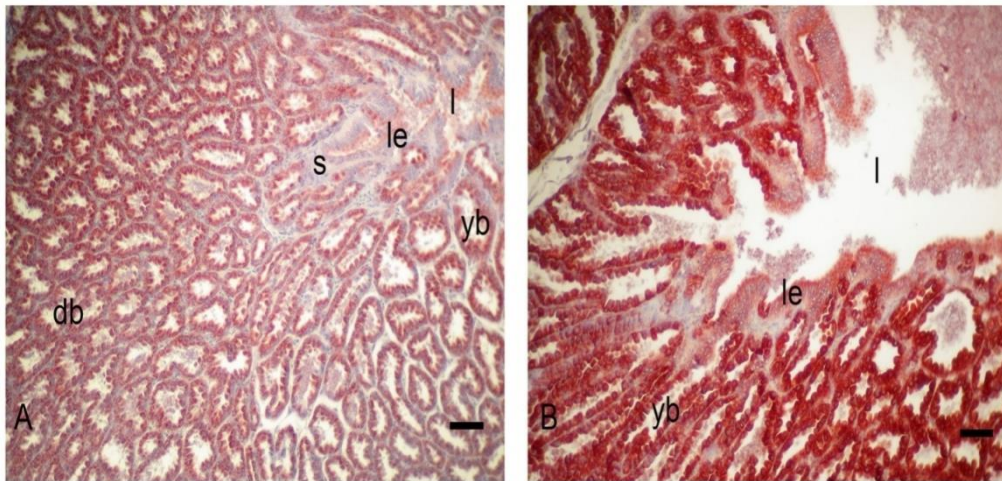
Bunun dışında, proventrikuluslardaki ligand ve reseptör ekspresyonları açısından horoz ve tavuklar arasında fark izlenmedi.



**Şekil 1.** Proventrikulusun luminal ve bez epitel hücreleri ile stromal ve düz kas hücrelerinde VEGF immunreaksiyonunun lokalizasyonu. l: lümen, le: luminal epitel, yb: yüzeysel bez epitel hücreleri, db: derin bez epitel hücreleri, s: stromal hücreler, k: düz kas hücreleri. Bar: 50 µm (A), 20 µm (B).



**Şekil 2.** Proventrikulusun luminal ve bez epitel hücreleri ile stromal hücrelerinde flk1/KDR immunreaksiyonunun lokalizasyonu. l:lumen, le: luminal epitel, yb: yüzeysel bez epitel hücreleri, db: derin bez epitel hücreleri, s: stromal hücreler. Bar: 50 µm (A), 20 µm (B).



**Şekil 3.** Proventrikulusun luminal ve bez epitel hücreleri ile stromal hücrelerinde flt1/fms immunreaksiyonunun lokalizasyonu. l:lumen, le: luminal epitel, yb: yüzeysel bez epitel hücreleri, db: derin bez epitel hücreleri, s: stromal hücreler. Bar: 50 µm (A), 20 µm (B).

### Tartışma

Sunulan çalışma, kanatlı proventrikuluslarında VEGF ve reseptörlerinin (flt1/fms, flk1/KDR) luminal epitel, stromal ve düz kas hücrelerinden ziyade bez epitel hücrelerinde ve kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde daha yüksek oranda lokalize olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmamızda bu ligand ve reseptör lokalizasyonlarının, insanların mide mukozasında yaptıkları çalışmalar ile nispeten

benzer olduğu, ancak ekspresyon yoğunluğu açısından farklılıklar bulunduğu gösterilmiştir. İlginçtir ki, kanatlı proventrikuluslarında VEGF ve reseptör (flt1/fms, flk1/KDR) ekspresyonlarının, insanlardaki mide tümör ekspresyon yoğunlukları ile benzer olduğu tespit edilmiştir.

Birçok araştırmacı, insanda dahil olmak üzere bazı türlerde VEGF ve reseptörlerinin midedeki

hücrel lokalizasyonundan ya da dağılımındaki değişimlerinden bahsetmişlerdir (9-12). Sadece bir çalışmada VEGF ve reseptörü flk1/KDR'nin gelişim süresince bıldırcın proventrikulusundaki lokalizasyonundan bahsedilmiştir. Bıldırcınlarda gelişimin 7. gününden itibaren VEGF ve flk1/KDR'nin ekspresyonunun başladığı ve gelişim süresince de devam ettiği bildirilmiştir. Ancak, bu türde VEGF ve flk1/KDR'nin proventrikulusun hangi katmanlarından eksprese olduğu ve ekspresyon yoğunluğu hakkında herhangi bir bilgi verilmemiştir (14). Bizim çalışmamızda ise VEGF, flt1/fms ve flk1/KDR'nin özellikle yüzeysel ve derindeki bez epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik bir ekspresyon gösterdiği, buna karşın düz kas ve stromal hücrelerde ekspresyon yoğunluklarının daha zayıf olduğu belirlendi. Kanatlılarda proventrikulusta VEGF ve reseptörlerinin lokalizasyon ve ekspresyonları ile ilgili bilgilerin eksik olması, bu faktörlerin proventrikulus mukozasındaki non-endotelyal hücrelerdeki olası rollerini açıklamayı zorlaştırmaktadır. Ancak, bazı çalışmalarda VEGF ve reseptörlerinin (flt1/fms ve flk1/KDR) epitel hücrelerinin fonksiyonlarının düzenlemesini de içeren birçok görevi yerine getirdiği gösterilmiştir. Yine bazı çalışmalarda VEGF ve reseptörlerinin epitel ve kas hücreleri gibi non-endotelyal hücreler üzerine büyüme ve anti-apoptotik ya da prosurvival faktör gibi etki gösterdiği belirlenmiştir (15-17). Villegas ve ark. (2005) üriner sistemde VEGF ve reseptörlerinin otokrin tarzda etki gösterdiğini, hücrelerin çoğalmasını uyardığını ve yaşam sürelerini uzattıklarını göstermişlerdir (18). İn vitro ko-kültür çalışmalarında ise stromal hücreler üzerinde lokalize olan VEGF ve reseptörlerinin epitel hücreleri üzerinde parakrin tarzda etkiler gösterebileceği ifade edilmiştir (19). Sunulan çalışmada, proventrikulusta VEGF ve

reseptörlerinin (flt1/fms ve flk1/KDR) nispeten benzer ekspresyonlar göstermesi, VEGF'nin bu iki reseptörü (flt1/fms ve flk1/KDR) aracılığıyla kanatlı proventrikulusundaki epitel, bağ doku ve düz kas hücrelerinde çoğalma, büyüme, hücrelerin hayatta kalması ve apoptozisin engellenmesi gibi bir dizi fizyolojik fonksiyonları yerine getirdiğini söyleyebiliriz. Yine de, kanatlı proventrikulusunda VEGF ve reseptörlerinin kesin fizyolojik rollerinin ortaya konulabilmesi için deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

Birçok çalışma da bildirildiği gibi (20-23), kanatlı proventrikulusu damarlarındaki endotel ve düz kas hücrelerinden VEGF, flt1/fms ve flk1/KDR'nin eksprese olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmalarda belirtildiği gibi (20-23), sunulan çalışmada da VEGF ve reseptörlerinin endotel ve düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyardığını, ayrıca endotel bağımlı vazodilatasyona aracılık ederek vasküler permeabiliteyi arttırdığını ve endotelyal apoptozisi engelleyerek vasküler sağ kalmayı desteklediğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, kanatlılarda VEGF ve reseptörlerinin (flt1/fms ve flk1/KDR) proventrikulusta farklı hücre gruplarından değişen yoğunluklarda eksprese olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda VEGF ve reseptörlerinin (flt1/fms ve flk1/KDR) epitel, bağ doku, kas ve endotel hücrelerindeki farklı ekspresyon düzeylerine ve lokalizasyonlara sahip olması, bu hücrelerdeki fonksiyonların düzenlenmesinde ve devamlılığında, ayrıca çoğalma, farklılaşma, apoptozis ve anjiogenezisin sağlanmasında kritik bir rolünün olabileceğini akla getirmiştir.

#### Kaynaklar

1. Nasrin M, Siddiqi MNH, Masum MA, Wares MA. (2012). Gross and Histological Studies of Digestive Tract of Broilers during Postnatal Growth

- and Development. *J Bangladesh Agril Univ.* 10 (1): 69-77.
2. De Verdal H, Mignon-Grasteau S, Jeulin C, et al. (2010). Digestive Tract Measurements and Histological Adaptation in Broiler Lines Divergently Selected for Digestive Efficiency. *Poultry Sci.* 89: 1955-1961.
  3. Liman N, Alan E, Kücükbayram G. (2010). The Differences between the Localizations of MUC1, MUC5AC, MUC6 and Osteopontin in Quail Proventriculus and Gizzard may be a Reflection of Functional Differences of Stomach Parts. *J Anat.* 217: 57-66.
  4. Tanyolaç A. (1993). Özel Histoloji. R Demir (editör). Palme Yayıncılık, Ankara.
  5. Erdogan S, Sagsoz H, Akbalik ME. (2012). Anatomical and Histological Structure of the Tongue and Histochemical Characteristics of the Lingual Salivary Glands in the Chukar Partridge (*Alectoris chukar*, Gray 1830). *Brit Poultry Sci.* 53: 307-315.
  6. Erdogan S, Iwasaki S. (2014). Function-related Morphological Characteristics and Specialized Structures of the Avian Tongue. *Ann Anat.* 196: 75-87.
  7. Sagsoz H, Erdogan S, Akbalik ME. (2013). Histomorphological Structure of the Palate and Histochemical Profiles of the Salivary Palatine Glands in the Chukar partridge (*Alectoris chukar*, Gray 1830). *Acta Zool-Stockholm.* 94: 382-391.
  8. Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. (2003). The Biology of VEGF and its Receptors. *Nat Med.* 9: 669-676.
  9. Takahashi RI, Tanaka S, Kitadai Y et al. (2003). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in Gastrointestinal Stromal Tumor of the Stomach. *Oncology-Basel.* 64 (3): 266-274.
  10. Zhang HI, Wu J, Meng L, Shou CC. (2002). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptors KDR and Flt-1 in Gastric Cancer Cells. *World J Gastroentero.* 8 (6): 994-998.
  11. Raica MI, Mogoantă L, Cîmpean AM et al. (2008). Immunohistochemical Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Intestinal Type Gastric Carcinoma. *Rom J Morphol Embryo.* 49 (1): 37-42.
  12. Yamamoto S, Yasui W, Kitadai Y et al. (1998). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Human Gastric Carcinomas. *Pathol Int.* 48: 499-506.
  13. Xiaoxiang LI, Zhenwei JI, Yunlei MA et al. (2012). Expression of Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$ , Vascular Endothelial Growth Factor and Matrix Metalloproteinase-2 in Sacral Chordomas. *Oncol Lett.* 3 (6): 1268-1274.
  14. Aitkenhead M, Christ B, Eichmann A et al. (1998). Paracrine and Autocrine Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor during Tissue Differentiation in the Quail. *Dev Dynam.* 212: 1-13.
  15. Lee S, Chen TT, Barber CL et al. (2007). Autocrine VEGF Signaling is Required for Vascular Homeostasis. *Cell.* 130: 691-703.
  16. Nakajima Y, Mironov V, Yamagishi T et al. (1997). Expression of Smooth Muscle Alpha-Actin in Mesenchymal Cells during Formation of Avian Endocardial Cushion Tissue: A Role for Transforming Growth Factor Beta3. *Dev Dynam.* 209: 296-309.
  17. Robert B, Zhao X, Abrahamson DR. (2000). Coexpression of Neuropilin-1, Flk1, and VEGF (164) in Developing and Mature Mouse Kidney Glomeruli. *American Journal of Physiology. Am J Physiol-Renal.* 279: 275-282.
  18. Villegas G, Lange-Sperandio B, Tufro A. (2005). Autocrine and Paracrine Functions of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in

Renal Tubular Epithelial Cells. *Kidney Int.* 67: 449-457.

19. Fan X, Krieg S, Kuo CJ et al. (2008). VEGF Blockade Inhibits Angiogenesis and Reepithelialization of Endometrium. *FASEB J.* 22: 3571-3580.

20. Sagsoz H, Saruhan BG. (2011). The expression of vascular endothelial growth factor and its receptors (flt1/fms, flk1/KDR, flt4) and vascular endothelial growth inhibitor in the bovine uterus during the sexual cycle and their correlation with serum sex steroids. *Theriogenology.* 75 (9): 1720-1734.

21. Li W, Keller GA. (2000). VEGF Nuclear Accumulation Correlates with Phenotypical Changes in Endothelial Cells. *J Cell Sci.* 113: 1525-1534.

22. Makanya AN, Hlushchuk R, Baum O et al. (2007). Microvascular Endowment in the Developing Chicken Embryo Lung. *Am J Physiol-Lung C.* 292: 1136-1146.

23. Tae K, El-Naggar AK, Yoo E et al. (2000). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Microvessel Density in Head and Neck Tumorigenesis. *Clin Cancer Res.* 6: 2821-2828.

**Yazışma Adresi:**

\*Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ  
Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye  
E-posta: [hakan.sagsoz@dicle.edu.tr](mailto:hakan.sagsoz@dicle.edu.tr)  
Tel: 0412 241 10 00