

**Kıvalı Keklik (*Alectoris chukar*) Sirinks'inde Desmin, Vimentin ve Laminin Lokalizasyonu**Bayram BAYRAM^{1,a,*}, Uğur TOPALOĞLU^{2,b}, Nurşin AYDIN^{2,c}, Fatma ÇELENK^{3,d}

¹Şırnak Üniversitesi, İdil Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık, Şırnak, Türkiye.

²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

³Diyarbakır İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şube Müdürlüğü, Diyarbakır, Türkiye.

^aORCID: 0000-0002-5738-918X

^bORCID: 0000-0002-8306-491X

^cORCID: 0000-0003-0265-3163

^dORCID: 0000-0002-9677-8372

Geliş Tarihi: 16.01.2023

Kabul Tarihi: 26.05.2023

Bu makale Nasıl kaynak gösterilir: Bayram B, Topaloğlu U, Aydın N, Çelenk F. (2023). Kıvalı Keklik (*Alectoris chukar*) Sirinks'inde Desmin, Vimentin ve Laminin Lokalizasyonu. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12(1): 67-74, DOI:10.31196/huvfd.1233665

***Yazışma adresi:** Bayram BAYRAM

Şırnak Üniversitesi İdil Meslek Yüksekokulu Laborant ve Veteriner Sağlık, Şırnak, Türkiye.

e-mail: b.bayram@sirnak.edu.tr

Online erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/huvfd>

Özet: Kuşlarda sesin yaşamlarındaki önemi günümüze kadar birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Bununla ilgili yapılan geniş çaplı çalışmalar erkeğin ötüşünün dişinin karar kılmasında önemli etkileri olduğunu, erkeğin muhtemel hormonal durumu ve fiziksel gücü hakkında bilgi veriyor olabileceğini, bu durumun dişinin eş seçiminde karar kılmada etkili olabileceğini düşündürmektedir. Memelilerdeki gibi larinks bulunmasına karşın kuşlar şarkılarını söylemek için göğüslerinin derinliklerine yerleşmiş trakea ve akciğerler arasında lokalize olan sirinks kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, desmin, vimentin ve laminin'in sirinks üzerine olası etkilerini araştırmaktır. Bu kapsamda sirinks'in epitel dokusu, kas dokusu, kıkırdak dokusu ve bezleri incelenmiş ve bu filamanların varlıkları histolojik olarak immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan incelemeler sonucu desmin, vimentin ve laminin'in erkek ve dişi kıvalı keklikler arasında değişkenlik göstermediği tespit edildi. Desmin ve vimentin'in düz kas hücrelerinde orta yoğunluklu bir reaksiyon gösterdiği görüldü. Laminin'in kaslarda güçlü reaksiyonlar gösterdiği; bezlerde, epitelyum hücrelerinde ve damar duvarlarında da güçlü reaksiyonlar gösterdiği görüldü. Elde edilen bu verilerden yola çıkarak bu intermediyer filamanların, keklik sirinksindeki hücre gruplarının iskelet yapısına katılarak hücrelerdeki homeostazının sağlanmasında ve organın fonksiyon gördüğü fizyolojik süreçlerin devamlılığında etkileri olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Desmin, Keklik, Laminin, Sirinks, Vimentin.

Localization of Desmin, Vimentin, and Laminin in the Syrinx of the Chukar Partridge (*Alectoris chukar*)

Abstract: The importance of vocalizations in the lives of birds has attracted the attention of many researchers to date. Extensive studies on this subject suggest that the male's song has essential effects on the female's decision-making, that it may provide information about the male's possible hormonal status and physical strength, and that this may be effective in deciding the female's choice of mate. Although they have a larynx like mammals, birds use the syrinx, localized deep in the chest between the trachea and lungs, to sing. Our study aimed to investigate the possible effects of desmin, vimentin, and laminin on the syrinx. In this context, epithelial tissue, muscle tissue, cartilage tissue, and glands of the syrinx were examined, and the presence of these filaments was histologically investigated using immunohistochemical methods. It was determined that desmin, vimentin, and laminin did not vary between male and female partridges. Desmin and vimentin showed a moderate-intensity reaction in smooth muscle cells. Laminin showed strong reactions in muscles; it also showed strong reactions in glands, epithelial cells, and vessel walls. Based on these findings, we can say that these intermediary filaments participate in the cytoskeletal structure of cell groups in the partridge syrinx, maintaining homeostasis in the cells and the physiological processes by which the organ functions.

Keywords: Desmin, Laminin, Partridge, Syrinx, Vimentin.

Giriş

Kuşların evriminde; tüyler, uçuş ve ötüş gibi birtakım özellikler kilit rol oynamıştır (Kingsley ve ark., 2018). Pek çok kuşun melodik çağrısı, göğüslerinin derinliklerinde yerleşmiş sirinks adı verilen ve türünün tek örneği olan ses kutusundan gelir. Araştırmacılar, bu ses kutusunun yalnızca bir kez evrimleştiğini ve bu yapının da evrimin nadir bir örneği olduğunu bildirmişlerdir. Tüm kuş türlerinde, memelilerdeki gibi larinks bulunmasına karşın bu türler şarkılarını söylemek için trakea ve akciğerler arasında lokalize olan sirinks kullanmaktadırlar (Riede ve Goller, 2010a; Riede ve ark., 2019). Ayrıca kuşlarda sirinks; cinsiyet tayini, kuş türlerinin sınıflandırılması, çiftleşme davranışları ve filogenetik konumlarının belirlenmesinde de fayda sağlamaktadır. Sirinks, farklı kuş türleri arasında morfolojik olarak ve yapısına katkıda bulunan kıkırdak halkalarının doğasına göre trakeal, bronşiyal ve trakeobronşiyal tiplere ayrılır. Trakeobronşiyal tip, çoğu kuşta en sık gözlenen tiptir (Baumel, 1993; King ve McLelland, 1984; Nickel ve ark., 1977). Sirinks temel olarak trakeanın tabanında iki veya daha fazla trakeal kıkırdak elemanının kaynaşmasıyla oluşan timpanium, hava yolunu dikey olarak ayıran ve onu her bir birincil bronşa yönlendiren pesulus ve bronş kıkırdaklarından oluşur. Titreşim yoluyla fonasyon oluşumunda önemli bir rol oynayan lateral ve medial timpaniform membranlar, kıkırdakları birbirine bağlayarak da sirinksin anatomisine katkı sunarlar (Baumel, 1993; King ve McLelland, 1984; Nickel ve ark., 1977; Warner, 1972). Birçok kuş türünde, cinsel dimorfizmin sirinksin morfolojisi üzerindeki etkileri ile sirinksin anatomik ve histolojik özelliklerini ortaya koyan çalışmalar yapılmış olmasına karşın (Baumel, 1993; Khaksar ve ark., 2012; Nickel ve ark., 1977; Prince ve ark., 2011; Riede ve Goller, 2010a; Riede ve Goller, 2010b; Yilmaz ve ark., 2012), ilginçtir ki sirinkste çeşitli moleküler faktörlerin lokalizasyonunu ve ekspresyonunu gösteren çalışmalar sınırlı kalmıştır (Erdogan ve ark., 2015).

Tüm türlerin dokularının hücre iskeletini; mikrofilamentler, mikrotübüller ve intermediyer filamentler olmak üzere üç tip filament oluşturur. İntermediyer filamentler, hem dokunun işlevine hem de epitel hücrelerinin tipine bağlı olarak lokalize oldukları dokunun ya da hücrenin büyüme ve farklılaşmasını düzenler (Arkaş Aklay ve ark., 2022). İntermediyer filamentler (IF'ler), çoğu omurgalıda hücre iskeletinin ana bileşenleridir. Bu proteinler, insan da dahil olmak üzere tüm omurgalı canlılarda 65 farklı gen ailesi tarafından kodlanır (Hesse ve ark., 2001). IF'ler, doku ve farklılaşma özelliklerine göre dört farklı sitoplazmik sınıfa ayrılır (Fuchs ve Weber, 1994). Tip III IF proteinleri desmin, vimentin, glial fibril asidik protein (GFAP) ve periferini içerir. Memeli hayvanların farklı doku ve organlarında IF proteinleri hakkında çok sayıda çalışma ve bunların hücre iskeleti içindeki işlevleri ve belirli hastalıklardaki rolleri hakkında bilgiler mevcuttur (Hermann ve ark., 1992; Herrmann ve Harris, 1998; Loh ve ark., 2000; Prasad ve ark., 1998). Ancak kanatlı hayvanların doku veya organlarında bu faktörlerin hücresel lokalizasyonu ve olası rollerine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır (Madekurozwa, 2013).

Vimentin ve desmin; yapısal destek, hücre göçü, hücresel farklılaşma ve kasılma gibi aktivitelerde görev alan hücre iskeleti proteinlerindedir (Amsterdam ve Aharoni, 1994; Fletcher ve Mullins, 2010; Galou ve ark., 1997; Goldman ve ark., 1996). Vimentin, tip III IF protein ailesinin en yaygın şekilde eksprese edilen, 57 kDa'lık bir proteindir. Vimentin'in, mezenkimal kökenli hücrelerin yanı sıra bazı epitel hücrelerinde de lokalize olduğu bildirilmiştir. Ayrıca vimentin'in, pankreasın öncü hücreleri, sertoli, sinir, trofoblast dev, fibroblastlar, endotel, renal tübüler ve stromal hücreleri ile makrofajlar, nötrofiller ve lökositlerden de eksprese olduğu gösterilmiştir (Carter ve ark., 2005; Cochard ve Paulin, 1984; de Souza ve Katz, 2001; Franke ve ark., 1982; Ko ve ark., 2004; Larsson ve ark., 2004; Mahrle ve ark., 1983). Desmin ise kas hücreleri tarafından eksprese edilir ve tek bir gen tarafından kodlanır (Kohnen ve ark., 2000; Korgun ve ark., 2007; Lazarides, 1980). Sarkolem ve nükleer membrana bağlı miyofibriller etrafında birbirine bağlanan iskeleler oluşturarak kas liflerinin maturasyonunda, korunmasında ve iyileşmesinde de hayati rol oynar (Goldfarb ve ark., 2004). Ekstraselüler matriks proteinlerinden biri olan laminin ise, luminal ve glandüler epitel hücrelerinin oturduğu bazal membranın bir bileşenidir (Tanaka ve ark., 2009). Hücre adezyonu ve farklılaşması, hücre şekli ve hareketi, doku fenotiplerinin korunması ve dokularda canlılığın (survival) devam ettirilmesi gibi birtakım aktivitelerle katkı sağlamaktadır (Colognato ve Yurchenco, 2000; Miner, 2008). Ayrıca, laminin'in kas gelişiminde; miyoblastların adezyonunu, göçünü, çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik etmede de önemli roller oynadığına inanılmaktadır (Foster ve ark., 1987; Goodman ve ark., 1989; Mayne ve Sanderson, 1985; Ocalan ve ark., 1988; von der Mark ve Ocalan, 1989).

Yapılan kapsamlı literatür taramalarında, kanatlılarda çalışmaların daha çok sirinksin anatomik ve histolojik yapısı ile sirinks mukozasındaki hücrelerin ya da bezlerin salgılarının histokimyasal ve immünohistokimyasal özelliklerini tanımlamaya odaklandığı görülmüştür (Amsterdam ve Aharoni, 1994; Baumel, 1993; Erdogan ve ark., 2015; Hermann ve ark., 1992; Khaksar ve ark., 2012; King and McLelland, 1984; Kingsley ve ark., 2018; Loh ve ark., 2000; Madekurozwa, 2013; Nickel ve ark., 1977; Riede ve Goller, 2010a; Warner, 1972). Hücre iskeletinin ve bazal membranın yapısına katılarak destek sağlayan ve hücre göçü, farklılaşması, maturasyonu, canlılığı ve kasılmasında görev alan vimentin, desmin ve laminin'in, kanatlı sirinksindeki hücresel lokalizasyonu ve ekspresyonlarına ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu durum, erişkin kekliklerin sirinksinde bu moleküler faktörlerin fizyolojik fonksiyonlarını ortaya koymayı güçleştirmektedir. Bundan dolayı, bu çalışma kekliklerde sirinks mukozasını oluşturan dokularda hücre iskeleti ve bazal membranın yapısına katılan vimentin, desmin ve laminin'in immünohistokimyasal lokalizasyonunu ve ekspresyonunu ortaya koymak için planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Dokuların Alınması: Bu çalışmada özel bir çiftlikte kesimi yapılarak karkasları tüketime sunulan beş erkek (480-540 g) ve beş dişi (360-420 g) olmak üzere toplam on adet sağlıklı yetişkin (2 yaşında) keklük kullanıldı. Kesim sonrasında trekea ile birlikte sirinks diseke edilerek dışarı alındı ve total olarak trekeadan ayrılarak %10'luk formol alkol solüsyonunda 18 saat süre ile tespit edildi. Ardından dokular rutin histolojik işlemleri takiben parafine bloklandı. İmmünohistokimyasal (IHC) analiz için, her hayvanın sirinksinden mikrotom ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler 3-aminopropil-etoksilsilan (APES) (Sigma-Aldrich Chemicals, St) ile kaplanmış lamlara en az iki örnek olacak şekilde yerleştirildi ve oda ısısında kurutuldu. Vimentin, desmin ve laminin proteinlerinin keklük sirinksindeki lokalizasyonu ve ekspresyonunun araştırılması için siringeal doku bloklarının her birinden 3 preparat hazırlandı.

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmeliğin (15.02.2014) 8. maddesinin (k) bendi 1. fıkrasında belirtildiği üzere çalışmamızda kullandığımız materyal; özel bir çiftliğin kesimhanesinde kesimi yapılan ve karkaslarının insan tüketimine sunulduğu materyal olmasından dolayı HADYEK iznine tabi değildir.

İmmünohistokimyasal Prosedür: İmmünohistokimyasal boyama, streptavidin-biyotin-peroksidaz kompleks yöntemi kullanılarak yapıldı. Adezivli lamlara alınan seri kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda çalkalandı. Daha sonra kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için distile suda hazırlanmış %3'lük H₂O₂ ile 20 dakika muamele edildi. Bunu takiben kesitler yıkamaya alındı. Her bir uygulama sonrasında yıkama işlemleri 0.01 M fosfat tamponlu tuz çözeltisinde (Phosphate buffer saline (PBS)) 3x5 dk. olacak şekilde uygulandı. Yıkamayı takiben, örnekler antijen retrieval işlemi için hazırlanan sitrat tamponunda (0.01 M, pH 6) 95 °C'de 15 dakika süresince kaynatıldıktan sonra soğumaya alındı. Ardından yıkama işlemi yapıldı ve kesitler, dokularda spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için protein blocking çözeltisinde (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Corporation) oda ısısında 15 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra kesitler, 1/100 oranında sulandırılmış vimentin (Anti-vimentin rabbit polyclonal antibody, Abcam, ab45939), desmin (Anti-desmin mouse monoclonal antibody, Abcam, ab2530) ve laminin (Anti-laminin rabbit polyclonal antibody, abcam, ab11575) primer antikorları ile +4 °C'de 1 gece süresince inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kesitler 3x5 dk. 0.01M PBS ile yıkandı. Sonrasında kesitler sırası ile 20 dk. biotinlenmiş sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, catalog:TP-125-BN, Thermo Scientific) inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kesitler 3x5 dk. 0.01M PBS ile yıkandıktan sonra, streptavidin-peroxidase (Thermo Fisher Scientific, catalog: TA-125-HR) ile inkübe edildi. Kesitler 3x5 dk. 0.01M PBS ile yıkandıktan sonra, Antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek için kesitler diaminobenzidine (DAB Substrate, Thermo Scientific, katalog no: TA-125-HD) kromojen solüsyonunda 5-10 dk. bekletildi ve daha sonra kesitler distile su ile yıkamaya alındı. Ardından Mayer's hematoksilende 2-3 dk. süreyle zit

boyamaya tabi tutulan kesitler akarsu altında yıkandı. Bu yıkama işleminin ardından kesitler alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entellan (Merck,Darmstadt, Germany, Cat. No:107960) ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal boyamanın özgüllüğü, negatif ve pozitif kontrol kullanılarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak kullanılan sıçan meme bezi primer antikorlarla inkübe edildi. Negatif kontroller de primer antikorlar yerine, dokular PBS veya normal tavşan IgG'si (Santa Cruz Biotechnology, sc-2027) veya normal fare IgG'si (Santa Cruz Biotechnology, sc-2025) ile inkübe edildi. Normal tavşan ve fare IgG'si, tavşan ve farelerden elde edilen konjuge olmayan, afinitesi saflaştırılmış bir izotip kontrol immünooglobulindir. Tüm örnekler aynı protokolle değerlendirildi.

Boyamalar sonrası preparatlar Nikon-Eclipse 400 DSRI Nikon dijital fotoğraf makinesi (NIS Elements Imaging Software (version 3.10)) ataçmanlı araştırma mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

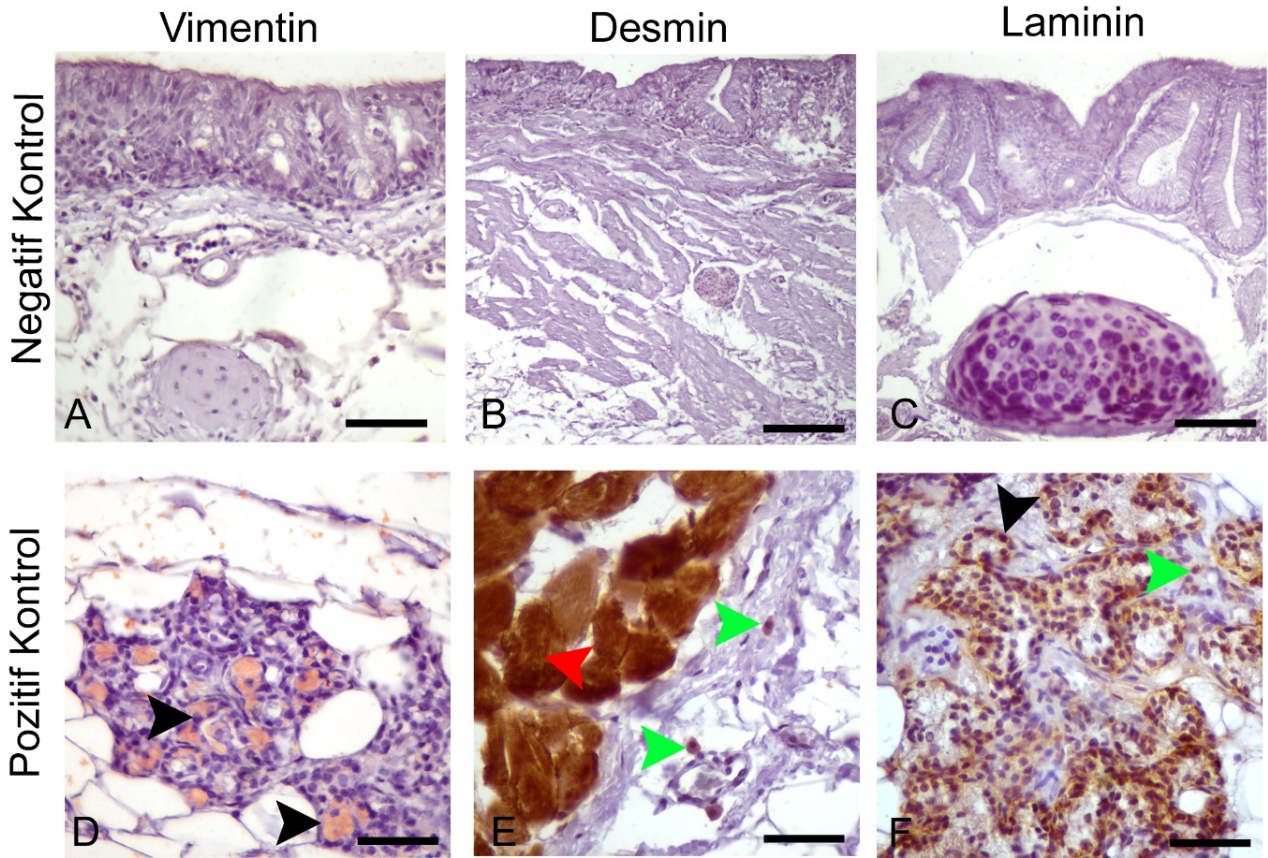
Yarı Kantitatif Değerlendirme: İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi, yoğunluk skoru (intensity score) ile semikantitatif olarak yapıldı. Boyanan hücrelerin boyanma şiddeti; (-) boyanma yok, (+) zayıf, (++) orta derecede, (+++) kuvvetli boyanma şeklinde belirlendi (Akbalık ve ark., 2015). Hücrelerdeki immün boyanma yoğunluğu iki bağımsız araştırmacı tarafından yapıldı ve iki araştırmacının ortalama puanı hesaplandı. Vimentin, desmin ve laminin için pozitif immünreaksiyonlar, 200x ve 400x büyütmede sirinksin bölümleri taranarak yüksek ekspresyon alanlarında yapıldı. Her bir sirinks için rastgele seçilen üç alan değerlendirildi ve bu bireysel sonuçların ortalaması tek bir değer olarak alındı. Kekliklerde sirinksin luminal ve bez epitel, stromal ve düz kas hücreleri ile kıkırdak hücreleri olmak üzere beş farklı hücre grubu değerlendirildi. Kan damarları ise ayrıntılı olarak değerlendirilmemiş olup, sadece genel görünümleri anlatılmıştır.

Bulgular

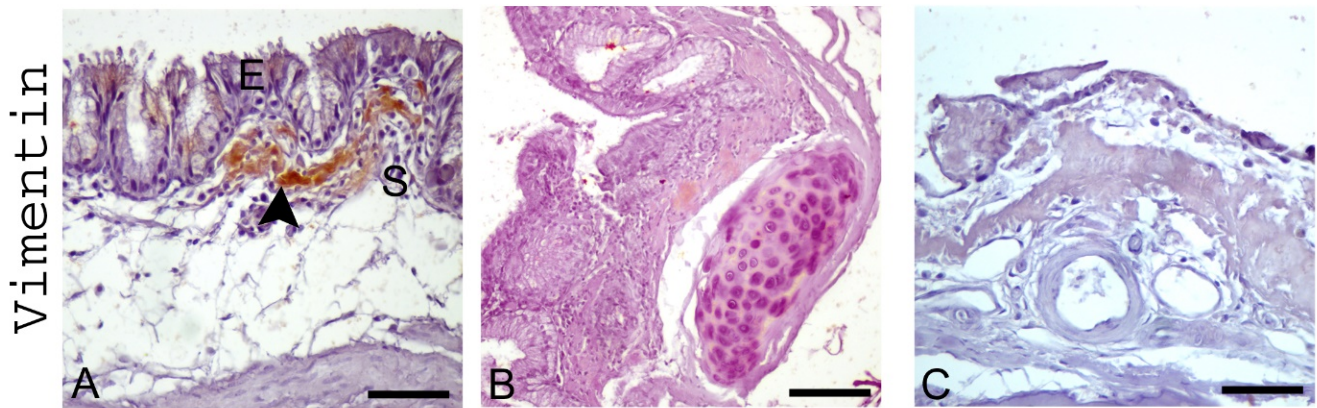
Hem erkek hem de dişi keklüklerde vimentin, desmin ve laminin ekspresyonlarının sirinksin yapısına katılan doku ve hücrelerde benzer olduğu ve önemli farklılıkların bulunmadığı ortaya konuldu. Negatif kontrollerde immünreaksiyon gözlenmezken, pozitif kontrollerde ise sıçan meme bez epitel ve stromal hücrelerinde vimentin, desmin ve laminin pozitif olduğu görüldü (Şekil 1). Ayrıca, keklük sirinksinde vimentin, desmin ve laminin ekspresyonlarına ait sonuçlar Tablo 1 de özetlendi.

Tablo 1. Sirinksin farklı histolojik katmanlarında vimentin, desmin ve laminin'in lokalizasyonları için yoğunluk skorları.

Sirinks Hücreleri	Vimentin	Desmin	Laminin
Epitel Hücreleri	-	-	++
Bağ doku hücreleri	-	-	++
Kas hücreleri	++	++	+++
Kıkırdak hücreleri	-	+	+++
Kan damarı	-	-	++



Şekil 1. Negatif kontrol için, sirinkste primer antikolar yerine kullanılan fare ve tavşan IgG antikolarında vimentin, desmin ve laminin için immün boyamaya rastlanmamıştır. Pozitif kontrol için, fare meme bezinin alveolar ve duktal epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde vimentin, desmin ve laminin için güçlü lokalizasyonların görünümü. Siyah ok başı: epitel hücresi, kırmızı ok başı: kas dokusu, yeşil ok başı bağ dokusu hücresi. Barlar A: 50µm, B-C: 25µm, D-F: 50µm.



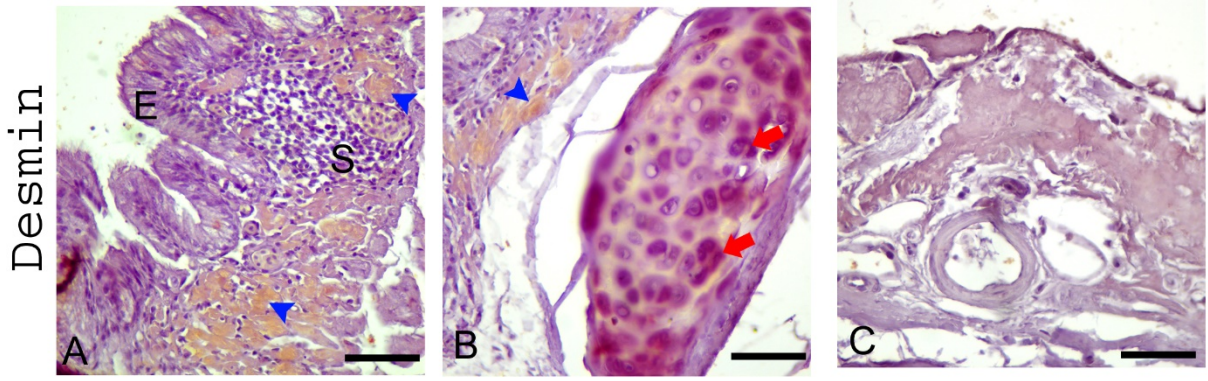
Şekil 2. Sirinkste vimentin immünreaktivitesi, immünohistokimyasal boyama, diaminobenzidin kromojen. E: Epitel katmanı, S: bağ doku, Siyah ok başı: düz kas hücreleri. Bar: A 50 µm, B-C: 25µm.

Vimentin immunlokalizasyonu: Sirinksin duvar yapısına katılan düz kas hücrelerinde orta yoğunlukta vimentin ekspresyonu görüldü. Buna karşın, trakeal ve bronşial ile pesulusun luminal ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler, lateral ve medial timpaniform membranların epitel ve stromal hücrelerinde, kan damarlarında vimentin ekspresyonuna rastlanmadı (Şekil 2).

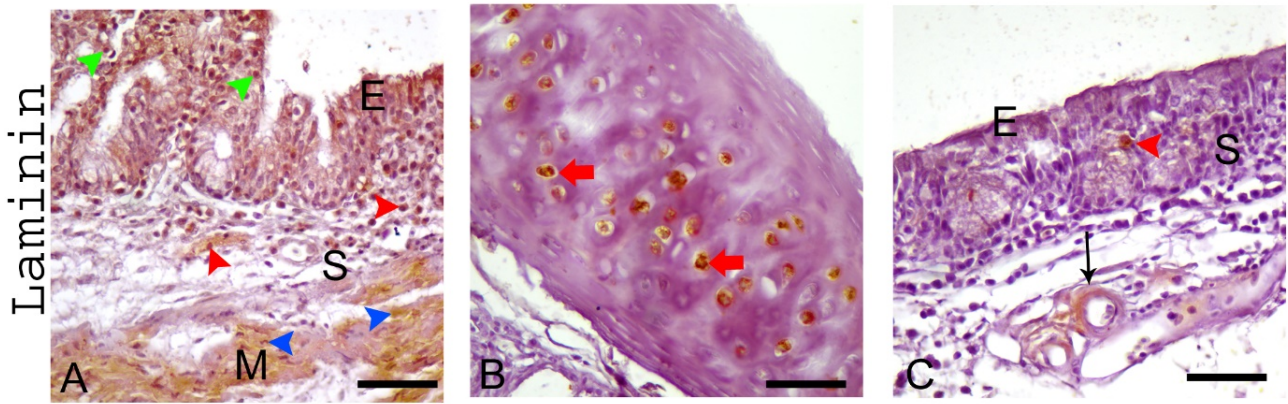
Desmin immunlokalizasyonu: Düz kas hücrelerinde orta yoğunlukta, bazı kıkırdak hücrelerinde ise zayıf bir

desmin ekspresyonu görüldü. Luminal ve bez epitel hücreleri ile timpaniform membranların epitel hücrelerinde ve kan damarlarında desmin ekspresyonu gözlenmedi (Şekil 3).

Laminin immunlokalizasyonu: Sirinksin düz kas ve kıkırdak hücrelerinde laminin ekspresyonunun güçlü, trakeal ve bronşial ile pesulusun luminal ve bez epitel hücreleri, bazı stromal hücreler, lateral ve medial timpaniform membranların epitel ve bazı stromal hücrelerinde, kan damarlarında laminin ekspresyonlarının orta yoğunlukta olduğu belirlendi (Şekil 4).



Şekil 3. Sirinkste desmin immunreaktivitesi, immünohistokimyasal boyama, diaminobenzidin kromojen. E: Epitel katmanı, S: bağ doku, Mavi ok başı: düz kas hücreleri, kırmızı oklar: Kıkırdak hücreleri. Bar: A- B: 50µm, C: 25 µm.



Şekil 4. Sirinkste laminin immunreaktivitesi, immünohistokimyasal boyama, diaminobenzidin kromojen. E: Epitel katmanı, S: bağ doku, M: Kas doku, yeşil ok başı: epitel hücreleri, kırmızı ok başı: bağ dokusu hücreleri, kırmızı oklar: Kıkırdak hücreleri, siyah ok: Kan damarı. Bar: A-C: 50 µm.

Tartışma ve Sonuç

Tüm ökaryotik canlılarda hücre iskeleti, intermedier filamentler (IF) ile ekstraselüler matris proteinlerini içerir ve bu bileşenler ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında lifli bir ağ oluştururlar (Kohnen ve ark., 2000). Bu moleküler faktörlerin, artık hayvanlarda birçok doku ve organdaki hücre grubunda bulunduğu kabul edilmektedir. Bu çalışma, erişkin keklik sirinksinde intermedier filamentlerden vimentin ve desmin ile bağdoku komponentlerinden laminin'in ekspresyonlarını ortaya koyan ilk çalışmadır. Bizim bulgularımız, keklik sirinksinde vimentin ve desmin'in sadece düz kas ve kıkırdak hücrelerinden, laminin ise luminal ve bez epitel, stromal ve düz kas hücreleri ile damar endotel ve düz kas hücrelerinden ekspresyon gösterdiği gösterdi. Memelilerde olduğu gibi kekliklerin sirinksinden de vimentin, desmin ve laminin'in bazı hücre gruplarından ekspresyon olması, keklik sirinksinde bu faktörlerin hücre iskeletine ve doku bütünlüğüne katkı sunduğunu göstermiştir.

Araştırmacılar, insan ve bazı memeli türlerinde solunum sisteminin de dahil olduğu farklı organlarda vimentin, desmin ve laminin proteinlerinin hücresel ekspresyonu ve dağılımından bahsetmişlerdir (Carter ve ark., 2005; Fletcher ve Mullins, 2010; Franke ve ark., 1982; Fuchs ve Weber,

1994; Galou ve ark., 1997; Goldman ve ark., 1996; Herrmann ve ark., 1992; King ve McLelland, 1984; Larsson ve ark., 2004; Loh ve ark., 2000; Madekurozwa, 2013; Mahrle ve ark., 1983; Prasad ve ark., 1998). Kanatlılarda sirinkste dahil olmak üzere solunum sistemi organlarında bu faktörlerin ekspresyonlarına ilişkin bilgi bulunmamaktadır. Bundan dolayı da memelilerin farklı doku ve organlarında yapılan bu faktörler ile ilgili çalışmalar dikkate alınarak tartışma şekillendirilmiştir.

Hamsterlerin aort ve midesinde yapılan bir çalışmada, vimentin'in sadece aort düz kas hücrelerinden ekspresyon olduğu, desmin'in ise ekspresyon göstermediği bildirilmiştir. Hamster midesinde düz kas hücrelerinde desmin'in belirgin immünreaksiyonlar gösterdiği, vimentin'in ise lamina propria ve submukozada lokalize olan bazı fibroblast/fibroblastlarda lokalize olduğu ortaya konulmuştur (Frank ve Warren, 1981). Köpeklerde Rete testis epitelinin hem de desmin'i ekspresyon ettiği ortaya konulmuştur (Wakui ve ark., 1994). Sıçanlarda böbrek glomeruluslarında desmin'in ekspresyon olduğu ve yaşın ilerlemesine bağlı olarak da ekspresyon yoğunluğunun arttığı saptanmıştır. Yine aynı çalışmada, vimentin ekspresyonunun glomeruluslarda zayıf olduğu gösterilmiştir (Yaoita ve ark., 1990). Embriyonal gelişim süresince desmin ekspresyonunun

farelerde, erken dönemde Mekkel kıkırdağının mandibular kemik ve mandibular kemiğe bağlı miyohiyoid kasında zayıf olduğu, gelişimin ilerlemesine bağlı olarak bu ekspresyonun mekkel kıkırdağının miyohiyoid kıkırdağa bağlandığı bölümden itibaren güçlendiği bildirilmiştir. Vimentin'in ise tüm gelişim süresince kas ve kemik gibi çevre dokularda yaygın bir ekspresyon sergilediği ifade edilmiştir (Kishi ve ark., 2012). Henzen-Logmans ve ark. (1987) ise insan tiroid bezinde vimentin ekspresyonunun varlığından bahsetmişlerdir. Sunulan çalışmada, kekliklerin sirinkste vimentin'in ve desmin'in özellikle düz kas hücreleri ve bazı kıkırdak hücrelerinden zayıf ya da orta yoğunlukta eksprese olduğu, trakeal ve bronşial ile pesulusun luminal ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler, lateral ve medial timpaniform membranların epitel ve stromal hücreleri ile kan damarlarından eksprese olmadıkları ortaya konulmuştur.

Arter düz kas hücre kültürlerinde laminin'in güçlü immünreaksiyonlar gösterdiğini bildiren çalışmalar vardır (Hedin ve ark., 1988). Sıçan embriyolarına ait mandibular ve sublingual bezlerde laminin'in güçlü ekspresyonları ortaya konulmuştur (Kadoya ve ark., 1997). Fare embriyolarında; tükürük bezi, böbrek ve akciğer epitel hücrelerinin laminin'i değişen yoğunluklarda eksprese ettiğini bildiren çalışmalar yapılmıştır (Durbeej ve ark., 1995; 2001). Yine insanların submandibular bez epitel hücrelerinin güçlü laminin ekspresyonları gösterdiği ifade edilmiştir (Hoffman ve ark., 1996). İnsan ve sığır fütüslerinin epifizial kıkırdaklarından elde edilen hücre kültürlerinde kondrositlerin güçlü laminin ekspresyonları gösterdiği bildirilmiştir (Dürr ve ark., 1996). Köpekte yapılan bir çalışmada, kalbin atrioventriküler kapakçıklarında lokalize olan hiyalin kıkırdağın periselüler matriksindeki hücrelerin yoğun laminin ekspresyonu gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Aupperle ve ark., 2008). Bizim çalışmamızda da yukarıda bahsedilen çalışmalardakine benzer şekilde keklik sirinksinin yapısına katılan düz kas ve kıkırdak hücrelerinde laminin ekspresyonunun güçlü olduğu, trakeal ve bronşial ile pesulusun luminal ve bez epitel hücreleri, bazı stromal hücreler, lateral ve medial timpaniform membranların epitel ve bazı stromal hücreleri ile kan damarlarının orta yoğunlukta laminin ekspresyonu gösterdiği ortaya konulmuştur.

Bitkiler ve mantarlardan farklı olarak, hayvan hücrelerinde hücre duvarı bulunmaz ve bu türlerin hücre ve dokularını stabilize etmek için birtakım yollar gerekir. Ayrıca, hayvanlarda nefes alma, fonasyon, kan dolaşımı, beslenme ve sindirim sırasındaki peristaltik faaliyetler ve hareket gibi çeşitli temel faaliyetler için kaslara ihtiyaç duyulur. Bu otonom hareketler hücre ve dokuların bütünlüğü üzerinde ciddi bir stres oluşturur. Bu mekanik stresle başa çıkmak için organizmada birtakım moleküler mekanizmalar geliştirmiştir. Eklem bacaklılar vücut bölümlerinin stabilizasyonu için dış iskeletlerini kullanırken, diğer hayvanlar hücre ve dokularını stabilize etmek için çeşitli moleküler bileşenleri kullanırlar. Hayvanların ayırt edici özelliklerinden biri desmozomlar, zonula okludens, zonula adherens ve gap junctionlar gibi hücre-hücre bağlantılarının varlığıdır. Hücre iskelet sistemlerinin bileşenlerinden olan intermedier filamentler, bu hücresel bağlantılar ile birlikte her bir hücrede hem dinamik hem de işlevsel olarak dokulara

entegre olan yüksek sertlikte ve esneklikte transselüler ağlar oluştururlar. Böylelikle, intermedier filament sistemlerinin oluşturmuş olduğu iskelet, hücrelerin, dokuların ve nihayetinde tüm organların ortak fizyolojik gereksinimlerini karşılamada anahtar bir rol üstlenir (Herrmann ve ark., 2007). Sunulan çalışmada, erişkin keklik sirinksinde, intermedier filamentlerden vimentin ve desmin ile bağdoku komponentlerinden laminin'in eksprese olması, ses üretim organı olan sirinksin hücre ve dokularında bu moleküler faktörlerin birbirleriyle etkileşime girerek yukarıda bahsedildiği gibi organ bütünlüğünün korunmasında önemli roller oynayabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, keklik sirinksinin farklı doku katmanlarında memelilerdeki gibi vimentin, desmin ve laminin'in eksprese olduğu gösterildi. Vimentin ve desmin'in sadece düz kas ve bazı kıkırdak hücrelerinden, laminin'in ise epitel, düz kas ve stromal hücrelerinin de dahil olduğu farklı hücre grupları ile kan damarlarından değişen yoğunluklarda eksprese olduğu görüldü. Bu moleküler faktörlerin, keklik sirinksindeki hücre gruplarının iskelet yapısına katılarak hücrelerdeki homeostazın sağlanmasında ve organın fonksiyon gördüğü fizyolojik süreçlerin devamlılığında etkileri olduğunu önerebiliriz. Yine de, vimentin, desmin ve laminin'in; sirinksin epitelyal, stromal ve düz kas hücrelerindeki ekspresyonunu ve fonksiyonlarını düzenleyen mekanizmaları tam olarak anlamak için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar gerçek, potansiyel ya da algılanan herhangi bir çıkar çatışması yaşamadıklarını belirtmişlerdir.

Finansal Destek

Bu araştırma kamu, ticari veya kâr amacı gütmeyen sektörlerdeki herhangi bir fon kuruluşundan özel bir destek almamıştır.

Etik Onay

Hayvan Deneyleri Etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmeliğin (15.02.2014) 8. maddesinin (k) bendi 1. fıkrasında belirtildiği üzere çalışmamızda kullandığımız materyal; özel bir çiftliğin kesimhanesinde kesimi yapılan ve karkaslarının insan tüketimine sunulduğu materyal olmasından dolayı HADYEK iznine tabi değildir.

Finansal destek

Bu çalışma, Şırnak Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2021.FNAP.14.04.01 proje numarası ile desteklenmiştir.

Benzerlik Oranı

Makalenin benzerlik oranının sisteme yüklenen raporda belirtildiği gibi %13 olduğunu beyan ederiz.

Teşekkür

Bu çalışmada desteklerini veren Şırnak Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimizi sunarız.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: BB, UT
Tasarım: BB, NA
Denetleme/Danışmanlık: UT, NA
Veri Toplama ve/veya İşleme: BB, NA, FÇ
Analiz ve/veya Yorum: BB, UT
Kaynak Taraması: FÇ, BB
Makalenin Yazımı: BB
Eleştirel İnceleme: UT, NA, FÇ

Kaynaklar

- Akbalik ME, Sagsoz H, Erdogan S, 2015: Osteopontin Epression in the Intestine of Chukar Partridge (*Alectoris chukar*, Gray, 1830). *Anim Biol*, 65 (3-4), 287-298.
- Amsterdam A, Aharoni D, 1994: Plasticity of cell organization during differentiation of normal and oncogene transformed granulosa cells. *Microsc Res Tech*, 27 (2), 108-124.
- Arkaş Alklay A, Topaloğlu U, Celenk F, Aydın N, Bayram B, Atalar Ö, 2022: Expression of Cytokeratin 8, 18 and 19 in the Period of Late Lactation and Involution in Cow Mammary Gland. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 28 (3), 299-306.
- Aupperle H, März I, Schoon HA, 2008: Detection and characterization of chondroid metaplasia in canine atrioventricular valves. *J Comp Pathol*, 139 (2-3), 113-120.
- Baumel JJ, 1993: Handbook of avian anatomy: nomina anatomica avium. Publications of the Nuttall Ornithological Club (USA), no. 23.
- Carter V, Shenton BK, Jaques B, Turner D, Talbot D, Gupta A, Chapman CE, Matthews CJ, Cavanagh G, 2005: Vimentin antibodies: a non-HLA antibody as a potential risk factor in renal transplantation. *Transplant Proc*, 37, 654-657.
- Cochard P, Paulin D, 1984: Initial expression of neurofilaments and vimentin in the in vivo. *J. Neurosci Res*, 4, 2080-2094.
- Colognato H, Yurchenco PD, 2000: Form and function: the laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn*, 218 (2), 213-234.
- De Souza PC, Katz SG, 2001: Coexpression of cytokeratin and vimentin in mice trophoblastic giant cells. *Cell Tissue Res*, 33, 40-45.
- Durbееj M, Larsson E, Ibraghimov-Beskrovnaya O, Roberds SL, Campbell KP, Ekblom P, 1995: Non-muscle alpha-dystroglycan is involved in epithelial development. *J Cell Biol*, 130 (1), 79-91.
- Durbееj M, Talts JF, Henry MD, Yurchenco PD, Campbell KP, Ekblom P, 2001: Dystroglycan binding to laminin α 1LG4 module influences epithelial morphogenesis of salivary gland and lung in vitro. *Differ*, 69 (2-3), 121-134.
- Dürr J, Lammi P, Goodman SL, Aigner T, von der Mark K, 1996: Identification and immunolocalization of laminin in cartilage. *Exp Cell Res*, 222 (1), 225-233.
- Erdogan S, Sagsoz H, Paulsen F, 2015: Functional Anatomy of the Syrinx of the Chukar Partridge (Galliformes: *Alectoris chukar*) as a Model for Phonation Research. *Anat Rec*, 298, 602-617.
- Fletcher DA, Mullins RD, 2010: Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 463 (7280), 485-492.
- Foster RF, Thompson JM, Kaufman SJ, 1987: A laminin substrate promotes myogenesis on rat skeletal muscle cultures: Analysis of replication and development using anti desmin and anti BrdUrd monoclonal antibodies. *Dev Biol*, 122, 11-20.
- Frank ED, Warren L, 1981: Aortic smooth muscle cells contain vimentin instead of desmin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78 (5), 3020-3024.
- Franke WW, Grund C, Kuhn C, Jackson BW, Illmensee K, 1982: Formation of cytoskeletal elements during mouse embryogenesis. III. Primary mesenchymal cells and the first appearance of vimentin filaments. *Differ*, 23, 43-59.
- Fuchs E, Weber K, 1994: Intermediate filaments: Structure, dynamics, function, and disease. *Annu Rev Biochem*, 63, 345-382.
- Galou M, Gao J, Humbert J, Mericskay M, Li Z, Paulin D, Vicart P, 1997: The importance of intermediate filaments in the adaptation of tissues to mechanical stress: evidence from gene knockout studies. *Biol Cell*, 89 (2), 85-97.
- Goldfarb LG, Vicart P, Goebel HH, Dalakas MC, 2004: Desmin myopathy. *Brain*, 127 (4), 723-734.
- Goldman RD, Khuon S, Chou YH, Opal P, Steinert PM, 1996: The function of intermediate filaments in cell shape and cytoskeletal integrity. *J Cell Biol*, 134 (4), 971-983.
- Goodman SL, Deutzmann R, Nurcombe V, 1989: Locomotory competence and laminin-specific cell surface binding sites are lost during myoblast differentiation. *Development*. 106, 795-802.
- Hedin U, Bottger BA, Forsberg E, Johansson S, Thyberg J, 1988: Diverse effects of fibronectin and laminin on phenotypic properties of cultured arterial smooth muscle cells. *J Cell Biol*, 107 (1), 307-319.
- Henzen-Logmans SC, Mullink H, Ramaekers F, Tadema T, Meijer CJ, 1987: Expression of cytokeratins and vimentin in epithelial cells of normal and pathologic thyroid tissue. *Virchows Arch*, 410 (4), 347-354.
- Herrmann H, Hofmann I, Franke WW, 1992: Identification of a nonapeptide motif in the vimentin head domain involved in intermediate filament assembly. *J Mol Biol*, 223, 637-650.
- Herrmann H, Harris JR, 1998: Intermediate Filaments. *Subcell Biochem*, 31, 1-622.
- Herrmann H, Bär H, Kreplak L, Strelkov SV, Aebi U, 2007: Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8 (7), 562-573.
- Hesse M, Magin TM, Weber K, 2001: Genes for intermediate filament proteins. *J Cell Sci*, 114, 2569-2575.
- Hoffman MP, Kibbey MC, Letterio JJ, Kleinman HK, 1996: Role of laminin-1 and TGF-beta 3 in acinar differentiation of a human submandibular gland cell line (HSG). *J Cell Biol*, 109 (8), 2013-2021.
- Kadoya Y, Salmivirta K, Talts JF, Kadoya K, Mayer U, Timpl R, Ekblom P, 1997: Importance of nidogen binding to laminin gamma1 for branching epithelial morphogenesis of the submandibular gland. *Development*, 124 (3), 683-691.
- Khaksar Z, Kookhdan ET, Parto P, 2012: A study on anatomy and histological structure of larynx in adult male and female turkeys. *Int J Zool*, 7 (3), 245-250.
- King AS, McLelland J, 1984: Coelomic cavities. Birds: Their Structure and Function. 2nd ed. East Sussex, England: Bailliere Tindall, 79-83.
- Kingsley EP, Eliason CM, Riede T, Li Z, Hiscock TW, Farnsworth M, Thomson SL, Goller F, Tabin CJ, Clarke JA, 2018: Identity and novelty in the avian syrinx. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115(41), 10209-10217.
- Kishi A, Yamamoto M, Kikuchi A, Iwanuma O, Watanabe Y, Ide Y, Abe S, 2012: Gene and protein expressions of vimentin and

- desmin during embryonic development of the mylohyoid muscle. *Anat Sci Int*, 87 (3), 126-131.
- Ko SH, Suh SH, Kim BJ, Ahn YB, Song KH, Yoo SJ, Son HS et. all, 2004: Expression of the intermediate filament vimentin in proliferating duct cells as a marker of pancreatic precursor cells *Pancreas*, 28, 121-128.
- Kohnen G, Campbell S, Jeffers MD, Cameron IT, 2000: Spatially regulated differentiation of endometrial vascular smooth muscle cells. *Hum Reprod*, 15 (2), 284-292.
- Korgun ET, Cayli S, Asar M, Demir R, 2007: Distribution of laminin, vimentin, and desmin in the rat uterus during initial stages of implantation. *J Mol Histol*, 38 (4), 253-260.
- Larsson A, Wilhelmsson U, Pekna M, Pekny M, 2004: Increased cell proliferation and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of old GFAP(-/-)Vim(-/-) mice. *Neurochem Res*, 29, 2069-2073.
- Lazarides E, 1980: Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature*, 283 (5744), 249-255.
- Loh SH, Chan WT, Gong Z, Lim TM, Chua KL, 2000: Characterization of a zebrafish (*Danio rerio*) desmin cDNA: an early molecular marker of myogenesis. *Differ*, 65, 247-254.
- Madekurozwa MC, 2013: An Immunohistochemical Study of the Oviduct in the Domestic Fowl (*Gallus domesticus*), *Anat Histol Embryol*, 42, 48-56.
- Mahrle G, Bolling R, Osborn M, Weber K, 1983: Intermediate filaments of the vimentin and prekeratin type in human epidermis. *J Invest Dermatol*, 81, 46-48.
- Mayne R, Sanderson RD, 1985: The extracellular matrix of skeletal muscle. *Collagen Rel Res*, 5, 449-468.
- Miner JH, 2008: Laminins and their roles in mammals. *Microsc Res Tech*, 71 (5), 349-356.
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, 1977: Anatomy of the domestic birds. Verlag Paul Parey. Berlin, German.
- Ocalan M, Goodman SL, Kuhl U, Haushka SD, von der Mark K, 1988: Laminin alters cell shape and stimulates motility and proliferation of murine skeletal myoblasts. *Dev Biol*, 125, 158-167.
- Prasad SC, Thraves PJ, Kuettel MR, Srinivasarao GY, Dritschilo A, Soldatenkov VA, 1998: Apoptosis-associated proteolysis of vimentin in human prostate epithelial tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 249, 332-338.
- Prince B, Riede T, Goller F, 2011: Sexual dimorphism and bilateral asymmetry of syrinx and vocal tract in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *J Morphol*, 272 (12), 1527-1536.
- Riede T, Goller F, 2010a: Functional morphology of the sound-generating labia in the syrinx of two songbird species. *J Anat*, 216(1), 23-36.
- Riede T, Goller F, 2010b. Peripheral mechanisms for vocal production in birds—differences and similarities to human speech and singing. *Brain Lang*, 115(1), 69-80.
- Riede T, Thomson SL, Titze IR, Goller F, 2019: The evolution of the syrinx: An acoustic theory. *PLoS Biol*, 17(2), 1-22.
- Tanaka T, Wang C, Umesaki N, 2009: Remodeling of the human endometrial epithelium is regulated by laminin and type IV collagen. *Int J Mol Med*, 23(2), 173-180.
- von der Mark K, Ocalan M, 1989: The dedifferentiation and redifferentiation of myoblasts is triggered by fibronectin and laminin. *Differ*, 40, 150-157.
- Wakui S, Furusato M, Ushigome S, Kano Y, 1994: Coexpression of different cytokeratins, vimentin and desmin in the rete testis and epididymis in the dog. *J Anat*, 184 (1), 147-151.
- Warner RW, 1972: The anatomy of the syrinx in passerine birds. *J Zool*, 168 (3), 381-393.
- Yaoita E, Kawasaki K, Yamamoto T, Kihara I, 1990: Variable expression of desmin in rat glomerular epithelial cells. *Am. J Clin Pathol*, 136(4), 899-908.
- Yilmaz B, Yilmaz R, Arican I, Yildiz H, 2012: Anatomical structure of the syrinx in the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Harran Univ Vet Fak Derg*, 1 (2), 111-116.