

## **FARE AKCIĞER GELİŞİMİNDE GLUKOKORTİKOİDLERİN FİBRONEKTİN, KADERİN VE BETA-KATENİN MOLEKÜLLERİNİN DAĞILIŞLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Pervin TOPARLAK<sup>1</sup>, Mesut ŞAHİN<sup>1</sup>, Ayça GÜMÜŞ<sup>1</sup>, Erdal BALCAN<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 45140 Manisa, TÜRKİYE

**Özet :** Memeli akciğer gelişimi hücreler ile ekstrasellüler matriksler arasında gerçekleşen kompleks etkileşimleri içerir. Bu süreç, fibronektin, laminin, kaderin, katenin ve kollajen gibi bir dizi matriks bileşeni ve adezyon molekülü tarafından düzenlenmektedir. Glukokortikoidler fetal akciğer gelişiminde merkezi bir role sahiptir. Örneğin, gebelik sırasında glukokortikoid uygulamasının akciğer gelişiminde değişikliğe neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, eksojen glukokortikoidlerin fibronektin, kaderin ve beta-katenin moleküllerinin gelişimsel profili üzerine etkilerini belirlemek için immunohistokimyasal bir yöntem uygulandı. Dekametazon gebeliğin 11., 12., 13. ve 14. günlerinde hamile farelere verildi. Hayvanlar 12., 13., 14. ve 15. günlerde kesildi ve fibronektin, pan-kaderin ve beta-katenin poliklonal antikorları ile boyandı. Bulgularımız, distal epitelyum, iletili hava kanalları, bazal membranlar, kanalların lümenine bakan yüzeyleri ve mezenşim hücrelerinde fibronektin, pan-kaderin ve beta-katenin reaktivitelerinin benzer olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar, 24 saatlik doğum öncesi deksametazon uygulamalarının incelenen devrelerde gelişen akciğer dokularında fibronektin, kaderin ve beta-katenin içerikleri üzerine tam bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Akciğer gelişimi, Dekametazon, Fibronektin, Kaderin, Beta-katenin, Fare.*

## **THE EFFECTS OF GLUCOCORTICOIDS ON THE DISTRIBUTION OF FIBRONECTIN, CADHERIN AND BETA-CATENIN MOLECULES DURING MOUSE LUNG DEVELOPMENT**

**Abstract :** Mammalian lung development involves complex relationships between cells and extracellular matrices. This process mediated by a series of matrix components and adhesion molecules such as fibronectin, laminin, cadherin, catenin and collagen. Glucocorticoids play a central role in fetal lung development. For example it is known that, glucocorticoid administration during pregnancy alters the maturation of the lung. In the present study, we used an immunohistochemical method to evaluate the possible effect of exogenous glucocorticoids to developmental profile of fibronectin, cadherin and beta-catenin molecules. Dexamethasone was administrated to pregnant mice on days 11, 12, 13 and 14 of gestation. Animals were sacrificed on days 12, 13, 14 and 15, and stained with polyclonal antibodies to fibronectin, pan-cadherin and beta-catenin. Our results indicated that staining reactivities of fibronectin, pan-cadherin and beta-catenin were similar in distal epithelia, conductive airways, basal membranes, luminal surfaces of airways and mesenchymal cells. Therefore, we suggest that, 24 hourly antenatal dexamethasone treatments couldn't completely affect fibronectin, cadherin and beta-catenin contents in evaluated periods of developing lung.

**Keywords:** *Lung development, Dexamethasone, Fibronectin, Cadherin, Beta-catenin, Mouse.*

**\*Sorumlu yazar**

erdal.balcan@gmail.com

## 1. GİRİŞ

Morfogenez, hücre proliferasyonları, epitelyal tabakaların kıvrılma ve katlanması, epitelyal tüplerin oluşması ve dallanması, epitelyal ve mezenşimal formların karşılıklı olarak birbirlerine dönüşümü, hücrelerin göçü ve fizyolojik olarak ölmeleri gibi çok sayıda mekanik süreci içerisinde barındırır [1]. Bu süreçlerin düzenlenmesi, transkripsiyon faktörleri, büyüme faktörleri ve reseptörleri gibi DNA bağlayan proteinler ile gerçekleşmektedir [2]. Bu faktörler, ekstrasellüler glikoproteinler [3], ekstrasellüler matriks reseptörleri [4], hücre adezyon molekülleri, hücre içi sitoskelet proteinleri, enzimler ve substratlarını düzenleyerek embriyonik gelişimde morfogenez açısından önemli olan hücre-ekstrasellüler matriks ilişkilerini yönlendirir [5]. Hücrelerin, çevrelerindeki ekstrasellüler matrikse fiziksel adezyonu üç boyutlu doku organizasyonunun sürdürülmesinde önemli bir rol oynar.

Ekstrasellüler matriksin ana bileşenlerinden biri olan fibronektin embriyonik gelişim sırasında hücre göçü ve organ morfogenezi açısından önemli bir role sahiptir [6].

Hem embriyogenezde hem de yetişkinlerde birçok dokuda yer alan kaderinler, kalsiyuma bağlı hücre-hücre adezyonunda görev alan büyük bir transmembran glikoprotein ailesidir [7,8]. Kaderinlerin rollerinin sadece hücreler arasındaki mekanik adezyonda olmadığı aynı zamanda hücre hareketi, hücre tanınması gibi morfogenetik olaylarda ve hücre ve doku polaritesinin yapısal ve fonksiyonel olarak sürdürülebilmesi gibi durumlarda da önemli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle gelişim sırasında doku morfogenezinde kaderin ailesinin hücre-hücre adezyon proteinleri (*klasik kaderinler*, *protokaderinler* ve *Fat*, *Dachsous* ve *flamingo* gibi atipik kaderinler) büyük önem taşımaktadır [9].

İlk olarak kaderin ailesinin sitoplazmik ucuna bağlanan proteinler olarak tanımlanan

kateninler, sitoskelet ile hücre dışı adezyon sistemlerini birleştiren bir grup hücre içi adezyon molekülleri ailesidir [10-13].

İmmun baskılayıcı ve anti-inflamatör etkileri nedeniyle otoimmün hastalıklarda, alerjik ve inflammatör bozukluklarda, allograft reddinde ve lenfoid malignansilerinde yaygın olarak kullanılan [14,15] glukokortikoidler hücre içi reseptörlerine bağlanarak birçok biyolojik aktivitenin gerçekleşmesinde etkili küçük lipofilik moleküllerdir [16]. Bu moleküllerin hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerini [17], hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve apoptozisi kontrol ederek akciğer [18], beyin [19, 20], retina [21], kalp [22], böbrek [23] ve timus gelişiminde [24] önemli roller oynadığı bilinmektedir.

Bu çalışmada akciğer gelişimi sırasında eksojen bir glukokortikoid olan deksametazonun hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinde ve hücre göçünde son derece önemli moleküller olan fibronektin, kaderin ve katenin moleküllerinin dağılımları üzerine etkileri 12, 13, 14 ve 15 günlük embriyolarda immunohistokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Embriyoların ve Dokuların Eldesi

Vaginal smearlarında kornifiye epitel hücre görülen Balb/c tipi dişi fareler östrus siklusunda olarak değerlendirildi ve erkek farelerin yanına koyularak çiftleşmeleri sağlandı. Ertesi gün, vaginal plak belirlenen fareler hamileliğin 0. günü olarak değerlendirildi. Hamileliğin 11., 12., 13. ve 14. günlerinde farelere deksametazon sodyum fosfat (ONADRON® Ampul, İ.E. Ulagay) 5 ml/kg şeklinde tek doz olarak intraperitoneal olarak uygulandı. Kontrol amaçlı olarak aynı miktar ve şekilde serum fizyolojik uygulandı. 24 saat sonra kontrol ve uygulama gruplarına ait 4'er adet fare servikal dislokasyon ile öldürülerek diseke edildi 12, 13, 14 ve 15

günlük toplam 65 embriyo alınarak fosfat tamponlu %10 nötral formalin 100 ml formalin + 900 ml %0,9'luk NaCl) ve Saint Marie (990 ml %95 etanol + 10 ml asetik asit) fiksatifleri ile bir gün boyunca tespit edildi. Artan alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarılan dokular ksilol ile şeffaflandırılarak, parafine gömülerek bloklandı. Alınan 5 µm'luk kesitler polilizin kaplı lamlara (Surgipath) yayıldı. Hazırlanan lamlar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve % 100'den başlayarak inen alkol serilerinden geçirilip sulandırıldı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı.

## **2.2. İmmunohistokimya Boyamaları**

Deney ve kontrol gruplarındaki embriyolara ait akciğer dokularında fibronektin, kaderin ve katenin moleküllerini belirlemek için immunohistokimya yöntemi uygulandı. Kısaca, bir gece 60°C'de tutulan kesitler sulu hale getirildi ve fosfat tampon tuzu (PBS) ile 3 defa 5'er dakika yıkanarak nem odasına alındı. Kesitler, fiksasyon sırasında formaldehitin proteinler arasında oluşturduğu çapraz peptid bağlarının kırılmasını sağlamak için tripsin (Sigma) ile 37°C de 15 dakika muamele edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler 5 dakika %3 hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile muamele edilerek istenmeyen endojen peroksidaz aktivitesi yok edildi. Tekrar tamponla yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 5 dakika Ultra V Blok serum (TA-015-UB, UltraVision Detection system Anti-Polyvalent HRP/DAB) uygulandı. Hemen ardından kesitler fare dokularına özgüllük gösteren tavşan poliklonal birincil antikoları [fibronektin Ab-10 (RB-077-R7, Lab Vision), Pan kaderin Ab-4 (RB-1524-R7, Lab Vision), katenin-beta Ab-2 (RB-1491-R7, Lab Vision)] ile 1 gece +4°C'de inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra kesitler fare dokularına bağlanabilen biotinlenmiş keçi Anti-Polivalent ikincil

antikoru (TP-015-BN UltraVision Detection system Anti-Polyvalent HRP/DAB) ile inkübe edildi ve ardından yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra streptavidin peroksidaz (TS-015-HR UltraVision Detection system Anti-Polyvalent HRP/DAB) ile 15 dakika muamele edilen kesitler yıkandıktan sonra immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) ile 5 dakika boyandı. Negatif kontrol olarak, birincil antikor yerine PBS kullanıldı. Hematoksilin ile karşıt boyanan ve distile su ile yıkanarak artan alkol serileri ile sulu hale getirilen kesitler kapatma ortamı (Entellan<sup>®</sup>, Merck) ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi.

## **3. BULGULAR**

### **3.1. Akciğer Dokusunda İmmunohistokimya Boyamaları**

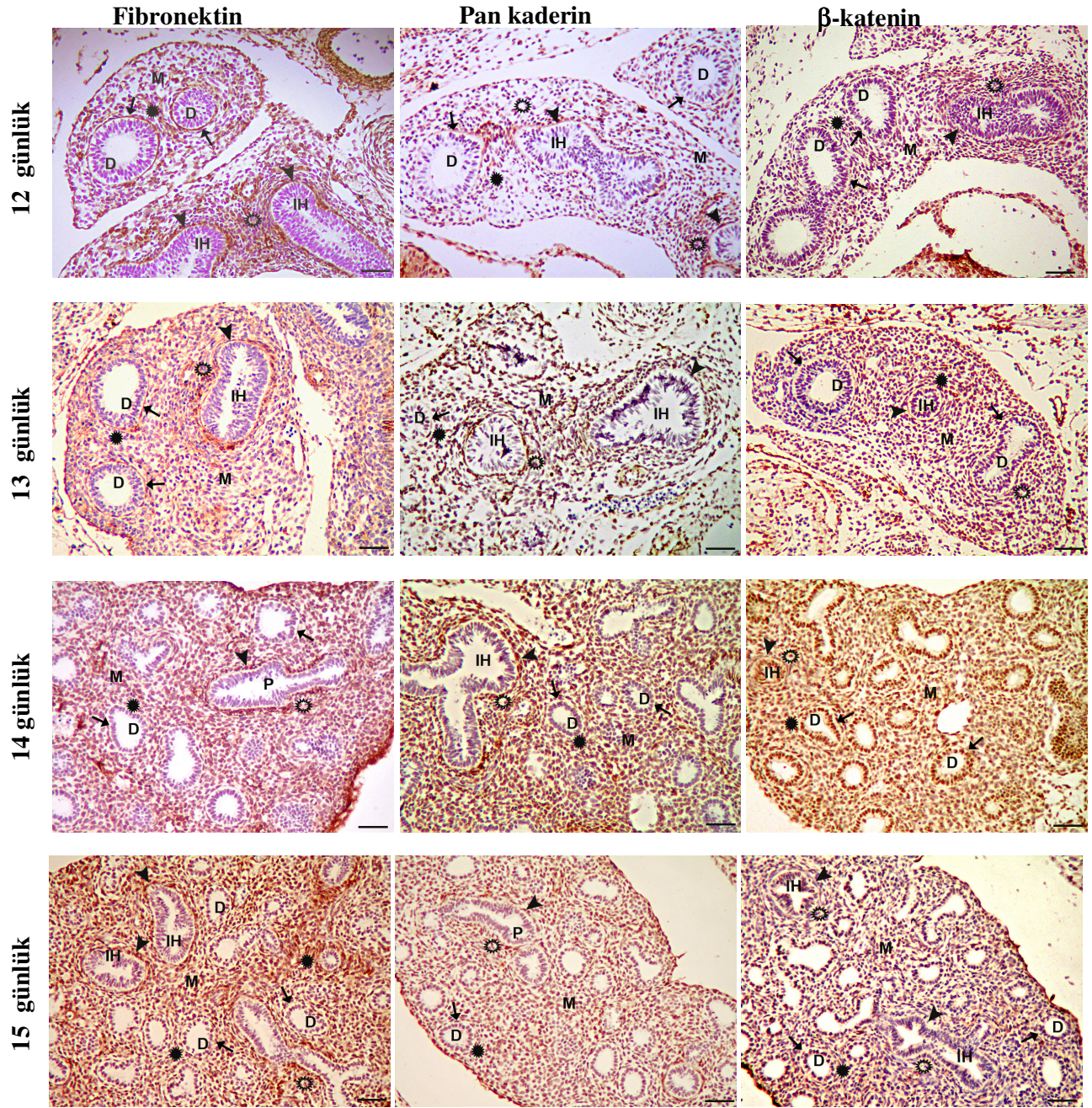
**Fibronektin:** Poliklonal anti fibronektin antikoru ile yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda iletilici hava kanalları ve distal epitelyumların duvar ve lümenal yüzeylerinde incelenen tüm dönem ve gruplarda bir reaksiyon görülmemiştir. Kontrol grubunda iletilici hava kanallarını çevreleyen bazal tabakalarda görülen boyanma 14. ve 15. günlerde azalmıştır. Uygulama grubunda ise bazal tabakalar genellikle zayıf boyanmıştır. Distal epitelyumlara ait bazal tabakalarda ise sadece 14. günde fibronektin reaktivitesine rastlanmıştır. İletici hava kanallarına yakın olarak bulunan mezenşimin kontrol grubundaki tüm embriyonik dönemlerde reaksiyon verdiği, uygulama grubunda ise bu reaksiyonun zayıfladığı görülmüştür. Distal epitelyumların yakınında yer alan mezenşimde ise kontrol ve uygulama gruplarında zayıf boyanmalar görülmektedir (Şekil 1,2, sol panel).

**Pan Kaderin:** E-, N-, P- ve R-kaderinlere spesifik poliklonal anti pan-kaderin antikoru ile yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda iletilici hava kanalları ve distal epitelyum duvarlarında ve lümenal yüzeylerinde

boyanmaya rastlanmamıştır. Bunun yanında iletici havayollarının bazal tabakaları kontrol grubunda tüm dönemlerde boyanırken uygulama grubunda sadece 13., 14. ve 15. günlerde boyanma görülmüştür. Distal epitelyumları kuşatan bazal tabakalar kontrol grubunda sadece 12 ve 13. günlerde, uygulama grubunda ise 14 ve 15. günlerde zayıf bir şekilde boyanmıştır. İletici hava kanallarını çevreleyen mezenşim hem kontrol grubunda hem de uygulama grubunda anti-pan kaderin antikoruna ile reaksiyon vermiştir. Distal epitelyumları kuşatan mezenşim ise her iki grupta da zayıf boyanmıştır (Şekil 1,2, orta panel).

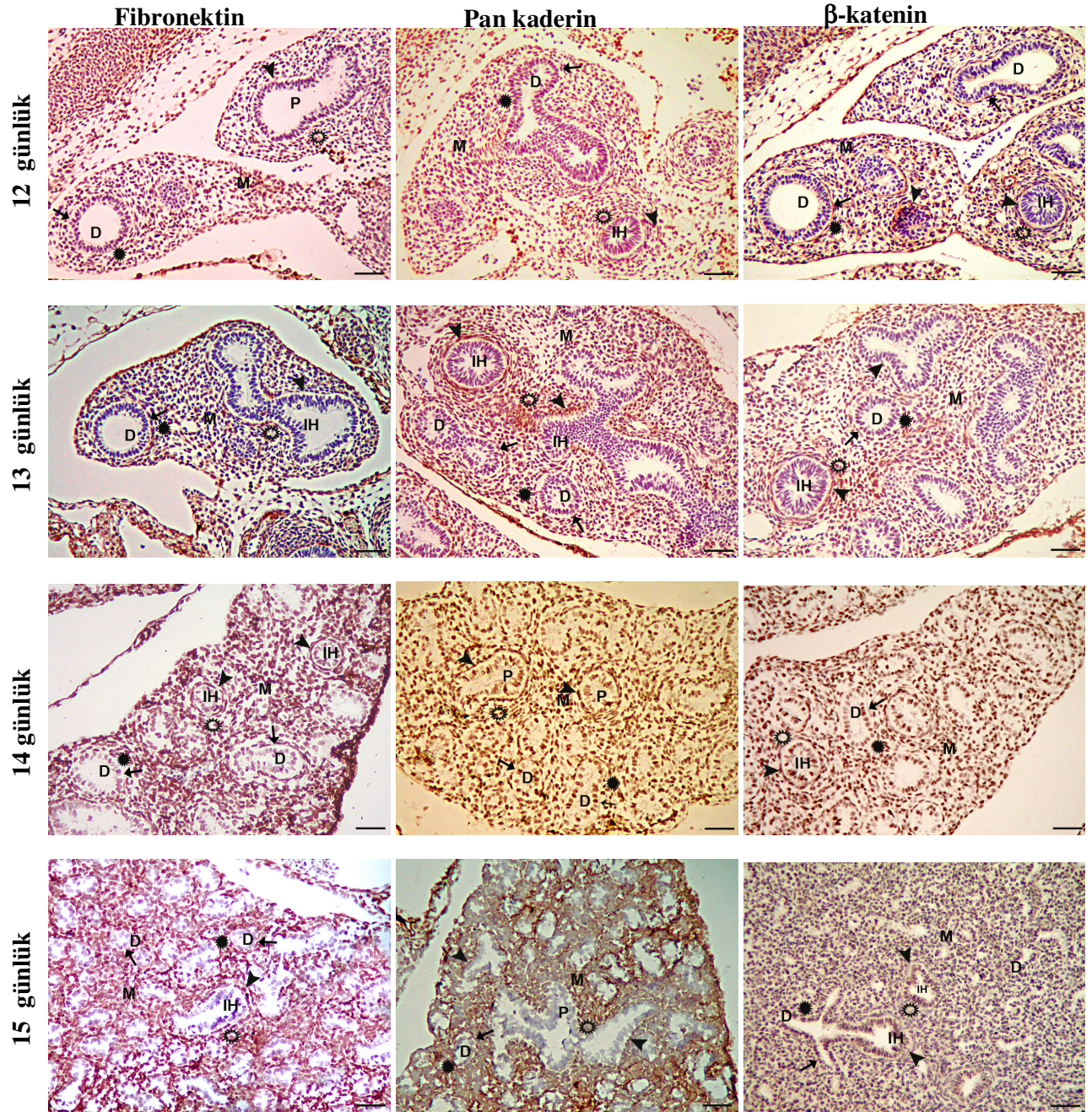
**$\beta$ -Katenin:** Poliklonal anti- $\beta$ -katenin antikoruna ile yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda iletici hava kanallarının duvar ve lüminal yüzeyleri kontrol ve uygulama gruplarında benzer olarak sadece 14 ve 15. günlerde reaksiyon vermiştir. Hava kanallarını çevreleyen bazal tabakalar kontrol grubunda genellikle zayıf boyanırken uygulama grubunda bu boyanma artmıştır. Distal epitelyumları kuşatan bazal tabakalar ise her iki grupta da zayıf boyanmıştır. Hem kontrol hem de uygulama grubunda iletici hava kanallarını ve distal epitelyumları çevreleyen mezenşim genellikle zayıf boyalı olarak görülmektedir (Şekil 1,2, sağ panel).





**Şekil 1.** Farklı embriyonik dönemlerde kontrol grubuna ait akciğer dokularında immunohistokimya boyanmalarının karşılaştırılması. IH: iletici hava kanalı, D: distal epitelyum, M: mezenşim, Ok: distal epitelyumu çevreleyen bazal tabaka, ok başı: iletici hava kanalını çevreleyen bazal tabaka, içi dolu yıldız: distal epitelyumu çevreleyen mezenşim, içi boş yıldız: iletici hava kanalını çevreleyen mezenşim. Barlar: 50 $\mu$ m.





**Şekil 2.** Farklı embriyonik dönemlerde uygulama grubuna akciğer dokularında immunohistokimya boyanmalarının karşılaştırılması. IH: İletici Hava kanalı. D: distal epitelium, M: mezenşim, Ok: distal epiteliumü çevreleyen bazal tabaka, ok başı: iletici hava kanalını çevreleyen bazal tabaka, İçi dolu yıldız: distal epiteliumü çevreleyen mezenşim, içi boş yıldız: İletici hava kanalını çevreleyen mezenşim. Barlar: 50µm.

#### 4. TARTIŞMA

Memeli akciğer gelişimi, hücrelerle ekstrasellüler matriks arasındaki etkileşimlere bağlıdır [25, 26]. Çok sayıda ekstrasellüler matriks bileşeninin akciğer gelişimine katıldığı bilinmektedir [27-30].

Çok fonksiyonlu bir glikoprotein ailesi olan fibronektinler embriyogenezde de hücre-matriks etkileşimleri, hücre adezyonu, göçü ve proliferasyonu gibi bir çok biyolojik olayda rol alırlar [31-33].

Poliklonal anti-fibronektin antikoruna ile yapılan immunohistokimya çalışmalarında kontrol ve uygulama gruplarında, incelenen tüm dönemlerde iletili hava kanalları ile distal epitelyumun bazal tabakalarında ve mezenşimde fibronektin reaktivitesine rastlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda fibronektinin 13, 15, 17 ve 20 günlük prenatal fare embriyolarındaki akciğerlerde bronş epitel hücrelerinde zayıf olmak üzere, mezenşim hücrelerinde ve damar endotel hücrelerinde [34], sıçan ve tavşan embriyolarında epitelyal kanalların bazal tabakalarında görüldüğü bildirilmiştir [35-37]. Fibronektinin boyanma yoğunluğu, uygulama grubunda kontrol grubuna oranla biraz azalmış olsa da genellikle benzerdir. Fötal akciğerin gelişimi için mezenşim ve epitel arasındaki etkileşim bir noktada ekstrasellüler matriksin bileşimi ve/veya yapısındaki değişimlerle gerçekleşir [35]. Fibronektin yapılarının özellikle iletili hava yollarının ve distal epitelyumun bazal tabakalarında ve bu kanallara yakın mezenşimde yerleşmiş olması, bu bölgelerin tübül oluşumu ve dallanma ile devam eden akciğer gelişiminde hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimlerinde ve akciğer parankimasının ve stromasının şekillenmesi için gerekli olduğunu düşündürmektedir [34]. Benzer şekilde, fibronektin dağılımlarının özellikle pseudoglandular evrede (farede embriyonik hayatın 9.5. günü ile 16.5. günü arasında) gelişen hava kanallarının dallanma bölgelerinde yoğun olarak bulunduğu [38] ve

dallanma sırasında hücre-hücre adezyonundan hücre-matriks adezyonuna geçiş aşaması için gerekli olduğu gösterilmiştir [39].

Kaderin molekülleri embriyonik gelişim sırasında dokuların yerleşiminde önemli bir rol üstlenirler [40]. Yapılan çalışmalarda, 13 ve 15 günlük embriyolarda hava kanallarını oluşturan epitelyal hücrelerde E- ve P-kaderinlere rastlanmış, P- kaderinin ilerleyen evrelerde bronşiyollerde görülürken iletili hava kanallarında yer almadığı öne sürülmüştür [41]. Pan-kaderin poliklonal antikor ile yapılan bu immunohistokimya boyamalarında, incelenen tüm grup ve embriyonik dönemlerde iletili hava kanalları ve distal epitelyumlara ait hücrelerde bir reaksiyona rastlanamamıştır. Kaderin reaktivitesinin genellikle hava kanallarının bazal tabakalarına ve mezenşime sınırlı olması ise bu moleküllerin benzer bölgelerde yerleşim gösteren katenin molekülleri ile birlikte akciğer morfogenezinde rol alabileceğini düşündürmüştür.

$\beta$ -katenin, E-kaderinin sitoplazmik kuyruğu ve aktin filamentlerine bağlı bir protein olan  $\alpha$ -katenin ile etkileşerek hücresel adezyon olaylarında rol alan bir moleküldür [42,43]. Solunum epiteli hücrelerinde  $\beta$ -katenin dağılımlarının normal akciğer morfogenezi açısından gerekli olduğu gösterilmiştir. Farelerde, periferik akciğer tübüllerinin oluşumu ve şekillenmesinin, solunum epiteli hücrelerinde  $\beta$ -katenin dağılımının azalması ile bozulduğu öne sürülmüştür [44]. Akciğer organogenezinde Notch, TGF $\beta$ /BMP, sonic hedgehog (Shh), FGF, EGF ve Wnt gibi çeşitli sinyalleme yolları rol almaktadır [45]. Bu açıdan,  $\beta$ -katenin, sinyal transdüksiyon mekanizmaları açısından önemli bir bileşik olmaktadır.

Wnt protein ailesi, hücre özelleşmesi, proliferasyonu, hücre polaritesi ve göçü gibi çeşitli gelişimsel süreçlerde rol alan 19 üyeli büyük bir glikoprotein ailesidir. Wnt sinyalleşmesinin eksik düzenlenmesi



embriyonik gelişimde çeşitli gelişim hasarlarına neden olur [46].  $\beta$ -kateninin Wnt sinyallemede önemli bir molekül olduğu ve farklılaşan alveolar epitelyumun sitoplazma ve nükleuslarında hava kanallarına komşu mezenşimde yer aldığı belirlenmiştir [47].  $\beta$ -katenin aracılığı ile gerçekleşen sinyalleme yollarının oluşumunda önemli olduğu belirtilmiştir [44]. Wnt sinyalleme eksikliğinde  $\beta$ -kateninin sitosolik düzeyinde bir azalma meydana gelmektedir [48].  $\beta$ -katenindeki azalma, farklılaşmış alveolar epitel hücrelerin sayısında önemli bir azalmayı ve silli hücreler ile Clara hücrelerin sayısında ise göreceli bir artışı beraberinde getirmektedir [49]. Anti- $\beta$ -katenin poliklonal antikolar ile yapılan bu çalışmalarda kontrol ve uygulama grupları arasında  $\beta$ -katenin dağılımı açısından belirgin bir fark bulunamamıştır. Ancak hava kanallarının duvar ve lümenlerinde hem kontrol, hem de uygulama grubuna ait 12 ve 13 günlük embriyolarda boyanma görülmezken 14. ve 15. günlerdeki embriyolarda  $\beta$ -katenin dağılımlarına rastlanmıştır. Öte yandan, hava kanallarının bazal tabakaları ve mezenşimde incelenen tüm grup ve embriyonik dönemlerde  $\beta$ -katenin reaksiyonları gözlenmiştir. Transgenik fareler ile daha önce yapılan çalışmalarda da  $\beta$ -kateninin embriyonik hayatın 13,5 ve 18,5 günlerinde bazal zarlarda, hava kanallarının duvarını oluşturan epitel hücrelerinde ve mezenşim hücrelerinde yer aldığı belirlenmiştir [44, 50]. Öte yandan, incelenen tüm gruplarda ve embriyonik dönemlerde  $\beta$ -katenin lokalizasyonlarının kaderin lokalizasyonları ile benzer olması ilginçtir. Çok büyük olasılıkla kaderin molekülleri  $\beta$ -katenin molekülleri ile etkileşerek akciğer morfogenezine katılmaktadır.

Glukokortikoid hormonlarının diğer dokular yanında akciğer gelişiminde de önemli roller oynadığı [18,51, 52] ve surfaktan üretimini dengelediği bilinmektedir [53]. Ancak bu

hormonun akciğerlerdeki moleküler mekanizmalar üzerine etkileri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Glukokortikoidlerin dolaylı etkileri hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimleri üzerine olabilir [54]. Dekametazonun insan fetal akciğer fibroblastlarından fibronektin salınımında doza bağımlı bir etkisi olduğu [55] ve reseptör aracılığı ile glukokortikoid sinyallemesinin epitel hücrelerinin tip I hücrelerine dönüşümünü kolaylaştırdığı gösterilmiştir [56]. Bununla birlikte, glukokortikoidlerin fetal akciğer dokularında hava boşluklarını genişletirken epitel dokuda, bağ dokusunda ya da damarlanmada bir değişiklik oluşturmadığı, fakat epitel-mezenşim etkileşimlerinde bir artışa neden olduğu belirlenmiştir [57]. Bu çalışmada deksametazon uygulanan grup ile kontrol grubu arasında, antikor paneli açısından önemli bir değişiklik görülmemiştir. Bu durumda, prenatal uygulanan glukokortikoidlerin embriyonik akciğer dokusundaki ekstrasellüler matriks bileşenlerinin dağılımı üzerine bir etkisinin olmadığını söylemek mümkündür. Ancak, glukokortikoidlerin fetal akciğerden fibronektin salınımı üzerine doza bağımlı bir etkisi olduğu [55] düşüncesi göz önüne alındığında, bu uygulamayı farklı dozlarda da denemek yararlı olacaktır.

### Teşekkür

Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: FEF 2005-76). Çalışmada kullanılan hayvanları için Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmıştır (Protokol no: 2005/0204).

### Kaynaklar

[1] Morriss-Kay, G.M., and Sokolova, N., "Embryonic development and pattern formation", FASEB Journal, 10: 961-968 (1996).



- [2] Adamson, E.D., "Growth factors and their receptors in development", *Developmental Genetics*, 14: 159-164 (1993).
- [3] Matrisian, L.M., and Hogan, B. L., "Growth factor-regulated proteases and extracellular matrix remodeling during mammalian development", *Current Topics in Developmental Biology*, 24: 219-259 (1990).
- [4] Hynes, R.O., "Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines", *Cell* 110: 673-687 (2002).
- [5] Hogan, B.M.L., "Morphogenesis", *Cell* 96(2): 225-233 (1999).
- [6] Boucaut, J.C., and Darribere, T., "Fibronectin in early amphibian embryos. Migrating mesodermal cells contact fibronectin established prior to gastrulation" *Cell and Tissue Research* 234: 135-145 (1983).
- [7] Takeichi, M., "Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator", *Science* 251: 1451-1455 (1991).
- [8] Takeichi, M., "Morphogenetic roles of classic cadherins", *Current Opinion in Cell Biology* 7: 619-627 (1995).
- [9] Halbleib, J.M., and Nelson, W.J., "Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis", *Genes & Development* 20: 3199-3214 (2006).
- [10] McCreary, P.D., Turck, C.W., and Gumbiner, B., "A homolog of the armadillo protein in *Drosophila* (plakoglobin) associated with E-cadherin", *Science* 254: 1359-1361 (1991).
- [11] Nagafuchi, A., and Takeichi, M., "Cell binding function of E-cadherin is regulated by the cytoplasmic domain" *EMBO Journal* 7: 3679-3684 (1988).
- [12] Ozawa, M., Baribault, H., and Kemler, R., "The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species" *EMBO Journal* 8: 1711-1717 (1989).
- [13] Potter, E., Bergwitz, C., and Brabant, G., "The cadherin-catenin system: implications for growth and differentiation of endocrine tissues" *Endocrine Reviews* 20: 207-239 (1999).
- [14] Fauci, A.S., Dale, D.C., and Balow, J.E., "Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations", *Annals of Internal Medicine* 84: 304-315 (1976).
- [15] Munck, A., Guyre, P.M., and Holbrook, N.J., "Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions", *Endocrine Reviews* 5: 25-44 (1984).
- [16] Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annu Rev Immunol.* 2000;18: 309-45.
- [17] Zhang, Z., Tarone, G., and Turner, D.C., "Expression of integrin alpha 1 beta 1 is regulated by nerve growth factor and dexamethasone in PC12 cells. Functional consequences for adhesion and neurite outgrowth", *The Journal of Biological Chemistry* 268: 5557-5565 (1993).
- [18] Gross, I., "Regulation of fetal lung maturation", *The American Journal of Physiology* 259(6 Pt 1): L337-344 (1990).
- [19] Slotkin, T.A., Barnes, G.A., McCook, E.C., and Seidler, F.J., "Programming of brainstem serotonin transporter development by prenatal glucocorticoids", *Brain Research Developmental Brain Research* 93: 155-161 (1996).
- [20] Slotkin, T.A., Zhang, J., McCook, E.C., and Seidler, F.J., "Glucocorticoid administration alters nuclear transcription factors in fetal rat brain: implications for the use of antenatal steroids", *Brain Research Developmental Brain Research* 111: 11-24 (1998).
- [21] Tesoriere, G., Vento, R., Taibi, G., Calvaruso, G., and Schiavo, M.R., "Biochemical aspects of chick embryo retina development: the effects of glucocorticoids" *Journal of Neurochemistry* 52: 1487-1494 (1989).
- [22] Bian, X., Briggs, M.M., Schachat, F.H., Seidler, F.J., and Slotkin, T.A., "Glucocorticoids accelerate the ontogenetic transition of cardiac ventricular myosin heavy-chain isoform expression in the rat: promotion by prenatal exposure to a low dose of dexamethasone" *Journal of Developmental Physiology* 18: 35-42 (1992).
- [23] Bellabarba, D., Beaudry, C., and Lehoux, J.G., "Corticosteroid receptors in the kidney of chick embryo. II. Ontogeny of corticosterone receptor and cellular development", *General and Comparative Endocrinology* 50: 305-312 (1983).
- [24] Vacchio, M.S., King, L.B., and Ashwell, J.D., "Regulation of thymocyte development by glucocorticoids" *Behring Institute Mitteilungen* 97: 24-31 (1996).

- [25]McGowan, S.E., “Extracellular matrix and the regulation of lung development and repair” *FASEB Journal* 6: 2895-2904 (1992).
- [26]Minoo, P., and King, R.J., “Epithelial-mesenchymal interactions in lung development”, *Annual Review of Physiology* 56: 13-45 (1994).
- [27]Shannon, J.M., McCormick-Shannon, K., Burhans, M.S., Shangguan, X., Srivastava, K., and Hyatt, B.A., “Chondroitin sulfate proteoglycans are required for lung growth and morphogenesis in vitro”, *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 285: L1323-L1336 (2003).
- [28]Gross, I., Dynia, D.W., Rooney, S.A., Smart, D.A., Warshaw, J.B., Sissom, J.F., and Hoath, S.B., “Influence of epidermal growth factor on fetal rat lung development in vitro”, *Pediatric Research* 20: 473-477 (1986).
- [29]Sannes, P.L., Burch, K.K., Khosla, J., McCarthy, K.J., and Couchman, J.R., “Immunohistochemical localization of chondroitin sulfate, chondroitin sulfate proteoglycan, heparan sulfate proteoglycan, entactin, and laminin in basement membranes of postnatal developing and adult rat lungs”, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 8: 245-251 (1993).
- [30]Schuger, L., O’Shea, S., Rheinheimer, J., and Varani, J., “Laminin in lung development: effects of anti-laminin antibody in murine lung morphogenesis”. *Developmental Biology* 137: 26-32 (1990).
- [31]Mosher, D.F., “Physiology of fibronectin”, *Annual Review of Medicine* 35: 561-575 (1984).
- [32]Dufour, S., Duband, J.L., and Thiery, J.P., “Role of a major cell-substratum adhesion system in cell behavior and morphogenesis” *Biologie Cellulaire* 58: 1-13 (1986).
- [33]Glukhova, M.A., and Thiery, J.P., “Fibronectin and integrins in development”, *Seminars in Cancer Biology* 4: 241-249 (1993).
- [34]Derin, B.G., Erdogan, D., Take, G., and Lortlar, N., “Immunohistochemical localization of extracellular matrix proteins in developing lung tissues” *Saudii Medical Journal* 28: 334-338 (2007).
- [35]Snyder, J.M., O’Brien, J.A., and Rodgers, H.F., “Localization and accumulation of fibronectin in rabbit fetal lung tissue” *Differentiation* 34: 32-39 (1987).
- [36]Rosenkrans, W.A. Jr., Albright, J.T., Hausman, R.E., and Penney, D.P., “Ultrastructural immunocytochemical localization of fibronectin in the developing rat lung” *Cell Tissue Research* 234: 165-177 (1983).
- [37]Rosenkrans, W.A. Jr., Albright, J.T., Hausman, R.E., and Penney, D.P., “Light-microscopic immunocytochemical localization of fibronectin in the developing rat lung” *Cell Tissue Research* 233: 113-123 (1983).
- [38]Roman, J., “Fibronectin and fibronectin receptors in lung development” *Experimental Lung Research*, 23: 147-159 (1997).
- [39]Sakai, T., Larsen, M., and Yamada, K.M., “Fibronectin requirement in branching morphogenesis”, *Nature*, 42: 876-881 (2003).
- [40]Takeichi, M., “The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis”, *Development*, 102: 639-655 (1988).
- [41]Hirai, Y., Nose, A., Kobayashi, S., and Takeichi, M., “Expression and role of E- and P-cadherin adhesion molecules in embryonic histogenesis. I. Lung epithelial morphogenesis”, *Development*, 105: 263-270 (1989).
- [42]Gooding, J.M., Yap, K.L., and Ikura, M., “The cadherin-catenin complex as a focal point of cell adhesion and signalling: new insights from three-dimensional structures”, *Bioessays*, 26: 497-511 (2004).
- [43]Nelson, W.J., and Nusse, R., “Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways”, *Science*, 303: 1483-1487 (2004).
- [44]Mucenski, M.L., Wert, S.E., Nation, J.M., Loudy, D.E., Huelsken, J., Birchmeier, W., Morrissey, E.E., and Whitsett, J.A., “beta-Catenin is required for specification of proximal/distal cell fate during lung morphogenesis” *Journal of Biological Chemistry*, 278: 40231-40238 (2003).
- [45]Pongracz, J.E., and Stockley, R.A., “Wnt signalling in lung development and diseases”, *Respiratory Research*, 7: 15 (2006).
- [46]Logan, C.Y., and Nusse, R., “The Wnt signaling pathway in development and disease”, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20: 781-810 (2004).
- [47]Tebar, M., Destree, O., de Vree, W.J., Ten Have-Opbroek, A.A., “Expression of Tcf/Lef and

- sFrp and localization of beta-catenin in the developing mouse lung”, *Mechanisms of Development*, 109: 437-440 (2001).
- [48]Akiyama, T., “Wnt/beta-catenin signaling”, *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 11: 273-282 (2000).
- [49]Okubo, T., and Hogan, B.L., “Hyperactive Wnt signaling changes the developmental potential of embryonic lung endoderm”, *Journal of Biology*, 3: 11 (2004).
- [50]Mucenski, M.L., Nation, J.M., Thitoff, A.R., Besnard, V., Xu, Y., Wert, S.E., Harada, N., Taketo, M.M., Stahlman, M.T., and Whitsett, J.A., “Beta-catenin regulates differentiation of respiratory epithelial cells in vivo” *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 289: L971-L979 (2005).
- [51]Mendelson, C.R., Acarregui, M.J., Odom, M.J., and Boggaram, V., “Developmental and hormonal regulation of surfactant protein A (SP-A) gene expression in fetal lung”, *Journal of Developmental Physiology*, 15: 61-69 (1991).
- [52]Ward, R.M., “Pharmacologic enhancement of fetal lung maturation”, *Clinics in Perinatology*, 21: 523-542 (1994).
- [53]Ballard, P.L., and Ballard, R.A., “Glucocorticoid receptors and the role of glucocorticoids in fetal lung development”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69: 2668-2672 (1972).
- [54]Arai, H., Kikuchi, W., Ishida, A., and Takada, G., “Dexamethasone-induced prenatal alveolar wall thinning is associated with a decrease in EIIIA+ fibronectin isoform in the fetal rat lung”, *Biology of the Neonate*, 87: 113-120 (2005).
- [55]Brenner, R.E., Felger, D., Winter, C., Christiansen, A., Hofmann, D., and Bartmann, P., “Effects of dexamethasone on proliferation, chemotaxis, collagen I, and fibronectin-metabolism of human fetal lung fibroblasts”, *Pediatric Pulmonology*, 32: 1-7 (2001).
- [56]Cole, T.J., Solomon, N.M., Van Driel, R., Monk, J.A., Bird, D., Richardson, S.J., Dilley, R.J., and Hooper, S.B., “Altered epithelial cell proportions in the fetal lung of glucocorticoid receptor null mice”, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 30: 613-619 (2004).
- [57]Snyder, J.M., Rodgers, H.F., O'Brien, J.A., Mahli, N., Magliato, S.A., and Durham, P.L., “Glucocorticoid effects on rabbit fetal lung maturation in vivo: an ultrastructural morphometric study”, *The Anatomical Record*, 232: 133-140 (1992).

*Geliş Tarihi: 20/01/2009 Kabul Tarihi: 09/04/2009*



