

Investigation of Nectin-2 Expression in the Rat Thymus During Organogenesis in the Embryo

Embriyo Organogenezi Sırasında Timustaki Nectin-2 Varlığının Araştırılması

Derya Akkuş, Mehmet Fatih Sönmez

ABSTRACT ÖZET

Objective: The thymus is a primary lymphoid organ which provides the essential microenvironment for T lymphocyte development and matures through epithelial-mesenchymal interactions. Nectins are Ca²⁺-independent Ig-like cell adhesion molecules. The purpose of this study was to investigate nectin-2 expression in the thymus at different stages of development in the rat foetus.

Material and Method: In this study, 24 pregnant adult female Wistar-albino rats were used. The rats were decapitated under ketamine anaesthesia and their foetuses were removed at 14, 16, 18, and 20 days of gestation (GD). Foetuses were embedded in paraffin blocks. In order to determine the general histological structure, sections were stained with hematoxylin-eosin. Nectin-2 was detected in the foetal thymus by immunohistochemistry using the avidin-biotin-peroxidase technique.

Results: The thymic primordium was surrounded by a connective tissue capsule at GD14 and GD16. At GD18, the connective tissue capsule formed septa that subdivided the tissue into incomplete lobules. Lobulation was more evident at GD20. Nectin-2 immunoreactivity was observed at medium density at GD14 and GD20 and weakly at GD16 and GD18.

Conclusion: It is thought that nectin-2 contributes to cell-to-cell interactions during thymopoiesis.

Key words: Immunohistochemistry, nectin-2, rat, thymus development

Amaç: Timus, T lenfositlerin gelişimi ve olgunlaşması için gerekli mikroçevreyi sağlayan ve epitelyal mezenşimal etkileşimin yoğun olduğu bir primer lenfoid organdır. Nectinler Ca²⁺-bağımsız immunoglobulin-benzeri hücre adezyon molekülüdür. Bu çalışmanın amacı, gelişimin farklı dönemlerindeki sıçan fetus timusunda nectin-2 ekspresyonunun araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 24 erişkin wistar-albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Gebe sıçanlar 14, 16, 18 ve 20. günlerinde ketamin anestezi altında dekapite edildi ve fetusları çıkarıldı. Fetuslar parafin bloklara gömüldü. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla alınan kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Nectin-2, fetal timusta streptavidin-biotin peroksidaz tekniği kullanılarak immunohistokimyasal olarak belirlendi.

Bulgular: Timus taslağı gebeliğin 14. ve 16. gününde bağ dokusu kapsülü ile çevrelenmişti. Gebeliğin 18. gününde bağ dokusu kapsülünün oluşturduğu septa dokuyu tam olmayan lobüllere ayırdı. Lobulasyon gebeliğin 20. gününde daha belirgindi. Nectin-2 immunreaktivitesi gebeliğin 14. ve 20. gününde orta yoğunlukta, gebeliğin 16. ve 18. gününde zayıf reaksiyon gösterdi.

Sonuç: Timopoezis sırasında hücre-hücre etkileşimlerinde nectin-2'nin katkısı olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: İmmunohistokimya, nectin-2, sıçan, timus gelişimi

Giriş

Organizmayı oluşturan hücrelerin çevresinde çözünebilir moleküllerden oluşan karmaşık bir karışım, diğer hücreler ve çözünebilir olmayan doku matriksi yer alır. Doku ve hücrelerin bütünlüğünün ve işlevinin korunabilmesi için hücrenin çevresindeki değişimleri algılaması ve uygun cevaplar vermesi gerekir. Hücre bu olayı, yüzeyinde eksprese edilen hücre adezyon molekülleri aracılığı ile gerçekleştirir (1). Adezyon molekülleri, birbirleriyle veya ekstraselüler sıvıdaki moleküllerle etkileşim gösteren, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks bağlantısını sağlayan protein molekülleridir (2). Hücre adezyon molekülleri heterojen bir reseptör grubudur ve hücre aktivasyonu, embriyonel dönemde hücre bölünmesi, göçü, büyümesi, farklılaşması ve ölümü gibi bir çok olayın düzenlenmesinde rol oynarlar (1, 3).

Nectin, Ca²⁺-bağımsız Ig-benzeri hücre adezyon molekülüdür ve nectin-1, nectin-2, nectin-3, nectin-4 olmak üzere dört üyeden oluşur (4). Nectin-1, nectin-2 ve nectin-3 epitelyal hücreler, nöronlar ve fibroblastlar gibi çeşitli hücre tiplerinde bulunmaktadır (5). Nectin-2 ve nectin-3 kadherinlerin eksprese edilmediği kan hücreleri (B hücreleri ve monositler) ve spermatidlerde eksprese edilirken, insanda nectin-4 başlıca plasentada eksprese edilmektedir (6). Nectin-4 hariç diğer tüm üyeler, nectin-1 α , nectin-1 β , nectin-1 γ ; nectin-2 α , nectin-2 δ ; nectin-3 α , nectin-3 β ve nectin-3 γ olmak üzere iki veya üç alt birime sahiptir. Nectin-1 γ dışındaki diğer nectin üyeleri, üç Ig-benzeri alan içeren ekstraselüler bölgeye, tek bir transmembran bölgeye ve bir sitoplazmik bölgeye sahiptir (5, 6). Bu yapısal organizasyonla hem homofilik hem de heterofilik olarak hücre-hücre adezyonu sağlanmaktadır (7).

Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Histoloji Anabilim Dalı,
Kayseri, Türkiye

Submitted/Geliş Tarihi
25.03.2011

Accepted/Kabul Tarihi
26.03.2012

Correspondance/Yazışma

Dr. Mehmet Fatih Sönmez
Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Histoloji Anabilim Dalı,
38039 Kayseri, Türkiye
Phone: +90 352 207 66 66-
23356
e.mail:
dmfatihsonmez@hotmail.com

©Copyright 2012
by Erciyes University School of
Medicine - Available on-line at
www.erciyesmedicaljournal.com
©Telif Hakkı 2012
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Makale metnine
www.erciyesmedicaljournal.com
web sayfasından ulaşılabilir.

Timus bezi, kemik iliği kaynaklı T hücrelerinin hem fetal hem de yetişkin hayatta farklılaştığı, bağışıklık sisteminde görev alan önemli bir lenfoid organdır (8). Timus bezi üç germ yaprağından (endoderm, mezoderm ve ektoderm) köken alması (9) ve T lenfosit gelişiminden sorumlu olması nedeniyle epitelyal-mezenşimal etkileşimin yoğun olarak yaşandığı bir organdır (10). Bu nedenle timus gelişiminde hücre adhezyon molekülleri önemli rol oynamaktadır. Timus dokusunda nektin-2 molekülünün varlığı bugüne kadar yapılan çalışmalarda henüz ortaya konulmamıştır. Bu çalışmada, gebe sıçanların embriyolarının timus dokusunda nektin-2 dağılımının immünohistokimyasal olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deney Prosedürü: Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde yetiştirilen 24 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Normal gün düzeninde 21°C ve 12 saatlik aydınlık/karanlık ortamda kafesler içinde tutulan sıçanların su ve besin ihtiyaçları sağlandı. 150-250 gr ağırlığındaki 4-10 aylık dişiler döllenme yeteneği olan erkeklerle bir kafese konulmadan önce vajinal smear alınarak estrus siklusuna bakıldı ve estrus ve proestrus periyodundaki dişiler bir gece boyunca (saat 17.00 ile 9.00 arası) erkek sıçan ile aynı kafeste tutuldu. Ertesi gün, vaginal plak belirlenen fareler 0,5 günlük gebe olarak kabul edildi ve ayrı bir kafese alınıp normal diyet ile beslendi. Gebe sıçanlar ketamin anestezi altında gebeliklerinin 14, 16, 18 ve 20. günlerinde dekapite edilerek fetuslar çıkarıldı. Her gruptan 10 fetus ile çalışma yapıldı. Tüm prosedürler etik kurallara uygun bir şekilde gerçekleştirildi.

Histolojik Takip: Anestezi altında dekapite edilen gebe sıçanlardan elde edilen fetuslar %4'lük formaldehit, Bouin ve %4'lük paraformaldehit solüsyonlarında tespit edildi. Tespit solüsyonlarında 12'şer saat bekleyen fetuslar, bir gece akar su altında bırakıldıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarıldı, ksilol ile şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5-6 µm'lik kesitler polilizin kaplı lamlara yayıldı. Hazırlanan lamalar standart histolojik yöntemler kullanılarak genel histolojik yapıyı görmek amacıyla hematoksin-eozin (H&E) ile boyanarak Olympus BX-51 dijital fotomikroskopta incelenerek fotoğraflandı.

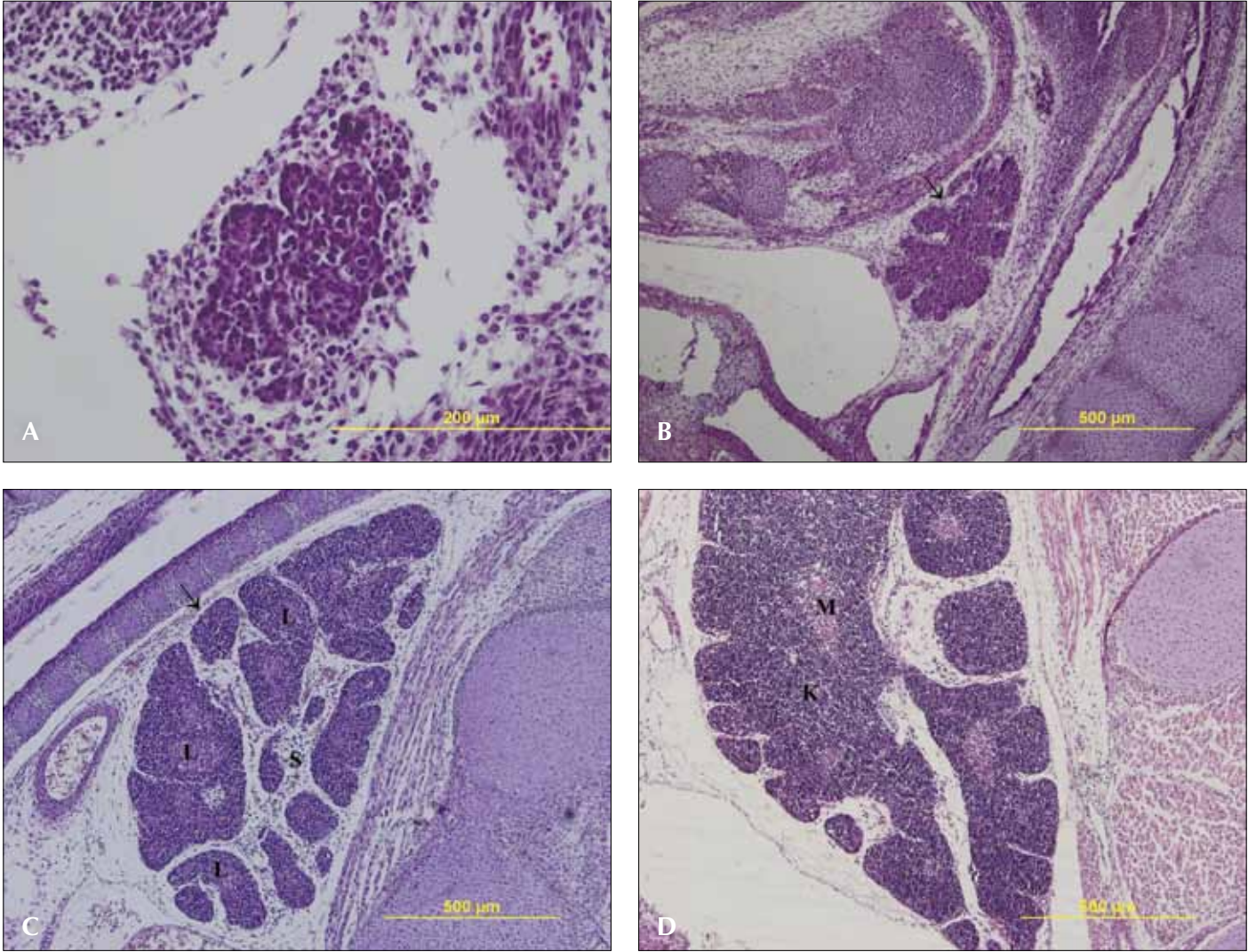
İmmünohistokimya: Deneydeki fetuslara ait timus dokularında nektin-2 molekülünü belirlemek için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immünohistokimya uygulandı. Bir gece 60°C'de tutulan, önce ksilen sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen kesitler, daha sonra fosfat tampon (PBS) ile 3 defa 5'er dakika yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için %5'lik sitrat tampo- nu ile mikrodalga fırında 600W'de 3x5 defa kaynatılan kesitler, 20 dakika oda ısısında aynı tampon solüsyon içinde bekletildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 5 dakika %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edildi. Bundan sonraki aşamalar için ABC staining system (*Santa Cruz, sc-2023*) boyama kiti kullanıldı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 20 dakika Blok serum uygulandı. Hemen ardından kesitler fare dokularına özgüllük gösteren keçi poliklonal birincil antikorunu nektin-2 ile 1 gece +4°C'de bekledikten sonra 20 dakika inkübe edildi. Negatif kontrol olarak, birincil antikor yerine

PBS kullanıldı. Yıkama işleminden sonra kesitler fare dokularına bağlanabilen biotinli sekonder antikor ile 30 dakika inkübe edildi ve ardından yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra Avidin-Biotin enzim ayırıcı ile 30 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immünreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) özelliği gösteren kitteki peroksidaz substrat ile 5 dakika muamele edildikten sonra 5 dakika deiyonize H₂O ile yıkandı. Gill hematoksilen ile karşıt boyanan kesitler birkaç kez deiyonize H₂O ile yıkandı. Son aşama olarak artan alkol serileri ile su uzaklaştırılarak ksilenden geçirilen kesitler entellan ile kapatıldı. Olympus BX51 model ışık mikroskobu altında DP71 model dijital fotoğraf makinesi ile histolojik görüntüler elde edildi. İmmün reaktivite açısından boyanan sıçan fetusuna ait timus dokularının değerlendirilmesi için uzman histolog tarafından ayrı ayrı değerlendirilerek ortalamaları alındı. İmmünohistokimya uygulanan kesitlerdeki nektin-2 ekspresyonu; negatif (-), zayıf reaksiyon (+), orta yoğunlukta reaksiyon (++) ve çok yoğun reaksiyon (+++) olarak değerlendirildi.

Bulgular

On dört günlük sıçan fetus kesitlerindeki timus H&E boyama yönteminde yoğun hücre kitlesi şeklinde izlendi ve dıştan bir bağ dokusu ile çevrelendiği gözlemlendi. Ancak bu bağ dokusu kapsül özelliğini henüz kazanmamıştı. Bu gruba ait timus kesitlerinde lobulasyon gözlenmedi. Ayrıca korteks ve medulla ayrımı da yoktu. Timus taslağını oluşturan farklılaşmış epitelyal hücreler ve lenfoblastların asidofilik sitoplazması, bazofilik çekirdekleri belirgin bir şekilde gözlemlendi (Resim 1A). On altı günlük sıçan fetus kesitlerinde timusun bağ dokusuyla çevrelendiği, septaların lob ve lobülleri oluşturmaya başladığı gözlemlendi. Bu gruba ait timus kesitlerinde korteks ve medulla ayrımı yapılmaktaydı. Ayrıca kortekste bulunan timositlerin medulladaki timositlere göre bazofilik karakterinin artmış olduğu gözlemlendi (Resim 1B). On sekiz günlük sıçan fetus kesitlerinde bağ dokusu kapsülünün nispeten kalınlaşmış olduğu ve septumların timusu lob ve lobüllere ayırdığı gözlemlendi. Gelişimin ileri safhasında olmasından dolayı kortekste yer alan timositlerin bazofilik karakterinin ve mitotik aktivitesinin artmasıyla dokudaki korteks ve medulla ayrımı daha belirgindi. Medullada yer alan timositlerin geniş hacimli olması nedeniyle medulla korteksten daha açık renkte olmasıyla ayırt edildi (Resim 1C). Yirmi günlük sıçan fetus kesitlerinde kapsülden organın içine giren bağ dokusu artışı mevcuttu. Korteks ve medulla ayrımı belirgindi. Ayrıca kortekste yer alan timositlerin birbirlerine daha yakın olduğu ve çekirdeklerinin kromatin yoğunluğundan dolayı koyu boyanmış olduğu gözlemlendi. Lobüllerin medullasındaki timositlerin azlığı sebebiyle epitelyal retiküler hücreleri rahatlıkla seçilebilmekteydi. Bu epitelyal retiküler hücreleri arasında az sayıda timositlere rastlandı (Resim 1D).

Yapılan immünohistokimyasal boyamada on dört günlük sıçan fetus kesitlerindeki timus stromasında nektin-2 ekspresyonu orta yoğunlukta reaksiyon (++) gösterirken (Resim 2A), on altı günlük immünohistokimya uygulanan kesitlerde timus stroması, on dört günlük timus stromasına kıyasla nektin-2 ekspresyonu daha zayıf reaksiyon (+) gösterdi (Resim 2B). On sekiz günlük sıçan fetus kesitlerinde timus stromasında nektin-2 ekspresyonu zayıf reaksiyon (+) göstermiştir (Resim 2C). Yirmi günlük sıçan fetus kesitlerinde immünohistokimya uygulanan kesitlerde nektin-2 ekspresyonu orta yoğunlukta reaksiyon (++) gösterdi (Resim 2D). Negatif kontrol kesitlerinde primer antikor yerine PBS kullanıldı (Resim 2E).



Şekil 1. A) 14 günlük sıçan timus görüntüsünde kapsül, korteks ve medulla ayrımı yapılamamaktadır (H&E). B) 16 günlük sıçan timus görüntüsünde bağ doku septumları doku içine girmektedir (ok) (H&E). C) 18 günlük sıçan timus dokusunda bağ doku septumlarının (S) ayırdığı lobüller (L) ve bağ dokusu kapsülü (ok) ayırt edilmektedir (H&E). D) 20 günlük sıçan timus dokusunda korteks (K) ve medulla (M) ayrımı yapılabilmektedir (H&E)

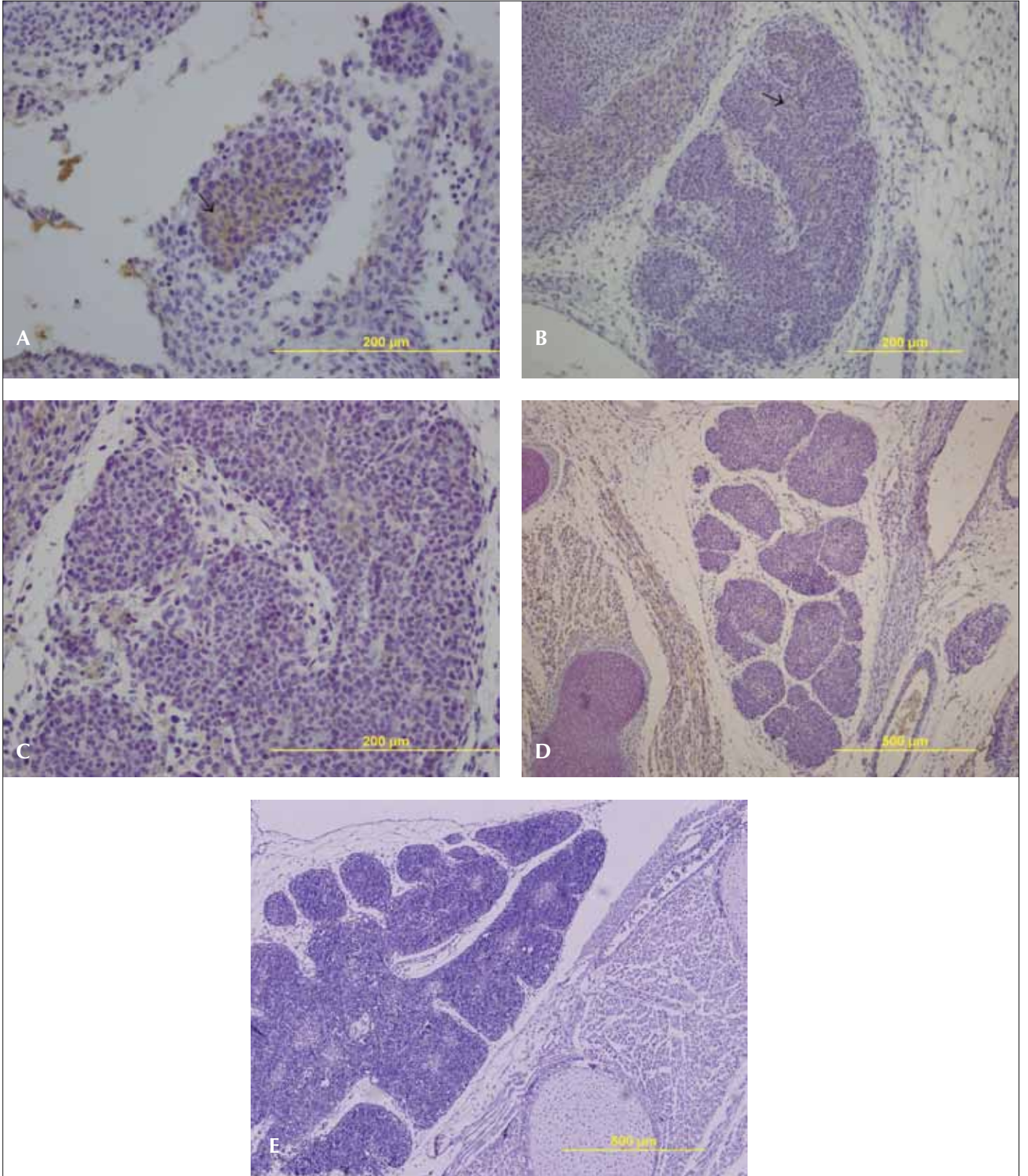
Tartışma

Endotelial hücrelerle lökositler arasında adheziv etkileşimi sağlayan bir grup hücre yüzey molekülünün 1980'lerin ortalarından itibaren moleküler olarak saptanması, adezyon molekülleri ile ilgili bilgilerimizin hızla artmasına neden olmuştur. Daha sonraki yıllarda adezyon moleküllerinin, histogenez, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev aldıkları belirlenmiştir (11, 12).

Nectin dağılımı oldukça yaygın olarak ifade edilmektedir. Yetişkin sıçan hipokampusunun CA3 bölgesinde nektin-1, nektin-2, nektin-3 lokalizasyonunu incelediğinde nektin-1 ve nektin-3'ün sinapslardaki *puncta adherentia* bağlantılarının presinaptik ve post-sinaptik bölgelerinde asimetric olarak lokalize olduğu ve sinapsların oluşumunda nektin-afadin sisteminin önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (13). Yetişkin vahşi-tip farelerin siliyer cisimlerinde siliyer epitelin pigmentli ve pigmentli hücre tabakaları temas bölgelerinde nektin-1, nektin-2 ve nektin-3 ekspresyonu gözlen-

miştir (14). Fare ince bağırsak epitelium hücrelerindeki adherens bağlantı kompleksinde yüksek oranda nektin-1, nektin-2 ve nektin-3 bulunurken sıkı bağlantı kompleksi ve desmozomlarda bulunmamaktadır (15). Nektin-2 dağılımı ise daha özellikli alanlarda bulunmaktadır. Nektin-2^{-/-} farelerinde yapılan bir çalışmada erkeğe özgü infertilite, sperm gelişim basamaklarında bozukluk, anormal mitokondri dağılımı ve çekirdek biçiminin bozulduğu bildirilmiştir (16, 17). Bu durumda Sertoli hücre-spermatid bağlantılarında nektin-afadin sisteminin geniş bir yer aldığını, Sertoli-Sertoli hücre bağlantılarının ise bir çok hücrelerarası adezyon sisteminin işbirliği vasıtasıyla oluştuğu anlaşılmaktadır (6). Nektin-2 ve nektin-4 kalbin interkalat disklerinde de eksprese edilmektedir (18).

Timus taslağını oluşturan hücreler ile T hücrelerinin farklılaşması ve çoğalması sırasında meydana gelen etkileşimlerde rol oynayan faktörlerin belirlenmesi üzerine çeşitli çalışmalar bulunsa da timus gelişiminde nektin ekspresyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Timik mikroçevre sitokinler, timik hormonlar ve büyüme faktörleri gibi çözülebilir faktörleri salgılar, T hücrelerin farklılaşma ve çoğal-



Şekil 2. A) On dört günlük sıçan timusunda nektin-2 ekspresyonu (ok) izlenmekte (İmmunperoksidaz). B) On altı günlük sıçan timusunda nektin-2 ekspresyonu (İmmunperoksidaz). C) On sekiz günlük sıçan timusunda nektin-2 ekspresyonu. D) Yirmi günlük sıçan timusunda nektin-2 ekspresyonu (ok). E) Yirmi günlük sıçan timusu negatif kontrol

masında gerekli olduğu bilinen, MHC Tip I ve II yapıları T hücre repertuarı ve ekstrasellüler matris üyelerinin şekillenmesinde gereklidir, bunlar hücre-hücre etkileşimine doğrudan aracılık yaparak katkıda bulunur (19). Antijen bağımlı ve antijen bağımsız T lenfositlerin gelişimi ve işlevi sırasında önemli hücre-hücre etkileşimleri meydana gelir. Lökositlerin damarlardan geçmesinde başlıca CD44 ve selektinler rol oynarken, integrinlerin rolü tam olarak netlik kazanmamıştır (20). Kemokinlerden CXCR4 özel reseptörü başlıca timosit gelişim aşamalarında eksprese edilir ve CXCL12 ile kapsül altı ve kortiko-medullar bölgede etkileşim gösterdiği görülmüştür (21). Timus ve adezyon molekülleri üzerine yapılan bir çalışmada, insan timusundaki E-kadherin ekspresyonu incelenmiştir (22). İmmunofloresan uygulama sonucunda medullar epitelyal retiküler hücrelerde güçlü E-kadherin ekspresyonu görülmüştür. Bu hücrelerin sitoplazmalarında kadherin-katenin kompleksi oluşturmak için gerekli olan kateninler eksprese edilmiştir. İnsan timositlerinde homofilik etkileşimler meydana gelmediğinden E-kadherin eksprese edilmemiştir. Fakat E-kadherin ergin farelerin timositlerinde görülmezken, embriyonik döneminin 14-18 günleri arasında timositler ve epitelyal retiküler hücrelerde eksprese edildiği gözlenmiştir (22). Çalışmamızda 14 günlük fetus timusu stromasında, 20 günlük fetus timusunun korteks ve medullasında nektin-2 ekspresyonu orta yoğunlukta reaksiyon göstermiştir. Nektin-2 ekspresyonu, on altı günlük siçan fetus timusu medullasında zayıf, on sekiz günlük fetus kesitinde çevre dokularda orta yoğunlukta reaksiyon gösterirken, timus stromasında zayıf reaksiyon göstermiştir. Bu ekspresyon paterni bize timopoezis sırasında nektin-2'nin özellikle gelişimin erken ve geç dönemlerinde daha etkili bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Timus organogenezi, nöroektoderm-kökenli nöral krest mezenkimi, endoderm-kökenli epitelyum ve mezoderm kökenli hemapoeitik hücreler olmak üzere üç embriyonik germ tabakasının hücreleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Birkaç çalışma gelişen timositler ve timik mikroçevre arasındaki etkileşimin sadece T hücrelerin gelişiminin düzenlenmesinde değil, ayrıca korteks ve medulladaki olgun timik epitelyal mikroçevrelerin bakımı ve oluşumu içinde gerekli olduğunu öne sürmektedir (23, 24). Siçanlarda gebeliğin 16. gününde fetus timusunun doku kapsülü ile çevrelendiği ve lobulasyonun olmadığı; 18. gününde doku kapsülünün oluşturduğu septanın dokuyu tam olmayan lobüllere ayırdığı; özellikle kortekste mitozun yoğun olduğu ve medullada birkaç epitelyal retiküler hücre bulunduğu 20. gününde belirgin lobulasyon gözlemlendiği ve epitelyal retiküler hücrelerin medullada açık bir şekilde ayırt edildiği bildirilmiştir (24). Çalışmamızda da 14 günlük fetus timus dokusu dıştan bir bağ dokusu kapsülü ile çevrelendiği gözlemlendi. Fakat lobulasyon görülmedi. Gebeliğin 16. gününde fetus timusunun bağ dokusu kapsülü ile çevrili olduğu ve lobulasyonun oluşmaya başladığı fark edildi. Gebeliğin 18. gününde bağ dokusu kapsülünün nispeten kalınlaşmış olduğu ve septaların timusu lob ve lobüllere ayırdığı gözlemlendi. Gelişimin ileri safhasında olmasından dolayı kortekste yer alan timositlerin bazofilik karakterinin ve mitotik aktivitesinin artmasıyla dokudaki korteks ve medulla ayrımı daha belirgindi. Gebeliğin 20. gününde kapsülden organın içine giren bağ dokusu artışı mevcuttu. Korteks ve medullada yer alan epitelyal retiküler hücreler kolayca ayırt edilebiliyordu.

Sonuç

Nektin-2 özellikle timus gelişiminin erken ve geç dönemlerinde daha güçlü olarak eksprese edilmektedir. Nektin-2'nin timopoezis-

teki rolünün aydınlatılması için immuno-elektron, immunofloresan, western-bloft ve PCR gibi yöntemler ile daha detaylı düzeyde araştırılması gerekmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-09-776 no.lu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Yazarlık katkıları: Fikir ve deneylerin tasarlanması: MFS. Deneylerin uygulanması: DA, MFS. Verilerin analizi: DA, MFS. Yazının hazırlanması: MFS. Tüm yazarlar yazının son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

1. Darka Ö. Hücre adezyon molekülleri ve enflamasyondaki rolleri. Türkiye Klinikleri Mikrobiyoloji Enfeksiyon Dergisi 2003; 2(1): 36-43.
2. Atabekoğlu CS, Engin Y, Ustun Y, Aytaç R. Üreme fizyolojisi ve adezyon molekülleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55(1):85-92.
3. Miyoshi J, Takai Y. Nectin and Nectin-Like molecules: biology and pathology. Am J Nephrol 2007; 27(6): 590-604. [CrossRef]
4. Sakisaka T, Takai Y. Biology and pathology of nectins and nectin-like molecules. Curr Opin Cell Biol 2004; 16(5): 513-21. [CrossRef]
5. Takai Y, Irie K, Shimizu K, Sakisaka T, Ikeda W. Nectins and nectin-like molecules: Roles in cell adhesion, migration, and polarization. Cancer Sci 2003; 94(8): 655-67. [CrossRef]
6. Takai Y, Nakanishi H. Nectin and afadin: novel organizers of intercellular junctions. J Cell Sci 2003; 116(1): 17-27. [CrossRef]
7. Sakisaka T, Ikeda W, Ogita H, Fujita N, Takai Y. The roles of nectins in cell adhesions: cooperation with other cell adhesion molecules and growth factor receptors. Curr Opin Cell Biol 2007; 19(5): 593-602. [CrossRef]
8. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. 1.Baskı. Malatya: Medipres Yayıncılık; 2009; 21-47.
9. van Ewijk W, Holländer G, Terhorst C, Wang B. Stepwise development of thymic microenvironments in vivo is regulated by thymocyte subsets. Development 2000; 127(8): 1583-91.
10. Klug DB, Carter C, Gimenez-Conti IB, Richie ER. Cutting Edge: Thymocyte-independent and Thymocyte-dependent phases of epithelial patterning in the fetal Thymus. J Immunol 2002; 169(6): 2842-5.
11. Güç D. Adezyon molekülleri. Ankem Derg 2004; 18(2): 158-63.
12. Terekeci H, Şahan B, Top C. Hücre adezyon molekülleri. Nobel Med 2008; 4(1): 4-10.
13. Mizoguchi A, Nakanishi H, Kimura K, Matsubara K, Ozaki-Kuroda K, Katata T, et al. Nectin: an adhesion molecule involved in formation of synapses. J Cell Biol 2002; 156(3): 555-65. [CrossRef]
14. Inagaki M, Irie K, Ishizaki H, Tanaka-Okamoto M, Morimoto K, Inoue E, et al. Roles of cell-adhesion molecules nectin 1 and nectin 3 in ciliary body development. Development 2005; 132(7): 1525-37. [CrossRef]
15. Takahashi K, Nakanishi H, Miyahara M, Mandai K, Satoh K, Satoh A, et al. Nectin/PRR: An Immunoglobulin-like cell adhesion molecule recruited to Cadherin-based adherens junctions through interaction with Afadin, a PDZ domain-containing Protein. J Cell Biol 1999; 145(3): 539-49. [CrossRef]
16. Ozaki-Kuroda K, Nakanishi H, Ohta H, Tanaka H, Kurihara H, Mueller S, et al. Nectin couples cell-cell adhesion and the actin scaffold at heterotypic testicular junctions. Curr Biol 2002; 12(13): 1145-50. [CrossRef]
17. Bouchard MJ, Dong Y, McDermott BM Jr, Lam DH, Brown KR, Shelanski M, et al. Defects in nuclear and cytoskeletal morphology and mitochondrial localization in spermatozoa of mice lacking Nectin-2, a component of cell-cell adherens junctions. Mol Cell Biol 2000; 20(8): 2865-73. [CrossRef]

18. Satomi-Kobayashi S, Ueyama T, Mueller S, et al. Deficiency of nectin-2 leads to cardiac fibrosis and dysfunction under chronic pressure overload. *Hypertension* 2009; 54(4): 825-31. [\[CrossRef\]](#)
19. Screpanti I, Modesti A, Gulino A. Heterogeneity of thymic stromal cells and thymocyte differentiation: a cell culture approach. *J Cell Sci* 1993; 105(3): 601-6.
20. Schwarz BA, Bhandoola A. Trafficking from the bone marrow to the thymus: a prerequisite for thymopoiesis. *Immunol Rev* 2006; 209: 47-57. [\[CrossRef\]](#)
21. Savino W, Mendes-da-Cruz D, Smaniotto S, Silva-Monteiro E, Villa-Verde MS. Molecular mechanisms governing thymocyte migration: combined role of chemokines and extracellular matrix. *J Leukoc Biol.* 2004; 75(6): 951-61. [\[CrossRef\]](#)
22. Kutlesa S, Wessels JT, Speiser A, Steiert I, Müller CA, Klein G. E-cadherin-mediated interactions of thymic epithelial cells with CD103+ thymocytes lead to enhanced thymocyte cell proliferation. *J Cell Sci* 2002; 115(23): 4505-15. [\[CrossRef\]](#)
23. Jiang X, Rowitch DH, Soriano P, McMahon AP, Sucov HM. Fate of the mammalian cardiac neural crest. *Development* 2000; 127(8): 1607-16.
24. Sonmez MF, Colakoglu N, Kukner A, Ozan E, Dabak DO. Immunocalization of TGF- β 2 in the rat thymus during late stages of prenatal development. *Acta Histochem* 2009; 111(1): 68-73. [\[CrossRef\]](#)